

Desarrollo de refresco de noni para su uso como producto nutracéutico

Development of Noni juice as nutraceutical product

MSc. Nilia de la Paz Martín-Viaña,¹ MSc. Caridad Margarita García Peña,¹ MSc. Addis Bellma Menéndez,¹ Lic. Suslebys Salomón,¹ Téc. Maria Lidia González Sanabria,¹ Téc. Viviana Fusté Moreno,¹ Téc. Sara Agüero Fernández¹

¹ Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: las materias primas de origen natural, como ingredientes farmacéuticos activos, se difunden cada vez más en la industria farmacéutica para elaborar medicamentos, cosméticos y suplementos. Noni (*Morinda citrifolia* L.) es un pequeño árbol siempre verde que crece en las playas hawaianas, puede ser encontrado en grandes forestales de 1 300 pies. Los nativos de Hawai han utilizado la fruta por siglos. Los sanadores tradicionales polinesios empleaban todas las partes de la planta de noni, flores, corteza, raíces y, especialmente, el fruto para tratar problemas de salud que iban desde las aftas hasta el reumatismo. Las lombrices intestinales, fiebres y las infecciones de la piel eran algunas de las enfermedades más comunes tratadas con esta panacea polinesia.

Objetivo: obtener un refresco, a partir de extracto acuoso de frutos secos de noni, para su uso en humanos como producto nutracéutico.

Método: se efectuó el desarrollo tecnológico del producto, se realizó la evaluación sensorial, el estudio microbiológico, toxicológico y de estabilidad químico-físico, almacenado a temperatura ambiente en frascos plásticos de 1 L.

Resultados: se obtuvo una solución líquida de color ámbar, de olor y sabor característico, tolerable por las personas, que contiene mayoritariamente el extracto acuoso de noni; constituye un producto inocuo, estable desde los puntos de vista microbiológico, químico y físico, durante el tiempo y en las condiciones estudiadas.

Conclusiones: el refresco de noni con sabor a limeta, frambuesa, plátano o vainilla fue formulado cumpliéndose con los parámetros de calidad establecidos por la técnica del fabricante y se aprobó por el Instituto Nacional de Higiene de los Alimentos para su uso en humanos.

Palabras clave: noni, refresco, producto natural, evaluación sensorial.

ABSTRACT

Introduction: the natural raw materials as active pharmaceutical ingredients are increasingly spreading in the pharmaceutical industry to prepare drugs, cosmetic products and supplements. Noni (*Morinda citrifolia* L.) is a small evergreen tree that grows in the Hawaiian coastline and may be found in large 1 300-foot forests. The indigenous Hawaiian population has used it for centuries. Traditional Polynesian healers used to employ all the Noni plant components such as flowers, bark, roots and particularly the fruit to treat health problems going from aphtae to rheumatism. The intestinal parasites, fevers and skin infections are some examples of the most common diseases that were treated with this Polynesian wonder.

Objective: to obtain juice from aqueous extract of dry Noni fruits as nutraceutic product for human use.

Methods: the technological development of the product was carried out along with the sensorial evaluation and the microbiological, toxicological and chemical-physical stability studies; it was stored in one-litre plastic containers at room temperature.

Results: the final amber solution had peculiar smell and taste and was tolerable to people; it mostly contained aqueous Noni extract and was innocuous and stable from the microbiological, chemical and physical viewpoints during the length of time and under the conditions set for the study.

Conclusions: the formulation of Noni juice coming in raspberry, lime, banana or vanilla flavours complied with the set quality standards of the manufacturer's technique and the National Institute of Food Hygiene approved it to be used by humans.

Key words: Noni, juice, natural product, sensorial evaluation.

INTRODUCCIÓN

Noni es el nombre hawaiano común de la *Morinda citrifolia* L. La planta es originaria de la Polinesia, Malasia, Australia, India y el Sureste de Asia, es de hojas perennes, cuyo tamaño varía desde un pequeño arbusto hasta un árbol de 6 a 10 m de altura. Debido a su valor medicinal y nutritivo, *Morinda citrifolia* se considera la reina de las otras 80 especies que pertenecen a la antigua familia mundial de las rubiáceas.¹ Más rara que la apariencia y el olor del noni es su larga historia de usos medicinales eficaces por los aborígenes. Los terapeutas tradicionales polinesios empleaban todas las partes de la planta del noni, flores, corteza, raíces y especialmente, el fruto para tratar problemas de salud tan diversos, que iban desde las aftas al reumatismo. Las lombrices intestinales, fiebres y las infecciones de la piel eran algunas de las enfermedades más comunes tratadas con esta panacea polinesia.²

Noni está recibiendo más atención de los herbólogos, médicos y bioquímicos de alta tecnología en la actualidad. Estudios científicos realizados en los últimos años apoyan las afirmaciones de los polinesios con respecto a su poder curativo, los cuales han demostrado que el jugo del fruto posee propiedades medicinales, sin limitarse solo a sus efectos antibacterianos, antiinflamatorios, analgésicos, hipotensivos e inhibidores del cáncer. Estos estudios implican al noni como un medicamento natural que reduce la presión sanguínea y la inflamación de las articulaciones, detiene las infecciones

internas y externas, despeja las congestiones y hasta evita el crecimiento de células precancerosas.²

Los hechos de que el conocimiento medicinal del jugo del noni ha sobrevivido 2 milenios en Polinesia y que los científicos continúan investigando sus propiedades farmacológicas después de casi 40 años de su descubrimiento, indican que este podría ser usado aún, para tratar de modo natural problemas de salud por muchos años.^{2,3}

Varias publicaciones describen los beneficios potenciales del fruto de noni,⁴ mientras que otras plantean que su seguridad es limitada. Han sido reportados algunos casos donde se establece una conexión entre eventos adversos y el consumo del jugo del fruto,⁵⁻⁸ sin embargo, estos no son suficientes para arribar a conclusiones. Por otra parte el fruto ha sido sujeto a una evaluación oficial de seguridad por la Unión Europea, en la cual se ha encontrado que puede usarse para el consumo humano.⁹

Diferentes estudios preclínicos y clínicos de seguridad no han mostrado efectos adversos incluso a altas dosis, por lo que se considera seguro el consumo humano del jugo del fruto.¹⁰

El objetivo de este trabajo es obtener un refresco a partir de extracto acuoso de frutos secos de Noni, con un sabor tolerable por las personas, para ser usado como producto nutracéutico.

MÉTODOS

Desarrollo de formulación

Se realizaron varios ensayos de preformulación, persiguiendo como objetivo principal obtener una preparación líquida correctamente formulada desde un punto de vista galénico, con un sabor tolerable y(o) agradable, capaz de enmascarar el sabor de los ácidos grasos que posee en su composición el extracto acuoso de noni, convirtiéndolo en un producto de mayor aceptación por el cliente.

En el desarrollo tecnológico se empleó como material de partida el extracto acuoso de frutos secos de noni (se conservó un ejemplar de la droga cruda, en el herbario de la Estación Experimental de Plantas Medicinales "Dr. Juan Tomás Roig" en la provincia La Habana, con el número 4741), correctamente preservado con benzoato de sodio 0,1 %, como preservativo antimicrobiano, con un valor de pH comprendido en un intervalo entre 3,5-4,5. Se probaron 2 edulcorantes, la sacarina sódica 0,1 % y el aspartamo 0,2 %, como antioxidante el ácido ascórbico 0,03 % y 2,0 % el alcohol etílico como cosolvente. Para corregir el sabor desagradable, característico del noni, se ensayaron varios saborizantes a concentraciones diferentes: aceite esencial de frambuesa (0,2; 0,1; 0,15 y 0,05 %), limeta (0,05; 0,01 y 0,03 %) y naranja (0,05 y 0,01 %), así como sabor de plátano (0,3; 0,1; 0,2 y 0,15 %), vainilla (0,3; 0,5 y 0,2 %), sensación (0,3 %), manzana (0,3 %), piña (0,3 %) en polvo, además de ensayar el ácido cítrico 0,2 % y la glicerina 5 % como correctores del sabor.

De las formulaciones anteriores, se seleccionaron las 5 más prometedoras, teniendo en cuenta como criterio los saborizantes y la concentración empleada que mejor enmascaraba el sabor desagradable. Se realizó un panel de sabor, con el objetivo de definir la(s) formulación(es) más idónea(s), desde el punto de vista gustativo. Para ello se confeccionó una encuesta, relacionando la edad y calificación de las muestras

para evaluar la calidad de las preparaciones en orden decreciente de la forma siguiente:

Muy buena-5, Buena-4, Aceptable-3, Regular-2, Desagradable-1

En la evaluación sensorial participaron 80 jueces no adiestrados consumidores potenciales del producto, con edad promedio de 34 años y de los 2 sexos. La población estudiada en su mayoría estuvo compuesta por personal que laboraba o estudiaba en el Hospital Militar Dr. Luis Díaz Soto. Se probó el refresco sin saborizante (natural) y con los sabores de limeta (0,03 %), frambuesa (0,05 %), vainilla (0,3 %) y plátano (0,15 %), que fueron los más aceptables durante la primera parte del estudio de preformulación.

Se tomaron 30 mL de muestra servidas en vasos plásticos desechables, para que el panelista pudiera paladear una cantidad suficiente de refresco natural y saborizado. Se suministraron codificadas con números aleatorios de 3 dígitos y acompañada de un vaso de cristal que contenía agua potable a temperatura ambiente, para ser utilizado como agente enjuagante entre una degustación y otra. Se le entregó, además, a cada participante la encuesta. Los códigos empleados para cada muestra fueron: L-08002 refresco sin saborizante, sabor frambuesa E-20, sabor vainilla E-21, sabor plátano E-22 y sabor limeta E-23.

Los resultados obtenidos se evaluaron según la tabla de *diferencia sumatoria ordinal absoluta crítica* de todos los tratamientos, tal como se sugiere por Newell y otros.¹¹ Se determinó el valor de la *diferencia modular significativa* (DMS) y se realizó la sumatoria de la puntuación otorgada a cada ensayo, determinándose la diferencia significativa entre los tratamientos. Se comparó el valor resultante de la *diferencia modular* (DM) con el valor DMS, estableciéndose que para todo $DM \geq DMS$ existe diferencia significativa entre los tratamientos para un nivel de significación de 5 %.

A la preparación de mayor aceptación en la evaluación sensorial se le realizaron los estudios microbiológico, toxicológico y de estabilidad por vida de estante.

Estudio microbiológico

A la preparación se le realizó el conteo de microorganismos totales y la prueba de efectividad de preservativos antimicrobianos, para ello el producto se contaminó con una concentración de 500 000 a 1000 000 de microorganismos/mL de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* y *Bacillus subtilis*. Se realizaron siembras inmediatamente después de contaminado y a los 7, 14, 21 y 28 d, como se describe en la literatura.¹²

Se realizó el conteo microbiano a los lotes de estabilidad para conocer el comportamiento microbiológico de ellos, con determinaciones al inicio y al final del estudio.

Estudio toxicológico

Para la determinación de la toxicidad aguda oral del refresco de noni, se emplearon 9 ratas Wistar hembras de peso corporal entre 150 y 200 g, las cuales se mantuvieron en un cuarto a temperatura controlada de 20 ± 2 °C y ciclo luz /oscuridad de 12-12

h. La alimentación consistió en dieta estándar para ratas y ratones, y agua acidulada a voluntad. Se conformaron 2 grupos experimentales como se describe a continuación: Control y Tratado - Noni Refresco.

Los diferentes tratamientos fueron administrados a grupos de 3 animales cada uno, que se identificaron individualmente para la dosificación exacta de acuerdo con su peso corporal mediante un sistema de marcaje con ácido pícrico. La administración se hizo por vía oral mediante cánula intragástrica, para lo cual se retiró la comida a los animales 16 h antes (OECD 2001).¹³

La administración se realizó a la dosis de 20 mL/kg directamente del frasco, en 2 tomas separadas por un período de 2 h. La dosis administrada constituye el máximo volumen permisible por vía oral en la especie utilizada. De esta forma se administró una dosis de 1,08 g de sólidos totales/kg de peso corporal. El grupo control se administró a la misma dosis de la sustancia de prueba.

Posteriormente se procedió a repetir el ensayo con 3 animales más, porque no se observó mortalidad. Los animales se observaron constantemente, durante las primeras 24 h, continuando luego a diario, durante un período de 14 d, y se registró cualquier síntoma tóxico. Al finalizar este período se procedió al sacrificio por administración intraperitoneal de 80 mg/kg de pentobarbital sódico para realizarles la autopsia, efectuándose un examen macroscópico minucioso de órganos y tejidos (corazón, riñón, pulmón, estómago, hígado, bazo, timo, intestino). Ante cualquier alteración macroscópica detectada en órganos y tejidos se procedió a la toma de muestra para realizar el análisis histopatológico.

El peso corporal se registró al inicio, a los 7 d y al final del experimento. Este parámetro se comparó mediante un análisis de varianza (ANOVA) para determinar diferencias entre grupos, con $p < 0,05$.

Estudio de estabilidad por vida de estante

Se elaboraron 3 lotes del producto, se envasaron en pomos de 45 g con tapa PCO-28 de 1 000 mL, se almacenaron a temperatura ambiente (30 ± 2 °C y 70 ± 5 % de humedad relativa) y se analizaron al inicio y a los 3 meses de elaborado. Los parámetros analíticos evaluados a través del estudio se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Índices de calidad del refresco de noni

Ensayos	Límites
Características organolépticas	Líquido de color ámbar libre de partículas con olor y sabor característico
Contenido por envase	Para frascos de vidrio ámbar por 250 mL (240 ± 1 mL) Para frascos plásticos de 500 mL (500 ± 1 mL) Para pomo 45 g verde con tapa PCO-28 ($1\ 000 \pm 1$ mL)
Identificación	Debe colorearse la fracción acuosa de amarillo pálido a carmelita rojizo
pH	$4,0 \pm 0,5$
Sólidos totales	No menor de 0,5 %
Antracenderivados totales	No menos de 5 mg/100 mL
Conteo microbiano	CB: $\leq 10^3$ UFC/g CH: $\leq 10^2$ UFC/g Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 10 mL

La técnica desarrollada para la determinación de los antracenderivados totales se basó en la formación de fenolatos coloreados mediante la reacción entre el álcali y los grupos fenólicos de los antracenderivados totales (obtenidos a través de la oxidación con cloruro férrico en medio ácido) y su medición fotométrica, donde se empleó como sustancia de referencia la solución de cloruro de cobalto 1 % equivalente a 0,43 mg de ácido crisofánico (oxiantraquinona) en 100 mL de solución alcalino amoniacal.

RESULTADOS

Desarrollo de formulación

En todos los ensayos de preformulación elaborados se obtuvo una preparación líquida de color ámbar, libre de partículas, con un valor de pH comprendido en un intervalo entre 3,5-4,5. Se logró enmascarar el olor y sabor desagradable a través del empleo de edulcorante y saborizante.

En la tabla 2 se muestran los resultados de las puntuaciones otorgadas a cada ensayo durante la prueba de evaluación sensorial, así como el procesamiento estadístico.

Tabla 2. Resultados de la evaluación sensorial. Sumatoria de las puntuaciones otorgadas a cada muestra. Edad promedio: 34 años

Jueces	L-08002 Natural	E-20 Frambuesa	E-21 Vainilla	E-22 Plátano	E-23 Limeta
1-30	55	122	83	113	111
31-61	53	90	81	103	100
62-80	43	67	47	65	78
Total	151	279	211	281	289
/L-08002-frambuesa/ = /151-279/= 128					
/L-08002-vainilla/ = /151-211/= 60					
/L-08002-plátano/ = /151-281/= 130					
/L-08002-limeta/ = /151-289/= 138					
/frambuesa-vainilla/ = /279-211/= 68					
/frambuesa-plátano/ = /279-281/= 2					
/frambuesa-limeta/ = /279-289/= 10					
/vainilla-plátano/ = /211-281/= 70					
/vainilla-limeta/ = /211-289/= 78					
/plátano-limeta/ = /281-289/ = 8					

Estudio microbiológico

El ensayo de conteo microbiológico arrojó un conteo de bacterias de 10^2 UFC/mL y menos de 10 UFC/mL el de hongos. En la efectividad del preservativo antimicrobiano para las bacterias, a los 14 d se observó una reducción logarítmica de 5,0 del recuento inicial y ningún incremento del recuento entre los 14 y 28 d. Para los hongos y levaduras no se observó ningún incremento a los 14 y 28 d respecto al recuento inicial. Los resultados del conteo microbiano realizado a los 3 lotes durante el tiempo de estudio se muestran en las tablas 3 y 4.

Tabla 3. Resultados analíticos del estudio de estabilidad (tiempo inicial)

Parámetros	09001	09002	09003	Límites
Características organolépticas	Responde	Responde	Responde	Líquido de color ámbar libre de partículas con olor y sabor característico
Identificación	Responde	Responde	Responde	Debe colorearse la fracción acuosa de amarillo pálido a carmelita rojizo
Contenido de envase	1 000 mL	1 000 mL	1 000 mL	1 000 ± 1 mL
Antracenderivados totales	18,3 mg/100 mL	16,4 mg/100 mL	13,8 mg/100 mL	No menos de 5 mg/100 mL
pH	3,94	3,97	3,85	4,0 ± 0,5
Sólidos totales	2,0 %	1,98 %	1,85 %	No menor que 0,5 %
Conteo microbiológico	CB: 100 UFC/mL CH: <10 UFC/mL <i>Bacillus</i> grampositivos, <i>Bacillus</i> sp.	CB: 100 UFC/mL CH: <10 UFC/mL <i>Bacillus</i> grampositivos, <i>Bacillus</i> sp.	CB: 100 UFC/mL CH: <10 UFC/mL <i>Bacillus</i> grampositivos, <i>Bacillus</i> sp.	CB: ≤ 103 UFC /g CH: ≤ 102 UFC/g Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 10 mL

Tabla 4. Resultados analíticos del estudio de estabilidad (tiempo 3 meses)

Parámetros	09001	09002	09003	Límites
Características organolépticas	Responde	Responde	Responde	Líquido de color ámbar libre de partículas con olor y sabor característico
Identificación	Responde	Responde	Responde	Debe colorearse la fracción acuosa de amarillo pálido a carmelita rojizo
Contenido de envase	1 000 mL	1 000 mL	1 000 mL	1 000 ± 1 mL
Antracenderivados totales	16,36 mg/100 mL	15,79 mg/100 mL	12,61 mg/100 mL	No menos de 5 mg/100 mL
pH	4,32	4,31	4,20	4,0 ± 0,5
Sólidos totales	1,85 %	1,94 %	1,85 %	No menor que 0,5 %
Conteo microbiológico	CB: 50 UFC/mL CH: <10 UFC/mL Cocos grampositivos, <i>Micrococcus luteus</i>	CB: 100 UFC/mL CH: <10 UFC/mL Bacillus grampositivos, <i>Bacillus sp.</i>	CB: 60 UFC/mL CH: <10 UFC/mL Cocos grampositivos, <i>Micrococcus luteus</i>	CB: ≤ 103 UFC /g CH: ≤ 102 UFC/g Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 10 mL

Estudio toxicológico

A la dosis administrada no se observaron signos tóxicos ni mortalidad en ninguno de los grupos experimentales ensayados. El peso corporal reincrementó durante el estudio de forma similar para el grupo tratado y control. En la figura se observa su comportamiento.

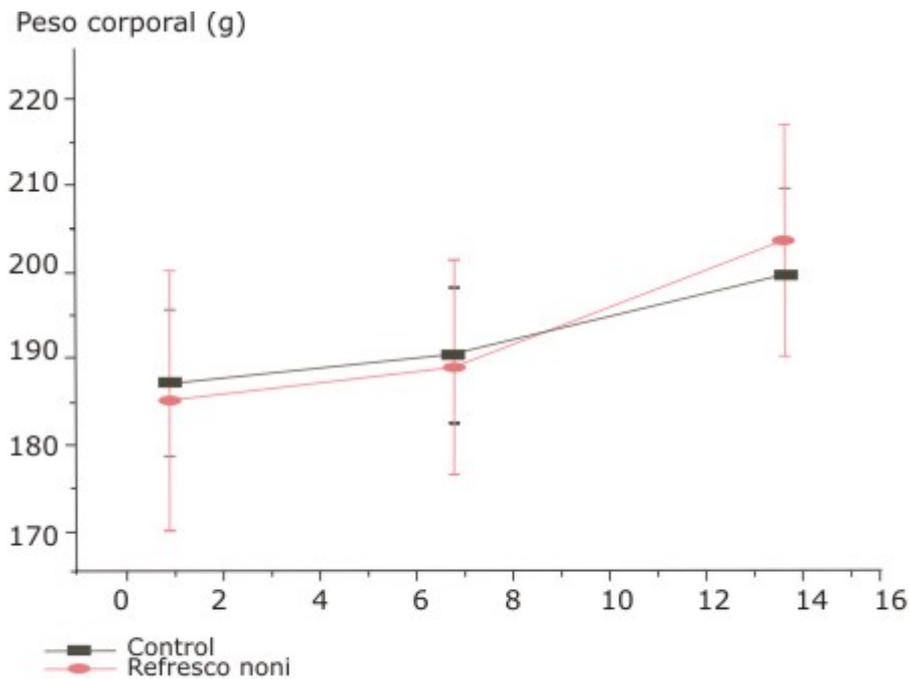


Fig. Comportamiento del peso corporal durante el estudio de toxicidad aguda oral.

La ganancia de peso corporal durante el estudio fue estadísticamente similar para los 2 grupos experimentales de acuerdo con la prueba de Anova realizada. Para el grupo control la ganancia resultó de $12,67 \pm 5,03$ y para el grupo tratado de $18,67 \pm 4,16$. En la autopsia realizada no se observaron alteraciones macroscópicas en los órganos y tejidos analizados.

Estudio de estabilidad por vida de estante

En la tablas 3 y 4 se exponen los resultados del estudio de estabilidad por vida de estante.

DISCUSIÓN

Desarrollo de la formulación

Se obtuvo una preparación de administración oral con calidad farmacéutica. De acuerdo con los resultados obtenidos existe diferencia significativa entre el ensayo del refresco natural y los saborizados, entre los ensayos de frambuesa y vainilla, vainilla y plátano, vainilla y limeta, al obtenerse valores de $DM \geq DMS$. Se establece que el orden de preferencia es el siguiente:

Limeta > Plátano > Frambuesa > Vainilla > Natural

De los 4 sabores seleccionados para este estudio, a pesar de no existir diferencia significativa entre frambuesa, plátano y limeta, la puntuación obtenida en la evaluación sensorial indica que existe preferencia por la limeta y de menor aceptación la vainilla, por lo que puede producirse y comercializarse el refresco de noni de 4 sabores diferentes.

Estudio microbiológico

El conteo microbiológico demostró que la formulación no se encuentra contaminada microbilógicamente, que cumpla con los límites establecidos en la literatura oficial al no existir microorganismos patógenos, y el conteo de bacterias y de hongos ser menor que 10^3 UFC/mL y 10^2 UFC/mL, respectivamente. Además, la prueba de efectividad de preservativo antimicrobiano demostró que el preservativo empleado protege de modo correcto a la formulación de la contaminación microbiana, a la que pudiera estar expuesta durante la fabricación y el uso, esto demuestra cuantitativamente la inhibición de la carga microbiana que fue inoculada al inicio de esta prueba y no detectarse contaminación microbiana pasados 28 d. De esta forma se comprobó la correcta efectividad del preservativo antimicrobiano empleado en la formulación y se garantizó la estabilidad microbiológica del medicamento.

Estudio toxicológico

De acuerdo con los resultados, el refresco de noni no mostró toxicidad significativa tras la administración aguda oral en ratas, del máximo volumen permisible en esta especie.

Estudio de estabilidad por vida de estante

De las tablas 3 y 4 se puede concluir que el producto mantiene los parámetros que determinan su calidad en los 3 meses de estudio.

Se realizó el desarrollo tecnológico de una formulación en forma de refresco, a partir de una materia prima de origen natural, cultivada y producida en Cuba. Se sometió a análisis y evaluación del Registro Nacional de acuerdo con lo establecido en la legislación vigente, encontrándose apto para el uso y consumo humano con la Licencia sanitaria No. 056/10-LXXV concedida por el Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos del Ministerio de Salud Pública de la República de Cuba.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Solomón N. El jugo de Noni la fruta tropical de los 101 usos medicinales. New York; 2002.
2. Mc Clacthey W. From polynesian healers to health food stores: changing perspectives of Morinda Citrifolia. Integr Cancer Ther. 2002;1(2):110-20.

3. Dixon AR, Mc Millen H, Erkin NL. Ferment this: the transformation of noni, a traditional Polynesian medicine (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae). *Econ Bot.* 1999;53:51-68.
4. Wang MY, West BJ, Jensen CJ, Nowicki D, Su C, Palu AK, et al. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in Noni research. *Acta Pharmacol Sin.* 2002;23:1127-41.
5. Mueller BA, Scott MK, Sowinski KM, Prag KA. Noni juice (*Morinda citrifolia*): hidden potential for hyperkalemia? *Am J Kydney Dis.* 2000;35(2):310-2.
6. Carr ME, Klotz J, Bergeron M. Coumadin resistance and the vitamin supplement «Noni». *Am J Hematol.* 2004;77(1):103.
7. Milloning G, Stadlmann S, Vogel W. Herbal hepatotoxicity: acute hepatitis caused by a noni preparation (*Morinda citrifolia*). *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2005;17(4):445-7.
8. Stadlbauer V, Fickert P, Lackner C, Schmerlaib J, Krisper P, Trauner M, et al. Hepatotoxicity of noni juice: report of two cases. *World J Gastroenterol.* 2005;11(30):4758-60.
9. European Commission. 2002. Scientific Committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on Food on Tahitian Noni Juice. SCF/CS/NF/DOS/18 ADD 2 Final. [cited Dec 11 2002]. Available from: http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out151_en.pdf
10. West BJ, Jense CJ, Westendorf J. Noni juice is not hepatotoxic. *World J Gastroenterol.* 2006;12(22):3616-19.
11. Newell GJ, Mc Farlane JD. Expanded tables for multiple comparison procederes in the analysis of ranked data. *J Food Sci.* 1987;526(6):1721-25.
12. USP 31-NF 26. Atributos Microbiológicos de Productos Farmacéuticos No Estériles. USP 31 Farmacopea de los Estados Unidos de América. NF 26 Formulario Nacional; 2008. p. 801.
13. OECD. Guideline for testing of chemical Acute Oral Toxicity Acute Toxic Class Method N° 423 Adopted 20 December; 2001.

Recibido: 27 de abril de 2011.
Aprobado: 26 de mayo de 2011.

Nilia de la Paz Martín-Viaña. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos.
Ave. 26 # 1605 e/ Puentes Grandes y Boyeros, Plaza, La Habana, Cuba. CP 10600. Teléf.:
881-0009, 881-0508. Correo electrónico: nilia.delapaz@infomed.sld.cu
