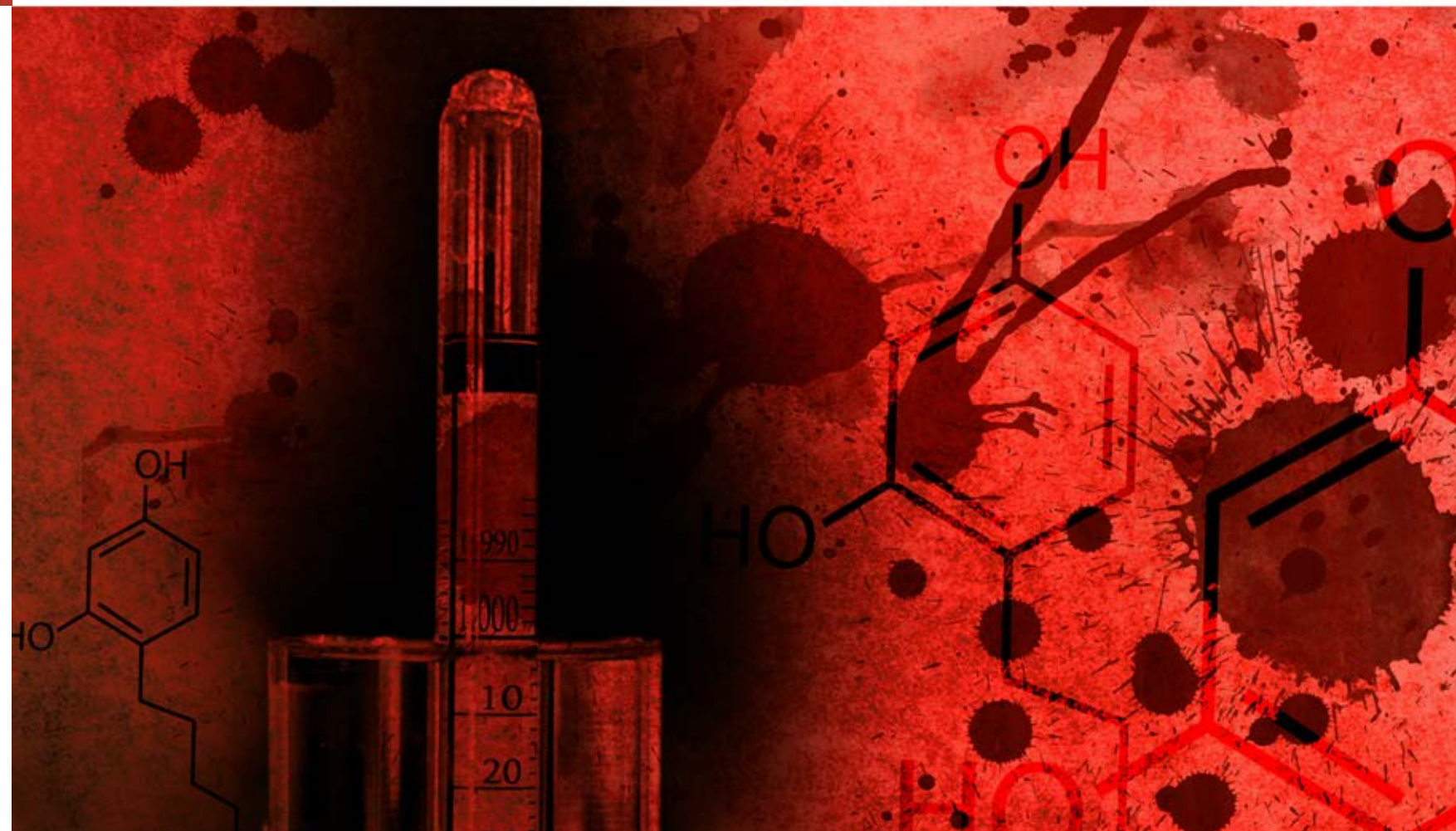


LUIS M. RICO SANTOS Y VALERIO L. GUTIÉRREZ AFONSO
COMPORTAMIENTO DE UN NUEVO ANTISÉPTICO
FRENTE AL ANHÍDRIDO SULFUROSO
EN VINO BLANCO



COMPORTAMIENTO DE UN NUEVO ANTISÉPTICO FRENTE AL ANHÍDRIDO SULFUROSO EN VINO BLANCO¹

1. Introducción

Con la manipulación de los productos tras la cosecha, los tejidos pueden experimentar daños, sufriendo roturas o ablandamientos, así como, cambios en la textura generados por la degradación de la membrana citoplasmática y los constituyentes de la pared celular (1 y 2) obteniéndose de esta forma las condiciones ideales para el desarrollo y proliferación de microorganismos.

1.1 Aspectos generales de los microorganismos

La existencia de los microorganismos no se conoció hasta la invención del microscopio, siendo el holandés Antony Van Leeuwenhoek quien realizó las primeras observaciones de los microorganismos y los describió en detalle en 1684, a los cuales denominó animáculos.

Desde la antigüedad, el hombre recurría a la fermentación para fabricar bebidas alcohólicas. Al preparar el pan, vino, cerveza o sake, los egipcios, sumerios y todas las personas hasta mediados del

siglo XIX, empleaban sin saberlo, y de una manera empírica, una familia de agentes biológicos muy originales: las levaduras, quienes realizan la fermentación alcohólica, cuyo papel como agentes fermentadores no fue reconocido hasta 1856 por Luis Pasteur, quien demostró que las células viables de levaduras causan fermentación en condiciones anaeróbicas; durante dicha fermentación el azúcar presente en el mosto es convertido principalmente en etanol y anhídrido carbónico.

1.2 Transformaciones mas comunes provocadas por microorganismos en vinos

Algunos factores inhiben o potencian la actividad microbiana: el pH, la temperatura, la disponibilidad de oxígeno y la presencia de sustancias activadoras e inhibidoras en el sustrato.

La ausencia de aire impide el crecimiento de organismos aerobios como son los mohos, las levaduras formadoras de películas o bacterias como por ejemplo el género *Acetobacter*, sin embargo otros como las bacterias lácticas crecen perfectamente en anaerobiosis.

Existen sustancias como son los taninos y alcoholes que inhiben el crecimiento bacteriano, mientras que otras como son los azúcares y los restos de vitaminas lo favorecen (3).

Las alteraciones más comunes provocadas por organismos aerobios son:

La acetificación u oxidación del alcohol del mosto o del vino a ácido acético. Es provocada por bacterias acéticas en presencia de aire. Estas bacterias también pueden provocar la oxidación de la glucosa a ácido glucónico, provocando sabor arratonado o agri-dulce.

Las flores del vino, provocadas por levaduras formadoras de películas y que oxidan el alcohol y los ácidos orgánicos.

Algunos mohos pertenecientes a los géneros *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus* y otros pueden crecer en paredes, corchos, toneles, etc... confiriendo un sabor desagradable a los vinos.

Las alteraciones más comunes provocadas por organismos anaerobios son:

Elevada acidez volátil con escaso porcentaje de alcohol, sabores anormales y turbidez en el vino debido a la actividad de levaduras salvajes, generalmente apiculadas provenientes de las uvas.

Tourne, descomposición del ácido tartárico, la glucosa y la fructosa con formación de ácido acético y gas carbónico, con turbiedad, ennegrecimiento y gusto desagradable, provocado por especies heterofermentativas del género *Lactobacillus*.

Estas bacterias también son responsables del amargor ocasionado por la transformación de fructosa en manitol.

¹ La numeración que aparece a lo largo del texto entre paréntesis hace referencia a la bibliografía del final del artículo [Nota del editor].

1.3 Métodos químicos para la prevención de la proliferación de microorganismos indeseables en vinos

Existen muchas fórmulas para prevenir la proliferación de microorganismos, casi todos basados en controlar los parámetros tanto físicos como químicos que ya se han mencionado. En este trabajo hablaremos sólo de las sustancias con las que se van a realizar los ensayos.

1.3.1 El anhídrido sulfuroso

El anhídrido sulfuroso es uno de los conservantes con una mayor tradición en su utilización. También es el que tiene más siglos de prohibiciones y limitaciones a sus espaldas. El anhídrido sulfuroso, obtenido quemando azufre, se utilizaba ya para la desinfección de bodegas en la Roma clásica. En el siglo XV se prohíbe su utilización por sus efectos perjudiciales sobre los bebedores en Colonia limitándose también su uso en otras ciudades alemanas en la misma época. Su utilización en la conservación de la sidra está documentada al menos desde 1664.

Es un aditivo autolimitante en su uso, en el sentido de que por encima de una cierta dosis altera las características gustativas del producto. Es especialmente eficaz en medio ácido, inhibiendo bacterias y mohos, y en menor grado, levaduras.

Además de su acción contra los microorganismos, los sulfitos actúan como antioxidantes. Con este fin se autoriza su uso en conservas vegetales y aceitunas de mesa, cefalópodos congelados y crustáceos. En algunos países se utiliza para conservar el aspecto fresco de los vegetales que se consumen en ensalada.

En el vino, el anhídrido sulfuroso se haya presente en las siguientes formas químicas (4):

El anhídrido sulfuroso molecular (SO₂): Esta forma química es la principal responsable de la actividad antimicrobiana (5). Se considera generalmente que el anhídrido sulfuroso molecular es unas 20 veces más efectivo que el bisulfito en la inhibición de las levaduras y unas 500 veces más en la inhibición de las bacterias (6). Esta forma química también posee una cierta actividad antioxidante (7) y es la responsable del desagradable olor picante que presenta el anhídrido sulfuroso (8).

El bisulfito (HSO₃⁻): Al pH del vino, esta es la forma predominante y es el principal responsable de la inactivación de las polifenol oxidasas (9 y 10). Por tanto la actividad antioxidática del dióxido de azufre depende de su presencia (11). Por el contrario sus efectos antimicrobianos y antioxidantes son de poca importancia.

El sulfito (SO₃⁻²): Al pH del vino su presencia es mínima y por tanto su posible influencia también lo es.

Combinado con el acetaldehído y con otros compuestos, lo que origina la formación del denominado anhídrido sulfuroso combinado (12 y 13). El SO₂ combinado carece de actividad antioxidante y antioxidática, y sus efectos antimicrobianos son muchísimo menores (14, 15 y 10).

La proporción entre anhídrido sulfuroso molecular, el bisulfito y el sulfito viene determinado por las constantes de disociación ($K_1 = 1,7 \times 10^{-2}$; $K_2 = 5,0 \times 10^{-6}$) y por el pH del vino. La actividad antimicrobiana del dióxido de azufre, al depender de la proporción de SO₂ molecular, estará condicionada no tan sólo por la dosis sino también por el pH del vino.

Por regla general se suele considerar que para conseguir una buena estabilidad microbiológica se necesitan 0,5 mg/L de SO₂ molecular para un vino tinto seco; 0,8 mg/L para un vino blanco seco y 2 mg/L para un vino dulce (4). Considerando estos valores de referencia, la tabla 1.3.1 muestra la concentración de anhídrido sulfuroso libre necesario para conseguir estos niveles de SO₂ molecular en función del pH del vino.

pH	SO ₂ molecular		
	0,5 mg/l	0,8 mg/l	2,0 mg/l
2,8	5	8	20
2,9	6	10	25
3,0	8	12	31
3,1	10	16	39
3,2	13	20	49
3,3	16	25	62
3,4	19	31	78
3,5	24	39	98
3,6	31	49	123
3,7	39	62	155
3,8	49	78	195
3,9	62	98	246
4,0	78	124	310
4,1	97	156	390

Tabla 1.3.1. SO₂ libre necesario para obtener la concentración indicada de SO₂ molecular.

En el organismo humano el sulfito ingerido con los alimentos es transformado en sulfato por una enzima presente sobre todo en el riñón, hígado y corazón, que es la responsable de la eliminación del sulfito producido en el propio organismo durante el metabolismo de los aminoácidos que contienen azufre.

Los sulfitos no tienen efectos teratógenos ni cancerígenos, no representando ningún riesgo para la inmensa mayoría de la población a los niveles presentes en los alimentos.

La ingestión de alimentos que contienen sulfito ha provocado dolores de cabeza, tos y ataques de asma, pérdida de conciencia y shock anafiláctico (16) pudiendo afectar a cualquier sector de la sociedad. Actúa destruyendo la tiamina (vitamina B1), por lo que no debe usarse en aquellos alimentos que la aporten en una proporción significativa a la dieta.

Posee un efecto blanqueador y reductor, es corrosivo (para la maquinaria), destruye los nutrientes ocasionando el ablandamiento del tejido y la pérdida de sabor. Todo ello unido a los efectos de salud desfavorables y al notable aumento en las preferencias de los consumidores por alimentos frescos y naturales, son importantes motivos para la búsqueda de una alternativa práctica y funcional al sulfito (17 y 18).

1.3.2 El 4-Hexilresorcinol

El 4-Hexilresorcinol (HR) ha sido identificado como inhibidor del pardeamiento (Figura 1). Se trata de una actividad descubierta de forma relativamente reciente (18). Se ha utilizado en la industria farmacéutica para la formulación de productos médicos como antihelmíntico, antiséptico de uso tópico limpiador para las heridas de la piel y antiséptico para infecciones de garganta en formulaciones de caramelos (19).

También se le denomina 4-hexil-1,3 benzediol. Se trata de un derivado del ácido dihidroxicinámico.

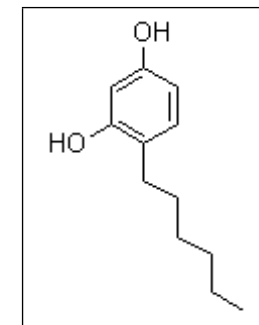


Fig. 1. Estructura del 4-Hexilresorcinol.

Dentro del programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias, Comisión del Codex Alimentarius celebrada en Roma y La Haya 1999, se propone que se asigne el número 586 al HR.

En la directiva 2006/52/CE del parlamento europeo y del consejo de 5 de julio de 2006 por la que se modifica la Directiva 95/2/CE relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes y la Directiva 94/35/CE relativa a los edulcorantes utilizados en los productos alimenticios, a raíz de una petición de un estado

miembro y de conformidad con el dictamen del Comité científico de la alimentación humana de 5 de marzo de 2003, se autoriza a escala comunitaria el uso de HR, que ya se ha autorizado a nivel nacional en virtud de la Directiva 89/107/CEE.

En el Dictamen del Comité Económico y Social Europeo sobre la «Propuesta de Directiva del Parlamento Europeo y del Consejo por la que se modifica la Directiva 95/2/CE relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes y la Directiva 94/35/CE relativa a los edulcorantes utilizados en los productos alimenticios» COM(2004) 650 final — 2004/0237 (COD) (2005/C 255/11), este aditivo se propone como alternativa a los sulfitos, no como sustituto de ellos, para prevenir la aparición de manchas en los crustáceos. Al mismo tiempo expresa su preocupación y propone que se debería examinar cuál de estos dos aditivos, el HR o los sulfitos, o una mezcla de ambos, es más seguro para los consumidores.

El HR se ha utilizado como ingrediente activo en varios medicamentos durante más de cuarenta años y no se ha confirmado evidencia alguna de toxicidad sistemática. Es ligeramente soluble en agua, no tóxico, no mutagénico, no cancerígeno y estable, evita el pardeamiento en gambas, manzana, patatas y lechuga iceberg (20, 21 y 22) y se ha visto que su comportamiento frente a microorganismos aerobios, anaerobios, hongos y levaduras es comparable al de los sulfitos (23).

2. Material y método

En el presente trabajo se estudiará el comportamiento como antiséptico del HR sobre un vino blanco a diferentes dosis y en condiciones naturales de mercado, comparándolo con el anhídrido sulfuroso.

Los ensayos se realizaron en función de la disponibilidad de tiempo y de los equipos necesarios por parte del Laboratorio Enológico del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (I.C.I.A.) situado en la localidad de Valle de Guerra, dentro del municipio de La Laguna (Tenerife).

2.1 Preparación de las muestras

El ensayo se efectuó sobre un vino blanco resultante de mezclas de vinos de Canarias procedentes de uvas de variedades tales como: Listán blanco, Gual, Marmajuelo y Verdello (tabla 2.1).

Este vino fue desgasificado mediante el barboteo de nitrógeno durante unas 8 horas para disminuir al mínimo su contenido en anhídrido sulfuroso.

Posteriormente fue inoculado con levaduras y bacterias procedentes de vinos enfermos. Las bacterias eran Gram negativas, aparecían de forma elipsoide y asociadas muchas veces por pares y las levaduras elipsoides normales.

Una vez inoculado, el vino se homogeneizó y se tomó las diferentes alícuotas a las que se aplicaron los tratamientos.

Parámetro	Unidades	Vino
Densidad (20°/20°)		0,9919
Masa volúmica (20°)	g/mL	0,9901
Grado alcohólico	% Vol.	12,51
Azúcares reductores	g/L	3,2
Extracto seco total (E.S.T.) (g/L)	g/L	21,7
Acidez total (ác. Tartárico)	g/L	3,8
Acidez volátil (ác. Acético)	g/L	0,48
Sulfuroso total	mg/L	62
Sulfuroso libre	mg/L	12
pH. (20° C)		3,75
Taninos de Masquelier	g/L	0,9
Polifenoles totales (280 nm)		12

Tabla 2.1. Análisis del vino antes de los tratamientos con HR y SO₂.

2.2 Tratamientos

Los tratamientos consistieron en la adición de distintas cantidades de los aditivos en estudio, sobre volúmenes de 100 mL del mismo vino, formando así disoluciones de diferentes concentraciones (tabla 2.2).

Se realizaron 8 ensayos distintos por duplicado. También hay que tener en cuenta que uno de los tratamientos, concretamente el número 8, consistió en una muestra de vino sin ningún tipo de adición, con el fin de tener una referencia de la evolución sin la presencia de los reactivos estudiados.

Se realizó una primera lectura y posteriormente se dejaron las muestras a temperatura ambiente, en torno a los 25°C.

CARACTERIZACIÓN	TRATAMIENTO
TRATAMIENTO 1	HR.- 10 mg/L
TRATAMIENTO 2	HR.- 25 mg/L
TRATAMIENTO 3	HR.- 50 mg/L
TRATAMIENTO 4	HR.- 100 mg/L
TRATAMIENTO 5	HR.- 150 mg/L
TRATAMIENTO 6	SO ₂ Libre 22 mg/L; SO ₂ Total 180 mg/L
TRATAMIENTO 7	SO ₂ Libre 45 mg/L; SO ₂ Total 300 mg/L
TRATAMIENTO 8	TESTIGO

Tabla 2.2. Tratamientos aplicados a la muestra de vino.

2.3 Ensayos para evaluar la actividad antiséptica

Se estudió la evolución de los azúcares reductores y de la acidez volátil para así comparar el efecto antiséptico. Se empleó un analizador automático de flujo continuo segmentado de la marca Bran+Luebbe.

Los azúcares reductores se cuantificaron mediante el método de la neocuproína (24). La muestra se inyecta en una corriente del reactivo cobre (II)-neocuproína y posteriormente el cobre (II) se reduce en caliente y en medio básico (provocado por la presencia en el medio de carbonato sódico). Se mide la absorbancia del producto de reacción a 460 nm. y los resultados se expresan en gr/L.

Para determinar la acidez volátil, el vino se acidifica con tartárico y se le añade además peróxido de hidrógeno que se combina con el SO₂ que pudiera estar presente dejando éste de ser volátil. Una vez destilado el ácido acético es sometido a una reacción característica de los ácidos carboxílicos en la cual el ácido se combina con una mezcla de yodato de potasio y yoduro potásico produciendo yodo molecular de color naranja-marrón que cuantificamos a 440 nm.

3. Resultados y discusión

Las medias de los datos de las repeticiones realizadas para cada tratamiento aparecen en las tablas que se presentan a continuación para cada parámetro y para cada vino.

Para contrastar la evolución de cada uno de los tratamientos, al final de cada ensayo se realiza un análisis de la mínima diferencia significativa con las medias.

Los datos obtenidos deben indicarnos, en el punto final del ensayo, qué tratamientos son estadísticamente similares entre sí.

3.1 Evolución de los azúcares reductores

Se parte de unos azúcares reductores en torno a los 3,2 g/L, al final del ensayo vemos que las mayores evoluciones se han registrado en el tratamiento 6 con menor concentración de SO₂ y el testigo son los que al final del ensayo han evolucionado fermentando la mayor cantidad de azúcares no habiendo diferencias significativas entre ellos. Cabe mencionar que también se registra un consumo de azúcares reductores al final del ensayo en el tratamiento 2 (Tabla 3.1).

En lo correspondiente al HR, en la bibliografía se nos presenta como antiséptico limpiador para heridas en uso tópico y de uso común para infecciones de garganta y se ha descrito que su comportamiento frente a microorganismos aerobios, anaerobios, hongos y levaduras es comparable al de los sulfitos (24).

3.2 Evolución de la acidez volátil

En el vino hay una evolución evidente en el testigo, en el tratamiento 1 y en el tratamiento 6, en los que se registraron incrementos de la acidez volátil a los trece días de comenzado el ensayo (tabla 3.2).

El tratamiento 7 con mayor adición de SO₂ fue el que menos incrementó su acidez volátil. Al final del ensayo no hay diferencias

AZÚCARES REDUCTORES								
TRATAMIENTO	Día 1	Día 13	Día 36	Día 63				
1.- 10 mg/L HR	3,20	3,00	2,85	1,75				
2.- 25 mg/L HR	3,20	3,05	3,45	2,10				
3.- 50 mg/L HR	3,20	3,00	3,75	3,05				
4.- 100 mg/L HR	3,20	2,95	3,20	3,00				
5.- 150 mg/L HR	3,20	2,95	3,20	2,90				
6.- 22 mg/L SO ₂ Libre	3,20	3,00	1,60	0,80				
7.- 45 mg/L SO ₂ Libre	3,20	3,00	1,50	2,00				
8.- Testigo	3,20	2,85	0,90	0,50				
Diferencias mínimas significativas al final del ensayo de azúcares reductores en el Vino								
Tratamiento	1	2	3	4	5	6	7	8
Día 63	ab	ab	a	a	a	bc	ab	bc

Tabla 3.1. Evolución de azúcares reductores. Los tratamientos con la misma letra no tienen diferencias significativas entre sí.

significativas entre los demás tratamientos con HR y los tratamientos con SO₂.

Los tratamientos con HR, al final del ensayo, se han comportado de forma estadísticamente similar al tratamiento con mayor adición de SO₂, lo que nos hace pensar que la actividad antimicrobiana entre ambos productos es equivalente.

4. Conclusiones

El objetivo del estudio fue comparar la capacidad como antiséptico en vinos del HR frente a la del Anhídrido Sulfuroso en unas condiciones de temperatura ambiental tal y como se mantendrían en el mercado.

En su actividad como antiséptico, del estudio realizado se concluye que el HR se comporta de forma similar al anhídrido sulfuroso, incluso con menores concentraciones.

VINO		ACIDEZ VOLÁTIL						
TRATAMIENTO	Día 1	Día 13	Día 36	Día 63				
1.- 10 mg/L HR	0,50	0,57	0,68	0,90				
2.- 25 mg/L HR	0,49	0,48	0,47	0,52				
3.- 50 mg/L HR	0,49	0,48	0,49	0,51				
4.- 100 mg/L HR	0,50	0,48	0,48	0,54				
5.- 150 mg/L HR	0,49	0,47	0,48	0,53				
6.- 22 mg/L SO ₂ Libre	0,49	0,61	0,70	0,75				
7.- 45 mg/L SO ₂ Libre	0,49	0,42	0,47	0,48				
8.- Testigo	0,49	0,62	0,96	1,17				
Diferencias mínimas significativas al final del ensayo de acidez volátil en el Vino								
Tratamiento	1	2	3	4	5	6	7	8
Día 63	ab	c	c	c	c	bc	c	a

Tabla 3.2. Evolución de la acidez volátil. Los tratamientos con la misma letra no tienen diferencias significativas entre ellos.

Bibliografía

- 1) BARTLEY, I. M. y KNEE, M. (1982). *The chemistry of textural changes in fruit during storage*. Food Chemical 2: 47-58.
- 2) MELFORD, A.J. y PRAKASH, M.D. (1986). *Postharvest changes in fruit cell wall*. Adv. Food Res. 30: 139-180.
- 3) FRAZIER, W.C., WESTHOFF, D.C. (1993). *Microbiología de los Alimentos. 4ª edición*. Editorial Acribia S.A.
- 4) ZAMORA MARÍN F. (2005) "El anhídrido sulfuroso; algunas reflexiones sobre este aditivo". Artículo científico publicado en la revista *Enólogos* nº 38 (noviembre-diciembre 2005).
- 5) KING, A. D., PONTING, J. D., SANSHUCK, D. W., JACKSON, R., MIHARA, K. (1981) *Factors affecting death of yeast by sulphur dioxide*. J. Food Prot., 44, 92-97.
- 6) REHM, H. J. (1964) "The antimicrobial action of sulphurous acid" en *Microbial inhibitors in Food*. Ed. Molin. Estocolmo. Suecia.
- 7) OUGH, C. S., CROWELL, E. A. (1987) *Use of sulphur dioxide in winemaking*. J. Food Sci., 52, 386-389.
- 8) BERG, H. W., FILLIPELLO, F., HINREINER, E., WEBB, A. D.



Es un placer

EN LA SEDE DEL CONSEJO REGULADOR SE DISPONE DE UN ESPACIO DEDICADO A LA VENTA DE NUESTROS VINOS: LA TIENDA DEL CONSEJO



Consejo Regulador de la Denominación de Origen Tacoronte-Acentejo.
Carretera General del Norte, 97. 38350 – Tacoronte – Tenerife.
Tel. 922 560107 – Fax. 922 561155

- (1955) *Evaluation of threshold and minimum difference concentrations of various constituents of wines: I. Water solutions of pure substances.* *Food Tech.*, 9, 23-26.
- 9) **AMANO, Y., KUBOTA, M., KAGAMI, M.** (1979) *Oxygen uptake of Koshu grape must and its control.* *Hokkougaku Kaishi*, 57, 92-101.
- 10) **RIBEREAU-GAYON, P., DUBOURDIEU, D., DONECHE, B., LONVAUD, A., GLORIES, Y., BERTRAND, A., MAUJEAN, A.** (1998) *Presence et signification dans les moûts et les vins de la tyrosinase du raisin.* *Conn. Vigne Vin*, 7, 283-292.
- 11) **SAYAVEDRA-SOTO, L. A., MONTGOMERY, M. W.** (1986) *Inhibition of polyphenoloxidase by sulfite.* *J. Food Sci.*, 51, 1531-1536.
- 12) **BLOUIN, J.** (1966) *Contribution a l'étude des combinaisons de l'anhydride sulfureux dans les moûts et les vins.* *Ann. Technol. Agr.*, 25, 223-287.
- 13) **BURROUGHES, L. F., SPARKS, A. H.** (1973) *Sulphite-binding power of wines and ciders I. Equilibrium constants for the dissociation of carbonyl bisulphite compounds.* *J. Sci. Food Agric.*, 24, 187-198.
- 14) **FLANCY, C.** (1998). *Œnologie; Fondements scientifiques et technologiques.* Ed. Lavoisier, Paris.
- 15) **LAFON-LAFOURCADE S., GENEIX C. Y RIBEREAU-GAYON P.**, (1984). *Inhibition of alcoholic fermentation of grape must by fatty acids produced by yeasts and their elimination by yeast ghosts.* *Appl. Environ. Microbiol.*, 47, 1246-1249.
- 16) **TAYLOR, S. L., HIGLEY, N.A. y BUSH, R.K.** (1986). *Sulfites in food, uses, analytical methods, residues, fate, exposure assessment, metabolism, toxicity and hypersensitivity.* *Advances in Food Research* 30: 1-76.
- 17) **LANGDON, T. T.** (1987). *Prevention of browning in prepared potatoes without the use of sulfiting agents.* *Food Technology* 41: 64-67.
- 18) **MCEVILY, A.J., R. IYENGAR y W.S. OTWELL** (1991). *Sulphite alternatives prevents shrimp melanosis.* *Food Technology* 45(9): 80-86.
- 19) **LEONARD, V.** (1924). *Hexylresorcinol: New development and clinical application of a synthetic compound possessing the experimental requirement of an ideal urinary antiseptic.* *Journal of Urology* 12: 585-610.
- 20) **MONSALVE-GONZÁLEZ, A., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., CAVALIERI, R.P., MCEVILY, A. y IYENGAR, R.** (1993). *Control of browning during storage of apple slices preserved by combined methods. 4-hexilresorcinol as anti-browning agent.* *Journal of Food Science.* 58: 797-800, 826.
- 21) **LUO, Y. y G. V. BARBOSA-CANOVAS** (1995). *Inhibition of apple-*

- slices browning by 4-hexilresorcinol.* En: Lee, C.Y. and J.R. Whitaker, ACS Symposium Series 600. Washington DC: American Chemical Society. p. 240-250.
- 22) **WHITAKER, J. R. y LEE, C. Y.** (1995). *Recent advances in chemistry of enzymatic browning.* En: *Enzymatic browning and its prevention.* Washington, DC, USA. ACS Symposium Series 600, pp. 2-7.
- 23) **LUO, Y. y BARBOSA-CANOVAS G. V.** (1996). *Enzymatic browning and its inhibition in new apple cultivars slices using 4-hexilresorcinol in combination with ascorbic acid.* *Food Science and Technology International* (1997) 3, 195-201.
- 24) **MAQUIEIRA, A., DE CASTRO, M. D. L., VALCÁRCEL, M.**, (1987). *Determination of reducing sugars in wine by flow injection analysis.* *Analyst* 1987, 112 (pp. 1569-1572).
- CODEX ALIMENTARIUS**, programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. *Comisión del Codex Alimentarius.* 23º período de sesiones, Roma, Italia, 28 de junio – 3 de julio de 1999. Informe de la 31ª reunión del comité del codex sobre aditivos alimentarios y contaminantes de los alimentos La Haya, Países Bajos, 22-26 de marzo de 1999. Puntos 72 y 73.
- COMITÉ ECONÓMICO Y SOCIAL EUROPEO.** *Dictamen del Comité Económico y Social Europeo sobre la «Propuesta de Directiva del Parlamento Europeo y del Consejo por la que se modifica la Directiva 95/2/CE relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes y la Directiva 94/35/CE relativa a los edulcorantes utilizados en los productos alimenticios» COM(2004) 650 final – 2004/0237 (COD) (2005/C 255/11).* Puntos 3.7.1 y 3.7.2.
- CONSEJO Y PARLAMENTO EUROPEO.** *Directiva 2006/52/ce del Parlamento europeo y del Consejo de 5 de julio de 2006 por la que se modifica la Directiva 95/2/CE relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes y la Directiva 94/35/CE relativa a los edulcorantes utilizados en los productos alimenticios.* Punto 19.



facebook.com/tacovin twitter.com/tacovin

www.tacovin.com consejo@tacovin.com