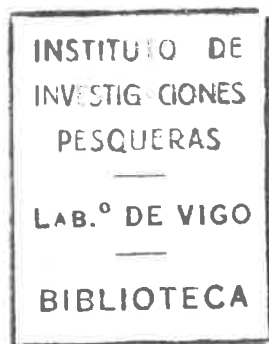


Inf. Técn. Inst. Inv. Pesq.	53	1978
-----------------------------	----	------



El problema del pardeamiento en conservas de pescado blanco.*

Por

L. PASTORIZA ** y M. LÓPEZ-BENITO **

INTRODUCCIÓN

El desarrollo del pardeamiento en conservas de pescado blanco está íntimamente ligado a la reacción entre aminoácidos y azúcares presentes. Esta reacción fue estudiada por MAILLARD (1912) que demostró la formación de compuestos nitrogenados oscuros y sabores desagradables, lo que justifica la importancia industrial alcanzada por sus investigaciones, así como también que actualmente los problemas de pardeamiento constituyan tema de programa en muchos laboratorios que dedican su esfuerzo a mejorar los procesos de fábrica.

El estudio del pardeamiento, fue abordado también desde el punto de vista químico por BHAGAT y col. (1948); WOLFROM, M. L. y col. (1948 y 1974); HODGE, J. (1953); JONES, N. R. (1959); SPARK, A. (1969) y BARNES, M. (1947) que enfoca el aspecto industrial de la reacción.

En este trabajo y al objeto de determinar la influencia de los diferentes tratamientos térmicos que sufre el pescado en el proceso de fabricación, sobre las reacciones azúcares-aminoácidos, así como los correspondientes oscurecimientos a que estas reacciones dan lugar, hemos estudiado espectrofotométricamente la reacción citada en condiciones similares a las de la esterilización industrial.

Se estudian también las modificaciones de color del pescado blanco a diferentes temperaturas y tiempos de esterilización y el efecto de varios inhibidores de pardeamiento.

* Recibido el 29 de junio de 1977.

** Laboratorio del Instituto de Investigaciones Pesqueras. Muelle de Bouzas. VIGO.

PARTE EXPERIMENTAL

Para el conocimiento de la reacción de pardeamiento que se presenta en los pescados blancos durante el proceso de esterilización y que es atribuida a los compuestos de interacción entre aminoácidos y azúcares, hemos ensayado el comportamiento de las siguientes disoluciones acuosas:

- Disolución de ribosa 2×10^{-3} M. y glicina 2×10^{-3} M.
- Disolución de ribosa 10^{-2} M. y glicina 10^{-2} M.
- Disolución de ribosa 2×10^{-2} M. y glicina 2×10^{-2} M.

A partir de cada una de estas disoluciones se hicieron otras en las cuales la relación Molar ribosa-glicina variaba en las proporciones: 1 : 1, 1 : 2, 1 : 5 y 1 : 10.

En todos los casos las disoluciones se trataron con $\text{PO}_4\text{H Na}_2$, hasta $\text{pH} = 6,8$.

Las disoluciones de ribosa y glicina a las que acabamos de referirnos fueron sometidas a diferentes esterilizaciones similares a las que se utilizan habitualmente en las fábricas de conservas de pescado: 110°C -75 minutos, 115°C -90 minutos y 120°C -60 minutos.

Por otra parte se estudió la influencia de las condiciones de esterilización 110°C -75 minutos; 115°C -90 minutos y 120°C -60 minutos sobre los caracteres organolépticos de conservas de merluza en salmuera, en salsa de tomate y en aceite, dedicando especial atención a los posibles pardeamientos que se presentan a los distintos tratamientos térmicos.

También se determinó la influencia de la concentración de sacarosa, glucosa y ribosa sobre el pardeamiento de conservas de merluza en aceite, salsa de tomate y al natural, al objeto de averiguar cuál de estos azúcares produce un mayor oscurecimiento en el producto terminado. Las concentraciones de los azúcares variaban entre 0,35 %, 0,70 %, 2,15 % y 4,30 %.

Los pardeamientos en el caso de las disoluciones de azúcares y aminoácidos se midieron con espectrofotómetro VARIAN TECHTRON 635 y visualmente comparados con patrones y de acuerdo con un baremo previamente establecido en el caso de las conservas de merluza.

Se hizo asimismo un estudio de la acción de inhibidores del pardeamiento. Las concentraciones de estos inhibidores fueron de 0,03 %; 0,06 %; 0,12 %; 0,24 %; 0,50 %; 1 %; 1,5 %; 2 % y 3 %.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Estudio espectrofotométrico de las disoluciones de ribosa-glicina a pH = 6,8

En la figura 1 se representan las curvas de absorción entre 180 y 310 mμ de disoluciones de ribosa-glicina en distintas condiciones: a temperatura ambiente, y a temperaturas de esterilización de 110° C-75 minutos; 115° C-90 minutos y 120° C-60 minutos, en las relaciones molares que se indican, operando a pH = 6,8. En todas las disoluciones la concentración de ribosa era igual a 2×10^{-2} M.

En las figuras 2 y 3 se representan las curvas de absorción entre 180 y 310 mμ de disoluciones de ribosa-glicina, en iguales condiciones que las correspondientes a las curvas de la figura 1, pero a partir de disoluciones de azúcar-aminoácido más diluidas. La concentración inicial de ribosa-glicina era de 10^{-2} M. (fig. 2) y de 2×10^{-3} M. (fig. 3). A partir de estas disoluciones y al objeto de llevar a cabo el estudio espectrofotométrico de la reacción, se hicieron las disoluciones correspondientes a las relaciones molares que se indican.

En la figura 4 se representa la variación de la absorción a $\lambda = 430$ mμ en función de la concentración, de las disoluciones de ribosa-glicina.

Para cada concentración, se hicieron tres tipos de ensayos a diferentes temperaturas y tiempos: 110° C-75 minutos; 115° C-90 minutos y 120° C-60 minutos.

Las familias de curvas de absorción de ribosa-glicina de las figuras 1 y 2 presentan dos máximos, uno en el rango de $\lambda = 190$ -210 mμ y otro correspondiente a $\lambda = 275$ -285 mμ, que dependen de la relación molar azúcar-aminoácido, así como también de las temperaturas y tiempos de esterilización.

El primer máximo ($\lambda = 190$ -210 mμ) corresponde a la absorción de los reactivos como hemos podido comprobar haciendo el estudio espectrofotométrico de la ribosa y glicina por separado.

Estudio del pardeamiento de conservas de merluza con distintos líquidos de gobierno en función de diferentes tipos de esterilización

Se prepararon conservas de merluza, al natural (disolución de sal al 2 %), en aceite y en salsa de tomate.

Cada una de las preparaciones fue sometida a tres tipos de esterilización: 110° C-75 minutos; 115° C-90 minutos y 120° C-60 minutos, realizándose finalmente en todas ellas un juicio organoléptico, cuyos resultados se reflejan en el cuadro II.

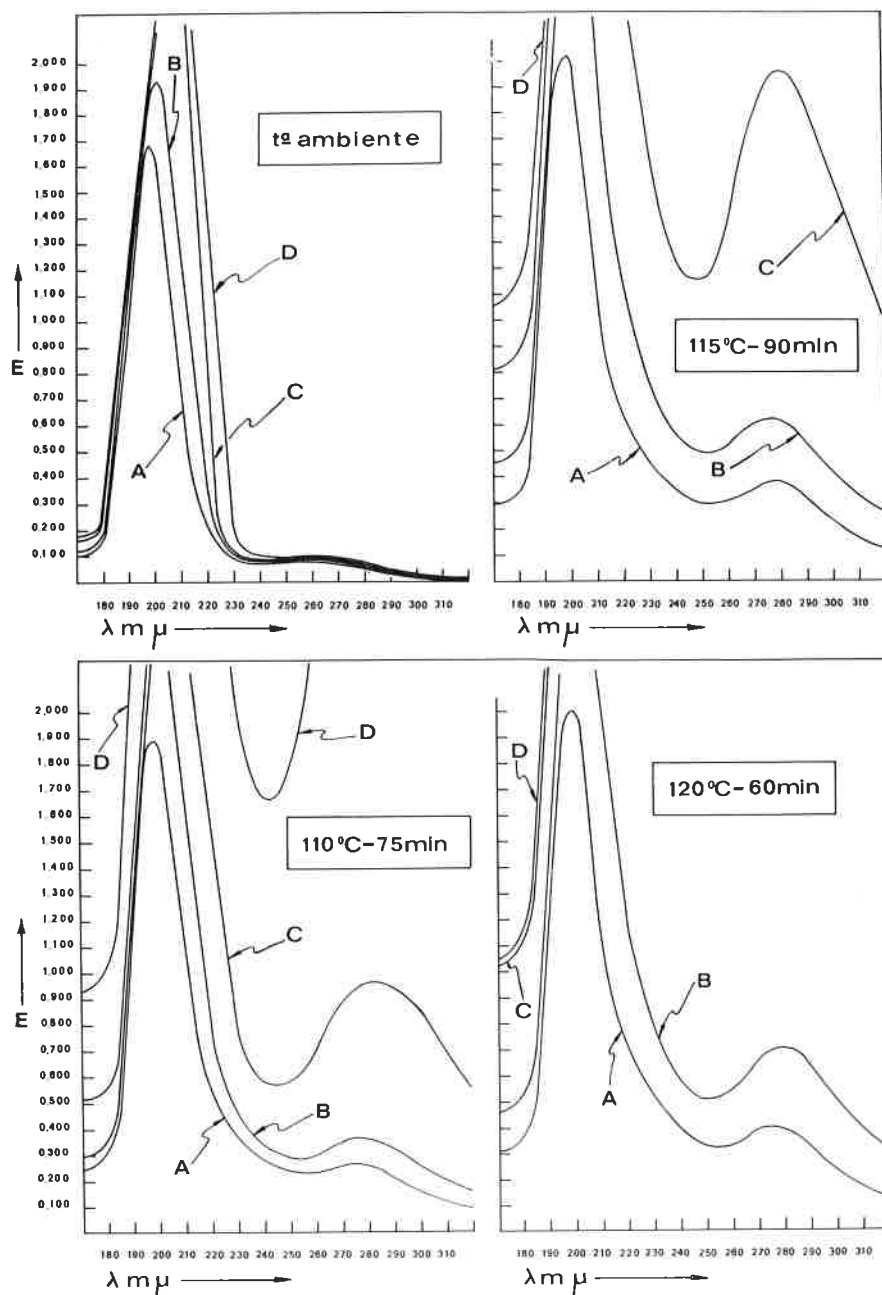


Fig. 1.—Espectros de absorción de disoluciones acuosas de ribosa con glicina en las relaciones molares que se indican y a pH = 6,8 para temperatura ambiente y diferentes temperaturas y tiempos de esterilización. Concentración de ribosa = 2×10^{-2} M.; A: ribosa-glicina 1 : 1; B: ribosa-glicina = 1 : 2; C: ribosa-glicina = 1 : 5; D: ribosa-glicina = 1 : 10.

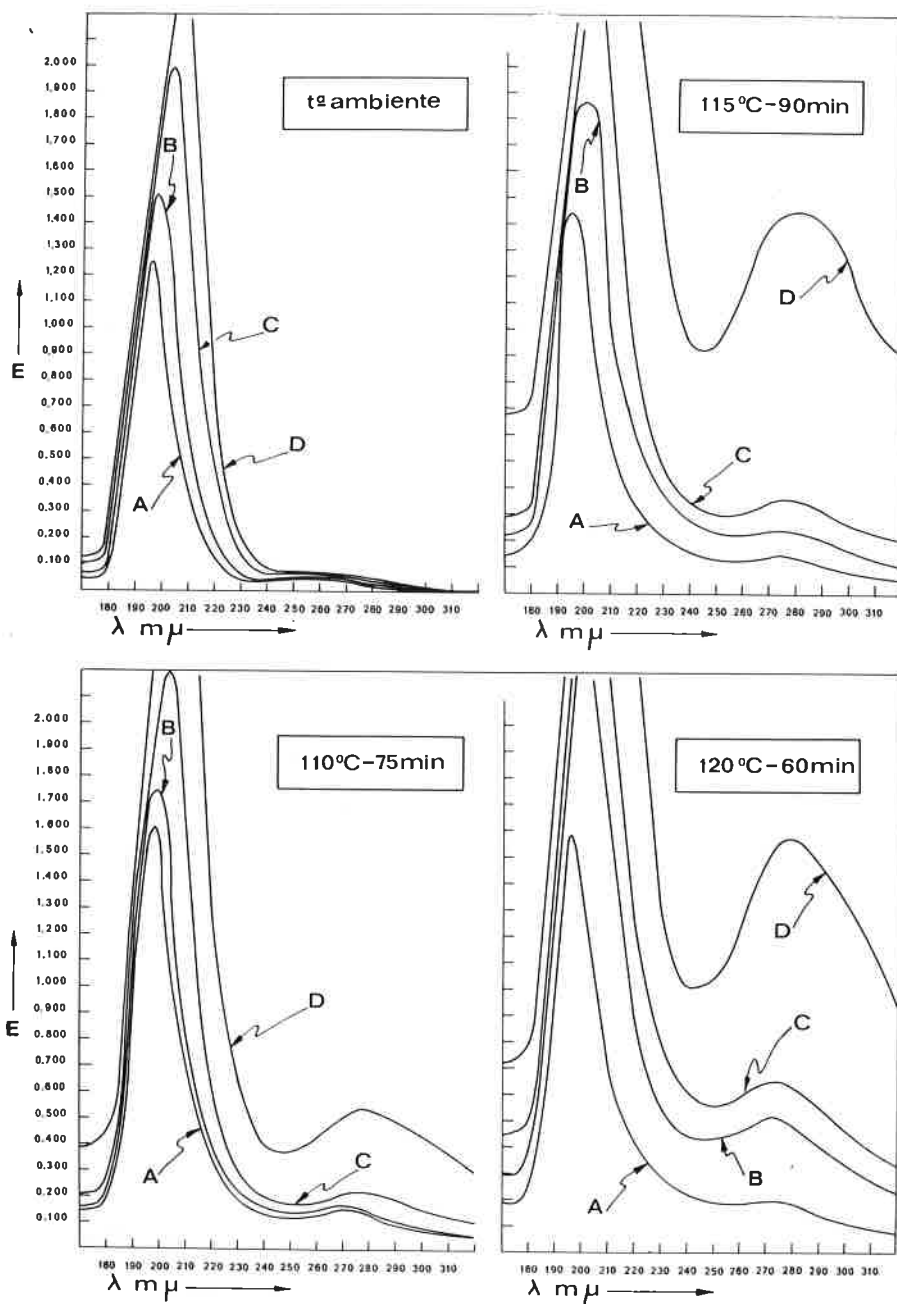


Fig. 2. — Espectros de absorción de disoluciones acuosas de ribosa con glicina en las relaciones molares que se indican y a pH = 6,8 para temperatura ambiente y diferentes temperaturas y tiempos de esterilización. Concentración de ribosa = 10^{-2} M.; A: ribosa-glicina = 1 : 1; B: ribosa-glicina = 1 : 2; C: ribosa-glicina = 1 : 5; D: ribosa-glicina = 1 : 10.

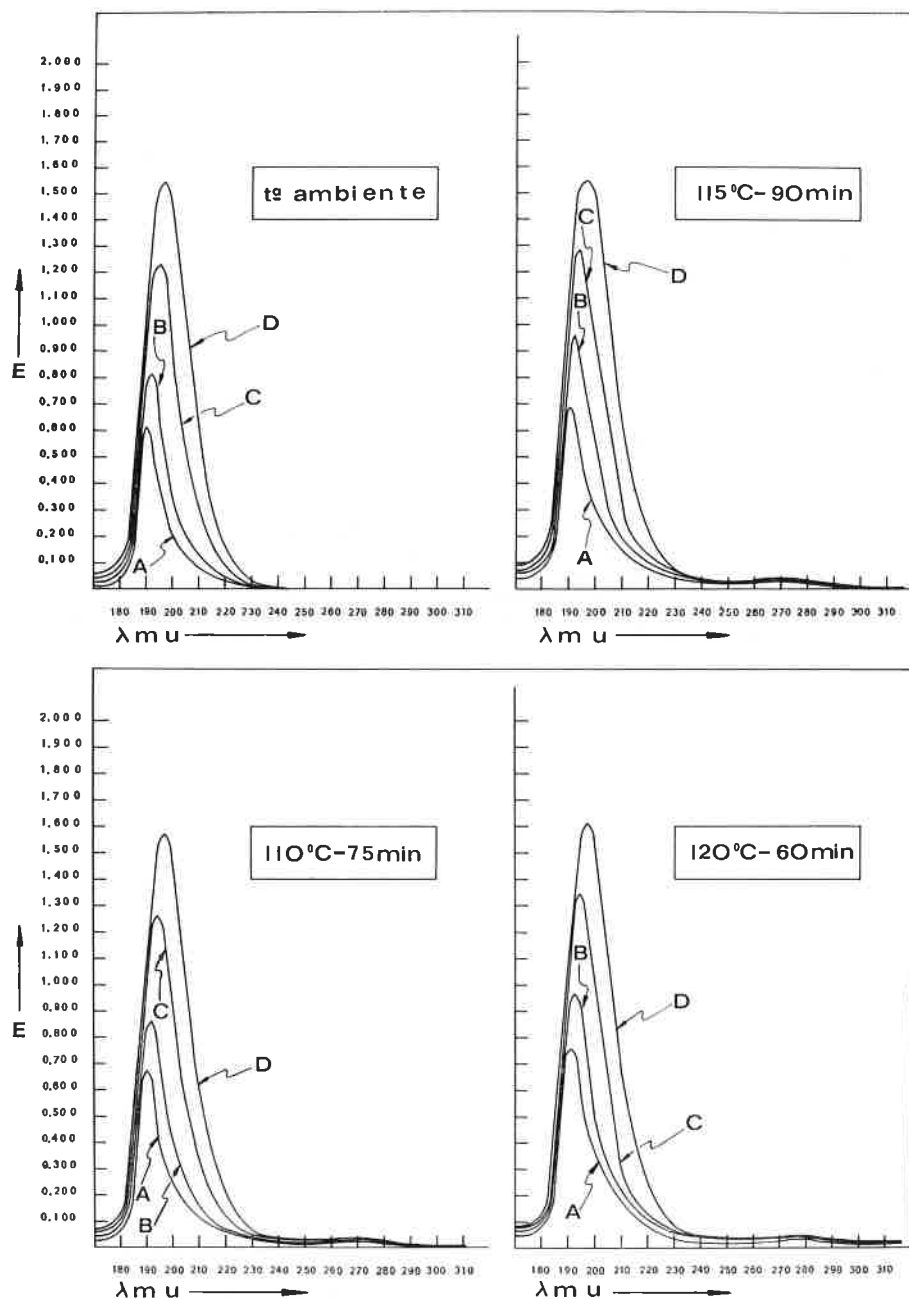


Fig. 3.—Espectros de absorción de disoluciones acuosas de ribosa con glicina en las relaciones molares que se indican y a pH = 6,8 para temperatura ambiente y diferentes temperaturas y tiempos de esterilización. Concentración de ribosa = 2×10^{-3} M.; A: ribosa-glicina = 1 : 1; B: ribosa-glicina = 1 : 2; C: ribosa-glicina = 1 : 5; D: ribosa-glicina = 1 : 10.

CUADRO I

Valores de la absorción a 430 mμ de disoluciones acuosas de ribosa-glicina en las relaciones molares que se indican y diferentes temperaturas y tiempos de esterilización

Conc. ribosa 2×10^{-2} M. Relaciones molares ribosa-glicina	Temperaturas de esterilización		
	110° C-75 min. (E)	115° C-90 min. (E)	120° C-60 min. (E)
A - 1 : 1	0,018	0,022	0,026
B - 1 : 2	0,032	0,047	0,057
C - 1 : 5	0,052	0,116	0,349
D - 1 : 10	0,201	0,360	0,439
Conc. ribosa 10^{-2} M. Relaciones molares ribosa-glicina			
A - 1 : 1	0,007	0,009	0,019
B - 1 : 2	0,012	0,026	0,061
C - 1 : 5	0,015	0,027	0,075
D - 1 : 10	0,021	0,085	0,115
Conc. ribosa 2×10^{-3} M. Relaciones molares ribosa-glicina			
A - 1 : 1	0,001	0,002	0,004
B - 1 : 2	0,002	0,003	0,005
C - 1 : 5	0,003	0,005	0,006
D - 1 : 10	0,005	0,006	0,007

Se observa un pardeamiento apreciable en las conservas de merluza al natural y en aceite, que se incrementa con el tratamiento térmico. Pero en el caso de las conservas en tomate el oscurecimiento llega a límites inaceptables, lo que demuestra que el tomate es el responsable directo de estos ennegrecimientos que merman notablemente la calidad.

A la vista de estos resultados, que hacen suponer que la composición del tomate, pigmentación, contenido en hidratos de carbono, caramelización, etc. activa enérgicamente el proceso de pardeamiento, hemos ensayado la fabricación de conservas de merluza a las que se les adicionaban diferentes cantidades de sacarosa, glucosa y ribosa (cuadro III) y realizado también unos ensayos de variación del color de la salsa de tomate en función del procesamiento térmico.

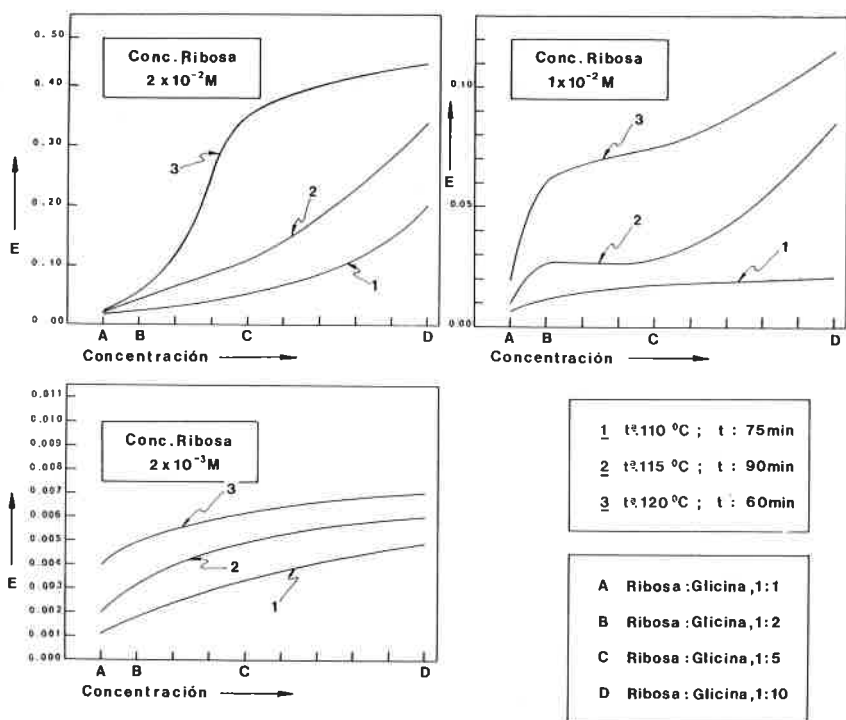


Fig. 4.—Variación de la absorción a $\lambda = 430 m\mu$ en función de la concentración de las disoluciones de ribosa-glicina a diferentes temperaturas y tiempos de esterilización.

CUADRO II

Color y apariencia de la conserva de merluza en salmuera, en aceite y en salsa de tomate.
Esterilizaciones: $110^{\circ} C$ -75 minutos, $115^{\circ} C$ -90 minutos y $120^{\circ} C$ -60 minutos

Líquido de gobierno	Calificación de color y apariencia		
	$110^{\circ} C$ - 75 min. (Puntos)	$115^{\circ} C$ - 90 min. (Puntos)	$120^{\circ} C$ - 60 min. (Puntos)
Salmuera	5	4	3
Aceite	5	4	3
Tomate	2	1	1

Baremo empleado en la calificación

Puntos	Calificación
0	Inaceptable
1	Inaceptable
2	Inaceptable
3	Aceptable
4	Bueno
5	Excelente

Conservas de merluza enriquecidas con azúcares

En el cuadro III se resumen las calificaciones organolépticas de distintas conservas de merluza enriquecidas previamente con sacarosa, ribosa y glucosa, en concentraciones que oscilan entre 0,35 y 4,30 %. Así como la sacarosa no ejerce una acción apreciable sobre el oscurecimiento de la conserva, la glucosa y la ribosa incrementan enérgicamente dicho ennegrecimiento, siendo más activa la ribosa.

CUADRO III

Calificación de color y apariencia de la conserva de merluza enriquecida con sacarosa, ribosa y glucosa. Esterilización: 120° C-60 minutos

<i>Líquido de gobierno</i>	<i>Azúcar</i>	<i>Azúcar Concentración %</i>	<i>Calificación (Puntos) color y aparición</i>
Salmuera	Sacarosa	0,35	3,0
		0,71	3,0
		2,15	3,0
		4,30	3,0
	Ribosa	0,35	1,5
		0,71	1,0
		2,15	0
		4,30	0
	Glucosa	0,35	2,5
		0,71	2,0
		2,15	1,5
		4,30	1,0
Aceite	Sacarosa	0,35	3,0
		0,71	3,0
		2,15	3,0
		4,30	3,0
	Ribosa	0,35	1,5
		0,71	1,0
		2,15	0
		4,30	0
	Glucosa	0,35	2,5
		0,71	2,5
		2,15	1,5
		4,30	1,5

CUADRO III (Continuación)

Líquido de gobierno	Azúcar	Azúcar Concentración %	Calificación (Puntos) color y aparición
Salsa de tomate	Sacarosa	0,35	1,5
»	»	0,71	1,5
»	»	2,15	1,5
»	»	4,30	1,5
»	Ribosa	0,35	0,5
»	»	0,71	0,2
»	»	2,15	0
»	»	4,30	0
»	Glucosa	0,35	1,5
»	»	0,71	0,8
»	»	2,15	0,5
»	»	4,30	0,2

Estudio de la variación de la absorción a 470 mμ del extracto de tomate en hexano

Procedimiento. — 50 g de pulpa de tomate se concentraron en rota-vapor hasta casi sequedad. Se toma una parte alícuota, aproximadamente 5 g que se extrae con hexano por agitación en un SORVAL OMNIMIXER. Esta extracción se hace en tres etapas empleando en cada una de ellas 35 cc de disolvente. El extracto en hexano se lleva a un volumen de 80 cc, se toma 1 cc, se diluye a 10 cc con hexano y se mide la absorción en un espectrofotómetro VARIAN a 470 mμ.

Por otra parte preparamos tres tipos de conservas de pulpa de tomate esterilizadas a 110° C-75 minutos; 115° C-90 minutos y 120° C-60 minutos, realizándose en cada una de ellas, la extracción del tomate con hexano y la medida espectométrica a 470 mμ de la misma manera que expusimos anteriormente.

Como se aprecia en los resultados obtenidos que se expresan en el Cuadro IV, la absorción a 470 mμ de los diferentes extractos de tomate en hexano se incrementa ligeramente cuando se esteriliza a 110° C-75 minutos, si se compara con la absorción inicial del tomate sin esterilizar. Esta absorción asciende bruscamente en las muestras esterilizadas a 115° C-90 minutos y 120° C-60 minutos, lo que justifica el hecho observado por nosotros en las conservas de pescado blanco que consistía en que las conservas esterilizadas a 115° C-90 minutos presentaban un pardeamiento mucho más acusado que aquellas otras que fueron tratadas a 110° C-75 minutos.

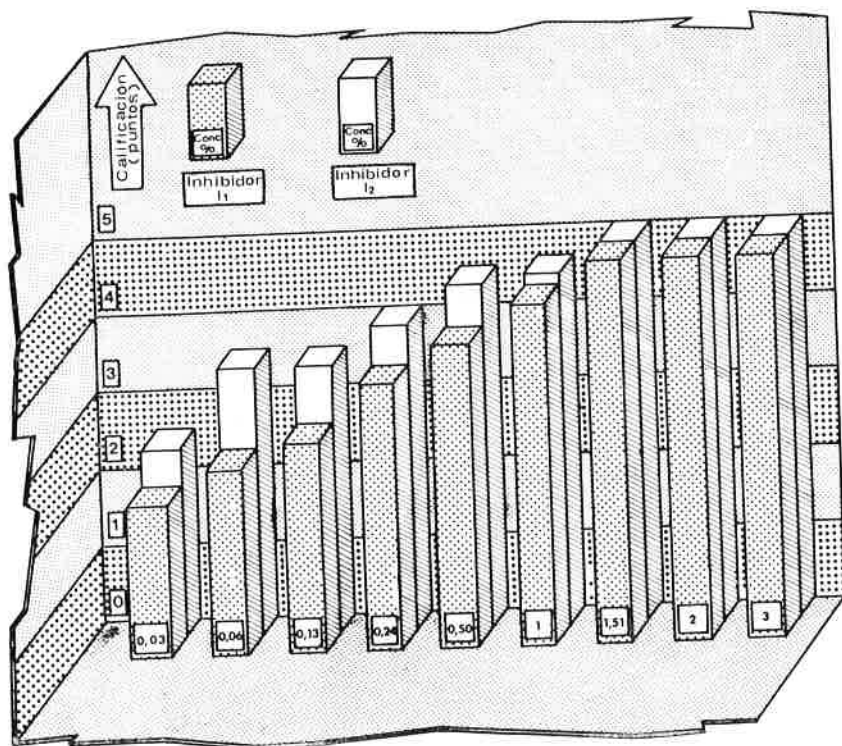


Fig. 5. — Conservas de merluza en salsa de tomate. Medida del grado de oscurecimiento en función de la concentración de los inhibidores I_1 e I_2 .
Calificación (Puntos): 0, 1, 2 = inaceptable; 3 = aceptable; 4 = bueno; 5 = excelente.

CUADRO IV

Medida de la absorción a $470\text{ m}\mu$ de los extractos de tomate en hexano sin esterilizar y a diferentes temperaturas y tiempos de esterilización

	Sin esterilizar	Esterilizadas		
		110° C- 75 min.	115° C- 90 min.	120 C- 60 min.
Absorvancia (E)	0,246	0,297	0,458	0,580

Estudio de la inhibición del pardeamiento

Hemos ensayado diferentes compuestos químicos de los que se podía esperar una acción inhibitoria de la reacción de pardeamiento. Los resultados han sido satisfactorios. No obstante es preciso determinar minucio-

samente las posibles reacciones secundarias a través de largos períodos de tiempo de almacenamiento con un estudio del comportamiento de las conservas tratadas.

Por este motivo, no consideramos oportuno aconsejar a las factorías el empleo de estos inhibidores mientras no hayamos finalizado dicho estudio.

De los inhibidores por nosotros empleados: I_1 e I_2 , el I_1 fue ensayado en primer lugar en disoluciones acuosas de ribosa-glicina en las condiciones en las que se produce el pardeamiento para observar el efecto frenador de este incremento de color.

Efecto del inhibidor I_1 en la reacción de pardeamiento ribosa-glicina
Absorciones a 450 m μ . Esterilización 120° C-60 minutos

E = 0,198	Conc. ribosa 2×10^{-2} M.	E = 0,129	Conc. ribosa 2×10^{-2} M.	E = 0,063	Conc. ribosa 2×10^{-2} M.
	Conc. glicina 10^{-1} M.		Conc. glicina 10^{-1} M.		Conc. glicina 10^{-1} M.
			Conc. I_1 2×10^{-2} M.		Conc. I_1 10^{-1} M.

Efecto de los inhibidores I_1 e I_2 en conservas de merluza

Se hicieron ensayos empleando los inhibidores de pardeamiento en conservas de merluza con distintos líquidos de gobierno: salsa de tomate, salmuera al 2 % y aceite. Las concentraciones de inhibidor oscilaban entre 0,03 % y 3 %.

Los resultados de estas experiencias se expresan en los cuadros V y VI en donde se califican además del color dependiente del pardeamiento, otros caracteres organolépticos tales como: sabor, aroma, textura y consistencia.

Como es sabido, el pardeamiento se desarrolla mucho más enérgicamente en conservas con tomate que en aquellas otras en aceite o al natural. De aquí que en estas últimas preparaciones se necesite menos concentración de inhibidor para alcanzar buenos resultados.

CUADRO V

Caracteres organolépticos de conserva de merluza en salsa de tomate, en salmuera del 2 % y en aceite, después del tratamiento con inhibidor I₁. Esterilización 110° C-75 minutos.

<i>Líquido de gobierno</i>	<i>Concentración I₁ %</i>	<i>Calificación (Puntos)</i>		
		<i>Color</i>	<i>Sabor y aroma</i>	<i>Textura y consistencia</i>
Salsa de tomate	0,03	2,0	5,0	5,0
30	0,06	2,5	5,0	5,0
30	0,12	2,8	5,0	5,0
30	0,24	3,5	5,0	5,0
30	0,50	4,0	5,0	5,0
30	1,00	4,5	4,5	4,5
30	1,50	5,0	4,0	4,0
30	2,00	5,0	3,5	3,0
30	3,00	5,0	3,0	3,0
Salmuera	0,03	5,0	5,0	5,0
30	0,06	5,0	5,0	5,0
30	0,12	5,0	5,0	5,0
30	0,24	5,0	5,0	5,0
30	0,50	5,0	5,0	5,0
30	1,00	5,0	4,5	4,5
30	1,50	5,0	4,0	4,0
30	2,00	5,0	3,5	3,0
30	3,00	5,0	3,0	3,0
Acelte	0,03	5,0	5,0	5,0
30	0,06	5,0	5,0	5,0
30	0,12	5,0	5,0	5,0
30	0,24	5,0	5,0	5,0
30	0,50	5,0	5,0	5,0
30	1,00	5,0	4,5	4,5
30	1,50	5,0	4,0	4,0
30	2,00	5,0	3,5	3,0
30	3,00	5,0	3,0	3,0

CUADRO VI

Caracteres organolépticos de conserva de merluza en salsa de tomate, en salmuera del 2 % y en aceite, después del tratamiento con inhibidor I₂. Esterilización 110° C-75 minutos

<i>Líquido de gobierno</i>	<i>Concentración I₂ %</i>	<i>Calificación (Puntos)</i>		
		<i>Color</i>	<i>Sabor y aroma</i>	<i>Textura y consistencia</i>
Salsa de tomate	0,03	2,5	5,0	5,0
"	0,06	3,5	5,0	5,0
"	0,12	3,5	5,0	5,0
"	0,24	4,0	4,5	5,0
"	0,50	4,5	4,5	5,0
"	1,00	4,6	3,5	4,5
"	1,50	5,0	2,0	4,0
"	2,00	5,0	1,0	3,0
"	3,00	5,0	0,0	3,0
Salmuera	0,03	5,0	5,0	5,0
"	0,06	5,0	5,0	5,0
"	0,12	5,0	5,0	5,0
"	0,24	5,0	5,0	5,0
"	0,50	5,0	4,0	5,0
"	1,00	5,0	2,5	4,5
"	1,50	5,0	2,0	4,0
"	2,00	5,0	1,0	4,0
"	3,00	5,0	0,0	3,0
Aceite	0,03	5,0	5,0	5,0
"	0,06	5,0	5,0	5,0
"	0,12	5,0	5,0	5,0
"	0,24	5,0	5,0	5,0
"	0,50	5,0	5,0	5,0
"	1,00	5,0	4,0	5,0
"	1,50	5,0	2,0	4,5
"	2,00	5,0	1,0	4,0
"	3,00	5,0	0,0	3,0

Baremo empleado en la calificación

<i>Puntos</i>	<i>Calificación</i>
0	Inaceptable
1	Inaceptable
2	Inaceptable
3	Aceptable
4	Bueno
5	Excelente

RESUMEN

El problema del pardeamiento, que suele presentarse en pescados blancos durante el proceso de la conserva, origina importantes mermas en la calidad y constituye un tema de estudio de trascendencia industrial.

Es conocido que las reacciones entre azúcares y aminoácidos, las caramelizaciones de los azúcares cuando son sometidos a elevadas temperaturas y las reacciones oxidativas, son los factores determinantes de dichos pardeamientos.

En este trabajo se estudia la influencia de las condiciones de esterilización sobre el oscurecimiento del pescado blanco sometido al proceso de la conserva.

Se comparan también los resultados de estas experiencias con los que se obtienen en el estudio espectrofotométrico de la reacción ribosa-glicina en condiciones similares a las de la esterilización industrial.

Los procesamientos tomados como tipo fueron: 110° C-75 minutos, 115° C-90 minutos y 120° C-60 minutos.

Como pescado blanco se eligió la merluza, estudiando su comportamiento en conservas fabricadas con distintos líquidos de gobierno: salmuera, aceite y salsa de tomate y diferentes tipos de esterilización.

Se observó que el pardeamiento del pescado se mantenía en niveles lógicos en las conservas en aceite y al natural, mientras que dicho pardeamiento se incrementaba de forma muy considerable en las conservas en tomate, en cuyas preparaciones los oscurecimientos al aumentar la intensidad de la esterilización eran de tal magnitud que hacían inaceptable la conserva para su comercialización.

A la vista de todo ello se hizo un estudio de la influencia de la sacarosa, ribosa y glucosa sobre el pardeamiento de conservas de merluza y se determinó también la influencia térmica sobre el proceso de pardeamiento del tomate.

Por último se ensayó la acción inhibidora del pardeamiento de diferentes compuestos químicos, que fue medida espectrofotométricamente en las disoluciones ribosa-glicina a diferentes concentraciones molares, así como también directamente en las conservas de merluza en salsa de tomate, aceite y salmuera.

SUMMARY

«BROWNING» PROBLEM IN WHITE-FLESHED FISH CANNING. — In this paper we study the influence of the processing characteristics on the browning of white-fleshed fish canning.

We compare also the results of these experiences with the ones obtained from the spectrophotometric study of the ribose-glycine reaction in similar conditions to industrial sterilization.

The kinds of processing taken were: 110° C-75 minutes, 115° C-90 minutes and 120° C-60 minutes.

The hake was chosen as white-fleshed fish, studying its behaviour in canning manufactured with different covering-liquids: brine, oil and tomato sauce and several types of sterilization.

It was observed that the fish browning kept in normal levels, in oil and brine canning, while the browning increased considerably in tomato canning, in which, when we increased the sterilization strength, there was a so big darkening that the canning was unacceptable for marketing.

Seeing all this, a study was done about the influence of saccharose, ribose and glucose on browning of hake canning and we determined also the thermic influence on the browning reaction of the tomato.

At last we have assayed the inhibition of the browning reaction with several chemical additives, which was measured spectrophotometrically in the ribose-glycine solutions at different molar ratios, so as also in the hake canning, in tomato sauce, oil and brine.

BIBLIOGRAFÍA

- BARNES, H. M. and C. W. KAUFMAN. — 1947. Industrial aspects of browning reactions. *Ind. Eng. Chem.*, 39 (9): 1.167-1.170.
- DANZIGER, M. T. and col. — 1970. Thermal browning of tomato solids as affected by concentration and inhibitors. *J. Food Sci.*, 35 (6): 808-810.
- HODGE, J. E. — 1953. Dehydrated foods. Chemistry of browning reactions in model systems. *Agric. Food Chem.*, 1 (15): 928-943.
- JONES, N. R. — 1959. «Browning» reactions and the loss of free amino acid and sugar from lyophilized muscle extractives of fresh and chill-stored codling (*Gadus callarias*). *Food Res.*, 24: 704-710.
- 1959. Kinetics of phosphate-buffered, ribose-amino reactions at 40° C and 70 % relative humidity: systems related to the «Browning» of dehydrated and salt cod. *J. Sci. Food Agric.*, 10: 615-625.
- NOBLE, A. C. — 1975. Investigation of the color changes in heat concentrated tomato pulp. *J. Agr. Food Chem.*, 23 (1): 48-49.
- SHERMAN, L., G. L. MARSH and col. — 1975. Chemical, physical and biological aspects of canned whole peeled tomatoes thermally processed by steriflamme. *J. Food Sci.*, 40 (2): 254-256.
- SINGH, B.; G. R. DEAN and S. M. CANTOR. — 1948. The role of 5-(hydroxymethyl)-furfural in the discoloration of sugar solutions. *J. Am. Chem. Soc.*, 70: 517-522.
- SPARK, A. A. — 1969. Role of amino acids in non-enzymic browning. *J. Sci. Food Agric.*, 20: 308-316.
- WOLFROM, M. L.; R. D. SCHUETZ and L. F. CAVALIERI. — 1948. Chemical interactions of amino compounds and sugars. III. The Conversion of D-Glucose to 5-(Hydroxymethyl)-2-furaldehyde. *J. Am. Chem. Soc.*, 70: 514-517.
- WOLFROM, M. L.; N. KASHIMURA AND D. HORTON. — 1974. Factors affecting the Maillard browning reaction between sugars and Amino acids. Studies on the Non-enzymic Browning of dehydrated orange juice. *J. Agr. Food Chem.*, 22 (5): 796-800.