



# Evaluación de las propiedades nutritivas, funcionales y sanitarias de la cerveza, en comparación con otras bebidas

Febrero 1999

Dr. José M<sup>a</sup> Sendra y  
Dr. José V. Carbonell

*Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos - Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IATA/CSIC)*



3



# SUMARIO

## Evaluación de las propiedades nutritivas, funcionales y sanitarias de la cerveza, en comparación con otras bebidas

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	4
<b>2</b>	<b>CERVEZA</b> .....	6
	2.1. Composición .....	6
	2.2. Valor calórico .....	10
	2.3. Propiedades funcionales de la cerveza .....	11
	2.3.1. Alcohol etílico .....	11
	2.3.2. Folatos .....	14
	2.3.3. Polifenoles .....	15
	2.3.4. Fibra soluble .....	16
	2.3.5. Maltodextrinas .....	18
	2.3.6. Hidratación y equilibrio osmótico .....	19
	2.3.7. La cerveza como bebida hiposódica .....	19
	2.4. Propiedades nutritivas de la cerveza .....	20
	2.5. Calidad sanitaria de la cerveza .....	23
	2.5.1. Nitrosaminas .....	24
	2.5.2. Aminoácidos biógenos .....	24
	2.5.3. Micotoxinas .....	26
	2.5.4. Pesticidas y herbicidas .....	27
	2.5.5. Metales pesados y elementos-traza .....	28
	2.5.6. Otros compuestos químicos .....	30
	2.5.7. Calidad microbiológica .....	33
<b>3</b>	<b>BEBIDAS REFRESCANTES DE FRUTAS Y EXTRACTOS Y BEBIDAS ISOTÓNICAS</b> .....	34
	3.1. Introducción .....	34
	3.2. Composición general de las bebidas refrescantes .....	35
	3.3. Bebidas para deportistas y otras bebidas con aditivos funcionales .....	38
	3.4. Calidad sanitaria de las bebidas refrescantes .....	40
	3.4.1. Nitrosaminas, aminoácidos biógenos, micotoxinas, pesticidas, metales pesados y arsénico .....	40
	3.4.2. Aditivos utilizados en la formulación de bebidas refrescantes .....	41
	3.4.3. Compuestos químicos diversos .....	43
	3.4.4. Calidad microbiológica de las bebidas refrescantes .....	44
<b>4</b>	<b>EVALUACIÓN GLOBAL DE LA CALIDAD NUTRITIVA Y SANITARIA DE LA CERVEZA RESPECTO A LA DE BEBIDAS REFRESCANTES E ISOTÓNICAS</b> .....	46
	4.1. Valor calórico .....	47
	4.2. Valor nutritivo .....	47
	5.3. Propiedades funcionales .....	48
	5.4. Calidad sanitaria .....	49
<b>5</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	50
	• <b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	51

La cerveza es una bebida natural obtenida por fermentación alcohólica de un extracto acuoso de cebada malteada. Las materias primas necesarias para la fabricación de cerveza son sólo cuatro - malta de cebada, agua, levadura y lúpulo -, aunque la mayoría de las cervezas comerciales utilizan además otra fuente de hidratos de carbono (habitualmente un cereal no malteado), un antioxidante y un estabilizante de la espuma (Lewis y Young, 1995; Castañé, 1997). Durante el proceso de elaboración suelen añadirse enzimas comerciales (carbohidrasas y proteasas, Jager y Puspok, 1979; Hartmeier et al., 1978; Poulter y Caygill, 1985), para favorecer la hidrólisis de los respectivos polímeros aportados por las materias primas, y un colorante, que permite intensificar y uniformizar el color del producto final.

No obstante cualquier cerveza contiene mas de 400 componentes. Muchos de estos componentes proceden de las materias primas y no han sufrido modificaciones en el proceso de elaboración; otros constituyentes, entre los que se encuentran el anhídrido carbónico y el alcohol etílico, son consecuencia de la transformación experimentada por las materias primas. Los componentes de ambos grupos se encuentran siempre presentes en la cerveza y confieren las propiedades nutritivas y funcionales de esta bebida (Williams y Philpott, 1996).

Ocasionalmente se pueden encontrar en la cerveza algunas sustancias, en concentraciones muy minoritarias procedentes, por ejemplo, de la eventual contaminación de las materias primas (plaguicidas, metales pesados, micotoxinas,...) o de la actividad de microorganismos contaminantes que puedan estar presentes junto con la levadura cervecera en la fermentación; este grupo de sustancias guarda estrecha relación con las características sanitarias de la cerveza.

Las bebidas refrescantes no alcohólicas y las bebidas isotónicas constituyen un grupo muy diverso de productos fabricados por mezcla de ingredientes de distintos orígenes: natural (extractos de origen vegetal, azúcar...), microbiano (ácidos, vitaminas...), químico (colorantes, edulcorantes...) y bioquímico (jarabes de alto contenido en fructosa, maltodextrinas...). Por este motivo se prestan al diseño de propiedades nutritivas y funcionales dirigidas a grupos específicos de consumidores: bebidas para niños (sin cafeína), para deportistas, para no engordar (bebidas de muy bajo poder calórico) etc. No obstante, todavía existen muchas lagunas en el conocimiento de las propiedades funcionales de algunos de los ingredientes incluidos (Alsen-Eklof, 1998).

Como en el caso de la cerveza las distintas materias primas utilizadas pueden constituir un vehículo de incorporación de moléculas no deseadas, cuya presen-

cia en el producto final compromete la calidad sanitaria de la bebida. En algunos casos, la presencia de estas moléculas no deseables puede ser consecuencia de procesos de contaminación microbiana, de degradación de algunos de los ingredientes incorporados o de la reacción de diferentes constituyentes entre sí.

La preocupación de los consumidores por el tema de dieta y salud ha promovido, en los países más avanzados, el desarrollo de los llamados “alimentos funcionales”. Esta denominación ha sido un tema muy debatido ya que si se habla de alimentos funcionales deberían existir otros que no lo fueran, lo cual es falso pues todos los alimentos consumidos cumplen alguna función. Lo correcto sería hablar de alimentos ricos en algún componente que aporte unas importantes propiedades funcionales positivas para la salud de un grupo más o menos amplio de consumidores, tales como reducir el riesgo de cáncer, de trastornos circulatorios, o de malformaciones congénitas en el feto. Evidentemente como esta explicación es muy larga es frecuente abreviar y hablar de “alimentos funcionales”, aunque se cometa una clara incorrección conceptual.

El concepto de “alimento funcional” se presta al diseño, modificación y fortificación de alimentos por mezcla, sustitución o adición de algunos constituyentes específicos. Así la literatura sobre “alimentos funcionales” comenta la fortificación con fibra soluble, con minerales, con flavonoides, con ácido fólico (Blenford, 1995), la sustitución de grasas por otras que contengan ácidos grasos de los grupos omega-3 y omega-6 (Martin, 1996), la fortificación con antioxidantes naturales (Burke, 1995), con aminas y aminoácidos específicos, taurina, glutatión, L-carnitina, y con péptidos que potencian el sistema inmunológico (Blenford, 1996). Obviamente muchos de estos ingredientes se encuentran en otros alimentos como la cerveza, por lo que también cabe hablar de la cerveza como “alimento funcional” (Baxter, 1996).

## 2.1. COMPOSICIÓN

Como afirman Hough et al. (1982) las diversas cervezas difieren entre sí por las diferentes proporciones en que están presentes los mismos constituyentes, más que por el hecho de que presenten un componente distinto. No obstante, una contaminación accidental o deliberada de una cerveza con microorganismos o con algún elemento traza podría dar lugar a la presencia de algún constituyente no habitual en las cervezas.

Estos mismos autores clasifican los constituyentes de la cerveza en dos grupos: componentes volátiles y no volátiles. Los primeros tienen una alta presión de vapor y son los responsables del aroma y “bouquet” de la cerveza y se forman fundamentalmente en la etapa de fermentación. Los **componentes volátiles** se encuentran concentrados en el espacio de cabeza de los envases de cerveza y el grupo incluye alcoholes, ésteres, aldehídos, cetonas, ácidos orgánicos, compuestos azufrados, aminas, compuestos fenólicos volátiles, y algunos hidrocarburos y lactonas.

Los componentes no volátiles forman un conjunto más heterogéneo, pues incluye:

- **Compuestos inorgánicos**, que suelen alcanzar globalmente una concentración de 0.5 a 2 gramos por litro. Los compuestos minerales influyen sobre el sabor de la cerveza. Los cloruros dan sensación de plenitud de sabor (fullness), los sulfatos sequedad (dryness), los carbonatos producen efectos muy variados en el sabor, el sodio tiene un efecto importante sobre el sabor global, mientras que el magnesio puede conferir un sabor desagradable. Por otra parte, hierro, plomo, cobre, cinc y estaño pueden producir turbidez en cervezas.

La mayoría de estos componentes proceden exclusivamente de las materias primas de partida, especialmente de la cebada malteada y de los cereales usados como adjuntos. Este es el caso del potasio, sodio, calcio y magnesio entre otros, aunque las concentraciones pueden sufrir cambios importantes en el proceso. El grano de cebada contiene (National Academy of Sciences, 1958):

Elemento	mg / Kg materia seca
Calcio	300 – 4100
Fósforo	2000 – 9200
Potasio	4900 – 9900
Magnesio	100 – 2300
Hierro	40 – 100
Cobre	1,3 – 20
Manganeso	2,4 – 30
Sodio	100 – 600
Azufre	1000 – 3500
Cloro	900 – 1700
Cobalto	0,00 – 0,32
Cinc	11,9 – 20,9

Una parte importante de potasio es absorbida por la levadura y lo mismo ocurre con el fósforo, que sufre además una pérdida adicional al precipitar durante la maceración. Por el contrario, elementos traza como níquel, cromo y estaño llegan a la cerveza procedentes del equipo de proceso o del envase, mientras que el cobre puede proceder del equipo, del envase o de ciertos restos de herbicidas aportados por el lúpulo

La actividad de la levadura y el proceso modifican la relación entre estos compuestos en la cerveza. Piendl (información en <http://www.beer.de/b-110e.html>) da las concentraciones de elementos minerales que figuran en la tabla adjunta:

Mineral	Concentración (mg/l)
Fósforo total	319
Cloruros	174
Potasio	518
Calcio	35
Sodio	33
Magnesio	98
Sulfatos	168
Cobre	0.1
Manganeso	0.16
Cinc	0.06
Hierro	0.12

- **Hidratos de carbono.** Las cervezas “normales” contienen un 2,5-4% de carbohidratos, en forma de mono-, di- y trisacáridos, dextrinas y  $\beta$ -glucanos. El 75-80% de esta cantidad son dextrinas con un grado de polimerización mínimo de 4. Proceden de la degradación enzimática del almidón por los enzimas de la malta, y no sufren modificaciones durante la fermentación del mosto. Actúan como portadores de sabor (dan “cuerpo” a la cerveza), retienen el anhídrido carbónico formado en la fermentación, participan en la formación de la espuma, y tienen valor nutritivo (4 calorías por gramo).

Entre los azúcares más sencillos se encuentran la ribosa, arabinosa, xilosa, glucosa, fructosa y galactosa; entre los disacáridos la maltosa, isomaltosa, kojibiososa, nigerosa y maltulosa, y entre los trisacáridos la panosa, isopanosa y maltotriosa. Además también existen pequeñas cantidades de glicerol y mioinositol.

Los  $\beta$ -glucanos son cadenas lineales constituidas por moléculas de glucosa unidas entre sí por enlaces  $\beta$ -1,3 o bien  $\beta$ -1,4. Proceden de la pared celular del endospermo del grano de cebada. Su concentración en la cerveza varía entre 50 y 700 mg/l, y su peso molecular varía en el intervalo 30000 – 300000 (Sendra et al., 1989). Aunque en peso sólo suponen como mucho un 2% del de las dextrinas contenidas en la cerveza, su participación en las propiedades del mosto y cerveza es importante, pues aumentan sensiblemente la viscosidad, dificultan las operaciones de filtración y pueden producir precipitados gelatinosos en cervezas envasadas. Tienen propiedades de fibra soluble y se potencian tanto el sabor como la formación y estabilidad de la espuma de cerveza.

También aparecen entre los carbohidratos algunas pentosanas, formadas por cadenas de xilosa y arabinosa, que constituían, junto con los  $\beta$ -glucanos, la pared celular del endospermo del grano de cebada y que fueron parcialmente despolimerizadas por la batería de enzimas producidos en el malteado del grano.

- **Componentes nitrogenados.** Un litro de cerveza contiene habitualmente entre 1,9 y 6,3 gramos de componentes nitrogenados, que incluyen aminoácidos, péptidos, polipéptidos, proteínas, ácidos nucleicos y sus productos de degradación. No obstante algunos tipos de cerveza de alto extracto original llegan hasta 11,5 gramos de sustancias nitrogenadas (Hough et al., 1982). Proceden fundamentalmente de los cereales y se modifican cualitativa y cuantitativamente en el proceso de elaboración.

Las proteínas de la cebada se degradan durante el malteado y maceración, dando lugar a derivados solubles, como aminoácidos y péptidos de diferentes pesos

moleculares. Durante la cocción del mosto buena parte de la proteína soluble precipita y se separa en los subsiguientes procesos de filtración. Los aminoácidos que quedan en el mosto juegan un papel muy importante como nutrientes de la levadura cervecera. Sólo permanece en la cerveza entre la mitad y un tercio del nitrógeno contenido en el mosto.

Los constituyentes nitrogenados de la cerveza pueden afectar también al aroma y sabor, color, formación y estabilidad de la espuma, estabilidad biológica de la cerveza, y pueden dar lugar a enturbiamientos.

- **Compuestos fenólicos.** La cerveza contiene entre 150 y 350 mg/litro de compuestos fenólicos diversos, dos tercios de los cuales proceden de la malta y el resto del lúpulo (Narziss et al., 1972 y Ng y Mocek, 1973, citados por Charalambous en "Brewing Science", vol 2, cap 4). Una fracción minoritaria es volátil y contribuye al aroma de la cerveza; pero el resto son mayoritariamente polifenoles no volátiles, e influyen sobre el color, sabor y estabilidad coloidal de la cerveza. La polimerización de compuestos fenólicos con proteínas da lugar a complejos insolubles que pueden ocasionar enturbiamientos en la cerveza. Entre los grupos de polifenoles presentes en cerveza destaca por su abundancia el grupo de los antocianógenos (hasta 100 mg/l), seguido por el de los flavonoides (catequinas, hasta 20 mg/l) y el de los flavonoles (hasta 10 mg/l).
- **Alcohol etílico.** El alcohol etílico es, obviamente después del agua, el constituyente más abundante en la cerveza. Se produce, junto con el **anhidrido carbónico**, en la fermentación, a razón de 1 g de alcohol por cada 1,6 g de sustrato hidrocarbonado transformado. Participa de forma importante en el sabor de la cerveza. Su concentración en la cerveza depende del extracto original del mosto. Aunque existen cervezas con muy bajo contenido alcohólico (<0,5%) y otras de graduación similar a la de un vino común (~11%), la mayoría de las tablas de composición de cervezas dan valores próximos al 5% (Bulinski et al., 1986 y 1988).
- **Vitaminas.** La cerveza contiene pequeñas cantidades de vitaminas del grupo B: tiamina, riboflavina, ácido pantoténico, piridoxina, biotina, mesoinositol, cianocobalamina y niacina. También contiene ácido fólico y sus derivados (folatos). Proceden de la malta, incrementándose en la germinación de la cebada y sobreviviendo al tostado.



Las concentraciones dadas por Piendl para estos compuestos son:

Vitamina	Concentración (µg/l)
Tiamina (B1)	29
Riboflavina (B2)	336
Acido pantoténico (B3)	1490
Niacina	7738
Piridoxina (B6)	619

La cerveza también contiene folatos, Mueller (1993) da unos valores de 20 a 44 mg/l para el contenido habitual de folatos en cervezas.

- **Otros compuestos.** La cerveza contiene una pequeña proporción de lípidos, procedentes de la malta, adjuntos y lúpulo, así como resultantes del metabolismo de la levadura en el proceso de fermentación. Son fundamentalmente ácidos grasos (0,33-0,76 mg/l), mono-, di- y triglicéridos (en conjunto hasta 0,4 mg/l), junto a trazas de esteroides y fosfolípidos. El contenido en las materias primas es bastante superior, pero se eliminan durante el proceso, de forma tal que el producto final sólo contiene las cantidades reseñadas. Su contenido afecta negativamente a la formación y estabilidad de la espuma, pero también contribuyen positivamente al aroma de la cerveza. La cerveza también contiene pequeñas cantidades de ácidos orgánicos (cítrico, fumárico, láctico, málico, pirúvico, succínico, glutárico, oxálico, tartárico,...), que afectan al sabor y la estabilidad de la cerveza. Proceden de la malta y de la actividad metabólica de la levadura.

## 2.2. VALOR CALÓRICO

El valor calórico de la cerveza se debe a su contenido en alcohol (7 Kcal/g, densidad 0,91) y a su extracto seco residual (4 Kcal/g). Así, una cerveza tipo que contenga un extracto original de 11 y un grado alcohólico de 5 aporta las siguientes calorías (por 100 g de cerveza):

Alcohol: $5 \times 0,91 \times 7$	31,85 Kcal (68%)
Extracto residual $(11 - 5 \times 0,91 \times 1.6) \times 4$	14,88 Kcal (32%)
<b>Total</b>	<b>46,73 Kcal (100%)</b>

Un litro de cerveza aporta pues al día 467 kcal. El metabolismo basal supone unas 1850 kcal/día en hombres de 75 kg de peso y 1600 kcal/día en mujeres (de 65 kg). Los requerimientos energéticos diarios, con una actividad física normal, se pueden estimar respectivamente en 2800 kcal/día y 2100 kcal/día para los dos casos citados. La mayoría de los individuos sanos presentan requerimientos alrededor de estos valores, con un margen de  $\pm 300$  kcal/día.

Un litro de cerveza supondría una aportación del 17% de las necesidades energéticas diarias de un individuo de estas características (un 22% en el caso de la mujer).

Si se mantienen las concentraciones de sólidos en el producto final, una cerveza sin nada de alcohol aportaría sólo el 32 % de estas cantidades, mientras que una cerveza "dry" perfecta (sin extracto seco residual) aportaría el 68%.

La equivalencia calórica de un vaso de cerveza (250 ml) con otros alimentos es la siguiente:

Alimento	Cantidad
Pan	50 g
Patatas	150 g
Aceite	12,5 ml
Mantequilla	15 g
Huevos	1,5 unidades
Carne	90 g
Leche	150 ml

## 2.3. PROPIEDADES FUNCIONALES DE LA CERVEZA

### 2.3.1. ALCOHOL ETÍLICO

Cuando se trata de abordar el efecto del alcohol sobre la salud, en consumidores sanos y habituales de este constituyente, conviene hacer una aclaración que debería resultar obvia pero que no lo es: el efecto del alcohol sobre un individuo depende de la cantidad ingerida de este ingrediente, y no del volumen total de bebida ingerida. Con bastante más frecuencia de la deseada, las campañas contra el consumo de alcohol llegan a equiparar un litro de vino con el de un litro de cerveza, cuando la equivalencia correcta - en las bebidas standard de ambos tipos - sería del orden de 1,25l. de cerveza por cada medio litro de vino.

El efecto del alcohol sobre la salud es un tema muy investigado y el resultado en el que confluyen los distintos autores es que, para individuos sanos, a grandes dosis resulta perjudicial y a dosis bajas o moderadas aporta beneficios para la salud.

La ingesta de alcohol en cantidades excesivas produce, además de efectos negativos sobre las pautas de comportamiento (aumento de la agresividad, mayor riesgo de accidentes de todo tipo, etc.), trastornos hepáticos y pancreáticos (Delin et al., 1992), cardiovasculares, obesidad, trastornos del sistema nervioso (Ahmed, 1995) y del sistema digestivo (Gacko et al., 1996) y mayor riesgo de cáncer en el tracto aerodigestivo superior y de cirrosis hepática (Franceschi et al., 1990; Rosa et al., 1991; Jian Min et al., 1997; Kauhanen et al., 1997).

Como promedio, en estos estudios se considera como consumo ligero hasta 0,7-1 litros diarios de cerveza (31-45 g de alcohol), moderado hasta 1,4-2 litros (62-90 g de alcohol), y fuerte cuando se superan los dos litros diarios (90 g de alcohol). Se insiste en que la correlación entre ingesta de alcohol y estos trastornos se produce solo en consumidores fuertes (más de 90 g diarios de alcohol).

El consumo ligero o moderado de alcohol tiene efectos positivos para el organismo, siempre que se trate de individuos adultos, sanos, que no consuman fármacos con los que el alcohol pueda interferir (Woods y Bax, 1982; Ockhuizen, 1988). También interesa controlar particularmente el consumo de alcohol en diabéticos y mujeres embarazadas (Piendl, 1997; Tuormaa, 1996). Como norma general, el efecto positivo del alcohol étílico no depende de la bebida alcohólica de que se trate (Rimm et al., 1996).

El alcohol, en cantidades ligeras o moderadas, aumenta el colesterol asociado a las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en relación al habitual nivel que se da en personas abstemias. Este aumento del "colesterol bueno" reduce los riesgos de enfermedades y accidentes cardiovasculares (White, 1996). Existen multitud de trabajos que corroboran esta afirmación, realizados en distintas partes del mundo, con diferentes grupos de individuos. Entre estos trabajos destacan por su amplitud, modernidad y diversidad el de Parker et al., (1996) en USA con 1516 individuos, el llevado a cabo por Jian Min et al., (1997) en China con 18244 personas, el de Kauhanen et al., (1997) en Finlandia con 1641 hombres, el realizado en Dinamarca con 2826 individuos (Hein et al., 1996), el realizado en Irlanda con 9710 personas (Woodward y Tunstall-Pedoe, 1995) y el de McElduff y Dobson (1997) efectuado en Australia con datos de 11511 casos de infarto agudo de miocardio o muerte por insuficiencia coronaria comparados con 6077 controles seleccionados al azar de la misma población.

Son particularmente interesantes los datos de Hein et al (1996) sobre el nivel de colesterol "malo" – asociado a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) -, la tasa de isquemias

cardíacas y el consumo de alcohol. El efecto protector del consumo de alcohol no se manifiesta en individuos con una tasa de colesterol LDL inferior a 3,63 mmol/l, pero resulta dramático en individuos con más de 5,25 mmol/l: el índice acumulativo de isquemias cardíacas fue del 16,4% para los abstemios, del 8,7% para los bebedores de hasta 3 copas diarias, y del 4,4% para los consumidores de más de 3 copas diarias. Es también llamativo el hecho, referido por McElduff and Dobson (1997) de que se haya demostrado un acusado efecto protector del alcohol en los pacientes que consumieron 1 ó 2 copas en las 24 horas precedentes a la aparición de los síntomas coronarios.

Los trabajos sobre este tema continúan apareciendo continuamente en la literatura científica. Recientemente Paasilta et al., (1998) en un estudio sobre una población de 259 hombres finlandeses con edades comprendidas entre 40 y 60 años. Comprueban que la concentración de lipoproteínas de baja densidad en sangre es superior en los abstemios (206 mg/l) y desciende al aumentar el consumo semanal de alcohol: 137 mg/l para los consumidores de hasta 39 g semanales de alcohol, 109 mg/l para los de 39-132 g y 94 mg/l para los de más de 132 g. Resulta muy llamativo que consumos mínimos de alcohol (39 gr semanales es algo menos de un litro de cerveza en este tiempo) tengan un efecto tan importante sobre las lipoproteínas de baja densidad.

La ingesta de alcohol etílico modifica la actividad de los enzimas gástricos. Así Gacko et al. (1996) comprueban, en ensayos in vitro, que reduce la actividad enzimática de la pepsina y tripsina y favorece la de la quimotripsina.

Por su parte, Delin y Lee (1992) estudian la interacción del alcohol y la disponibilidad de nutrientes, así como las consecuencias gastrointestinales del consumo de bebidas alcohólicas, y sugieren que las bebidas alcohólicas constituyen un complemento importante de la dieta, aumentando el nivel de satisfacción y contribuyendo a la relajación necesaria para una buena digestión y una adecuada absorción de nutrientes.

El consumo moderado de alcohol retrasa la aparición de la menopausia. Numerosos estudios científicos realizados en diversos países y con diferentes grupos sociales y étnicos de mujeres, dan como conclusión que el nivel de estrógenos en sangre es mayor en el caso de mujeres consumidoras moderadas de alcohol que en mujeres abstemias (Gavaler et al., 1991; Ginsburg et al., 1995; Madigan et al., 1998; Muti et al., 1998), restada la influencia de factores económicos, sociales, hábito de fumar, etc. En mujeres sometidas a terapia de reposición de estrógenos, Ginsburg et al. (1996) comprobaron que un consumo de alcohol de 0,7 g por Kg de peso (del orden de un litro de cerveza standard por día) dio lugar a un contenido en estradiol en sangre tres veces más alto. Torgerson et al., (1997) en un estudio realizado con 1227 mujeres de edades comprendidas entre los 47 y los 51 años, en el que analizan entre otros factores el nivel de estradiol en sangre en distintos

grupos de mujeres, concluyen que el consumo moderado de alcohol está asociado con un retraso de la aparición de la menopausia, estimando el retraso promedio en dos años.

El retraso en la aparición de la menopausia supone un retraso en los distintos fenómenos ligados a la menopausia, como el mayor riesgo de sufrir lesiones coronarias y la osteoporosis.

### 2.3.2. FOLATOS

Con este nombre se conoce a un grupo de derivados heterocíclicos con función biológica similar y una estructura básica común, que incluye al ácido p-aminobenzoico unido formando puente entre el ácido L-glutámico por un lado y la pteridina (o heterociclos derivados de éste) por otro. La pteridina está formada por un anillo de pirimidina acoplado a otro de pirazina.

Hawkes y Villota (1989) describen en una excelente revisión bibliográfica la naturaleza, propiedades, reactividad, estabilidad durante los tratamientos, e implicaciones nutritivas de los folatos contenidos en los alimentos. La deficiencia en la ingesta de estos compuestos da lugar a una síntesis defectuosa de ácidos nucleicos y proteínas, y es la causa más común de la anemia megaloblástica. Su deficiencia se manifiesta con mayor frecuencia en niños recién nacidos, como resultado de una deficiencia en la alimentación adecuada de la madre durante la alimentación y lactancia, y da lugar a malformaciones en la médula espinal (espina bífida) y a retraso mental (Pietrzik y Thorand, 1997). También se ha relacionado la deficiencia de ácido fólico en la dieta con disfunciones cardiovasculares (McDowell y Ashfield, 1997; Powers, 1997) y con el riesgo de adenoma colorectal (Giovannucci et al., 1993).

La FAO/OMS recomienda una ingesta de 200 mg/día de folatos para los adultos, de 385 mg/día para las embarazadas y de 275 mg/día para las madres lactantes (Hawkes y Villota, 1989).

Apenas se han publicado datos sobre el contenido en folatos de las cervezas. Mueller (1993) da unos valores de 2 a 4,4 mg/100 µl, con un valor promedio de 3. Esta concentración es realmente muy baja, aunque sorprendentemente su aporte a la ingesta media diaria puede no ser despreciable. La ingesta diaria de un litro de cerveza (cantidad considerada como saludable para individuos adultos normales) supondría 30 µg de folatos, que no se destruyen al no someterse a ningún tipo de tratamiento térmico ni de oxidación. Esta ingesta supone un 15% del total recomendado para un adulto normal, y el 10,9% del recomendado a madres lactantes. Teniendo en cuenta los datos sobre las fuen-

tes de folatos en la dieta de mujeres norteamericanas (Buttermorth y Bendich, 1996), la cerveza podría situarse en el primer o segundo lugar en cuanto a su aporte a la dieta.

Dado el reducido volumen de datos sobre el contenido de las cervezas en folatos, no es arriesgado pensar que algunas cervezas puedan contener concentraciones más elevadas de folatos. Tampoco existe información sobre el contenido en folatos de las cervezas sin alcohol, que podrían ser muy adecuadas para los grupos con mayores requerimientos en esta vitamina (embarazadas y madres lactantes). Tampoco se han encontrado referencias a la posibilidad de fortificar cervezas (con o sin alcohol) con ácido fólico de síntesis, y se desconoce totalmente cómo puede afectar esta fortificación a la calidad sensorial o a otros atributos de la cerveza.

### 2.3.3. POLIFENOLES

Los flavonoides comprenden un grupo de polifenoles que están presentes con cierta abundancia en tejidos vegetales. Las frutas, hortalizas, frutos secos, semillas, cereales, té, y vinos son las principales fuentes de flavonoides en la dieta, y entre todos ellos vienen a suministrar un gramo diario de estos compuestos a la dieta media de los consumidores en los países desarrollados. Los flavonoides actúan modificando los sistemas enzimáticos implicados en el metabolismo celular, como la proteína quinasa C, la proteína tirosina quinasa, las fosfolipasas, las ATPasas, la transcriptasa inversa y la glutatión S-transferasa. Esta actividad confiere a los flavonoides diversas propiedades farmacológicas, entre las que se incluyen efectos antiinflamatorios, antialérgicos, anticarcinogénicos y antiproliferación de células cancerosas (Mou Tuang Huang et al., 1992; Middleton y Kandaswami, 1994; Bartnikowska, 1995), comprobados en ensayos *in vitro* y en trabajos experimentales con animales (Guang-yu-Yang et al., 1997; Bu-Abbas et al., 1997; Toyoda et al., 1997; So et al., 1997; Shiu-Ming-Kuo, 1996).

Por otra parte Hertog et al., (1993 y 1997), en sendos trabajos publicados en *Lancet* demuestran que los flavonoides inhiben la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (descrito también por Duell, 1996), reducen la tendencia a la agregación de plaquetas, y que su ingesta reduce el riesgo de mortalidad por infarto de miocardio (Meltzer y Malterud, 1997). Muy recientemente (Anderson y Garner, 1997; Wiseman, 1997; Ishida et al., 1998; Barnes, 1998; Gambacciani et al., 1998) se ha demostrado el efecto de isoflavonas, genisteína y daidzeína en la prevención y tratamiento de la osteoporosis.

No obstante hay que hacer constar el diferente efecto protector de la salud de los distintos polifenoles. Así, Yang et al., (1998) demuestran que la (-)-epigallocatequina-3-gala-

to y la (-)epigallocatequina tienen un efecto inhibitor de los tumores cancerígenos de pulmón muy superior al de la (-)epicatequina.

Los radicales libres producidos por oxidación poseen un importante efecto agresivo sobre el endotelio de aorta. Se ha comprobado, por ensayos *in vitro*, el efecto protector de la quercetina y, en menor grado, de la catequina sobre las células endoteliales de la aorta de cerdo (Zeng et al., 1997).

Aunque los flavonoides no están actualmente considerados como factores esenciales en la dieta, se cree (Middleton y Kandaswami, 1994) que esta situación puede modificarse, dado el mayor conocimiento actual de sus actividades biológicas (Formica y Regelson, 1995; Bravo y Bravo, 1997; Hollman et al., 1996). Algunos investigadores (Clydesdale et al., 1994; Winter y Rodríguez, 1997) proponen la fortificación de alimentos (por ejemplo bebidas refrescantes) con flavonoides, dadas sus propiedades funcionales protectoras de la salud humana.

La cerveza también contiene flavonoides entre los que destacan (Charalambous, 1981) los polihidroflavanos (catequina, 0,5-13 mg/l; epicatequina, 1-10 mg/l), los antocianógenos (leucocianidina, 4-80 mg/l; leucopelargonidina, 0-5 mg/l; leucodelphinidina, 1-10 mg/l) y los flavonoles (grupo de las quercitinas: Kaempferol, mirecitrina, hasta 10 mg/l). Mas recientemente Lapcik et al. (1998) han estudiado e identificado los isoflavonoides presentes en 26 muestras de cervezas embotelladas; los cuatro isoflavonoides identificados - formononetina (0,19-14,99 nmol/l), daidzeina (0,08-2,5 nmol/l), genisteína (0,169-6,74 nmol/l) y biochanina (0,82-4,84 nmol/l) - totalizan entre 1,26 y 29 nmoles por litro y señalan que se trata de cantidades significativas de compuestos fitoestrógenos biológicamente activos. Un litro de cerveza puede aportar a la dieta diaria un 20% del consumo medio del total de polifenoles.

No se han encontrado referencias bibliográficas claras y concretas que demuestren los posibles efectos funcionales de los polifenoles contenidos en la cerveza en las dosis habituales. Sería oportuna la realización de trabajos de investigación que aborden los posibles efectos sobre la salud humana de la ingesta diaria de los polifenoles contenidos en un litro de cerveza, del tipo de los realizados con los flavonoides procedentes de otras fuentes (Xia Xu et al., 1994; Yang et al., 1998).

#### 2.3.4. FIBRA SOLUBLE

Los hidratos de carbono no digeribles forman parte de la "fibra soluble" de la cerveza. Esta fibra es importante para la salud, pues evita el estreñimiento, disminuye la

incidencia de cáncer de colon y de diverticulosis y rebaja la colesterolemia (Asp et al., 1993; Hughes, 1998; Dreher, 1987). Como contrapartida la fibra puede reducir la absorción de algunos elementos minerales (Sungchan-Kim, 1994). El mecanismo por el cual la fibra ejerce sus efectos fisiológicos todavía no se conoce completamente, pero parece ser que el aumento de viscosidad y las propiedades gelificantes juegan un importante papel. El efecto sobre los elementos minerales parece deberse a la absorción de estos compuestos en la fibra.

La ingesta recomendada de fibra dietética es de 30 g diarios de los que un tercio debe ser fibra soluble (Deher 1987). Las principales fuentes de fibra son los cereales, pero en la mayoría de ellos casi toda su fibra dietética es insoluble. Las frutas y hortalizas también son buenas fuentes de fibra, y aportan un mayor porcentaje de fibra soluble, especialmente en forma de pectinas.

La fibra soluble de la cerveza está constituida por (1-3),(1-4)- $\beta$ -D-glucanos y arabinosilanos (Schwarz y Jee-Yup-Han, 1995; Jee Yup Han y Schwarz, 1996), procedentes del endospermo de los granos de cebada. Son parcialmente degradados en la germinación del grano de cebada por acción de las respectivas enzimas, pero esta acción enzimática es limitada por lo que el sustrato permanece en mostos y cervezas. En los procesos cerveceros estos compuestos, y muy especialmente los  $\beta$ -glucanos, pueden causar algunos problemas: aumento de la viscosidad (Gomez et al., 1997), dificultades en la filtración (Litzenburger, 1997; Lindemann et al., 1991), formación de enturbiamientos (Whitear, 1997) o precipitados gelatinosos en cervezas envasadas (Linemann y Krueger, 1997), por lo que en muchos casos es frecuente la adición de  $\beta$ -glucanasas comerciales para completar su despolimerización hasta niveles donde ya no causen estos problemas en las industrias cerveceras (Carbonell et al., 1990). Entre los aspectos positivos de los  $\beta$ -glucanos figuran su aportación al "cuerpo" de la cerveza, a la mayor estabilidad de la espuma y sus propiedades de fibra soluble (Kahlon, 1993). Normalmente actúan por formación de superestructuras agregadas (Grimm et al., 1995; Gomez et al., 1998), que confieren alta viscosidad a los mostos y cervezas.

El contenido en fibra soluble de las cervezas cambia mucho de unos tipos de cerveza a otros. La bibliografía da cifras, para el contenido en  $\beta$ -glucanos, de 0-248 mg/l (Schwarz y Jee-Yup-Han, 1995), 0-522 mg/l (Sendra et al., 1989, trabajo financiado parcialmente por la Asociación Nacional de Fabricantes de Cerveza -ANFACE-, hoy Cerveceros de España) y 200-800 mg/l (Brudzynski, 1993). La concentración en arabinosilanos es notablemente superior; Schwarz y Jee-Yup-Han, (1995) dan valores de 514 mg/l para cervezas americanas y de hasta 4211 mg/l para algunas cervezas alemanas. Todas estas cifras son compatibles con los valores del contenido en fibra die-



tética en cerveza que aportan Gromes et al., (1997) - de 405 a 6277 mg/l- y Sanni (1989) - de 1500 a 2480 mg/l.

Las interesantes propiedades funcionales de la fibra (Baker, 1994) hace que se haya puesto de moda la fortificación de muchos alimentos (leche, galletas, zumos...) con este componente. En esta línea, algunos investigadores acaban de proponer recientemente la producción de cervezas con alto contenido en fibra soluble (Vis y Lorenz, 1998). Un litro diario de cerveza, cantidad que puede considerarse como recomendable para individuos adultos y sanos, puede llegar a aportar un 60% de la ingesta recomendable de fibra soluble y puede complementar el aporte de fibra de otros alimentos, como los cereales, particularmente ricos en fibra dietética insoluble.

### 2.3.5. MALTODEXTRINAS

Las maltodextrinas contenidas en la cerveza están constituidas por unidades de glucosa enlazadas entre sí por enlaces  $\alpha$ -(1,4) y  $\alpha$ -(1,6), con un grado de polimerización habitualmente comprendido entre 4 y 10 (Schur y Piendl, 1977; Shanta-Kumara et al., 1995). Proceden de la depolimerización del almidón por las amilasas del grano de cebada, y permanecen en el mosto y cerveza por la falta de actividad enzimática desramificante en la batería de enzimas que se producen en el proceso de germinación del grano. Su concentración habitual es del 2,6-3,5% del peso de la cerveza.

Las maltodextrinas tienen, como fuente energética, una posible propiedad funcional importante, lo que ha promovido su aplicación en fórmulas de bebidas para deportistas que practican disciplinas que exigen esfuerzos prolongados. Cuando se formulan bebidas de este tipo con glucosa, este carbohidrato pasa rápidamente a la sangre, lo que produce una fuerte subida de la concentración de glucosa que induce la secreción de las hormonas que metabolizan esta sustancia. Si la subida ha sido muy puntual (en forma de pico agudo) las hormonas metabolizan y agotan rápidamente el sustrato y permanecen en la sangre por algún tiempo, dando lugar a una hipoglucemia, que es justamente el cuadro que trata de evitarse con la ingestión de la bebida. La formulación de bebidas con maltodextrinas corrige este efecto, puesto que la maltodextrina se metaboliza lentamente liberando unidades de glucosa que pasan progresivamente a la sangre, y dan lugar a un pico de concentración de glucosa en sangre menos elevado y más extendido.

Actualmente este aspecto está en revisión, pues parece ser (citado por Varnam y Sutherland, 1994) que aunque la ingestión de carbohidratos simples antes del ejerci-

cio lleva a una bajada del azúcar en sangre, la situación se invierte después de 60 minutos de ejercicio, pues el ejercicio, por sí mismo, podría cambiar la respuesta normal de la insulina, consiguiendo unos niveles más bajos de insulina y un nivel más estable de azúcar en sangre. En cualquier caso la situación actual no se define claramente por ninguna de estas dos posibilidades, existiendo marcas de bebidas diseñadas para deportistas cuya única fuente hidratos son las maltodextrinas (Isostar) y otras en las que los carbohidratos son sacarosa, glucosa y fructosa (Gatorade).

Esta posible propiedad de las maltodextrinas, entre otras propiedades de las cervezas, ha sugerido la propuesta de que tanto las cervezas normales, como las cervezas sin alcohol y diversos extractos de malta puedan considerarse como bebidas para deportistas (Piendl, 1990).

### 2.3.6. HIDRATACIÓN Y EQUILIBRIO OSMÓTICO

El agua es un componente esencial de la sangre, linfa, secreciones corporales (líquido extracelular) y líquido intracelular. Constituye aproximadamente un 60% del peso del cuerpo humano, siendo aproximadamente dos tercios de esta cantidad agua intracelular.

Todos los órganos del cuerpo requieren agua, pues el medio universal en el que tienen lugar todas las reacciones químicas que constituyen los procesos biológicos. Además de su función evidente en la digestión, absorción, circulación y excreción, el agua es esencial en la regulación de la temperatura del cuerpo, actúa como lubricante en las articulaciones y permite el movimiento de las vísceras en la cavidad abdominal.

Piendl et al., (1994 , 1995 y 1996) han estudiado la cerveza, cervezas sin alcohol y extractos de malta desde el punto de vista de su osmolalidad, para evaluar de este modo su capacidad de rehidratación en comparación con otras bebidas para deportistas. Señalan que las cervezas sin alcohol y las de reducido contenido en alcohol son isotónicas o hipotónicas, al igual que las bebidas diseñadas para deportistas. Las cervezas normales tienen mayoritariamente un comportamiento hipertónico (Maunder, 1985; Buday y Denis, 1974).

### 2.3.7. LA CERVEZA COMO BEBIDA HIPOSÓDICA

Casi todos los alimentos naturales contienen sódico. El sodio, que juega un papel fundamental en el equilibrio osmótico celular, puede tener efectos desfavorables para

el organismo (Anjan-Reddy y Marth, 1991). Así, todos los pacientes cardíacos con edema producido por insuficiencia congestiva, hipertensión o insuficiencia renal leve, necesitan una dieta pobre en sal acompañada de un tratamiento diurético (Elliot, 1997; Shannon, 1996).

Anderson et al., (1979) en su libro *Nutrición humana. Principios y aplicaciones*, afirman que la dieta casera habitual contiene entre 3 y 7 gramos diarios de sodio. Entre las dietas hiposódicas definen una dieta benigna (hasta 2 g/día), una dieta hiposódica típica (hasta 1 g/día) y una dieta estricta, que se ajusta a los requerimientos mínimos de esta substancia (0,5 g/día). La relación media habitual entre el consumo de potasio y el de sodio es del orden de 3,6 (Grijalva et al., 1992).

La cerveza corriente es una bebida con muy bajo contenido en sodio y, por tanto, muy adecuada para participar en las dietas hiposódicas. Los datos bibliográficos sobre el contenido de sodio en cervezas comerciales varían lógicamente entre sí por la distinta procedencia de las muestras, pero son realmente muy bajos: 12,08-31,1 mg/l según Morton y McCaig (1994); 18,6-51,1 mg/l según Morton y Fraga (1990); 63,6-75,8 mg/l según Wagner y McGarrity (1990). El valor promedio de 33 mg/l de sodio citado por Piendl parece bien ajustado. Según este valor la ingestión de un litro de cerveza sólo contribuye en un 6,6 % del máximo admitido en una dieta hiposódica estricta.

A título de comparación se hace constar que este contenido en sodio de la cerveza es similar al promedio del agua potable y 16 veces inferior al de la leche. La relación de potasio a sodio en la cerveza, según datos del citado profesor Piendl, es de 15,7, lo que le confiere un fuerte efecto diurético (Gallen et al., 1998). Estos valores hacen que la ingestión de cerveza pueda y deba ser recomendada en la confección de diversas dietas hiposódicas.

## 2.4. PROPIEDADES NUTRITIVAS DE LA CERVEZA

En este apartado se hace exclusivamente una valoración de la cerveza desde el punto de vista nutritivo, sin entrar en las propiedades funcionales, que ya se han abordado con anterioridad.

Curiosamente muchos artículos consideran la típica cerveza como una bebida refrescante, otros como un alimento, y alguno desde los dos puntos de vista simultáneos. En realidad la cerveza es una bebida que refresca bastante y que alimenta algo, pero desde luego no puede compararse a una bebida hipocalórica ni con un alimento completo (Piendl, 1981, 1989 y 1990). Es frecuente leer titulares de prensa en el sen-

tido de que la cerveza engorda mucho o que la cerveza no engorda. Lo incuestionable es que la cerveza aporta, como cualquier otro alimento, una cierta cantidad de calorías, por lo que si se suma al consumo ordinario de un individuo engorda, mientras que si sustituye a otros alimentos de la dieta que aporten las mismas calorías o más no engorda e incluso adelgaza (Rose et al., 1995). En cualquier caso debe respetarse el principio de una alimentación sana, que aporte todos los principios nutritivos necesarios para satisfacer las necesidades metabólicas, y que suele basarse en una alimentación lo suficientemente variada en la que deben predominar (alrededor del 60%) las calorías suministradas en forma de hidratos de carbono complejos.

El problema de la cerveza se basa en las calorías "vacías" que aporta el alcohol etílico (el alcohol de un litro de cerveza standard supone un 13% de las necesidades calóricas diarias). El 87% restante de calorías deben ser suministradas por otros componentes y alimentos que incluyan todos los elementos nutritivos esenciales. Esto no es difícil con la premisa anterior (un litro de cerveza al día), pues quedan suficientes "calorías" de otros alimentos.

Para que aparezcan problemas nutritivos, hay que ingerir hasta 2 o más litros de cerveza (volumen recomendado como máximo en algunos artículos sobre cerveza y salud), ya que se superarían las 2.700 calorías al día con el conveniente aumento del peso corporal. Sólo la cerveza aportaría ya unas 900 calorías, por lo que únicamente quedarían 1800 calorías para los restantes alimentos de la dieta diaria. No habría problemas de carencia en la mayoría de los minerales ni en las vitaminas del grupo B, que aporta la propia cerveza, pero sería difícil cubrir los requerimientos mínimos de hierro y de vitamina A (Varela, 1987).

La comparación entre la ingesta diaria y la aportación de un litro de cerveza standard demuestra que la cerveza contribuye fundamentalmente en el suministro de

- calorías (alrededor de un 20% de las necesidades diarias)
- fósforo (alrededor de un 30% de las necesidades diarias)
- vitaminas del grupo B (véase la tabla adjunta).

Vitamina	% de los requerimientos mínimos diarios
Tiamina (B1)	1-40
Riboflavina (B2)	19-63
Ac. pantoténico (B3)	25
Piridoxina (B6)	20-50
Niacina (ácido nicotínico)	27-83
Ac. fólico y folatos	8-15

Ahora bien la cerveza carece de vitamina C (se destruye prácticamente toda en los procesos de cocción) y de vitaminas liposolubles (A, D, E, K). y su contribución al suministro de hierro (0,12 mg/l) y cinc (0,06 mg/l) es insignificante. La dieta de los bebedores de cerveza debe completarse con alimentos ricos en estas sustancias.

La cerveza también puede ser considerada como una fuente dietética de silicio (Bellia et al., 1994). El silicio es un elemento esencial, aunque las bases bioquímicas de las funciones que desempeña no han sido elucidadas. Participa en los procesos de calcificación y, posiblemente, en el tejido conectivo (Gormley, 1987). Según datos de Bellia et al., (1994) la dieta británica da una ingesta diaria de 20-50 mg de anhídrido silícico, de los que el 20% procede del agua potable y bebidas, y el 60% de los cereales, aunque con baja biodisponibilidad.

La cerveza contiene aproximadamente 36 mg/l de silicio biodisponible, por lo que se considera una fuente interesante de este elemento traza. Procede del ácido ortosilícico de la malta, y se extrae en el proceso de maceración. Al cabo de 8 horas de ingerir cerveza, la concentración de silicio en la orina sufre un acusado incremento; posteriormente la concentración disminuye progresivamente hasta alcanzar el nivel inicial (antes de beber la cerveza) al cabo de 24 horas. La ingesta de un litro de cerveza debe cubrir sobradamente los requerimientos diarios de este elemento-traza.

Anderson y Bryden (1983) también han estudiado la cerveza como una posible fuente dietética de cromo, elemento que puede potenciar la actividad de la insulina, pero encontraron una gran variación de las concentraciones de cromo (entre 56 ng/ml y menos de 2 ng/ml) en las 27 marcas de cerveza analizadas, todas ellas presentes en el mercado norteamericano, y no lograron identificar la procedencia de este elemento.

Entre los macronutrientes, el alcohol y las maltodextrinas ya han sido comentados anteriormente, como ingredientes con propiedades funcionales. Quedan pues los constituyentes nitrogenados.

Los componentes nitrogenados presentes en cervezas son mayoritariamente productos de hidrólisis de las proteínas de la cebada. En el proceso de malteado sufren el ataque enzimático de las proteasas implicadas en la germinación de la cebada y, en la etapa de maceración, un 30-40% del total de sustancias nitrogenadas quedan permanentemente disueltas en el mosto. De esta cantidad un 40% corresponde a aminoácidos, siendo el resto colina, betaina, iones amonio, prolina, péptidos, proteínas, bases púricas y pirimidínicas y sus nucleósidos y desoxinucleósidos.

Durante la fermentación parte de estos constituyentes (fundamentalmente aminoácidos) son asimilados por la levadura cervecera; además algunas proteínas y polipéptidos precipitan, cuando se produce el descenso de pH. Como resultado la cerveza final sólo contiene entre la mitad y un tercio de las sustancias nitrogenadas del mosto. Además la mayoría de los aminoácidos han sido asimilados por la levadura y solo quedan en la cerveza en muy bajas concentraciones, aunque por otra parte aparecen algunos péptidos nuevos procedentes de la levadura. Aunque todos los aminoácidos esenciales (lisina, treonina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, triptófano y valina) están presentes, en conjunto las sustancias proteicas de la cerveza tienen escaso valor biológico (Krembel et al., 1975).

En el espectro de sustancias nitrogenadas destaca poderosamente la concentración de prolina, un imidoácido difícilmente asimilable por la levadura, cuyo valor cuadruplica la concentración del conjunto de todos los aminoácidos.

## 2.5. CALIDAD SANITARIA DE LA CERVEZA

La cerveza es una bebida esencialmente segura desde un punto de vista sanitario. Utiliza materias primas muy sencillas (agua, cebada y levadura) y fácilmente controlables. El agua y la cebada sufren un intenso tratamiento térmico en el proceso de fabricación, que destruye cualquier microorganismo presente, y los alfa-ácidos que aporta el lúpulo, la presencia de alcohol y el bajo pH reducen el riesgo de posibles recontaminaciones microbianas. Como muy acertadamente señala Denise Baxter (1996) el proceso de fabricación de cerveza tiene muchos menos riesgos sanitarios que el embotellado de leche o de agua mineral. En cualquier caso se han realizado múltiples y variados trabajos de investigación sobre el contenido de las cervezas en sustancias tóxicas y alergenas, que pudieran estar presentes de un modo incidental o rutinario en el producto final y que podría comprometer la calidad sanitaria del mismo (Basarova, 1981; Cerruti, 1985; Cerruti et al., 1976). Obviamente, por la naturaleza del proceso, la mayoría de estos trabajos se centran más en contaminantes químicos que en microorganismos patógenos. Los productos químicos utilizados en la producción o tratamiento de materias primas (por ejemplo plaguicidas - Hughes y Simpson, 1993 - , cloruro de metilo - Bornmann et al., 1968), producidos por microorganismos contaminantes de las materias primas (por ejemplo, toxinas), como consecuencia de procesos metabólicos, o procedentes de los materiales de los equipos de proceso o de los envases son los contaminantes más analizados en cervezas (Liebl, 1986).

### 2.5.1. NITROSAMINAS

Las N-nitrosaminas son compuestos que se forman por reacción química entre un óxido de nitrógeno y una amina secundaria o terciaria. Existe una veintena de nitrosaminas distintas, pero las más frecuentes en los alimentos son las dos nitrosaminas volátiles: N-Nitrosodimetilamina y N-Nitrosopirrolidina.

Desde 1956, gracias a los trabajos de Barnes y Magee, se conoce el efecto carcinogénico de las nitrosaminas. Se ha demostrado que los nitritos presentes de modo accidental o intencionado en alimentos pueden reaccionar con las aminas para producir concentraciones de nitrosaminas que pueden llegar a ser letales (Goutefongea, 1994). Algunos compuestos presentes en los alimentos como la vitamina C, el tocoferol y el anhídrido sulfuroso (todos ellos conocidos antioxidantes) pueden inhibir la formación de nitrosaminas.

La presencia de óxidos de nitrógeno en el aire durante el tostado de la malta puede dar lugar a la formación de NDMA en la malta, que luego pasa a la cerveza (Gifhorn y Meyer-Pittroff, 1997). Según estos mismos autores los óxidos de nitrógeno pueden desprenderse de la propia malta. En condiciones extremas (artificialmente conseguidas) de nitrosación puede llegar a formarse en cervezas hasta 1 ppm de NDMA y concentraciones inferiores de NDEA, NDTR y N-nitrosomorfolina (McIntyre y Scanlan, 1993). Las nitrosaminas también pueden tener su origen en el metabolismo de ciertos grupos de bacterias, que estarían relacionados con una escasa higiene en el proceso cervecero (Smith, 1992 y 1994). Lo cierto es que se han encontrado nitrosaminas en concentraciones muy variadas en cervezas de muy distintos países.

Es de destacar que los avances tecnológicos de las últimas décadas han permitido reducir entre 10 y 100 veces las concentraciones de nitrosaminas en cervezas (gloria et al., 1997; Scanlan et al., 1990; Sen et al., 1996)

Todavía no se conoce la cantidad requerida de una cierta nitrosamina para inducir el desarrollo de tumores cancerosos en la especie humana. Si se toma como referencia la concentración máxima que admite la legislación italiana (0,5 µg/kg) y la alemana (1,5 µg/kg, según Frommberger, 1989) cabe estimar que la mayoría de las cervezas producidas actualmente en los países más desarrollados están por debajo de estos niveles.

### 2.5.2. AMINAS BIÓGENAS

Las aminas son bases nitrogenadas orgánicas, alifáticas, aromáticas o heterocíclicas, de bajo peso molecular, que se forman como consecuencia de procesos metabóli-

cos en animales, plantas o microorganismos. Las aminas biógenas son mono-, di- y poliaminas alifáticas, aminas aromáticas y compuestos similares que son biológicamente activos.

Las aminas biológicamente activas pueden actuar sobre los transmisores neurales del sistema nervioso central, o bien sobre el sistema vascular, causando modificaciones de la presión sanguínea (Bardocz, 1995). Son constituyentes naturales de muchos alimentos habiéndose encontrado en varios frutos naturales (cítricos, plátanos). Son más abundantes en alimentos obtenidos por procesos fermentativos (queso, productos cárnicos curados, vino, cerveza, encurtidos vegetales) y especialmente en alimentos como carnes, pescados o quesos que presenten una fuerte contaminación microbiana.

No representan un riesgo para la salud de los consumidores, a menos que se ingieran en grandes cantidades o de que se trate de individuos en los que los mecanismos naturales para catabolizar estos compuestos estén inhibidos por medicamentos o tengan alguna deficiencia genética (Rivas et al., 1982).

El alcohol puede potenciar el efecto de las aminas biógenas por inhibición de las monoamino-oxidasas (MAO) y diamino-oxidasas (DAO), enzimas que desempeñan un papel fundamental en la degradación de las aminas.

Existen muchos trabajos sobre el contenido en animas biógenas de las cervezas comerciales. Izquierdo et al.,(1996a) analizan aminas biógenas en 195 cervezas europeas y encuentran que la más abundante de las habituales es la agmatina (10,5 mg/l), seguida de la putrescina (4.8 mg/l). La espermina, espermidina, triptamina, y  $\beta$ -feniletilamina o no existen o se encuentran bajo el umbral de detección del método analítico (2 mg/l).La tiramina fluctúa mucho, pues llega desde cero hasta 67,5 mg/l, y la cadaverina algo menos. La putrescina y poliaminas pueden considerarse como constituyentes naturales de las cervezas mientras que la histamina, tiramina y cadaverina son indicadores de la contaminación microbiana. Se sugiere que los pacientes tratados con inhibidores de MAO no beban cerveza, por ser impredecible su contenido en tiramina. Los mismos autores (Izquierdo et al., 1996b) demuestran la relación entre los niveles de tiramina y la contaminación del mosto por bacterias lácticas. Aconsejan el lavado de la levadura cervecera con ácido fosfórico para eliminar pediococos y reducir así los niveles de tiramina formada en la siguiente fermentación con la misma levadura.

Izquierdo et al (1994) indican que algunas aminas biógenas proceden de la malta y del lúpulo, que en el malteado (como consecuencia de la contaminación microbiana en esta etapa del proceso) aumentan su concentración, que la espermina y la spermidina disminuyen drásticamente en la maceración, la putrescina no cambia y las otras aumentan. En la fermentación aumentan la triptamina y la tiramina (9.7 a 27.3 mg/l), como consecuencia de la contaminación de la levadura cervecera con bacterias lácti-



cas. Sorprendentemente, Buiatti et al., (1995) no detectan diferencias entre las aminas biógenas de cervezas con y sin alcohol. La serotonina no se detecta ni en mosto ni en cervezas (Izquierdo et al., 1994).

Es muy difícil establecer los niveles tóxicos de las aminas biógenas, debido a que el efecto depende tanto de las características individuales de cada amina como de la presencia de otras aminas. Se ha sugerido un límite legal de 100 mg/kg de histamina, pero de solo 2 mg/l en bebidas alcohólicas (citado por Silla, 1996). Valores de 100-800 mg/kg de tiramina y de 30 mg/kg de feniletilamina han dado lugar a efectos tóxicos (Halasz et al., 1994). Sin embargo, dosis bajas de tiramina (6 mg de ingesta) se consideran ya peligrosas para individuos sometidos a tratamiento con inhibidores de MAO (Shalaby, 1993; Murray et al., 1988). Por razones de seguridad parece aconsejable, en pacientes en tratamiento con inhibidores de la MAO, evitar el consumo de alimentos portadores de aminas biógenas (queso, cerveza, vino, pescado), pues al perder los individuos la capacidad de catabolizar las aminas biógenas pueden llegar éstas a alcanzar concentraciones tóxicas.

### 2.5.3. MICOTOXINAS

Las micotoxinas constituyen un grupo de sustancias, con estructura química diversa y producidas por mohos, que causan una serie de efectos adversos sobre los sistemas biológicos y entre ellos a la especie humana. Los efectos tóxicos, que lógicamente dependen de la dosis, pueden ser de distinto orden:

- Supresión de funciones del sistema inmunitario y reducción de la resistencia a infecciones.
- Formación de tumores, cancerígenos o no.
- Efecto teratogénico, esto es, susceptibilidad de causar malformaciones en embriones en desarrollo.
- Muerte del individuo.

Aunque muchos mohos pueden producir micotoxinas, el interés de la investigación sobre este tema se centra en los tres principales géneros productores: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Para producir micotoxinas cualquier especie de hongo necesita humedad, temperatura y un substrato adecuado. En general las micotoxinas se producen en cereales y frutos secos almacenados en condiciones poco adecuadas de humedad y temperatura.

Dado la amplitud y diversidad de las micotoxinas, esta revisión se va a centrar fundamentalmente en las micotoxinas detectadas en maltas, mostos y cervezas. En cerveza se ha encontrado:

- vomitoxina (Ranhoira, 1997; Won bo Shim, 1997; Schwarz et al., 1995; Hastins y Stenroos, 1995)
- fumonisinas (Scott et al., 1993, 1995, 1996, 1997)
- ocratoxina A (Legarda y Burdaspal, 1998, 0,024 µg/kg; Thellmann y Weber, 1997, 0.03-0.08 µg/kg; Baxter, 1996; Scott y Lawrence, 1995; Jiao et al., 1994; 0.1µg/kg)
- nivalenol (Won bo Shim, 1997)
- penitrem A (Cole, 1993)

Las micotoxinas se forman por la acción de los respectivos hongos que contaminan la cebada y por los que se desarrollan durante la germinación en el proceso de malteado. En el proceso cervecero tiende a disminuir la concentración de micotoxinas y algunas (citrinina, zearalenona) llegan a desaparecer. Chu et al., (1975) han comprobado que en la cerveza final solo queda un 14-18% de la aflatoxina B<sub>1</sub> contenida inicialmente en las materias primas y el 27-28% de ocratoxina A. Según los ensayos de Krogh et al., (1974) solamente el 2-7% de la ocratoxina A inicial permanece en la cerveza final.

Las dosis y tipo de micotoxinas encontradas en cervezas europeas no parecen constituir un riesgo para la salud de los consumidores. En el caso de las cervezas africanas a base de sorgo sí que parece oportuno vigilar con mayor intensidad la contaminación por hongos del sorgo, para evitar la presencia de la micotoxina mas potente, la aflatoxina B<sub>1</sub>. No obstante en este último caso es mucho más preocupante la exposición de los individuos a las micotoxinas por ingestión de frutos secos, cereales, etc., que por la propia ingestión de cerveza.

#### 2.5.4. PESTICIDAS Y HERBICIDAS

Los pesticidas y plaguicidas llegan a la cerveza a través de la cebada y del lúpulo, como consecuencia de los tratamientos fitosanitarios que sufrieron ambas especies durante su cultivo (Hoffmann, 1996) y a través del agua (Grant, 1995). De acuerdo con Blacha y Bednarek (1974) y Bednarek (1981) parece ser que el principal suminis-

tro de plaguicidas a la cerveza es a través del lúpulo (40 mg/kg de compuestos organoclorados). Al contrario de los otros contaminantes citados hasta ahora (nitrosaminas, aminas biógenas y micotoxinas) su presencia en la cerveza es relativamente reciente, pues hasta la década 1940-1950, cuando apareció el DDT, no se usaron prácticamente insecticidas. Las grandes ventajas del uso de los plaguicidas son bien conocidas, pero ello ha traído consigo algunos inconvenientes, pues algunos de estos productos fitoquímicos, muy eficaces en la lucha contra las plagas del campo, han demostrado cierta toxicidad para la especie humana.

En cualquier caso, y desde la generalización de su uso, hasta la fecha se han mostrado como agentes insustituibles para un adecuado control de las plagas y del estado sanitario de las cosechas. Los riesgos consecuentes de un acortamiento drástico de la producción vegetal y de la proliferación de contaminaciones de todo tipo (hongos, insectos, etc) son muy superiores a los del uso de pesticidas.

Entre los plaguicidas presentes en cerveza se encuentran fungicidas (ditiocarbamatos, etilentiourea, propilentiourea; Casanova y Guichon, 1988; Dennis et al., 1997; Vahl, 1993; Andersen, 1984), insecticidas organoclorados (g-HCH y similares; Georgii et al., 1989) y herbicidas (triazinas, glifosato; Hack et al., 1996 y 1997; Sen y Badoo, 1995 y 1996), pero en dosis mínimas, que no constituyen ningún riesgo para la salud. En efecto, los pesticidas encontrados en cervezas y mostos solo están clasificados como ligeramente peligrosos, con dosis letales (LD50) muy altas, de 2000 mg/kg para las triazinas y de 6750 mg/kg para los ditiocarbamatos.

Tomando en consideración todos estos datos se puede concluir que la presencia de pesticidas en materias primas, y su posible transmisión a mostos y cervezas, en las condiciones que se dan habitualmente, no compromete en ningún grado la calidad sanitaria de las cervezas comerciales. La relativamente baja proporción de artículos recientes que relacionan la cerveza con plaguicidas, respecto a la de otros contaminantes, constituye también un indicador de que realmente no es un problema que preocupe en estos momentos a la comunidad científica.

### 2.5.5. METALES PESADOS Y ELEMENTOS TRAZA

En estos elementos el margen entre toxicidad y deficiencia en la dieta es muy estrecho. Además es muy difícil precisar qué elementos son esenciales y cuáles tóxicos, aunque probablemente todos son tóxicos si se ingieren en cantidades suficientemente elevadas. No se debe considerar la toxicidad de un metal aislado, puesto que en el organismo interaccionan entre sí: los efectos fisiológicos del cadmio, por ejemplo, es-

tán relacionados con la cantidad de cinc presente. Por otra parte, la presencia de este elemento en el mosto, en concentraciones adecuadas, es un requisito indispensable para el crecimiento de la levadura cervecera (Maendl et al., 1977).

Ahora bien, se sabe que algunos elementos como el mercurio, el plomo, el cadmio y el arsénico han sido responsables en alguna ocasión de intoxicaciones espectaculares. Por este motivo, la FAO/OMS ha fijado para estos elementos los límites que figuran en la tabla adjunta (Departamento de Sanidad del Gobierno Vasco, 1997).

	Límite máximo establecido por la FAO/OMS	
	Ingesta semanal tolerable µg/(Kg.peso y semana)	µg/día para un individuo de 68 kg de peso
Plomo	25	243
Cadmio	7	68
Mercurio	5	49
Arsénico	15 <sup>(1)</sup>	146 <sup>(1)</sup>

(1) Para arsénico inorgánico, no para arsénico total.

En España la Reglamentación Técnico Sanitaria para la elaboración y comercio de la cerveza y de la malta líquida (Real Decreto de 20 de enero de 1995, BOE del 9 de febrero de 1995) fija los límites máximos de lo que considera globalmente como metales pesados:

- Cobre 1,0 ppm
- Zinc 1,0 ppm
- Plomo 0,2 ppm
- Arsénico 0,1 ppm
- Cobalto 50 ppb

En el análisis de arsénico en 31 cervezas españolas y de importación comercializadas en España se han encontrado valores comprendidos entre 0,002 y 0,070 ppm, situándose la media en 0,005 ppm (Cervera et al., 1988 y 1992; trabajo financiado parcialmente por la Asociación Nacional de Fabricantes de Cerveza -ANFACE-, hoy Cerveceros de España).

Ybañez et al., (1989) efectúan una amplia revisión de las concentraciones de cadmio, cobalto, cobre, cromo y cinc en cervezas comerciales, analizando también 58 cervezas comercializadas en España (trabajo financiado parcialmente por la Asociación Nacional de Fabricantes de Cerveza -ANFACE, hoy Cerveceros de España). Los valores obtenidos figuran en la tabla adjunta:

Extracto original (°P)	Concentración del elemento (µg/l)				
	Cd	Co	Cu	Pb	Zn
11-13	0,177±0,172	0,21±0,12	30,2±14,4	2,1±1,2	12,7±11,6
13-15	0,182±0,124	0,40±0,23	24,5±8,4	2,7±1,2	23,8±12,2
>15	0,164±0,134	0,42±0,24	35,6±17,6	2,5±1,0	18,3±10,2

Estos valores son sensiblemente inferiores a los citados en otras fuentes bibliográficas consultadas (Weiner y Taylor, 1969; Postel et al., 1972; Martin, 1973; Charalambous y Bruckner, 1977; Deldime y Zielegthem, 1977; Casares et al., 1979; Thalacker, 1980; Cerutti et al., 1982; Senften y Pfenninger, 1982; Kellner et al., 1984), lo que probablemente se debe a mejoras introducidas en los procesos industriales durante los últimos años. Mena et al., (1996) dan, por el contrario, un intervalo de contenido de cadmio en cervezas españolas de 0-0,8 µg/l, si bien es sensiblemente inferior al de vinos (0-11,52 µg/l) y otras bebidas alcohólicas. Estos mismos investigadores, pero en un trabajo diferente (Mena et al., 1997), obtienen también un contenido en plomo de 0-245 µg/l, con un promedio de las 23 muestras de cerveza de 48,23 µg/l, unas 20 veces superior al obtenido por Ybañez et al., (1989).

Todos los investigadores citados, junto con otros que han estudiado el tema de la ingestión de metales pesados y elementos-traza a través de la cerveza, concluyen en que estos elementos no constituyen ningún riesgo para los consumidores habituales de cerveza (Leubolt et al., 1991 y 1992; Bulinski et al., 1996).

### 2.5.6. OTROS COMPUESTOS QUÍMICOS

Algunas cervezas pueden contener sustancias colorantes, producidas por la caramelización de azúcares, para estandarizar su color (aditivo E-150, según B.O.E. 21-01-83). Esta sustancia comercial puede contener diversas concentraciones de un compuesto, el 2-acetil-4(5)-tetrahidroxibutilimidazol (THI) que ocasionalmente podría causar problemas a los consumidores pues ha demostrado un efecto depresor de los linfocitos en ratas. Se han desarrollado patentes para minimizar la formación de este compuesto en los procesos de caramelización, a base de mantener unas determinadas condiciones de presión, temperatura y contenido en agua (Ramaswamy, 1986, 1987 y 1988).

Por otra parte se ha comprobado que la adición a la dieta de vitamina B6 (piridoxina) previene la acción del THI sobre los linfocitos (Sinkeldam et al., 1988). Gobin y Paine

(1989) han comprobado que 10 ppm de piridoxina en la dieta de ratas previene la linfopenia que produciría en ratas una solución del 8% de este colorante. El trabajo de Houben et al., (1992), también sobre el efecto protector de la piridoxina, es el más moderno encontrado en la revisión bibliográfica efectuada, lo que viene a dar a entender que hace ya algunos años que la comunidad científica ha estimado que este no es un problema que pueda afectar a la salud de los consumidores de cerveza. En cualquier caso la concentración de este colorante en cerveza es muy inferior a la usualmente utilizada en la fabricación de bebidas refrescantes de cola (Kroeplien, 1986).

También se ha investigado la presencia, en cervezas comerciales, de compuestos químicos utilizados en la limpieza y desinfección de instalaciones industriales. Sendra y Todo (1990), en trabajo financiado por la Asociación Nacional de Fabricantes de Cerveza de España, han puesto a punto una técnica para el análisis de los ácidos cloracético, bromoacético y iodoacético en cervezas, con un umbral de detección de 0,1 ppm para cualquiera de estos ácidos. Las 17 muestras de cervezas europeas analizadas no presentaron cantidades detectables de estos compuestos. Otros derivados halogenados, esta vez de hidrocarburos alifáticos, se han detectado en cervezas checas, pero en concentraciones muy bajas, que no comprometen la salubridad de la bebida (Culik et al., 1995).

Los trihalometanos (cloroformo, bromodichlorometano, dibromodichlorometano y bromoformo) se pueden formar inadvertidamente en la cloración del agua potable, y algunos de estos compuestos pueden ser carcinogénicos (descripción de McNeal et al., 1995). La Administración de Drogas y Bebidas (FDA) de USA ha adoptado un contenido máximo de 100 ng/ml para estos compuestos (trihalometanos totales). McNeal et al (1995) han analizado estos compuestos en cervezas, aguas y refrescos, obteniendo en cervezas la concentración de 1 ng/ml, esto es un 1% del máximo admisible, y similar a la de la mayoría de las aguas embotelladas. Algunas bebidas refrescantes han alcanzado concentraciones de hasta 94 ng/ml, muy próximas al máximo admisible.

Otros compuestos químicos detectados en cervezas son las carbamidas. Algunas carbamidas, como el carbamato de etilo, han demostrado un fuerte efecto carcinogénico en ratones, por lo que se ha propuesto un contenido máximo de este compuesto en alimentos; según Funch y Lisbjerg (1988) los límites máximos de carbamato de etilo autorizados en Canadá son 10 µg/l en cervezas, 30 µg/l en vinos, 150 µg/l en destilados y 400 µg/l en licores. Aún existe discusión entre los investigadores sobre las posibles fuentes de carbamidas en bebidas alcohólicas, pero existe cierta coincidencia en que una de las posibles fuentes es el metabolismo de la arginina por parte del *Saccharomyces* y otros microorganismos (Nout, 1994), lo que hace que "a priori" todas las bebidas fermentadas sean sospechosas de contener este compuesto (Sen et al., 1993). Se ha detectado especialmente

en vinos (Balestrieri et al., 1991; Eun-Jung et al., 1995; Fuu-Sheu et al., 1996) y otras bebidas alcohólicas (Eunmi-Koh y Honnnjeong-Kwon, 1996), especialmente en las de alta graduación (Tegmo-Larsson et al., 1990; Dyer, 1994). También se han detectado en otros productos fermentados como salsas de soja, yogur, miso (Hasegawa et al., 1990), pan (Groux et al., 1994) y kenkey (una especie de pan de maíz, Nout et al., 1994).

Daudt et al., (1992), Liu et al., (1994, 1995 y 1996) demuestran el efecto del tipo de microorganismo y de la concentración de arginina en la concentración de urea en vino, que luego puede reaccionar a lo largo del almacenamiento con el alcohol etílico presente y dar carbamato de etilo (Stevens y Ough, 1993; Kodama et al., 1994; Watkins et al., 1996). Para contrarrestar este efecto Bison y Butzke (1996) han llegado a sugerir la adición de ureasa en la producción de vinos, para eliminar la urea que pueda formarse y evitar así su posterior reacción con el etanol.

Dennis et al., (1990) comprueban la validez de la cromatografía de gases capilar para el análisis de carbamato de etilo en cervezas y aplican el método al análisis de diversas muestras comerciales de cerveza (Dennis et al., 1997). No detectan etil carbamato (umbral de detección del método utilizado, 1  $\mu\text{g/l}$ ) en cervezas comerciales de barril del mercado inglés, pero sí en cervezas enlatadas (hasta 2,5  $\mu\text{g/l}$ ), y atribuyen esta diferencia al mayor tiempo de almacenamiento y mayor grado alcohólico de estas últimas. En cervezas embotelladas llegan a detectar hasta 14,7  $\mu\text{g/l}$ , y este salto cualitativo lo atribuyen al uso de azodicarbonamida como aditivo en la fabricación de los plásticos de cierre (*cap liners*) de los tapones corona.

Por otra parte, Groux et al., (1994) comprueban que la concentración de carbamato de etilo en cervezas alemanas sin alcohol (0,1-0,7  $\mu\text{g/l}$ ) es sensiblemente más baja que en las cervezas estándar (0,9-4,7  $\mu\text{g/l}$ ). Estos valores concuerdan bastante bien con los obtenidos por Vahl (1993) en 50 cervezas comerciales del mercado danés: 0,2-6,6  $\mu\text{g/l}$ , con un promedio de 3  $\mu\text{g/l}$ . Esta concentración es inferior a la del pan (promedio 3,5  $\mu\text{g/l}$ , intervalo 0,8-12  $\mu\text{g/l}$ ), del vino (promedio 7,0  $\mu\text{g/l}$ , intervalo 3-29  $\mu\text{g/l}$ ), de los vinos fortificados (promedio 30  $\mu\text{g/l}$ , intervalo 7-61  $\mu\text{g/l}$ ), y por supuesto de los elevados valores correspondientes a los licores de alta graduación (promedio 534  $\mu\text{g/l}$ , intervalo 5-5000  $\mu\text{g/l}$ ), todos estos productos del mercado danés y analizados por Vahl (1993).

Los datos bibliográficos indican que, aunque deba tenerse cierta vigilancia sobre el contenido de las cervezas en carbamato de etilo, esta bebida no es la principal fuente de entrada del producto en el organismo humano; la reducción de la ingesta de carbamato de etilo pasaría en primer lugar por una reducción de su concentración en el pan, el vino y en otros productos fermentados.

### 2.5.7. CALIDAD MICROBIOLÓGICA

La cerveza no es un buen medio de cultivo para el crecimiento de microorganismos, lo que se refleja en el escaso número de microorganismos capaces de crecer en ella. La cerveza es además un alimento seguro desde el punto de vista de la ausencia de microorganismos patógenos.

Existen cinco factores en la cerveza que limitan el crecimiento microbiano (Varnam y Sutherland, 1994):

1. el bajo pH
2. el bajo potencial de oxido-reducción
3. el relativamente bajo contenido de nutrientes, agotados en su mayor parte por la levadura cervecera.
4. la presencia de alcohol etílico
5. la presencia de las isohumulonas del lúpulo, de marcado efecto antimicrobiano

Estos cinco factores actúan como barreras sucesivas frente al desarrollo microbiano. Así, la capacidad para crecer en un medio con pH bajo es una característica de *Lactobacillus*, pero la tolerancia a las isohumulonas está restringida a las cepas cerveceras de este género. El crecimiento de las bacterias acidolácticas se ve limitado por el bajo contenido de aminoácidos de la cerveza (que actúan como factores de crecimiento), mientras que el bajo potencial redox limita el crecimiento de las bacterias acéticas.

También la elevada concentración de anhídrido carbónico disuelto tiene un cierto efecto antiséptico. Además algunas cervezas contienen conservadores, como anhídrido sulfuroso y benzoatos, que constituyen otra barrera adicional al desarrollo microbiano. Por el contrario las cervezas sin alcohol son más sensibles a la contaminación microbiana, por lo que requieren un tratamiento de pasteurización más intenso que las cervezas normales.

En la revisión bibliográfica realizada no ha aparecido ningún trabajo sobre la presencia de ningún tipo de germen patógeno en cerveza, lo que concuerda con la afirmación expresa de Varnam y Sutherland (1994): "*en la cerveza no puede crecer ningún microorganismo patógeno conocido*". Los trabajos microbiológicos sobre cerveza se centran fundamentalmente en microorganismos no patógenos que puedan modificar las características sensoriales o analíticas de la cerveza, y que actúan durante el proceso de fabricación de esta bebida (Assche, 1992; O'Connor et al., 1991).



### 3.1. INTRODUCCIÓN

Existen varios grupos de este tipo de bebidas, de muy diferentes características, y difíciles de clasificar. En general su objetivo común es suministrar agua al cuerpo humano de una manera atractiva (por sus características sensoriales) o funcional (por los ingredientes funcionales que aporta la bebida) y, por supuesto, segura para la salud. Este grupo tiene como límites (que no incluye) las bebidas nutritivas por un lado (leche, zumos de frutas) y las aguas embotelladas por el otro.

En general el grupo no incluye bebidas que contengan alcohol, por lo que también se puede designar como bebidas refrescantes analcohólicas, si bien en la mayoría de los casos se entiende como ausencia de alcohol un contenido inferior al 1%. El grupo abarca bebidas refrescantes de frutas (naranja, limón,...), extractos (colas, tés,...), bebidas energéticas, para deportistas, etc., que a su vez pueden ser carbonatadas o no, normales o bajas en calorías, con o sin ingredientes funcionales (con o sin cafeína), etc.

Estas bebidas se prestan, por tanto, al diseño de nuevas formulaciones, con propiedades funcionales seleccionadas y dirigidas a un sector más o menos amplio de consumidores.

Existen en el mercado bebidas isotónicas o para deportistas (*isotonic drinks o sport drinks*), diseñadas para reponer agua y nutrientes de deportistas que realizan esfuerzos prolongados, y bebidas para potenciar actividades físicas y mentales (*energy drinks o smart drinks*, Hollingsworth, 1997).

Aunque existen bases científicas en los efectos de algunas de estas bebidas sobre los consumidores, los fabricantes llegan a exagerar y ampliar tanto las propiedades de estas bebidas que han llegado a desprestigiar el sector. En California se vende una bebida rica en carbohidratos, Slim Lite, con un ingrediente denominado CitraMax que supuestamente inhibe la producción de grasa y colesterol en el cuerpo humano (Hollisburg, 1997). En Japón la gaseosa Kio-Tsukou, aromatizada con limón y de alto contenido en calcio y vitamina C, se destina a consumidores del grupo sanguíneo A, mientras que la gaseosa Jori-Atsui, aromatizada con manzana y enriquecida con vitaminas C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>12</sub>, está dirigida a consumidores del grupo sanguíneo O (citado por Varnam y Sutherland, 1994).

La continua avalancha de nuevos productos a este sector del mercado hace que sea muy difícil disponer de una reglamentación que no quede rápidamente obsoleta. Aparecen bebidas de café y té gasificadas (*Liptonice*, Farr, 1995), y bebidas carbonatadas con alcohol (denominadas *alcopop*, en el argot inglés, Hollingsworth, 1997). Existen patentes recientes de bebidas refrescantes con alcohol, taurina y cafeína (Otto, 1998), con sales de Fe<sup>++</sup> (Jakubowicz, 1998), con mezclas de cola, cerveza de trigo y cafeína (Braumeister y Strobel, 1997), propuestas de bebidas refrescantes a base de manzana y pimienta con fibra añadida (Stern, 1998)

La tecnología de la elaboración de bebidas refrescantes es relativamente sencilla, aunque el desarrollo de la formulación pueda ser complicado. En muchos casos una planta central elabora un jarabe concentrado que distribuye a plantas embotelladoras satélite donde se produce la dilución y el embotellado, seguida o no de un tratamiento térmico, según el tipo de bebidas.

### 3.2. COMPOSICIÓN GENERAL DE LAS BEBIDAS REFRESCANTES

Clive Matthews, de NET International (Cinderford, Reino Unido), señala que una bebida refrescante suele contener la mayoría de los siguientes grupos de ingredientes:

- Agua (carbonatada o no)
- Azúcar (sacarosa en la mayoría de los casos)
- Fruta (zumo, extracto o algún ingrediente característico)
- Ácido (usualmente cítrico)
- Aromas y saborizantes (naturales o artificiales)
- Conservadores (ácido benzoico, sórbico, o SO<sub>2</sub>)
- Edulcorantes artificiales (aspartamo, acesulfama K, sacarina,...)
- Vitaminas (generalmente la vitamina C)
- Colorantes (carotenoides, antocianos)
- Reguladores de acidez (generalmente citrato sódico)
- Antioxidantes, emulgentes, estabilizadores, nutrientes, etc.

En esta relación no están incluidos los ingredientes funcionales, tales como cafeína, quinina, taurina (Farr, 1998), fibra (Bollinger, 1996), vitaminas A, C y E (Stern, 1998), ácido L-piroglutámico (Hollingsworth, 1997), colina (Simone, 1995),

L-carnitina (Blenford, 1996), etc, que adicionan los fabricantes de bebidas refrescantes estimulantes.

El agua supone más del 90% de la composición de estas bebidas, por lo que su calidad tiene un efecto directo sobre la calidad del producto final (Blank, 1994). Por ello se suele someter a tratamientos de esterilización, coagulación, filtración, desmineralización y ajuste de pH. También se suele desairear, para facilitar las operaciones de carbonatación y llenado y para evitar la oxidación de otros ingredientes. Habitualmente el oxígeno disuelto se reduce desde niveles de 8-9 mg/l a menos de 1 mg/l.

Las bebidas refrescantes utilizan como fuente hidrocarbonada sacarosa (de remolacha o de caña), jarabes de glucosa (obtenidos por hidrólisis ácida y enzimática del almidón), jarabes de maíz con alto contenido en fructosa, y maltodextrinas, en concentraciones que suelen estar en el intervalo del 4,5 al 6%. Si la concentración en carbohidratos simples supera el 7% pierde el efecto de rehidratación que se espera de estas bebidas.

El valor calórico de estas bebidas depende exclusivamente de su contenido en hidratos de carbono. Así, una bebida con el 6% de azúcares aporta unas 240 kcal por cada litro. Para evitar este aporte energético muchas bebidas sustituyen el azúcar por edulcorantes acalóricos (Lavin et al., 1997), entre los que se encuentran las sacarinas, ciclamatos, aspartamo (Nutra Seet™) y acesulfama K (Sunnett™) (Neiderauer, 1998).

Los edulcorantes acalóricos no pueden sustituir por completo a los azúcares, porque no confieren "cuerpo" al refresco, lo que obliga a reformular las mezclas añadiendo gomas u otros compuestos que aumenten algo la viscosidad de la bebida, del mismo modo que lo hubieran hecho los azúcares. Buhl (1994) recomienda a este efecto la adición de pectinas.

Las bebidas refrescantes suelen llevar zumos de frutas, extractos vegetales, sustancias aromáticas, aceites vegetales, etc, que proporcionan el gusto y aroma de la bebida (O'Carroll, 1995; Sinki, 1994). Entre las frutas se utilizan con mayor frecuencia los cítricos (especialmente la naranja), y normalmente en forma de zumo concentrado, aunque también suele formar parte de la formulación el aceite esencial de la corteza. Las colas llevan un extracto de raíz de cola, cafeína y una mezcla de esencias. Extractos de la raíz de jengibre se utilizan para la formulación de las *ginger ales* y algunas cervezas se utilizan también en la preparación de otras bebidas (*shandy*).

Los ácidos orgánicos se utilizan para conseguir una determinada relación azúcar/acidez de las bebidas refrescantes. El ácido cítrico, por su carácter suave fru-

tal, es el más utilizado en los refrescos de frutas (Jakubowic, 1998; Zandstra y Graff, 1998), mientras que el ácido fosfórico, de sabor plano y seco, resulta el más adecuado para las colas (Pei et al., 1995).

En los refrescos carbonatados se suelen utilizar aditivos antimicrobianos para prevenir la aparición de alteraciones microbianas en los prolongados periodos de almacenamiento a temperatura ambiente. En general se utilizan cuatro tipos de conservadores (Jager, 1994): anhídrido sulfuroso (normalmente en forma de metabisulfito sódico), ácido benzoico y sus sales, ésteres del ácido p-hidroxibenzoico (parabenes) y ácido sórbico y sus sales (no admitido como sustancia GRAS en Estados Unidos y otros países). Todos ellos son alergénicos. Los benzoatos tienen su máxima actividad a pH inferiores a 3, mientras que los parabenes son más eficaces a pH superiores a 3. Los sorbatos son más eficaces a pH bajo, pero mantienen su actividad a pH 6-6,5. El SO<sub>2</sub> es efectivo a pH inferior a 4, pero pierde su actividad al combinarse con los azúcares que participan en la formulación de la bebida.

Entre los antioxidantes, el ácido ascórbico se emplea para proteger a los compuestos sensibles de la fase acuosa, pero existen también compuestos vulnerables aromáticos de carácter lipídico. El BHA (butil-hidroxianisol) y BHT (butil-hidroxitolueno) se han utilizado mucho en el pasado, pero actualmente están siendo substituidos por tocoferoles y el palmitato de ascorbilo, que se suelen usar conjuntamente por su acentuado sinergismo. Por razones nutricionales, técnicas y de imagen comercial es muy interesante el uso de las vitaminas C, A y E como antioxidantes naturales en bebidas refrescantes (Schmidt, 1995).

El color es un atributo sensorial importante. La adición de colorantes a las formulaciones de refrescos tiene como objetivo reforzar su atractivo y estandarizar el color superando las variaciones naturales de los colorantes aportados por las otras materias primas. Se pueden utilizar colorantes artificiales, colorantes naturales y colorantes sintéticos similares a los naturales. Los colorantes más utilizados son los artificiales azoicos, que dan colores subidos y estables durante el almacenamiento. Los carotenoides sintéticos, similares a los naturales, son relativamente estables, dan coloraciones anaranjado-rojizas, y al ser liposolubles requieren una preparación especial para su inclusión en formulaciones de bebidas refrescantes. Los antocianos dan coloraciones rojizas, azules y púrpuras, pero tienden a la decoloración por acción de la luz. Los colorantes de caramelo, que se suelen utilizar en las bebidas de colas, oscuras y densas (Royle et al., 1998), tienen además cierto efecto emulsionante. Los colorantes poliméricos

son estructuras poliméricas de alto peso molecular con compuestos colorantes y solubilizantes apropiados, no son absorbidos por en el intestino, por lo que su nivel de seguridad es mayor.

Las bebidas refrescantes suelen llevar emulsionantes, estabilizantes y agentes que proporcionan turbidez ("nube"). Como emulsionantes se utilizan aceites vegetales bromados, pero actualmente tienden a sustituirse por otros productos, como ésteres de sacarosa, ésteres de propilenglicol y otros. Los estabilizantes ayudan a mantener la dispersión de los sólidos en la bebida. Para ello se usan alginatos, carragenatos, pectinas, goma de guar, carboximetil-celulosa, etc.

### 3.3. BEBIDAS PARA DEPORTISTAS Y OTRAS BEBIDAS CON ADITIVOS FUNCIONALES

Las bebidas para deportistas están diseñadas para facilitar la rehidratación del cuerpo humano durante una actividad física intensa y prolongada y después de ella (Simone, 1995; Pearce, 1996). Se conocen también como bebidas isotónicas, equilibradoras de los electrolitos y reponedoras de electrolitos. No obstante la presencia de electrolitos en estas formulaciones se debe a que facilitan la absorción y asimilación de agua, principal prioridad tras el esfuerzo; los electrolitos perdidos durante la actividad física se reponen posteriormente mediante una alimentación equilibrada y rica en estos principios.

Los electrolitos principales son sodio, cloruro, potasio, magnesio, calcio, hierro, fosfatos y carbonatos, y se suelen estabilizar en la forma iónica por la adición de ácido cítrico o málico. Las bebidas isotónicas también incorporan carbohidratos como fuente de energía. La absorción del agua se facilita por la presencia de bajas concentraciones de mono- y disacáridos, pero las altas concentraciones interfieren esta absorción, por lo que la cantidad de energía que puede suministrarse a través de estos azúcares es limitada. Este problema lo resuelven algunas formulaciones añadiendo maltodextrinas (Kuntz, 1997) que apenas interfieren en la absorción del agua.

La adición de algunos azúcares simples es realmente necesaria para mejorar el sabor de estas bebidas, a las que también se suelen añadir aromatizantes y saborizantes. Entre los azúcares simples se añade frecuentemente fructosa, pues durante mucho tiempo se ha pensado que la fructosa aumenta

el rendimiento del atleta. Según Varnam y Sutherland (1994) no existe ninguna evidencia científica de ello, a no ser que el atleta se encuentre ebrio, pues la fructosa aumenta ligeramente la velocidad de metabolismo del alcohol.

También se suele incorporar una mezcla de vitaminas (C, E y del complejo B). En ocasiones algunas bebidas incorporan cromo (Varnam y Sutherland, 1994), creatinina (Sueoka, 1995) y L-carnitina (Gordeladze, 1997), para intentar mejorar el rendimiento del atleta. Estas bebidas se pueden comercializar en forma de polvo, de concentrado o lista para beber.

Otro tipo de bebidas deportivas menos conocido es el de las bebidas pre-competición, diseñadas para proporcionar un alto nivel de energía disponible en forma de carbohidratos (Varnam y Sutherland, 1994). Estas bebidas contienen un 20-25% de carbohidratos, normalmente una mezcla de maltodextrinas, fructosa y glucosa. También llevan electrolitos y vitaminas del complejo B, para favorecer el metabolismo de los carbohidratos.

También se fabrican bebidas como suplementos nutritivos para aportar nutrientes concentrados y fáciles de asimilar, del tipo de los usados en nutrición en los hospitales, que se consumen también en la fase de precompetición. El componente principal de estos suplementos es una mezcla de proteínas y aminoácidos, a la que se adicionan carbohidratos, lípidos insaturados, vitaminas y minerales, especialmente calcio, cinc, magnesio y hierro. Se ha cuestionado el beneficio de estos suplementos en personas sanas, aunque podrían ser valiosos en los casos en que el estrés precompetitivo dificulta la digestión.

Otro grupo de bebidas podría definirse como el de bebidas refrescantes estimulantes (*energy drinks o smart drinks*). Son productos de vanguardia, que están desplazando en el mercado a las tradicionales bebidas refrescantes de frutas o de colas (Cave, 1995), y que van dirigidos a sectores concretos de consumidores (Farr, 1998). Llevan incorporados aditivos funcionales que tienden a estimular el nivel físico y mental: cafeína, taurina, extractos de ginseng, complejos vitamínicos, etc.

Como indica Hollingsworth (1997) van dirigidas especialmente a jóvenes que se pasan toda la noche bailando en discotecas, con el corazón latiendo continuamente a 120 pulsaciones por minuto; aumentan el nivel de lucidez, evitan la sensación de cansancio, no son adictivas, y no afectan a las funciones psico-motrices ni dan resaca, como puede ocurrir con un fuerte consumo de bebidas alcohólicas.

### 3.4. CALIDAD SANITARIA DE LAS BEBIDAS REFRESCANTES

En general se considera que las bebidas refrescantes son productos seguros para los consumidores y de alta calidad sanitaria. Suelen tener un pH ácido, frecuentemente llevan anhídrido carbónico, utilizan materias primas con un elevado grado de pureza, y llevan aditivos conservadores o sufren un proceso de pasteurización. Por ello la probabilidad de que su calidad sanitaria sea problemática es muy inferior a la de las aguas envasadas.

Los riesgos, muy escasos, pueden proceder de

- Contaminantes aportados por los ingredientes utilizados en la formulación, sobre todo por el agua de formulación y de origen no microbiano.
- Higiene defectuosa en la línea de preparación y envasado.
- Utilización de aditivos (colorantes, conservadores, edulcorantes, etc.) cuya seguridad está cuestionada

En este grupo de bebidas refrescantes coexisten empresas que se encuentran entre las mayores multinacionales y pequeñas empresas que distribuyen sus productos en un ámbito local. Los medios utilizados por las distintas empresas para el control y tratamiento de los ingredientes (el agua principalmente) no son los mismos en todos los casos, y ello afecta a la fuerte dispersión de concentraciones de algunos compuestos (por ejemplo, trihalometanos) en los distintos productos del mercado.

Dentro del grupo de bebidas refrescantes, el grupo de bebidas dietéticas utiliza un aditivo más, edulcorantes de síntesis, productos estrechamente vigilados en la mayoría de los países en cuanto a autorización de uso, dosis máximas autorizadas, posibles productos de descomposición del edulcorante, etc. El grupo de bebidas azucaradas no presenta este problema, pero se ha descrito que el consumo habitual de estas bebidas favorece la aparición de caries dental en los consumidores (Lings-trom et al., 1997; Murray y Drummond, 1996).

#### 3.4.1. NITROSAMINAS, AMINAS BIÓGENAS, MICOTOXINAS, PESTICIDAS, METALES PESADOS Y ARSENICO

El riesgo de la presencia de nitrosaminas en las bebidas refrescantes es muy reducido y se limita a lo que pueda aportar el agua utilizada en la formulación de estas bebidas (Roast, 1989; Tricker et al., 1991).

No se ha encontrado ninguna cita bibliográfica concreta sobre la presencia y contenido de nitrosaminas en bebidas refrescantes. Tampoco se han detectado referencias bibliográficas sobre la presencia de micotoxinas o aminos biógenas contaminantes en estas bebidas. También cabe destacar la escasa incidencia bibliográfica de los contenidos en pesticidas y herbicidas de las bebidas refrescantes; obviamente el contenido en estos elementos es muy inferior al de los zumos de partida (donde sí que se encuentran varios trabajos sobre el tema), dada la baja proporción de zumo que llevan estas bebidas (Lanza, 1997).

Apenas si se ha encontrado alguna cita bibliográfica sobre el contenido de elementos traza en bebidas refrescantes. En los últimos años 10 años sólo aparece un artículo español (Barberá et al., 1993) sobre el contenido en plomo de bebidas de cola, en el que se indica que todas las muestras analizadas cumplen la ley española respecto al contenido máximo de plomo, y otro artículo japonés (Tanaka et al., 1996; en idioma japonés y sin resumen en otro idioma) sobre el contenido en arsénico, estaño, plomo y cadmio. La poca importancia dada por los centros de investigación a este tema da idea de la escasa relevancia de resultados que indiquen posibles efectos sobre la salud de los consumidores.

### 3.4.2. ADITIVOS UTILIZADOS EN LA FORMULACIÓN DE BEBIDAS REFRESCANTES.

Varnam y Sutherland (1994) recopilan la siguiente información sobre la salubridad de algunos aditivos utilizados en la formulación de bebidas refrescantes.

#### **Edulcorantes**

- *Sacarina: posible carcinógeno, prohibido en muchos países. En Estados Unidos de América (USA) debe llevar una "advertencia para la salud".*
- *Ciclamatos: posible carcinógenos, prohibidos en muchos países, incluidos el Reino Unido y USA, pero pueden volver a ser autorizados.*
- *Aspartamo: se han hecho acusaciones referentes a su seguridad, aunque las pruebas parecen ser anecdóticas. Contiene trazas de fenilalanina y debe ser evitado por personas con fenilcetonuria.*

#### **Colorantes**

- *Colorantes sintéticos: se han asociado con efectos adversos, incluyendo dificultad para respirar, erupciones cutáneas y visión borrosa en personas sensibles (incluyendo personas sensibles a la aspirina, y posiblemente también asmáticos y personas con eczema) y con hiperactividad en los niños. La tartra-*



*zina ha recibido una atención especial en relación a la hiperactividad, aunque con la excepción del Patent Blue V y del Food Green S, todos los colorantes artificiales utilizados en las bebidas refrescantes en el Reino Unido están incluidos en la lista que el Hyperactive Children's Support Group recomienda evitar.*

- *Varios colorantes sintéticos azoicos han sido prohibidos por demostrar potencial carcinógeno. Estudios recientes en la Nottingham Trent University indican que otros colorantes que en la actualidad se consideran seguros se convierten en genotóxicos tras su metabolismo por las bacterias intestinales.*
- *Caramelo: desde hace tiempo se viene cuestionando la seguridad del caramelo, aunque el tipo que se emplea en los refrescos se considera seguro.*

#### **Conservantes**

- *Ácido benzoico: fuente de benceno en niveles inaceptables.*
- *Todos los conservantes: diversas respuestas alérgicas.*

#### **Antioxidantes**

- *Hibroxitolueno e hidroxianisol butilados: casos de diversas reacciones adversas como la elevación del nivel sanguíneo de lípidos y de colesterol. Pueden proteger frente a algunos carcinógenos.*

Estos mismos autores, junto con Murphy et al., (1991) afirman que el uso de los aceites vegetales bromados como emulsionantes de bebidas refrescantes se está abandonando, debido a las dudas sobre su seguridad.

Por su parte, Tateo et al., (1988) y Aboul Enein y Bakr (1997) han demostrado que el Aspartamo contenido en bebidas refrescantes puede llegar a descomponerse, produciendo entre otros productos L-fenilalanina, que ya se ha comentado anteriormente por ocasionar problemas a consumidores fenilcetonúricos. De modo similar los ciclamatos pueden dar lugar a 2-ciclohexen-1-ona (Hahn, 1996 y 1997) compuesto cuyas posibles implicaciones sobre la salud se están actualmente estudiando.

Woods (1996) pone asimismo objeciones a la aprobación del Acesulfamo K por parte de la Food and Drug Administration (USA) como edulcorante de bebidas refrescantes, por considerar que todavía no han quedado descartados posibles efectos sobre la salud de los consumidores.

En cualquier caso debe hacerse constar que las formulaciones de bebidas refrescantes y similares existentes en el mercado utilizan todas ellas aditivos autorizados y dentro del intervalo máximo que las diferentes leyes establecen para cada uno de ellos, y que no ha quedado demostrado el efecto pernicioso de los distintos aditivos en las dosis autorizadas y con las ingestas previstas.

### 3.4.3. COMPUESTOS QUÍMICOS DIVERSOS

La bibliografía sobre estos compuestos en bebidas refrescantes sólo da referencias en dos sentidos: trihalometanos, benceno y tolueno en general, y el 2-acetil-4(5)-tetrahidroxitilimidazol (THI) en bebidas de cola. Los primeros se forman en la cloración del agua en la etapa de desinfección (Wallace, 1997), mientras que los segundos se incorporan con el caramelo colorante que llevan las bebidas de cola.

McNeal et al., (1995) analizan diversas muestras de bebidas y obtienen los siguientes valores:

Bebida	Concentración (ng/g)				
	CHCl <sub>3</sub>	CHBrCl <sub>2</sub>	CHBr <sub>2</sub> Cl	Benceno	Tolueno
Agua de manantial A	1	ND (no detect)	ND	ND	ND
Agua de manantial B	ND	ND	ND	ND	1
Agua de manantial C	1	ND	ND	ND	1
Agua gasificada y con sabor	38	12	1	ND	ND
Cerveza "seca" A	1	ND	ND	ND	ND
Cerveza "seca" B	1	ND	ND	ND	ND
Zumo de manzana A	ND	ND	ND	0,5	1
Zumo de manzana B	1	ND	ND	0,5	-
Zumo de frutas A	21	5	ND	ND	ND
Zumo de frutas B	1	ND	ND	1	ND
<b>Bebida para deportistas</b>	<b>12</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>	<b>9</b>	<b>1</b>
Cola A1	81	4	ND	ND	ND
Cola A2	94	3	ND	ND	ND
Cola A3	36	2	ND	ND	2
Beb. refr. naranja diet. A1	21	2	1	1	ND
Beb. refr. naranja diet. A2	10	2	1	1	-
Beb. refr. naranja diet. A3	65	12	2	3	3
Beb. refr. uva diet.	50	2	0,5	1	ND
Beb. refr. lima-limón diet.	38	1	ND	ND	1
Beb. refr. frambuesa diet.	57	3	ND	ND	ND
Beb. refr. cereza-bayas diet.	23	2	ND	2	ND
Beb. refr. pomelo diet.	56	3	ND	1	ND
Beb. refr. mandarina diet.	49	2	ND	ND	-

La FDA admite un máximo del total de estos compuestos de 100 ng/ml, y como puede observarse en la tabla anterior todas las muestras analizadas por estos investigadores cumplen la norma, aunque algunas de ellas se acercan peligrosamente al límite máximo autorizado (Cola A1, 85 ng/100 ml; cola A2, 97 ng/100 ml; refresco de naranja A3, 85 ng/100 ml).

Kroepfen (1986), de la firma Coca-Cola, analizó el contenido en THI de 12 muestras comerciales de este colorante entre los años 1979 y 1983, encontrando valores comprendidos entre 2 y 373 mg/g. Según la información publicada posteriormente por Lawrence y Menard (1989) se ha fijado para este compuesto una concentración máxima de 40 mg/g de caramelo. No obstante Iscaro et al., (1988) señalan que es muy poco probable que la linfopenia se produzca con las concentraciones habituales del THI en el colorante y las de éste en cervezas o colas.

#### 3.4.4. CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LAS BEBIDAS REFRESCANTES

Los problemas microbiológicos asociados con las bebidas refrescantes se reducen prácticamente a los relacionados con la alteración. En general estas bebidas sólo permiten el crecimiento de clases restringidas de microorganismos.

La principal fuente de contaminación son los propios ingredientes, especialmente el azúcar y los concentrados de frutas como portadores de levaduras; la propia agua de formulación de la bebida también ha sido señalada en varias ocasiones como vehículo de contaminación microbiana. La falta de una higiene escrupulosa en la línea, y sobre todo en la sección de envasado, también puede dar lugar a contaminaciones microbianas. El uso generalizado de botellas no retornables ha supuesto un fuerte freno a este foco de contaminación.

El carbónico disuelto evita el crecimiento de bacterias: 2,5-3 volúmenes de  $\text{CO}_2$  evita ya el crecimiento de las bacterias acéticas y en bebidas con carbonatación superior a 4 volúmenes sólo se ha llegado a aislar levaduras *Brettanomyces*.

El pH ácido de estos refrescos constituye una doble barrera pues, además del efecto per se sobre los microorganismos, potencia el efecto de los aditivos conservadores que suelen llevar incorporados este tipo de bebidas. El  $\text{SO}_2$  es el conservador más eficaz frente a todos los microorganismos, mientras que el benzoico se considera eficaz frente a levaduras y hongos pero no frente a la mayoría de las bacterias.

En algunas bebidas a base de edulcorantes artificiales y otros ingredientes sintéticos, la falta de nutrientes disponibles para los posibles microorganismos contaminantes limita también su desarrollo. Los tratamientos térmicos que sufren otras bebidas destruyen las formas vegetativas presentes, aunque algunos mohos, como *Byssochlamys* producen ascosporas termorresistentes que pueden germinar posteriormente y alterar las bebidas en el almacenamiento del producto.

No se han encontrado microorganismos patógenos en bebidas refrescantes, ni siquiera en productos de países donde son más frecuentes las intoxicaciones alimentarias (Nigeria, Oranusi et al., 1994; India, Kalra et al., 1991). Sí que pueden darse la presencia de microorganismos patógenos en aguas envasadas (de Felip y Toti, 1988), pero estos productos quedan fuera de los objetivos de este trabajo.

## 4

Para llevar a cabo esta evaluación comparativa debe tenerse presente las características de ambos grupos de productos, que se han estado detallando a lo largo de todos los apartados anteriores.

Los distintos tipos de cervezas son productos naturales, obtenidos por un proceso biológico a partir de cuatro materias primas básicas: agua, malta, levadura y lúpulo. Algunas cervezas se obtienen exclusivamente a partir de estos cuatro ingredientes, mientras que otras incluyen unos pocos ingredientes más: una fuente hidrocarbonada (normalmente un cereal no malteado; Pierce, 1987), un colorante (caramelo, aditivo E-150; Smolnik, 1987), un estabilizante de espuma (habitualmente alginato de propilenglicol, aditivo E-405; Fey y Mack, 1981; Bernard et al., 1981a y b; Archibald, 1988; Vincent y von Husby, 1990) y un antioxidante ( $\text{SO}_2$ , aditivo E-220, o bien ácido ascórbico, aditivo E-300). Todos ellos son productos de procedencia natural, excepto el  $\text{SO}_2$ , aunque la propia levadura cervecera es también capaz de sintetizar este compuesto (O'Connor et al., 1993; Hleinshans et al., 1993; Angelino et al., 1989). Como aditivos tecnológicos se suelen añadir proteasas y carbohidrasas de origen vegetal o microbiano, aunque estos compuestos se suelen inactivar durante el proceso de fabricación y no suelen estar en forma activa en el producto final (Fukal, 1990; Norris y Lewis, 1985).

Para obtener cervezas sin alcohol se suelen utilizar procedimientos físicos, sin la adición de productos químicos extraños a la cerveza (Marchbanks, 1986; Jaeger, 1984; Curin, 1976; Masior et al., 1976; Ziegler y Muehlbauer, 1975; Masier et al., 1974).

Por el contrario las bebidas refrescantes son productos obtenidos por procesos de mezcla de distintos ingredientes y aditivos, naturales o de síntesis, y su composición se adapta al grupo de consumidores al que va destinado. La variabilidad de composición, sabores, propiedades nutritivas y funcionales es amplísima, y continuamente están apareciendo en el mercado nuevos productos, que aportan nuevos sabores o nuevas propiedades funcionales.

Al comparar cervezas con bebidas refrescantes debe tenerse en cuenta que la diversidad de estas últimas es muy superior a la de las cervezas actualmente disponibles en el mercado. Cualquier ingrediente hidrosoluble que aporte ciertas propiedades nutritivas, sensoriales o funcionales puede incorporarse en una formulación de bebidas refrescantes, mientras que actualmente se tiende a evitar la adición de nuevos ingredientes a cervezas.

## 4.1. VALOR CALÓRICO

Una cerveza normal típica aporta unas 460 Kcal por litro, mientras que una cerveza sin alcohol aporta alrededor de 150 Kcal, y una cerveza "seca" (sin extracto seco residual) unas 310 Kcal. Una de las bebidas refrescantes con mayor contenido calórico es *Red Bull*, perteneciente al grupo de las bebidas energéticas, con 450 Kcal por litro. No obstante la bebida refrescante típica, destinada a calmar la sed, contiene un 5-7 % de azúcares, que proporcionan 200-280 Kcal/litro. La propia publicidad de *Red Bull* recomienda su dilución al 50% en agua cuando se consume con fines de rehidratación del cuerpo humano, lo que ya supone un contenido energético de 225 Kcal/litro. La cerveza típica tiene pues mayor contenido energético que la bebida refrescante típica. El valor energético típico de las bebidas refrescantes es comparable al de una cerveza con el 3% de alcohol, tipo que se produce en algunos países, aunque carece de difusión actualmente en Europa.

En el otro lado de la escala, una cerveza sin alcohol aporta, fundamentalmente por las maltodextrinas que contiene, unas 150 Kcal/litro, mientras que las bebidas refrescantes dietéticas formuladas a base de edulcorantes y extractos de aromas carecen prácticamente de contenido calórico.

## 4.2. VALOR NUTRITIVO

La cerveza, como producto natural, aporta mayor diversidad de ingredientes que las bebidas refrescantes, destacando su aportación de vitaminas del grupo B y la de algunas sustancias minerales. Entre las vitaminas destaca la riboflavina, la piridoxina, la niacina y el ácido fólico, y entre los minerales el fósforo y el silicio. Aunque también contiene una amplia gama de componentes nitrogenados su valor biológico es escaso.

La gran diversidad de tipos de bebidas refrescantes hace que sea difícil citar ingredientes con valor nutritivo (distinto del mero aporte calórico) comunes a todas ellas. Es bastante frecuente la participación de la vitamina C en la formulación, aunque su adición tiene por objetivo fundamental más su poder como antioxidante que el deseo de incrementar el valor nutritivo de las bebidas. En un segundo nivel, y con el mismo objetivo fundamental de evitar la oxidación,

algunas formulaciones incorporan  $\beta$ -carotenos (provitamina A) y tocoferol (vitamina E). Algunas bebidas refrescantes incluyen en su formulación vitaminas del grupo B, especialmente B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub> (*Jori-Atsui, Red Bull*).

Desde un punto de vista exclusivamente nutricional, y sin considerar los aspectos funcionales que se comentan en el siguiente apartado, la cerveza aporta fundamentalmente alcohol e hidratos de carbono (que se traduce en poder calórico) y vitaminas del grupo B. Las bebidas refrescantes no suelen contener alcohol, la mayoría llevan azúcares sencillos (glucosa, fructosa, sacarosa), y si contienen vitaminas añadidas la más utilizada es la vitamina C, por su bajo precio y su poder antioxidante.

### 4.3. PROPIEDADES FUNCIONALES

Las propiedades funcionales de la cerveza, como se ha descrito en el apartado 2.3, se deben especialmente a los siguientes ingredientes:

- Alcohol etílico en concentración reducida, cuyo consumo moderado mejora la salud cardiovascular y retrasa la aparición de la menopausia.
- Folatos, que reducen el riesgo de anemia megaloblástica y de malformaciones en la médula espinal.
- Polifenoles, como antioxidantes naturales que potencialmente podrían reducir los fenómenos oxidativos responsables del envejecimiento del organismo.
- $\beta$ -D-glucanos y arabinosilanos, como fibra soluble que disminuye la incidencia del cáncer de colon y rebaja la colesterolemia..
- Maltodextrinas, como fuente energética de baja osmolalidad y que se metaboliza proporcionando un aporte controlado de azúcares sencillos.
- Muy bajo contenido en sodio, lo que hace que resulte adecuada para dietas hiposódicas y para producir diuresis.

Evidentemente todos estos ingredientes podrían formar parte de la formulación de bebidas refrescantes. En efecto existen bebidas refrescantes con alcohol etílico (*alcopop*), con fibra, con flavonoides, con maltodextrinas. No obstante no se han encontrado referencias de bebidas refrescantes comerciales con folatos o hiposódicas, aunque no habría ninguna dificultad en desarrollar formulaciones de estas características.

Las bebidas refrescantes llevan algunos ingredientes funcionales no presentes en cervezas: diversos tipos de flavonoides, cafeína, taurina,...La cerveza contiene otros tipos de flavonoides y de aminos biógenos, pero sus posibles propiedades funcionales están todavía por conocer.

#### 4.4. CALIDAD SANITARIA

Tanto cervezas como bebidas refrescantes son productos alimenticios con una calidad sanitaria similar y muy elevada, con riesgos inferiores al de bebidas neutras, como pueden ser las aguas embotelladas o la leche.

Los riesgos sanitarios de la cerveza provienen de los aportes de las materias primas, y se asocian con la detección de algunos contaminantes aportados por aquellas, sobre todo nitrosaminas y, en un segundo nivel, por micotoxinas, aportadas ambas por la malta (véase el apartado 3.5). Los riesgos sanitarios de las bebidas refrescantes, descritos en el apartado 4.4, se relacionan fundamentalmente con el uso de aditivos de síntesis (colorantes, edulcorantes) cuya seguridad es cuestionable, y con la presencia de trihalometanos.

En cualquier caso se insiste en que se trata de dos grupos de alimentos de elevada seguridad sanitaria. En la revisión bibliográfica realizada (período 1969-1998) no se ha encontrado ninguna referencia sobre intoxicaciones de origen químico o microbiano ocurridas por la ingestión de estas bebidas.



## 5

## CONCLUSIONES

La cerveza, como bebida alcohólica moderada, es un alimento que tomado en cantidades apropiadas puede suministrar al consumidor diversos ingredientes con interesantes propiedades refrescantes, nutritivas y funcionales para la salud de los consumidores. Es un producto esencialmente natural, por lo que no puede competir en diversidad de presentaciones y formulaciones con las bebidas refrescantes obtenidas por mezcla de distintos ingredientes artificiales (los mas) y naturales (los menos).

## BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- 1 Aboul Enein, H.Y., & Bakr, S.A. (1997). Comparative study of the separation and determination of aspartame and its decomposition products in bulk material and diet soft drinks by HPLC and CE. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 20, 1437-1444.
- 2 Ahmed, F.E. (1995). Toxicological effects of ethanol on human health. *Critical Reviews in Toxicology*, 25, 347-367.
- 3 Alsen Eklof, E. (1998). [Energy and sports drinks in Sweden.]. *Livsmedelsteknik*, 40, 28-29.
- 4 Andersen, J.R. (1984). [Ethylene thiourea (ETU) and propylene thiourea (PTU) in beer.]. *Brygmesteren*, 41, 67-80.
- 5 Anderson, J.J.B., & Garner, S.C. (1997). The effects of phytoestrogens on bone. *Nutrition Research*, 17, 1617-1632.
- 6 Anderson, R.A., & Bryden, N.A. (1983). Concentration, insulin potentiation and absorption of chromium in beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31, 308-311.
- 7 Angelino, S.A.G.F., Mocking Bode, H.C.M., & Vermeire, H.A. (1989). Activity of sulphate-metabolizing enzymes and sulphur dioxide formation during main fermentation. *Monatsschrift fuer Brauwissenschaft*, 42, 476-482.
- 8 Anjan Reddy, K., & Marth, E.H. (1991). Reducing the sodium content of foods: a review. *Journal of Food Protection*, 54, 138-150.
- 9 Archibald, H.W. (1988). Beer foam getting ahead. *Brewer*, 74, 295-300.
- 10 Asp, N.G., Bjoerck, I., & Nyman, M. (1993). Physiological effects of cereal dietary fibre. *Carbohydrate Polymers*, 21, 183-187.
- 11 Assche, P., van. (1992). [Microbial contamination of beer.]. *Cerevisia and Biotechnology*, 17, 45-56.
- 12 Baker, R.A. (1994). Potential dietary benefits of citrus pectin and fiber. *Food Technology*, 48, 133-136.
- 13 Balestrieri, F., Flori, A., & Marini, D. (1991). [Determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages.]. *Industrie delle Bevande*, 20, 187-189.
- 14 Barbera, R., Farre, R., Garcia, P., & Clemente, G. (1993). Lead content of cola drinks: influence of brand, formula, and packaging. *Journal of Food Composition and Analysis*, 6, 100-103.
- 15 Bardocz, S. (1995). Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. *Trends in Food Science & Technology*, 6, 341-346.
- 16 Barnes, S. (1998). Evolution of the health benefits of soy isoflavones. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998 Mar, 217(3): 386-392.
- 17 Bartnikowska, E. (1995). Health benefits of dietary antioxidants. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 4/45, 3-22.
- 18 Basarova, G. (1981). [Origin and significance of foreign substances in foods, especially in beer.]. *Kvasny Prumysl*, 27, 6-15.
- 19 Baxter, D. (1996). Beer is good for you - discuss. *Brewer*, 82, 63-66.
- 20 Baxter, E.D. (1996). The fate of ochratoxin A during malting and brewing. *Food Additives and Contaminants*, 13, 23-24.
- 21 Bednarek Karbul, E., & Blachowa, M. (1981). [Beer free from pesticides.]. *Przemysl Fermentacyjny i Owocowo Warzywny*, 25, 1-2.
- 22 Bellia, J.P., Birchall, J.D., & Roberts, N.B. (1994). Beer: a dietary source of silicon. *Lancet*, 343, 235.
- 23 Benard, M., Nicolaidis, M., & Scriban, R. (1981). [Further analytical studies on beer foam stabilizers.]. *Annales des Falsifications et de l'Expertise Chimique*, 74, 29-40.
- 24 Benard, M., Scriban, R., & Normand, G. (1981). [Complementary analytical studies on beer foam stabilizers.]. *Annales des Falsifications et de l'Expertise Chimique*, 74, 569-574.
- 25 Bisson, L.F., & Butzke, C.E. (1996). Technical enzymes for wine production. *Agro Food Industry hi tech*, 7, 11-14.
- 26 Blacha, M., & Bednarek Karbul, W. (1974). Chloroorganic pesticides in brewing industry. *Iv International Congress of Food Science and Technology, Abstracts of Papers 9a*, 215

- 27 Blank, W.H. (1994). [Preparation of water for the drinks industry. I.]. *Alimentacion Equipos y Tecnologia*, 13, 29-32.
- 28 Blenford, D. (1995). Trends in functional foods and ingredients. *Food Tech Europe*, 2, 24, 26, 28
- 29 Blenford, D.E. (1994). Food for health, the market. *International Food Ingredients*, International-Food-Ingredients; 9: 1.
- 30 Blenford, D.E. (1996). Winner drinks. Use of amino acids and peptides in sports nutrition. *International Food Ingredients*, 3, 20-23.
- 31 Bornmann, G., Herold, E., Loeser, A., & Opitz, K. (1968). [Toxicological studies on beer made from hop-extract containing methylene chloride.] *Toxikologische Untersuchung ueber den Einfluss von mit dichlormethan- haltigem Hopfenextrakt hergestellten Bier*. *Brauwelt*, 108, 1333-1334.
- 32 Braumeister, U.C., & Strobel, W. (1997). [Cola wheat beer product and its manufacture.] *Cola-Weizen und zugehoe-origes Herstellungsverfahren*. German Federal Republic Patent Application, German-Federal-Republic-Pat.
- 33 Bravo, J.M., & Bravo, F. (1997). [Hygienic and therapeutic value of quercetin and other bioflavonoids in wine.]. *Alimentaria*, *Alimentaria*-131-133.
- 34 Bu Abbas, A., Copeland, E., Clifford, M.N., Walker, R., & Ioannides, C. (1997). Fractionation of green tea extracts: correlation of antimutagenic effect with flavanol content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 75, 453-462.
- 35 Buday, A.Z., & Denis, G. (1974). The diuretic effect of beer. *Brewers' Digest*, 49, 56-58.
- 36 Buhl, S. (1994). [Application of pectins in soft drinks and beverages.] *Anwendung von Pektinen in alkoholfreien Erfrischungsgetraenken*. *Fluessiges Obst*, 61, 10-11.
- 37 Buiatti, S., Boschelle, O., Mozzon, M., & Battistutta, F. (1995). Determination of biogenic amines in alcoholic and non-alcoholic beers by HPLC. *Food Chemistry*, 52, 199-202.
- 38 Bulinski, R., Bloniarz, J., Koktyz, N., Kot, A., Marzec, Z., & Szydłowska, E. (1986). [Nutritive and energy values of Polish beer.]. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 19, 73-76.
- 39 Bulinski, R., & Kot, A. (1988). [Evaluation of Polish beers: nutritional and calorific values.]. *Przemysl Fermentacyjny i Owocowo Warzywny*, 32, 3-5.
- 40 Bulinski, R., Wyszogrodzka Koma, L., & Marzec, Z. (1996). Study on some trace elements in Polish food products. XXI. Lead, cadmium, chromium, zinc, manganese, copper, nickel and iron content in beer. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 29, 167-172.
- 41 Burke, C. (1995). Functional foods and drinks. The market in Japan. *International Food Ingredients*, 2 :39-42.
- 42 Butterworth, C.E., & Bendich, A. (1996). Folic acid and the prevention of birth defects. *Annual Review of Nutrition*, 16, 73-97.
- 43 Carbonell, J.V., Sendra, J.M., & Todo, V. (1990). Kinetics of beta-glucan degradation in beer by exogenous beta-glucanase treatment. *Journal of the Institute of Brewing*, 96, 81-84.
- 44 Casanova, M., & Guichon, R. (1988). Residues of EBDC fungicides and ETU in experimental and commercial beverages (beer and wine). *Journal of Environmental Science and Health*, 23, 179-188.
- 45 Casares, R., Garcia Puertas, P., Masoud, T.A., & Garcia Sanchez, A. (1979). [Mineral elements in bottled and canned Spanish beer.]. *Anales de Bromatologia*, 31, 279-294.
- 46 Castaña, F.X. (1997). [Beer: history, manufacture and properties.]. *Alimentacion Equipos y Tecnologia*, 16, 41-48.
- 47 Cave, S. (1995). Soft drinks find a niche. *Food Manufacture*, 70, 37, 39-40.
- 48 Cerutti, G. (1985). [Potential contaminants of alcoholic and non-alcoholic beverages.]. *Enotecnico*, 21, 31-37.
- 49 Cerutti, G., Finoli, C., Gerosa, A., & Zappavigna, R. (1976). [Residues of organochlorine pesticides in foods and beverages.]. *Rivista della Societa Italiana di Scienza dell'Alimentazione*, 5, 339-344.
- 50 Cerutti, G., Finoli, C., & Vecchio, A. (1989). Non-volatile amine biogenesis from wort to beer. *Monatsschrift fuer Brauwissenschaft*, 42, 246-248.

- 51 Cerutti, G., Finoli, C., Vecchio, A., & Maccagnola, P. (1987). Indices of quality for beer. I. The level of vasoactive, non-volatile amines. *Monatsschrift fuer Brauwissenschaft*, 40, 369-372.
- 52 Cerutti, G., Finoli, C., Vecchio, A., & Mannino, S. (1982). Trace elements in beer. *Brauwissenschaft*, 35, 284-286.
- 53 Cerutti, G., & Vecchio, A. (1983). [Organic and mineral contamination of foods.]. *Tecnologie Alimentari*, 6, 15-22.
- 54 Cerutti, G., Vecchio, A., Finoli, C., & Trezzi, A. (1987). Indices of quality for beer. III. Mycotoxins. *Monatsschrift fuer Brauwissenschaft*, 40, 455-457.
- 55 Cervera Sanz, M.L. (1992). [Development, evaluation and application of analytical methodologies employing atomic spectroscopy to determine arsenic in processed foods.] (Thesis title: Desarrollo, evaluacion y aplicacion de metodologias analiticas, mediante tecnicas de espectroscopia atomica, para la determinacion de arsenico en alimentos elaborados (1991) 181pp. Es). *Dissertation Abstracts International*, 53, 108
- 56 Cervera, M.L., Navarro, A., Montoro, R., Catalá, R., & Ybanez, N. (1988). Contenido en arsénico de cervezas españolas. *Cerveza y Malta*, 97, 3-4.
- 57 Charalambous, G., & Bruckner, K.J. (1977). Analysis of metallic ions in brewing materials, wort, beer and wine by inductively coupled argon plasma-atomic emission spectroscopy. *Technical Quarterly*, 14, 197-208.
- 58 Chu, F.S., Chang, C.C., Ashoor, S.H., & Prentice, N. (1975). Stability of aflatoxin B1 and ochratoxin A in brewing. *Applied Microbiology*, 29, 313-316.
- 59 Clydesdale, F.M., Kolasa, K.M., & Ikeda, J.P. (1994). All you want to know about fruit juice. *Nutrition Today*, 29, 14-28.
- 60 Cole, R.J. (1993). Fungal tremorgens. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 29, 32-37.
- 61 Cook, N.C., & Samman, S. (1996). Flavonoids - chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 7, 66-76.
- 62 Culik, J., Kellner, V., Frantik, P., & Jurkova, M. (1995). [Determination of lower aliphatic halogen hydrocarbons in beer using static and dynamic headspace analysis.]. *Kvasny Prumysl*, 41, 105-109.
- 63 Curin, J. (1976). [Non-alcoholic beer 'Pito']. *Vyziva Lidu*, 31, 58-59.
- 64 Daudt, C.E., Ough, C.S., Stevens, D., & Herraiz, T. (1992). Investigations into ethyl carbamate, n-propyl carbamate, and urea in fortified wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43, 318-322.
- 65 Deldime, P., & Zielegheem, A., van. (1977). [Application of anodic stripping voltametry with glassy carbon electrode to the determination of copper and lead in beer.]. *Cerevisia*, 2, 21-24.
- 66 Delin, C.R., & Lee, T.H. (1991). Alcohol and the early phases of life. *Australian & New Zealand Wine Industry Journal*, 6, 147-149.
- 67 Delin, C.R., & Lee, T.H. (1992). Wine and ethanol: issues in nutrition. *Australian & New Zealand Wine Industry Journal*, 7, 34, 36-38.
- 68 Dennis, M.J., Massey, R.C., Ginn, R., Willetts, P., Crews, C., & Parker, I. (1997). The contribution of azodicarbonamide to ethyl carbamate formation in bread and beer. *Food Additives and Contaminants*, 14, 101-108.
- 69 Dennis, M.J., Massey, R.C., Pointer, M., & Willetts, P. (1990). Cooperative trial studies on the analysis of ethyl carbamate using capillary gas chromatography. *Journal of High Resolution Chromatography and Chromatography Communications*, 13, 247-251.
- 70 Donhauser, S., Wagner, D., & Geiger, E. (1992). [Biogenic amines. Importance, occurrence and evaluation.] *Biogene Amine. Bedeutung, Vorkommen und Bewertung*. *Brauwelt*, 132, 1272-1274.
- 71 Dreher, M.L. (1987). *Handbook of dietary fiber. An applied approach*. x + 468pp. ISBN 0 8247 7655 0, many ref, x + 468pp. ISBN 0-8247-7655-0.
- 72 Duell, P.B. (1996). Prevention of atherosclerosis with dietary antioxidants: fact or fiction? *Journal of Nutrition*, 126, 1067S-1071S.
- 73 Duffy, V.B., & Anderson, G.H. (1998). Position of the American Dietetic Association: use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *Journal of the American Dietetic Association*, 98, 580-587.

- 74 Dumont, E., Geeter, H., de, & Huyghebaert, A. (1992). Presence and formation of biogenic amines in local Belgian beers. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent*, 57, 1911-1913.
- 75 Dyer, R.H. (1994). Determination of ethyl carbamate (urethane) in alcoholic beverages using capillary gas chromatography with thermal energy analyzer detection: collaborative study. *Journal of the Aoac International*, 77, 64-67.
- 76 Elliott, P. (1997). Lower sodium for all. *Lancet*, 350, 825-826.
- 77 Eun Jung Kim, Dong Kyung Kim, Dong Sun Lee, Taik Soo Lee, & Bong Soo Noh. (1995). Application of acid urease to prevent ethyl carbamate formation in takju processing. *Foods and Biotechnology*, 4, 34-38.
- 78 Eunmi Koh, & Hoonjeong Kwon. (1996). Determination of fermentation specific carcinogen, ethyl carbamate, in kimchi. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 28, 421-427.
- 79 Farr, S. (1994). 2001 a soft drinks odyssey. *Food Manufacture*, 69, 29-30.
- 80 Farr, S. (1998). Boom goes on as market changes. *Food Manufacture*, 73, 44-45.
- 81 Felip, G., de, & Toti, L. (1988). [Microbiology of mineral water.]. *Rivista della Societa Italiana di Scienza dell'Alimentazione*, 17, 335-338.
- 82 Fey, R., & Mack, F.J. (1981). [Determination of alginates in beer.]. *Nachweis von Alginaten im Bier. Monatsschrift fuer Brauerei*, 34, 334-336.
- 83 Formica, J.V., & Regelson, W. (1995). Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food and Chemical Toxicology*, 33, 1061-1080.
- 84 Forsyth, D.S., Weber, D., & Cleroux, C. (1992). Determination of butyltin, cyclohexyltin and phenyltin compounds in beers and wines. *Food Additives and Contaminants*, 9, 161-169.
- 85 Franceschi, S., Bidoli, E., Baron, A.E., & Vecchia, C., Ia. (1990). Maize and risk of cancers of the oral cavity, pharynx, and esophagus in northeastern Italy. *Journal of the National Cancer Institute*, 82, 1407-1411.
- 86 Frommberger, R. (1989). N-nitrosodimethylamine in German beer. *Food and Chemical Toxicology*, 27, 27-29.
- 87 Fukal, L. (1990). Rapid determination of papain in beer by immunonephelometry. *Monatsschrift fuer Brauwissenschaft*, 43, 182-183.
- 88 Funch, F., & Lisbjerg, S. (1988). Analysis of ethyl carbamate in alcoholic beverages. *Zeitschrift fuer Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 186, 29-32.
- 89 Fuu Sheu, Ya Lin Chien, & Yuan Tay Shyu. (1996). Studies on the methodology of ethyl carbamate analysis in foods. II. Application of diphasic dialysis extraction. *Journal of the Chinese Agricultural Chemical Society*, 34, 601-611.
- 90 Gacko, M., Worowska, A., & Roszkowska Jakimiec, W. (1996). [Effect of chemicals found in alcoholic beverages on the protease activity of the digestive tract.]. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 29, 71-77.
- 91 Gallen, I.W., Rosa, R.M., Esparaz, D.Y., Young, J.B., Robertson, G.L., Battle, D., Epstein, F.H., & Landsberg, L. (1998). On the mechanism of the effects of potassium restriction on blood pressure and renal sodium retention. *American Journal Of Kidney Diseases* Jan 1998, 31,
- 92 Gambacciani, M., Ciaponi, M., Cappagli, B., Piaggese, L., & Genazzani, A.R. (1998). Effects of combined low dose of the isoflavone derivative ipriflavone and estrogen replacement on bone mineral density and metabolism in postmenopausal women. *Maturitas* 1997 Sep, 28(1): 75-81.
- 93 Gavalier, J., Love, k., & Van Thiel, D. (1991). An international study of the relationship between alcohol consumption and postmenopausal estradiol levels. *Alcohol Suppl* 1991, Suppl 1991;1
- 94 Geiger, E., Wagner, D., Briem, F., & Englert, S. (1996). [Biogenic amines in malt and beer manufacture.] *Biogene Amine bei der Malz- und Bierbereitung. Brauwelt*, 136, 254-255.
- 95 Georgii, S., Brunn, H., Stojanovic, V., & Muskat, E. (1989). [Contaminants in foods - estimation of daily intake via food. III. Organochlorine pesticides in selected foods, the daily diet of hospital patients, and foods for infants.] *Fremdstoffe in Lebensmitteln - Ermittlung einer taeglichen Aufnahme mit der Nahrung. III. Chlororganische Pestizide in ausgewaehelten Lebensmitteln, Tagesrationen stationaer verpflegter Patienten sowie in Sauglings- und Kleinkindernaehrung. Deutsche Lebensmittel Rundschau*, 85, 385-389.

- 96 Gifhorn, A., & Meyer Pittroff, R. (1997). [Measurement of NOx contamination as a measure for prevention of nitrosodimethylamine formation in kilning of malt.] NOx-Immissionsmessung als Sicherheit gegen NDMA-Bildung beim Darren von Malz. Brauwelt, 137, 1149-1153.
- 97 Ginsburg ES, W.B., Shea BF. (1995). Effect of acute ethanol ingestion on prolactin in menopausal women usinges-tradiol replacement. Gynecol Obstet Invest 1995,
- 98 Ginsburg, E.S., Mello, N.K., Mendelson, J.H., Barbieri, R.L., Teoh, S.K., Rothman, M., Gao, X., & Sholar, J.W. (1996). Effects of alcohol ingestion on estrogens in postmenopausal women. *Jama* 1996, Dec 4, 276
- 99 Giovannucci E, S.M., Colditz GA. (1993). Folate, methionine, and alcohol intake and risk of colorectal adenoma. *J Natl Cancer Inst Jun 2, 1*
- 100 Gloria, M.B.A., Barbour, J.F., & Scanlan, R.A. (1997). N-Nitrosodimethylamine in Brazilian, US Domestic and US imported beers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 814-816.
- 101 Gobin, S.J.P., & Paine, A.J. (1989). Effect of oral and parenteral administration of B6 vitamers on the lymphopenia produced by feeding ammonia caramel or 2-acetyl-4(5)-(1,2,3,4-tetrahydroxy)butylimidazole to rats. *Food and Chemical Toxicology*, 27, 627-630.
- 102 Gomez, C., Navarro, A., Garnier, C., Horta, A., & Carbonell, J.V. (1997). Physical and structural properties of barley (1->3),(1->4)-beta-D-glucan III. Formation of aggregates analysed through its viscoelastic and flow behaviour. *Carbohydrate Polymers Dec 20 1997, 34,*
- 103 Gomez, C., Navarro, A., Manzanares, P., Horta, A., & Carbonell, J.V. (1997a). Physical and structural properties of barley (1X3),(1X4)-beta-D-glucan. II. Viscosity, chain stiffness and macromolecular dimensions. *Carbohydrate Polymers*, 32, 17-22.
- 104 Gomez, C., Navarro, A., Manzanares, P., Horta, A., & Carbonell, J.V. (1997b). Physical and structural properties of barley beta-D-glucan. I. Determination of molecular weight and macromolecular radius by light scattering. *Carbohydrate Polymers*, 32, 7-15.
- 105 Gordeladze, J.O. (1997). Energy drink. Pct International Patent Application, PCT-International-Patent.
- 106 Gormley, T.R., Downey, G., & O'Beirne, D. (1987). Food, health and the consumer. xviii + 317pp Isbn 1 85166 108 5, many ref, xviii + 317pp.
- 107 Goutefongea, R. (1994). [Nitrosamines: formation and occurrence in food products.]. *Comptes Rendus de l'Academie d'Agriculture de France*, 80, 53-62.
- 108 Grant, A.P. (1995). Liquor quality. *Ferment*, 8, 252-255.
- 109 Grijalva, M.I., Valencia, M.E., & Wyatt, C.J. (1992). Sodium, potassium, and calcium intake in adults consuming normal diets in Northern Mexico determined by analytical and calculated methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 5, 127-133.
- 110 Grimm, A., Krueger, E., & Burchard, W. (1995). Solution properties of beta-D-(1,3)(1,4)-glucan isolated from beer. *Carbohydrate Polymers*, 27, 205-214.
- 111 Gromes, R., Ruhland, J., & Piendl, A. (1993). [Determination and occurrence of total dietary fibre in beer.] Erfassung und Vorkommen der Gesamtballaststoffe in Bier. *Monatsschrift fuer Brauwissenschaft*, 46, 221-223.
- 111 Gromes, R., Zeuch, M., & Piendl, A. (1997). [Further studies on dietary fibre in beer.] Weitere Untersuchungen ueber den Ballaststoffgehalt von Bieren. *Brauwelt*, 137, 90-93.
- 113 Groux, M.J., Zoller, O., & Zimmerli, B. (1994). [Ethyl carbamate in bread and beverages.] Ethylcarbamate in Brot und Getraenken. Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, 85, 69-80.
- 114 Guang yu Yang, Zhijian Liu, Seril, D.N., Jie Liao, Wei Ding, Sungbin Kim, Bondoc, F., & Chung, S.Y. (1997). Black tea constituents, theaflavins, inhibit 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NKK)-induced lung tumorigenesis in A/J mice. *Carcinogenesis*, 18, 2361-2365.
- 115 Hack, M., Nitz, S., & Parlar, H. (1996). High performance liquid chromatographic analysis of triazines: atrazine, simazine, terbutylazine, and their dealkylated metabolites in wort and beer. *Advances in Food Sciences*, 18, 40-45.
- 116 Hack, M., Nitz, S., & Parlar, H. (1997). Behavior of [-1-4C]atrazine, [-1-4C]terbutylazine, and their major metabolites in the brewing process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1375-1380.

- 117 Hahn, H. (1996). [Occurrence of 2-cyclohexen-1-one in sweetener-containing soft drinks.] Ueber das Vorkommen von 2-Cyclohexen-1-on in suessstoffhaltigen Erfrischungsgetraenken. *Lebensmittelchemie*, 50, 52-55.
- 118 Hahn, H. (1997). [Formation of 2-cyclohexen-1-one in soft drinks containing sweeteners.] Zur Bildung von 2-Cyclohexen-1-on in suessstoffhaltigen Erfrischungsgetraenken. *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, 93, 74-76.
- 119 Halasz, A., Barath, A., Simon Sarkadi, L., & Holzapfel, W. (1994). Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Science & Technology*, 5, 42-49.
- 120 Hartmeier, W., Hug, H., & Pfenninger, H. (1978). [Properties of purified papain and its use for stabilization of beer.] Ueber die Eigenschaften von gereinigtem Papain und dessen Anwendung zur Stabilisierung von Bier. *Brauerei Rundschau*, 89, 57-60.
- 121 Hasegawa, Y., Nakamura, Y., Tonogai, Y., Terasawa, S., Ito, Y., & Uchiyama, M. (1990). Determination of ethyl carbamate in various fermented foods by selected ion monitoring. *Journal of Food Protection*, 53, 1058-1061.
- 122 Hastings, D.J., & Stenroos, L.E. (1995). Determination of deoxynivalenol in barley, malt, and beer by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 53, 78-81.
- 123 Hawkes, J.G., & Villota, R. (1989). Foliates in foods: reactivity, stability during processing, and nutritional implications. *Crc Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28, 439-538.
- 124 Hein, H.O., Suadicani, P., & Gyntelberg, F. (1996). Alcohol consumption, serum low density lipoprotein cholesterol concentration, and risk of ischaemic heart disease: six year follow up in the Copenhagen male study. *British Medical Journal*, 312, 736-741.
- 125 Hertog, M.G.L. (1996). Epidemiological evidence on potential health properties of flavonoids. *Proceedings of the Nutrition Society*, 55, 385-397.
- 126 Hertog, M.G.L., Feskens, E.J.M., Hollmann, P.C.H., Katan, M.B., & Kromhout, D. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet*, 342, 1007-1011.
- 127 Hertog, M.G.L., Feskens, E.J.M., & Kromhout, D. (1997). Antioxidant flavonols and coronary heart disease risk. *Lancet*, 349, 69.
- 128 Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H., & Putte, B., de. (1993). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 1242-1246.
- 129 Hertog, M.G.L., Sweetman, P.M., Fehily, A.M., Elwood, P.C., & Kromhout, D. (1997). Antioxidant flavonols and ischemic heart disease in a Welsh population of men: the Caerphilly Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 65, 1489-1494.
- 130 Hoffmann, M. (1996). Application and dissemination of insecticides west of Chernobyl (Ukraine). Ueber Einsatz und Verbreitung von Insektiziden westlich von Tschernobyl (Ukraine). *Wasser und Boden*, 48, 56-60.
- 131 Hollingsworth, P. (1997). Beverages: redefining new age. *Food Technology*, 51, 44-46.
- 132 Hollman, P.C.H., Hertog, M.G.L., & Katan, M.B. (1996). Analysis and health effects of flavonoids. *Food Chemistry*, 57, 43-46.
- 133 Houben, G.F., Abma, P.M.H., Berg, H., den, Dokkum, W., van, Loveren, H., van, Penninks, A.H., Seinen, W., Spanhaak, S., Vos, J.G., & Ockhuizen, T. (1992). Effects of the colour additive Caramel Colour III on the immune system: a study with human volunteers. *Food and Chemical Toxicology*, 30, 749-757.
- 134 Hough, J.S. (1985). *The biotechnology of malting and brewing*. Cambridge: Cambridge University Press.
- 135 Hough, J.S., Briggs, D.E., Stevens, R., & Young, T.W. (1982). *Malting and Brewing Science. Vol I and II*. New York: Chapman and Hall.
- 136 Hughes, J.S., Slattey, M.L., Boucher, K.M., Caan, B.J., Potter, J.D., & Ma, K.N. (1998). Potential contribution of dry bean dietary fiber to health Eating patterns and risk of colon cancer [see comments]. *Food Technology*, 148(1): 4-16.
- 137 Hughes, P.S., & Simpson, W.J. (1993). Production and composition of hop products. *Technical Quarterly*, 30, 146-154.

- 138 Ilett, D.R. (1995). Aspects of the analysis, role, and fate of sulphur dioxide in beer - a review. *Technical Quarterly*, 32, 213-221.
- 139 Ilett, D.R., Burke, S., & Simpson, W.J. (1996). Measurement and prediction of the rate of loss of sulphur dioxide from beer. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 70, 337-340.
- 140 Ilett, D.R., & Simpson, W.J. (1995). Loss of sulphur dioxide during storage of bottled and canned beers. *Food Research International*, 28, 393-396.
- 141 Iscaro, A., Mackay, I.R., & O'Brien, C. (1988). Lymphopenic effects on mice of a component of ammonia caramel, 2-acetyl-4(5)-tetrahydroxybutylimidazole (THI). *Immunology and Cell Biology*, 66, 395-402.
- 142 Ishida, H., Uesugi, T., Hirai, K., Toda, T., Nukaya, H., Yokotsuka, K., & Tsuji, K. (1998). Preventive effects of the plant isoflavones, daidzin and genistin, on bone loss in ovariectomized rats fed a calcium-deficient diet. *Biol Pharm Bull* 1998 Jan, 21(1): 62-61SSN.
- 143 Izquierdo Pulido, M., Barbour, J.F., & Scanlan, R.A. (1996). N-Nitrosodimethylamine in Spanish beers. *Food and Chemical Toxicology*, 34, 297-299.
- 144 Izquierdo Pulido, M., Font Fabregas, J., Carceller Rosa, J.M., Marine Font, A., & Vidal Carou, C. (1996). Biogenic amine changes related to lactic acid bacteria during brewing. *Journal of Food Protection*, 59, 175-180.
- 145 Izquierdo Pulido, M., Hernandez Jover, T., Marine Font, A., & Vidal Carou, M. (1996). Biogenic amines in European beers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 3159-3163.
- 146 Izquierdo Pulido, M., Marine Font, A., & Vidal Carou, M.C. (1994). Biogenic amines formation during malting and brewing. *Journal of Food Science*, 59, 1104-1107.
- 147 Izquierdo Pulido, M.L., Vidal Carou, M.C., & Marine Font, A. (1991). Histamine and tyramine in beers. Changes during brewing of a Spanish beer. *Food Chemistry*, 42, 231-237.
- 148 Jaeger, P. (1983). [Technological measures in respect to the formation of some aroma and flavour compounds for the manufacture of beer with reduced alcohol contents or non-alcoholic fermented beverages.] *Technologische Massnahmen im Hinblick auf die Bildung einiger Aroma- und Geschmacksstoffe zur Herstellung von alkoholverminderten Bieren bzw. alkoholfreien Brauetragenken. Mitteilungen der Versuchsstation fuer das Gaerungsgewerbe in Wien*, 37, 100-106;
- 149 Jager, M. (1994). Food preservatives. *Soft Drinks Management International*, June, 28, 30-31.
- 150 Jager, P., & Puspok, J. (1979). [Proteolytic enzyme preparations for beer stabilization.] *Proteolytische Enzympraeparate zur Bierstabilisierung. Mitteilungen der Versuchsstation fuer das Gaerungsgewerbe in Wien*, 33, 43-45.
- 151 Jakubowicz, L. (1998). [Process for manufacture of aqueous beverages containing stable Fe-2+ ions.]. German Federal Republic Patent Application, German-Federal-Republic-Pat.
- 152 Jee Yup Han, & Schwarz, P.B. (1996). Arabinoxylan composition in barley, malt, and beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 54, 216-220.
- 153 Jian Min Yuan, Ross, R.K., Yu Tang Gao, Henderson, B.E., & Yu, M.C. (1997). Follow up study of moderate alcohol intake and mortality among middle aged men in Shanghai, China. *British Medical Journal*, 314, 18-23.
- 154 Jiao, Y., Blaas, W., Ruehl, C., & Weber, R. (1994). Ochratoxin A in foodstuffs (vegetables, cereals, cereal products and beer). Ochratoxin A in Lebensmitteln pflanzlicher Herkunft. *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, 90, 318-321.
- 155 Kahlon, T.S., Chow, F.I., Knuckles, B.E., & Chiu, M.M. (1993). Cholesterol-lowering effects in hamsters of beta-glucan-enriched barley fraction, dehulled whole barley, rice bran, and oat bran and their combinations. *Cereal Chemistry*, 70, 435-440.
- 156 Kalac, P., Hlavata, V., & Krizek, M. (1997). Concentrations of five biogenic amines in Czech beers and factors affecting their formation. *Food Chemistry*, 58, 209-214.
- 157 Kalra, S.K., Tandon, D.K., Garg, N., & Singh, B.P. (1991). Quality evaluation of some market fruit drinks. *Indian Food Packer*, 45, 48-53



- 158 Kauhanen, J., Kaplan, G.A., Goldberg, D.E., & Salonen, J.T. (1997). Beer bingeing and mortality: results from the Kuopio ischaemic heart disease risk factor study, a prospective population based study. *British Medical Journal*, 315, 846-851.
- 159 Kellner, V., Cejka, P., & Frantik, F. (1983). [Problems of metals in beverages - Be, Cr, Ni, Sr.]. *Kvasny Prumysl*, 29, 145-148.
- 160 Kellner, V., Cejka, P., & Frantik, F. (1984). [The problem of metals - Al, As, Cd, Pb - in beer.]. *Kvasny Prumysl*, 30, 121-123.
- 161 Kodama, S., Suzuki, T., Fujinawa, S., Teja, P., Ia, & Yotsuzuka, F. (1994). Urea contribution to ethyl carbamate formation in commercial wines during storage. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45, 17-24.
- 162 Krembel, J., Caner, F., Dubrulle, D., Montreuil, J., & Kraroubi, D. (1975). [Nucleic acids and derivatives in various French beers.]. *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, 10, 67-68.
- 163 Kroepfen, U. (1986). Quantitative analysis of 2-acetyl-4(5)-tetrahydroxybutylimidazole. *Journal of Chromatography*, 362, 286-290.
- 164 Krogh, P., Hald, B., Gjertsen, P., & Myken, F. (1974). Fate on ochratoxin A and citrinin during malting and brewing experiments. *Applied Microbiology*, 28, 31-34.
- 165 Kuntz, L.A. (1997). Making the most of maltodextrins. *Food Product Design*, 7, 89-90.
- 166 Lanza, C.M., Tomarchio, F., Russo, C., & Tomaselli, F. (1997). In line monitoring of pesticide residues in soft drinks produced in a Sicilian industry. *Industrie delle Bevande*, 26, 36-40.
- 167 Lapcik, O., Hill, M., Hampl, R., Wahala, K., & Adlercreutz, H. (1998). Identification of isoflavonoids in beer. *Identification of isoflavonoids in beer. Steroids* Jan 1998, 63(1): 14-20ISSN.
- 168 Lavin, J.H., French, S.J., & Read, N.W. (1997). The effect of sucrose- and aspartame-sweetened drinks on energy intake, hunger and food choice of female, moderately restrained eaters. *International Journal of Obesity*, 21, 37-42.
- 169 Lawrence, J.F., & Menard, C. (1989). Determination of 2-acetyl-4(5)-tetrahydroxybutylimidazole in beers by high-performance liquid chromatography with confirmation by chemical derivatization. *Journal of Chromatography*, 466, 421-426.
- 170 Legarda, T.M., & Burdaspal, P.A. (1998). [Ochratoxin A in beers manufactured in Spain and other European countries.]. *Alimentaria, Alimentaria*:-115-122.
- 171 Leubolt, R., Huber, C., Urban, A., & Puespoek, J. (1992). [Heavy metals in the brewing process. II. Behaviour during the brewing process.]. *Schwermetalle im Brauprozess. II. Verhalten waehrend des Brauvorganges. Mitteleoesterreichische Getraenkeindustrie*, 46, 80-83.
- 172 Leubolt, R., Urban, A., Berchtold, M., Peter, M., & Puespoek, J. (1991). [Heavy metals in the brewing process. I. Brewery raw materials and Austrian beer.]. *Schwermetalle im Brauprozess. I. Brauereirohstoffe und oesterreichische Biere. Mitteleoesterreichische Getraenkeindustrie*, 45, 133-139.
- 173 Lewis, M.J., & Young, T.W. (1995). *Brewing*. xii + 260pp. Isbn 0 412 26420 X, xii + 260pp. ISBN 0-412-26420-X.
- 174 Lindemann, B., Fontaine, J., & Krueger, E. (1991). [Effects of beta-glucans on filterability of beer.]. *Der Einfluss der beta-Glucane auf die Filtrierbarkeit des Bieres. Mitteleoesterreichische Getraenkeindustrie*, 45, 140-148.
- 175 Linemann, A., & Krueger, E. (1997). Relationships between structure and characteristics of beta-glucan in beer production. I. Properties in dissolving beta-glucan out of beer. *Brauwelt International*, 15, 344-351.
- 176 Lingstrom, P., Johansson, I., & Birkhed, D. (1997). Carbohydrates and dental caries - the influence of individual factors. *Scandinavian Journal of Nutrition*, 41, 170-174.
- 177 Litzenburger, K. (1997). [Malt and brewhouse processes. New information in relation to filtration.]. *Brauwelt*, 137, 2038, 2040-2044.
- 178 Liu, S.Q., Pritchard, G.G., Hardman, M.J., & Pilone, G.J. (1994). Citrulline production and ethyl carbamate (urethane) precursor formation from arginine degradation by wine lactic acid bacteria *Leuconostoc oenos* and *Lactobacillus buchneri*. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45, 235-242.

- 179 Macrae, R., Robinson, R.K., & Sadler, M.J. (1993). *Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition*. Ibsn 0 12 226853 9.
- 180 Madigan, M.P., Troisi, R., Potischman, N., Dorgan, J.F., Brinton, L.A., & Hoover, R.N. (1998). Serum hormone levels in relation to reproductive and lifestyle factors in postmenopausal women (United States). *Cancer Causes Control* 1998 Mar, 9(2): 199-207.
- 181 Maeder, C., Sommer, G., & Thurl, S. (1997). Change in the contents of the trace elements lead, cadmium, copper and zinc during beer production. *Monatsschrift fuer Brauwissenschaft*, 50, 138-141.
- 182 Maendl, B., Heyse, K.U., & Piendl, A. (1977). [Effect of adding zinc salts to wort on fermentation.] Ueber die Auswirkung einer Zugabe von Zinksalzen zur Wuerze auf die Gaerung. *Proceedings*, 16th, Congress, 483-494.
- 183 Maendl, B., Wullinger, F., Wagner, D., Binder, W., & Piendl, A. (1972). [Beer for diabetics.] *Diabetes und Diaetbier*. *Brauwissenschaft*, 25, 346-353.
- 184 Maki, T., Tamura, Y., Shimamura, Y., Koseki, M., Nishigaki, S., & Naoi, Y. (1980). [Occurrence of dimethylnitrosamine in commercial beers and its formation in the brewing process.]. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan [Shokuhin Eiseigaku Zasshi]*, 21, 184-188.
- 185 Marchbanks, C. (1986). Non- and low-alcohol beers: how they are made. *Brewing & Distilling International*, 16, 16-18.
- 186 Martin, C. (1996). The elixir of life? *Chemistry in Britain*, 32, 34-36.
- 187 Martin, P.A. (1973). The Institute of Brewing Analysis Committee: determination of iron and copper in beer by atomic absorption spectroscopy. *Journal of the Institute of Brewing*, 79, 289-293.
- 188 Masier, S., Surminski, J., & Niemczyk, E. (1974). [The manufacture of light beer with low alcohol content from various kinds of wort.]. *Przemysl Fermentacyjny i Rolny*, 18, 23-25.
- 189 Masiar, S., Kuchciak, T., & Surminski, J. (1976). [Manufacture of light low-alcohol beer with re-extraction of alcohol.]. *Przemysl Fermentacyjny i Rolny*, 20, 2-4.
- 190 Massey, R., Dennis, M.J., Pointer, M., & Key, P.E. (1990). An investigation of the levels of N-nitrosodimethylamine, apparent total N-nitroso compounds and nitrate in beer. *Food Additives and Contaminants*, 7, 605-615.
- 191 Maunder, L. (1985). In praise of judicious consumption of beer. *Technical Quarterly*, 22, 5-8.
- 192 Mavelle, T., Bouchikhi, B., & Debry, G. (1991). [Contamination of beers with N-nitrosodimethylamine.]. *Sciences des Aliments*, 11, 163-170.
- 193 McDowell, I.F.W., & Ashfield Watt, P. (1997). Approaches to defining the optimal dietary folate intake for cardiovascular health. *Nutrition and Food Science, Nutrition-and-Food-Science*:215.
- 194 McElduff, P., & Dobson, A.J. (1997). How much alcohol and how often? Population based case-control study of alcohol consumption and risk of a major coronary event. *British Medical Journal*, 314, 1159-1164.
- 195 McIntyre, T., & Scanlan, R.A. (1993). Nitrosamines produced in selected foods under extreme nitrosation conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 101-102.
- 196 McNeal, T.P., Hollifield, H.C., & Diachenko, G.W. (1995). Survey of trihalomethanes and other volatile chemical contaminants in processed foods by purge-and-trap capillary gas chromatography with mass selective detection. *Journal of Aoac International*, 78, 391-397.
- 197 McNeal, T.P., Nyman, P.J., Diachenko, G.W., & Hollifield, H.C. (1993). Survey of benzene in foods by using headspace concentration techniques and capillary gas chromatography. *Journal of the Aoac International*, 76, 1213-1219.
- 198 Meltzer, H.M., & Malterud, K.E. (1997). Can dietary flavonoids influence the development of coronary heart disease? *Scandinavian Journal of Nutrition*, 41, 50-57.
- 199 Mena, C., Cabrera, C., Lorenzo, M.L., & Lopez, M.C. (1996). Cadmium levels in wine, beer and other alcoholic beverages: possible sources of contamination. *Science of the Total Environment*, 181, 201-208.
- 200 Mena, C.M., Cabrera, C., Luisa Lorenzo, M., & Carmen Lopez, M. (1997). Determination of lead contamination in Spanish wines and other alcoholic beverages by flow injection atomic absorption spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1812-1815.

- 201 Middleton, E.J., & Kandaswami, C. (1994). Potential health-promoting properties of citrus flavonoids. *Food Technology*, 48, 115-119.
- 202 Morton, B., & McCaig, R. (1994). Beer analysis check service. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 52, 195.
- 203 Morton, B.J., & Fraga, A. (1990). Beer analysis check service. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 48, 157.
- 204 Mou Tuan Huang, Chi Tang Ho, & Chang, Y.L. (1992). Phenolic compounds in food and their effect on health. II. Antioxidants and cancer prevention. *Acs Symposium Series, ACS-Symposium-Series:xiv*.
- 205 Mueller, H. (1993). [Determination of the folic acid content of grain, cereal products, bakery products and legumes by means of high-performance liquid chromatography (HPLC).] Bestimmung der Folsäure-Gehalte von Getreide, Getreideprodukten, Backwaren und Huelsenfruechten mit Hilfe der Hochleistungsflussigchromatographie (HPLC). *Zeitschrift fuer Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 197, 573-577.
- 206 Mueller, H. (1995). The intake of folic acid by way of the total daily diet -influence of food preparation on its folic acid content. Die Folsäure-Aufnahme mit der taeglichen Gesamtnahrung - Einfluss der Speisenzubereitung auf deren Folsäure-Gehalt. *Zeitschrift fuer Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 200, 209-212.
- 207 Murphy, M.N.K., Rajalakshmi, S., Satyabodha, J.A., & Nagaraja, K.V. (1991). A qualitative colorimetric test for brominated vegetable oil in soft drinks. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 74, 698-699.
- 208 Murray, J.A., Walker, J.F., & Doyle, J.S. (1988). Tyramine in alcohol-free beer. *Lancet*, I, 1167-1168.
- 209 Murray, R., & Drummond, B. (1996). Are there risks to dental health with frequent use of carbohydrate foods and beverages? *Australian Journal of Nutrition and Dietetics*, 53, S47.
- 210 Muti, P., Trevisan, M., Micheli, A., Krogh, V., Bolelli, G., Sciajno, R., Schunemann, H.J., & Berrino, F. (1998). Alcohol consumption and total estradiol in premenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998 Mar.
- 211 Narziss, L., Kieninger, H., & Reicheneder, E. (1972). [Use of whole hops and hop extracts of different varieties and source. II. Trials with Hallertau, Hersbruck, Spalt, Tettngang and Saaz hops.] Ueber die Verwendung von Naturhopfen und Hopfenextrakten verschiedener Sorten und Herkunft. II. Versuche mit Hallertauer, Hersbrucker, Spalter, Tettnganger und Saazer Hopfen. *Brauwelt*, 112, 547-552.
- 212 Neiderauer, T. (1998). [Manufacture, properties and applications of sweeteners in foods.]. *Fluessiges Obst*, 65, 131-140.
- 213 Ng, E., & Mocek, M. (1973). A method for estimating total polyphenols in beer. *Journal of the Institute of Brewing*, 79, 165-169.
- 214 Norris, K., & Lewis, M.J. (1985). Application of a commercial barley beta-amylase in brewing. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 43, 96-101.
- 215 Nout, M.J.R. (1994). Fermented foods and food safety. *Food Research International*, 27, 291-298.
- 216 Nout, M.J.R., Nche, P.F., & Hollman, P.C.H. (1994). Investigation of the presence of biogenic amines and ethyl carbamate in kenkey made with maize and maize-cowpea mixtures as influenced by process conditions. *Food Additives and Contaminants*, 11, 397-402.
- 217 O'Carroll, P. (1995). Flavor industry bound for growth. *World of Ingredients*, Sept./Oct., 16-17.
- 218 O'Connor Cox, E.S.C., Yiu, P.M., & Ingledew, W.M. (1991). Pasteurization: thermal death of microbes in brewing. *Technical Quarterly*, 28, 67-77.
- 219 Ockhuizen, T. (1988a). [How healthy is beer?]. *Cerevisia*, 13, 79-81;
- 220 Ockhuizen, T. (1988b). [How wholesome is beer?]. *Voedingsmiddelentechnologie*, 21, 13-16.
- 221 Oesterdahl, B.G., Cuibe, A., & Bradenmark, P. (1994). Decreased levels of N-nitrosodimethylamine in strong beer on the Swedish market. *Var Foeda*, 46, 269-272.
- 222 Oranusi, S.U., Ezeogu, L.I., & Okolo, B.N. (1994). Microbial contaminants of commercially bottled non-alcoholic drinks produced in Nigeria. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 10, 488-490.

- 223 M. (1998). [Soft drink (mixed drink) with the following important ingredients: taurine, caffeine or guarana, carbon dioxide and an alcohol content less than 15% volume basis.]. German Federal Republic Patent Application.
- 224 Paasilta, M., Kervinen, K., Rantala, A.O., Savolainen, M.J., Lijja, M., Reunanen, A., & Kesaniemi, Y.A. (1998). Social alcohol consumption and low Lp(a) lipoprotein concentrations in middle-aged Finnish men: population based study. *British Medical Journal*, 316, 594-595.
- 225 Parker, D.R., McPhillips, J.B., Derby, C.A., Gans, K.M., Lasater, T.M., & Carleton, R.A. (1996). High-density-lipoprotein cholesterol and types of alcoholic beverages consumed among men and women. *American Journal of Public Health*, 86, 1022-1027.
- 226 Pearce, J. (1996). Nutritional analysis of fluid replacement beverages. *Australian Journal of Nutrition and Dietetics*, 53, S35-S42.
- 227 Pei, K.C., Blase, D., Leavitt, B., Deshpande, S., & Tavangaran, M. (1995). Microstable, preservative-free beverages and process of making. United States Patent, United-States-Patent.
- 228 Piendl, A. (1977). [Beer as a beverage and as a food.]. *Birra e Malto*, 22, 3-5.
- 229 Piendl, A. (1981). Beer as food. *Brewers' Digest*, 56, 32, 34-36.
- 230 Piendl, A. (1989). [The importance of beer in nutrition today.] Ueber den Stellenwert des Bieres in der heutigen Ernährung. *Brauwelt*, 129, 546-550.
- 231 Piendl, A. (1990a). [Beer as a sport drink.] Bier als Sportgetraenk. *Brauwelt*, 130, 370-372.
- 232 Piendl, A. (1990b). The role of beer in present-day nutrition. [See FSTA (1989) 21 11H25 for original De version.]. *Brauwelt International*, III, 174-176.
- 233 Piendl, A., Schuster, C., Jawansky, A., Roesch, J., Ulrich, P., Stueckle, H., Dielentheis, L., & Habermeier, J. (1994). [The osmotic pressure of sport drinks and alcohol free beers.] Ueber den osmotischen Druck von Sportgetraenken und alkoholfreien Bieren. *Brauwelt*, 134, 2756-2758.
- 234 Piendl, A. (1995). Target groups for non-alcoholic beer: non-alcoholic beer for athletes. *Brauwelt International*, III, 232-237.
- 235 Piendl, A., Schuster, C., Jawansky, A., Roesch, J., Ulrich, P., Stueckle, H., Dielentheis, L., & Habermeier, J. (1996). Osmotic pressure of sports drinks and non-alcoholic beers. *Brauwelt International*, 14, 242-247.
- 236 Piendl, A. (1997a). [Osmolality of beverages.] Ueber die Osmolalitaet von Getraenken. *Brauwelt*, 137, 1201
- 237 Piendl, A. (1997b). Physiological effects of alcohol consumption. *Brauwelt International*, 15, 310-319.
- 238 Piendl, A., & Lardschneider, R. (1994). On the production of beer with no or low alcohol content as shown by means of patent applications. Ueber die Herstellung von Alkoholfreiem und alkoholarmen Bier, dargestellt anhand von Patentschriften. *Monatsschrift fuer Brauwissenschaft*, 47, 360-367.
- 239 Piendl, A., & Wagner, I. (1987). [Physiological properties of the minerals in beer. I. Potassium.] Physiologische Eigenschaften der Mineralstoffe des Bieres. I. Kalium. *Monatsschrift fuer Brauwissenschaft*, 40, 489-495.
- 240 Piendl, A., & Wagner, I. (1988). [Physiological properties of the minerals in beer. II. Sodium.] Physiologische Eigenschaften der Mineralstoffe des Bieres. II. Natrium. *Monatsschrift fuer Brauwissenschaft*, 41, 11-14.
- 241 Pierce, J.S. (1987). Adjuncts and their effect on beer quality. [See FSTA (1989) 21 4H71.]. *Proceedings*, pp. 49-60.
- 242 Pietrzik, K.F., & Thorand, B. (1997). Folate economy in pregnancy. *Nutrition* 1997 Nov Dec, 13(11-12): 975-977.
- 243 Pollock, J.R.A. (1981). *Brewing Science*. Vol 1, 2 and 3. London: Academic Press.
- 244 Postel, W., Drawert, F., & Guevenc, U. (1972). [Estimation of trace elements in foods by atomic absorption spectrophotometry. II. Copper in beer.] Bestimmung von Spurenelementen in Lebensmitteln durch Atomabsorptionsspektrophotometrie. II. Kupfer in Bier. *Brauwissenschaft*, 25, 391-395.
- 245 Poulter, N.H., & Caygill, J.C. (1985). Production and utilization of papain - a proteolytic enzyme from *Carica papaya* L. *Tropical Science*, 25, 123-137.

- 246 Powers, H.J. (1997). Folate and risk of cardiovascular disease. *Nutrition and Food Science, Nutrition-and-Food-Science*:218.
- 247 Pushpanjali, & Khokhar, S. (1995). The composition of Indian foods - mineral composition and intakes of Indian vegetarian populations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 67, 267-276.
- 248 Ramaswamy, S.R. (1986). Fast cook-continuous process for production of ammonia caramel color. United States Patent, United-States-Patent.
- 250 Ramaswamy, S.R. (1987). Process for production of concentrated salt stable and beer stable ammonia caramel color under superatmospheric pressure conditions. European Patent Application, European-Patent-Application.
- 251 Ramaswamy, S.R. (1988). Process for production of concentrated salt stable and beer stable ammonia caramel color under superatmospheric pressure conditions. United States Patent, United-States-Patent.
- 251 Ranhotra, G. (1997). Vomitoxin in grains and public health concerns. *Technical Bulletin*, 19, 1-7.
- 252 Rimm, E.B., Klatsky, A., Grobbee, D., & Stampfer, M.J. (1996). Review of moderate alcohol consumption and reduced risk of coronary heart disease: is the effect due to beer, wine or spirits? *British Medical Journal*, 312, 731-736.
- 253 Rivas, J.C., Pindado, P., & Marine, A. (1982). [Tyramine content in wines, other alcoholic beverages and wine vinegars.]. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 22, 133-138.
- 254 Roast, C.R. (1989). Water filtration. *Soft Drinks Management International*, Nov., 24-25.
- 255 Rosa, F., Ia, Guizzi, M., Saltalamacchia, G., Pannelli, F., & Vitarelli, S. (1991). [Epidemiological aspects of malignant tumours of the upper respiratory and digestive tracts.]. *Igiene Moderna*, 95, 611-627.
- 256 Rose, D., Murphy, S.P., Hudes, M., & Viteri, F.E. (1995). Food energy remains constant with increasing alcohol intake. *Journal of the American Dietetic Association*, 95, 698-700.
- 257 Royle, L., Ames, J.M., Castle, L., Nursten, H.E., & Radcliffe, C.M. (1998). Identification and quantification of class IV caramels using capillary electrophoresis and its application to soft drinks. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76, 579-587.
- 258 Sanni, A.I. (1989). Chemical studies on sekete beer. *Food Chemistry*, 33, 187-191.
- 259 Scanlan, R.A., Barbour, J.F., & Chappel, C.I. (1990). A survey of N-nitrosodimethylamine in US and Canadian beers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 442-443.
- 260 Schmidt, K. (1995). ACE - vitamins C and E and provitamin A in soft drinks. *Fruit Processing*, 5, 326-327.
- 261 Schur, F., & Piendl, A. (1977). [Dextrins in beer.] Dextrine in Bier. *Brauwissenschaft*, 30, 46-50.
- 262 Schwarz, P.B., Casper, H.H., & Beattie, S. (1995). Fate and development of naturally occurring Fusarium mycotoxins during malting and brewing. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 53, 121-127.
- 263 Schwarz, P.B., & Jee Yup Han. (1995). Arabinoxylan content of commercial beers. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 53, 157-159.
- 264 Scott, P.M. (1996). Mycotoxins transmitted into beer from contaminated grains during brewing. *Journal of Aoac International*, 79, 875-882.
- 265 Scott, P.M., & Kanhere, S.R. (1995). Determination of ochratoxin A in beer. *Food Additives and Contaminants*, 12, 591-598.
- 266 Scott, P.M., Kanhere, S.R., Lawrence, G.A., Daley, E.F., & Farber, J.M. (1995). Fermentation of wort containing added ochratoxin A and fumonisins B1 and B2. *Food Additives and Contaminants*, 12, 31-40.
- 267 Scott, P.M., Kanhere, S.R., & Weber, D. (1993). Analysis of Canadian and imported beers for Fusarium mycotoxins by gas chromatography-mass spectrometry. *Food Additives and Contaminants*, 10, 381-389.
- 268 Scott, P.M., & Lawrence, G.A. (1995). Analysis of beer for fumonisins. *Journal of Food Protection*, 58, 1379-1382.
- 269 Scott, P.M., Yeung, J.M., Lawrence, G.A., & Prelusky, D.B. (1997). Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for analysis of beer for fumonisins. *Food Additives and Contaminants*, 14, 445-450.

- 270 Sen, N.P., & Baddoo, P.A. (1995). Determination of glyphosate in foods and water as N-nitroso derivative by HPLC-chemiluminescence detection. IFT Annual Meeting 1995., p. 224
- 271 Sen, N.P., & Baddoo, P.A. (1996). Determination of glyphosate as N-nitroso derivative by high performance liquid chromatography with chemiluminescence detection. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 63, 107-117.
- 272 Sen, N.P., Seaman, S.W., & Bergeron, C. (1995). Trends in the levels of N-nitrosodimethylamine in Canadian and imported beers. IFT Annual Meeting 1995, p. 16
- 273 Sen, N.P., Seaman, S.W., Bergeron, C., & Brousseau, R. (1996). Trends in the levels of N-nitrosodimethylamine in Canadian and imported beers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1498-1501.
- 274 Sen, N.P., Seaman, S.W., Boyle, M., & Weber, D. (1993). Methyl carbamate and ethyl carbamate in alcoholic beverages and other fermented foods. *Food Chemistry*, 48, 359-366.
- 275 Sen, N.P., Seaman, S.W., Lau, B.P.Y., Weber, D., & Lewis, D. (1995). Determination and occurrence of various tetrahydro-beta-carboline-3-carboxylic acids and the corresponding N-nitroso compounds in foods and alcoholic beverages. *Food Chemistry*, 54, 327-337.
- 276 Sen, N.P., Tessier, L., & Seaman, S.W. (1983). Determination of N-nitrosoproline and N-nitrososarcosine in malt and beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31, 1033-1036.
- 277 Sendra, J.M., Carbonell, J.V., Gosalbes, M.J., & Todo, V. (1989). Determination of beta-glucan in wort and beer by its binding with Calcofluor, using a fluorimetric flow-injection-analysis (FIA) method. *Journal of the Institute of Brewing*, 95, 327-332.
- 278 Sendra, J.M., & Todo, V. (1990). Determination of chloroacetic acid, bromoacetic acid and iodoacetic acid in beer by microbore gas-liquid chromatography and electron capture detection. *Journal of the Institute of Brewing*, 96, 85-87.
- 279 Senften, H., & Pfenninger, H. (1982). [Analysis of beer for undesired trace elements.] *Pruefung von Bier auf unerwünschte Spurenelemente. Brauerei Rundschau*, 93, 89-93.
- 280 Shalaby, A.R. (1993). Survey on biogenic amines in Egyptian foods: sausage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62, 291-293.
- 281 Shannon, C. (1996). Can salt damage your health? *Chemistry & Industry*; 442.
- 282 Shanta Kumara, H.M.C., Iserentant, D., & Verachtert, H. (1995). Comparative analysis of malto-oligosaccharides in different beer types by thin layer chromatography, chemical and enzymatical analysis. *Cerevisia*, 20, 47-53.
- 283 Shiu Ming Kuo. (1996). Antiproliferative potency of structurally distinct dietary flavonoids on human colon cancer cells. *Cancer Letters*, 110, 41-48.
- 284 Silla Santos, M.H. (1996). Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 29, 213-231.
- 285 Simone, C.B. (1995). Rehydration drink. United States Patent, United-States-Patent.
- 286 Sinkeldam, E.J., Groot, A.P., de Berg, H., den, & Chappel, C.I. (1988). The effect of pyridoxine on the number of lymphocytes in the blood of rats fed Caramel Colour (III). *Food and Chemical Toxicology*, 26, 195-203.
- 287 Smith, N.A. (1992). Nitrate reduction and ATNC formation by brewery wild yeasts. *Journal of the Institute of Brewing*, 98, 415-420.
- 288 Smith, N.A. (1994). Nitrate reduction and N-nitrosation in brewing. *Journal of the Institute of Brewing*, 100, 347-355.
- 289 Smolnik, H.D. (1987). [Production and application of caramel colour from starch products.] *Herstellung und Anwendung von Zuckerkulor aus Staerkeprodukten. Starch/Staerke*, 39, 28-32.
- 290 So, F.V., Guthrie, N., Chambers, A.F., & Carroll, K.K. (1997). Inhibition of proliferation of estrogen receptor-positive MCF-7 human breast cancer cells by flavonoids in the presence and absence of excess estrogen. *Cancer Letters*, 112, 127-133.

- 291 Spinar, B., Kellner, V., & Culik, J. (1983). [Problems of pesticides. III. Pesticides in the brewing industry.]. *Kvasny Prumysl*, 29, 265-267.
- 292 Stern, P. (1998). [In nature's image. Fruit and vegetable beverages with added ingredients.]. *Fluessiges Obst*, 65, 126-130.
- 293 Stevens, D.F., & Ough, C.S. (1993). Ethyl carbamate formation: reaction of urea and citrulline with ethanol in wine under low to normal temperature conditions. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44, 309-312.
- 294 Stojanovic, M., & Jankovic, I. (1994). Protection of stability of soft drinks and causes of their contamination. *Hrana i Ishrana*, 35, 72-77.
- 295 Sueoka, H. (1995). Creatine beverage and producing process thereof. European Patent Application.
- 296 Sungchan Kim. (1994). Effects of soluble dietary fiber on zinc, glucose and cholesterol absorption. *Dissertation Abstracts International*, 54, 4607.
- 297 Tanaka, T., Oshima, H., Aoki, Y., Sasaki, M., Hayakawa, J., Nakazawa, H., & Saito, Y. (1996). Simple and rapid determination of arsenic, lead, cadmium and tin in soft drinks by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, 37, 142-145.
- 298 Tateo, F., Triangeli, L., Panna, E., Berte, F., & Verderio, E. (1988). Stability and reactivity of aspartame in cola-type drinks. (In 'Frontiers of flavor', edited by Charalambous, G. Conference. Chalkidiki, Greece. 1-3 July 1987. 1000 AE Amsterdam, Netherlands; Elsevier Science Publishers BV. ISBN 0-444-42940-9 [see FSTA (1989) 21 3A1]). *Developments in Food Science*, 17, 217-231.
- 299 Tegmo Larsson, I.M., Spittler, T.D., & Henick Kling, T. (1990). Aspects of ethyl carbamate formation. (In 'Proceedings of the seventh Australian Wine Industry Technical Conference'. Adelaide, SA. 13-17 August 1989. Adelaide SA, Australia; Australian Wine Research Institute [see FSTA (1992) 24 9H58]). p 250, 4 ref, p. 250.
- 300 Thalacker, R. (1980). [Investigations in Hessian beers. VII. Determination of trace elements in bottom-fermented 'Voll' beers.] *Untersuchungen an hessischen Bieren. VII. Ermittlung des Gehalts einiger Spurenelemente in untergärigen Vollbieren. Monatsschrift fuer Brauerei*, 33, 401-405.
- 301 Thalacker, R. (1982). [Contaminants in foods with special consideration of beer.] *Schadstoffe in Lebensmitteln. Zum Thema Schadstoffe in Lebensmitteln unter besonderer Beruecksichtigung des Nahrungs-und Genussmittels Bier. Brauwelt*, 122, 805-808;
- 302 Thellmann, A., & Weber, W. (1997). Determination of ochratoxin A in cereals, malt and beer after accumulation and separation on immunoaffinity columns and following high-pressure liquid chromatography with fluorescence detection. *Bestimmung von Ochratoxin A in Getreide, Malz und Bier nach Anreicherung und Separation an Immunaффinitaetssaehlen und anschliessender Hochleistungsfluessigkeits-chromatographie mit Fluoreszenzdetektion. Deutsche Lebensmittel Rundschau*, 93, 1-3.
- 303 Torgerson DJ, T.R., Campbell MK. (1997). Alcohol consumption and age of maternal menopause are associated with menopause onset. *Maturitas* 1997 Jan, 1997 Jan;26
- 304 Toyoda, M., Tanaka, K., Hoshino, K., Akiyama, H., Tanimura, A., & Saito, Y. (1997). Profiles of potentially anti-allergic flavonoids in 27 kinds of health tea and green tea infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2561-2564.
- 305 Tricker, A.R., Pfundstein, B., Theobald, E., Preussmann, R., & Spiegelhalter, B. (1991). Mean daily intake of volatile N-nitrosamines from foods and beverages in West Germany in 1989-1990. *Food and Chemical Toxicology*, 29, 729-732.
- 306 Trinder, D.W. (1988). A survey of aflatoxins in industrially brewed South African sorghum beer and beer strainings. *Journal of the Institute of Brewing*, 94, 307-309.
- 307 Tuormaa, T.E. (1996). The adverse effects of alcohol on reproduction. *Journal of Nutritional & Environmental Medicine*, 6, 379-391.
- 308 Vahl, M. (1993). A survey of ethyl carbamate in beverages, bread and acidified milks sold in Denmark. *Food Additives and Contaminants*, 10, 585-592.

- 309 Varela, G. (1987). España y la dieta de los europeos a principios del siglo XXI. En "El futuro de la alimentación", Seminario FAST-CSIC, Editorial CSIC.
- 310 Varnam, A.H., & Sutherland, J.P. (1994). Beverages: technology, chemistry and microbiology. viii + 464pp. ISBN 0-412-45720-2.
- 311 Vincent, A., & Husby, K.O., von. (1990). Food applications of propylene glycol alginate. *European Food & Drink Review*, Summer, 41-44.
- 312 Vis, R.B., & Lorenz, K. (1998). Malting and brewing with a high beta-glucan barley. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 31, 20-26.
- 313 Wagner, H.P., & McGarrity, M.J. (1990). The simultaneous analysis of sodium, potassium, magnesium, and calcium in beer by ion chromatography. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 48, 1-3.
- 314 Wallace, L.A. (1997). Human exposure and body burden for chloroform and other trihalomethanes. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 27, 113-194.
- 315 Watkins, S.J., Hogg, T.A., & Lewis, M.J. (1996). The use of yeast inoculation in fermentation for port production; effect on total potential ethyl carbamate. *Biotechnology Letters*, 18, 95-98.
- 316 Weiner, J.P., & Taylor, L. (1969). Determination of metals in beer and wine by atomic absorption spectrophotometry. *Journal of the Institute of Brewing*, 75, 195-199.
- 317 White, I.R. (1996). The cardioprotective effects of moderate alcohol consumption. *British Medical Journal*, 312, 1179-1180.
- 318 Whitear, T. (1997). Dealing with persistent hazes in freshly filtered beer. *Ferment*, 10, 186-190.
- 319 Williams, D., & Philpott, J. (1996). A pint a day. *Chemistry in Britain*, 32, 41-43.
- 320 Wiseman, H. (1997). Dietary phytoestrogens: disease prevention versus potential hazards. *Nutrition and Food Science*, 1, 32-38.
- 321 Won Bo Shim, Jin Cheol Kim, Jeong Ah Seo, & Yin Won Lee. (1997). Natural occurrence of trichothecenes and zearalenone in Korean and imported beers. *Food Additives and Contaminants*, 14, 1-5.
- 322 Woods, D. (1996). US scientists challenge approval of sweetener. *British Medical Journal*, 313, 386.
- 323 Woods, H.F., & Bax, N.D.S. (1982). Interactions between food and drugs. *Bnf Nutrition Bulletin*, 7, 120-129.
- 324 Woodward, M., & Tunstall Pedoe, H. (1995). Alcohol consumption, diet, coronary risk factors, and prevalent coronary heart disease in men and women in the Scottish heart health study. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 49, 354-362.
- 325 Xia Xu, Huei Ju Wang, Murphy, P.A., Cook, L., & Hendrich, S. (1994). Daidzein is a more bioavailable soy milk isoflavone than is genistein in adult women. *Journal of Nutrition*, 124, 825-832.
- 326 Yang, G.Y., Liao, J., Kim, K., Yurkow, E.J., & Yang, C.S. (1998). Inhibition of growth and induction of apoptosis in human cancer cell lines by tea polyphenols. *Carcinogenesis* 1998 Apr, 19(4): 611-615.
- 327 Ybañez, N., Navarro, A., & Montoro, R. (1989). Determination of cadmium, cobalt, copper, lead and zinc in beer by flame atomic absorption spectroscopy. *Journal of the Institute of Brewing*, 95, 257-262.
- 328 Zandstra, E.H., & Graff, C., de. (1998). Sensory perception and pleasantness of orange beverages from childhood to old age. *Food Quality and Preference*, 9, 5-12.
- 329 Zeng, L.H., Wu, J., Fung, B., Tong, J.H., Mickle, D., & Wu, T.W. (1997). Comparative protection against oxyradicals by three flavonoids on cultured endothelial cells. *Biochemistry And Cell Biology Biochimie Et Biologie Cellulaire* 1997, 75(6): 717-20ISSN.
- 330 Ziegler, E., & Muehlbauer, J. (1975). [Possibilities of manufacture of beer-like non-alcoholic or low-alcohol beverages.] *Moeglichkeiten zur Herstellung alkoholfreier und alkoholarmer Getraenke mit Biercharakter. Brauwelt*, 115, 800-803.
- 331 Zohm, H., & Langenbein, T. (1981). [Iron and tin contents in canned beverages and beers. Random commercial samples.] *Eisen- und Zinngehalt von Erfrischungsgetraenken und Bier in Dosen: Stichproben aus dem Handel. Industrielle Obst und Gemueseverwertung*, 66, 365-366.



