

UNIVERSIDAD DE OVIEDO

**MASTER UNIVERSITARIO EN BIOTECNOLOGÍA
ALIMENTARIA**

**“CERVEZA: COMPONENTES Y
PROPIEDADES”**

**TRABAJO FIN DE MASTER
POR**

MARÍA SUÁREZ DÍAZ

JULIO, 2013





Master en Biotecnología Alimentaria
Universidad de Oviedo
C/Julián Clavería s/n. 33071 Oviedo. España
Tel. 985106226. Fax 985103434. <http://www.unioviado.es/MBTA>



PROFESOR TUTOR:

Dra. Mata Elena Díaz García (Universidad de Oviedo)

CERTIFICA:

Que D^a. **María Suárez Díaz** ha realizado bajo mi dirección el Trabajo Fin de Máster al que corresponde la presente memoria en el contexto de los estudios del Máster Universitario en Biotecnología Alimentaria, 7^a promoción curso 2012-2013.

Oviedo, de 19 de Julio 2013

D^a. Marta Elena Díaz García

V^oB^o

Mario Díaz Fernández

Coordinador del Máster en Biotecnología Alimentaria

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a mi tutora Dra. Marta Elena Díaz García, quien me ha orientado y ayudado incondicionalmente en la realización de este proyecto.

A Dra. Rosana Badía Laíño y Dr. Alfonso Fernández González por su cercanía y consejos.

A D. José Manuel Costa Fernández y su equipo de investigación, que me han facilitado la utilización del Espectrofluorímetro Perkin-Elmer LS50-B.

A los Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Oviedo por la puesta a mi disposición los equipos de Espectrofotometría Vis-UV para la realización del presente proyecto.

A mis compañeros de Laboratorio Jorge, Marian y Tere por su inestimable ayuda durante estos meses que he pasado a su lado, en los cuales su presencia ha sido importante tanto en lo relacionado con el desempeño del proyecto como a nivel personal por su compañerismo.

A mis compañeros del Master en Biotecnología Alimentaria por todo el apoyo brindado durante la realización de este proyecto.

Finalmente agradecer a familiares y amigos su comprensión durante estos meses, haciendo mención especial a Patri y a Sito, por estar siempre a mi lado.

ÍNDICE

RESUMEN	A
ABSTRACT	B
LISTA DE FIGURAS	C
LISTA DE TABLAS	E
LISTA DE APÉNDICES	F
1. INTRODUCCIÓN	1
2. CONSIDERACIONES TEÓRICAS Y EXPERIMENTALES	6
2.1. Materias primas empleadas en la elaboración de cerveza	8
a) La malta y el proceso de malteado	8
b) Lúpulo	10
c) Aromas	13
d) Levaduras	14
e) Fermentación	14
f) Agua	16
g) Densidad	17
h) pH	17
i) Astringencia	18
j) Amargor	18
k) Turbidez	19
l) Producto final	20
2.2. Amargor: estructura química de las resinas del lúpulo y reacciones implicadas	21
2.2.1. Degradación de los iso- α -ácidos	23
a) Temperatura	23
b) Exposición a la luz	24
2.3. Envejecimiento de las cervezas: métodos analíticos de evaluación.	28
a) Métodos Espectrofotométricos	29
b) Métodos Espectrofluorimétricos	32
c) Otros métodos: RMN y FTIR	36
3. METODOLOGÍA UTILIZADA	38
3.1. Reactivos y disoluciones	38

3.2. Instrumentación analítica	38
3.3 Utillaje de laboratorio	38
3.4. Técnicas de caracterización	39
a) Procedimiento espectrofotométrico para la determinación del amargor	41
b) Fluorescencia sincrónica: características espectrales de las cervezas	42
c) Fluorescencia sincrónica de las cervezas en presencia de iones Eu^{3+}	43
d) Fluorescencia retardada en presencia de iones Eu^{3+}	43
e) Realización de cata a ciegas	44
4. RESULTADOS EXPERIMENTALES	45
4.1. Características espectrales: espectros de absorción Vis-UV	45
4.2. Amargor de la cerveza	47
4.3. Amargor de la cerveza comparado con datos bibliográficos	48
4.4. Amargor de la cerveza durante el almacenamiento	49
4.5. Fluorescencia sincrónica de la cerveza	50
4.6. Características espectrales de fluorescencia	56
4.7. Fluorescencia de la cerveza	58
4.8. Fluorescencia de la cerveza durante el almacenamiento	59
4.9. Fluorescencia retardada con Eu^{3+}	60
4.10. Determinación del tiempo de vida de fluorescencia retardada	62
4.11. Variación de la fluorescencia retardada durante el almacenamiento	64
4.12. pH, densidad y color de la cerveza	64
5. RESULTADOS DE LA CATA A CIEGAS DE LA CERVEZA	67
6. CONCLUSIONES	70
7. BIBLIOGRAFÍA	71
8. APÉNDICES	75

RESUMEN

La elaboración de la cerveza es un proceso complejo en el que intervienen diferentes disciplinas científicas y diversas tecnologías. Este proyecto de máster se centra en el estudio de una de las propiedades organolépticas más características del producto acabado: el amargor. La comprensión de los componentes de la cerveza y su producción demuestra cómo las materias primas y la manera de su procesamiento determinan la aceptabilidad de un producto y sus características organolépticas adecuadas. La cerveza contiene un 90% de agua y una amplia variedad de especies químicas con distintas propiedades que darán un determinado amargor, color, aspecto y formación de espuma. Los componentes aromáticos que componen el amargor en la cerveza son los iso- α -ácidos, aceites esenciales del lúpulo, ésteres, ácidos, compuestos de azufre, dicetonas de la levadura, etc, mientras que el color se debe a productos de reacción Maillard durante el proceso de elaboración en el secado de la malta. La espuma de la cerveza depende de la presencia de dióxido de carbono, sustancias en superficie como polipéptidos anfipáticos de la malta y sustancias amargas del lúpulo. En este proyecto se revisarán algunos de los métodos analíticos más aceptados para el estudio del amargor de las cervezas, se evaluará la posibilidad de utilizar la fluorescencia molecular como método alternativo y se estudiarán las características espectrales de diferentes cervezas en función del tiempo de envejecimiento del producto acabado.

ABSTRACT

Producing beer is a complex process based on a wide variety of scientific disciplines and technologies. This Master project focuses on a key organoleptic characteristic of beers: bitterness. Understanding beer components and its brewing process reveal how the raw materials and mode of processing determine the acceptability of the final product and its adequate organoleptic qualities. Beer contains 90% water and a wide range of chemical species with various properties, which provide a distinct bitterness, colour, appearance and beer head. The aromatic components furnishing a particular beer's bitterness include iso- α -acids, the essential oils of hops, esters, acids, sulphur compounds and yeast diketones; colour is due to the products of the Maillard reaction during the drying of the barley. A beer's head depends on the presence of carbon dioxide, surface substances such as amphiphilic polypeptides in the barley and bitter substances in the hops. In this project, the conventional methods for bitterness determination will be outlined and used. Also, fluorimetric methods will be assayed to in order to develop alternative bitterness assays. Finally, the spectral characteristics of different beers will be studied as a function of age of the final product.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de elaboración de cerveza	7
Figura 2. α -ácidos (1) y β -ácidos (2)	21
Figura 3. Estructura química de los α -ácidos y su conversión a través de la isomerización a iso- α -ácidos	22
Figura 4. Mecanismo de degradación de los <i>trans</i> -iso- α -ácidos	24
Figura 5. Fotooxidación de isohumulonas mediatizada por la riboflavina (RF)	25
Figura 6. Producción de isohumulonas reducidas	27
Figura 7. Cambios sensoriales en la cerveza con el envejecimiento	28
Figura 8. Escala de color SRM	32
Figura 9. Relación entre valores SRM, absorbancia y transmitancia	32
Figura 10. Mecanismo probable de formación del quelato Eu^{3+} -iso-humulona	34
Figura 11. Principio de emisión de fluorescencia retardada en complejos Eu^{3+} -iso- α -ácidos	34
Figura 12. Espectros de fluorescencia sincrónica de una cerveza Lager sin diluir	35
Figura 13. Espectros ^1H -RMN de cuatro muestras de cerveza	37
Figura 14. Espectros FTIR-ATR de cuatro cervezas diferentes	37
Figura 15. Espectrofotómetro visible – ultravioleta – infrarrojo cercano Perkin Elmer Lambda 900	42
Figura 16. Espectrofluorímetro Varian Cary Eclipse	43
Figura 17. Espectrofluorímetro Perkin-Elmer LS50B	44
Figura 18. Espectro de Absorción de cervezas Ale	45
Figura 19. Espectros de Absorción de cervezas Lager	46
Figura 20. Espectros de Absorción de cervezas de trigo	46
Figura 21. Amargor experimental de la cerveza cuantificado en IBU	48
Figura 22. Amargor comparado con datos bibliográficos	49
Figura 23. Amargor de la cerveza durante el almacenamiento	50
Figura 24. Espectro sincrónico de cerveza Paulaner a $\Delta\lambda = 10, 30, 60, 90, 120, 150, 180$ y 210 nm	51
Figura 25. Espectro sincrónico de cerveza Paulaner a $\Delta\lambda = 10, 30$ y 60 nm	52
Figura 26. Espectro sincrónico de cerveza Guinness a $\Delta\lambda = 10, 30$ y 60 nm	52
Figura 27. Espectro sincrónico de cerveza Estrella Galicia a $\Delta\lambda = 10, 30$ y 60 nm	53

Figura 28. Fluorescencia sincrónica de cervezas Ale, Lager y de trigo a $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$	54
Figura 29. Espectro sincrónico de cerveza Estrella Galicia con Eu^{3+} a $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$	55
Figura 30. Fluorescencia Sincrónica de las cervezas Ale, Lager y de trigo, y sus disoluciones con Eu^{3+} a $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$	55
Figura 31. Fluorescencia Sincrónica de las cervezas Paulaner, Selecta XV y Guinness durante el almacenamiento a $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$	56
Figura 32. Espectro de Excitación y Emisión de cervezas Ale	57
Figura 33. Espectros de Excitación y Emisión de cervezas Lager	57
Figura 34. Espectro de Excitación y Emisión de cerveza de trigo	58
Figura 35. Fluorescencia de la cerveza	59
Figura 36. Fluorescencia de la cerveza durante el almacenamiento	60
Figura 37. Espectro de fluorescencia retardada de la cerveza Caleyá	61
Figura 38. Fluorescencia retardada de la cerveza con Eu^{3+}	62
Figura 39. Cálculo de Tiempo de vida de la cerveza Budweiser Budvar	63
Figura 40. Fluorescencia retardada de la cerveza con Eu^{3+} durante el almacenamiento	64
Figura 41. pH y densidad de la cerveza	65
Figura 42. Variación del color en las cervezas	66
Figura 43. Color de las cervezas utilizadas en este proyecto	66
Figura 44. Puntuación del aspecto	67
Figura 45. Puntuación del amargor	69
Figura 46. Puntuación del sabor	69
Figura 47. Fluorescencia a tiempo resuelto	86

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Análogos de α -ácidos y β -ácidos	21
Tabla 2. Fluoróforos responsables de la fluorescencia nativa en alimentos	33
Tabla 3. Cervezas utilizadas en este proyecto	41
Tabla 4. Tiempo de vida, IBU y SRM de las cervezas	63

LISTA DE APÉNDICES

Apéndice 1. Clases de malta	75
Apéndice 2. Lista de estilos de cerveza con las IBU comunes	81
Apéndice 3. Lista de variedades de lúpulo y sus características	82
Apéndice 4. Fluorescencia Retardada	86
Apéndice 5. Cuestionario de la Cata a Ciegas	87

1. INTRODUCCIÓN

Las bebidas se toman para calmar la sed o por puro placer, proporcionan agua al cuerpo, refrescan y alimentan. El valor nutritivo de las bebidas alcohólicas estaba adscrito en el contexto cultural europeo al vino, la cerveza y la sidra, que habían formado parte, durante siglos, de la dieta de la población.

El consumo de bebidas alcohólicas o de estimulantes es una constante a lo largo de la historia de la civilización. A medida que las poblaciones fueron creciendo, la contaminación del suministro del agua lo hizo paralelamente, y, consiguientemente la gente bebió cerveza y vino. Ambas bebidas serán las de mayor consumo a lo largo de la historia. Tras la Reforma, la Europa protestante rechazó la normativa dietética de la Iglesia romana y, aunque el vino estaba bien asentado en aquellos países, se vio confinado, más aún, a los ambientes elitistas, disparándose el consumo de cerveza entre las clases populares.

El consumo de bebidas alcohólicas alcanzaba en el pasado unos niveles sumamente elevados. Como es lógico, no es posible hacer un promedio válido para las diferentes épocas, regímenes, clases sociales, sexos y edades, pero los cálculos de investigadores especializados difícilmente dan una cifra que sea inferior a un litro diario per cápita, siendo muchas veces 2, 3 y hasta 4 litros. Aún superior era el consumo de la cerveza.

La cerveza es la bebida alcohólica más antigua y común, y a través de su historia ha constituido un importante consumo social y una excelente fuente de calorías que, desde sus orígenes, complementaba muchas dietas generalmente pobres. Además, no contenía agentes infecciosos, como el agua o la leche, debido a su fermentación. En Europa, América y Australia, se elabora tradicionalmente con cebada, en África con mijo, en Japón con arroz, en la América pre-colombiana se hacía de maíz (chicha), mandioca y patata. También hay cervezas de centeno, de sorgo, de raíces de jengibre, de corazón de palma, de semillas de bambú, y en la zona de Ruanda y Uganda se conoce una cerveza fabricada a base de bananas verdes. En las recetas del pasado, se le añadían amapolas, champiñones, plantas aromáticas, miel, azúcar, laurel, mantequilla, migas de

pan, etc. Por regla general, en la actualidad “cerveza” es el nombre genérico que se da a toda bebida fermentada fabricada con malta, azúcar, lúpulo, agua y levadura.

La malta proviene de unas variedades especialmente cultivadas de cebada que se hace germinar de forma artificial y posteriormente se seca y tuesta. En caso de que la malta esté poco tostada se obtiene cerveza rubia; si por el contrario se tuesta más, la cerveza será negra. Las flores del lúpulo son cultivadas especialmente para la industria cervecera; es la sustancia que confiere al producto su amargor y que asegura su conservación. Las sales minerales contenidas en el agua son de una importancia vital en la fabricación, y por ello, las cervecerías tradicionales siempre están ubicadas en la proximidad de un caudal acuífero; si el agua contiene cal, la fermentación puede ser deficiente, si contiene limo puede ser turbia. Además, las cervezas dependen de su nivel de fermentación; las de más alto nivel se denominan *ale*, voz británica que deriva del vocablo danés *øl*, esta voz también denomina celebraciones ligadas al consumo de cerveza: *church ale* (“fiesta de la parroquia”) o *bride ale* (“boda”). Otros tipos de alta fermentación son las *pale ale* y las *bitter ale*. Aparte, están las cervezas de baja fermentación, que se denominan *pils* o *pilsener*. El término *lager* (“almacenar”) se utiliza para toda la cerveza de fermentación inferior; muchas variedades de cerveza se producen así, aunque no figuren en las etiquetas o incluso figure lo contrario; la cerveza que recibe este tipo de tratamiento es almacenada varias semanas antes de sacarla a la venta para que madure. Los términos *top* (“superior”) y *botton* (“inferior”) indican la posición de la levadura mientras se asienta en el tanque de fermentación. La técnica de fermentación de fondo se generalizó a finales del siglo XIX, cuando las investigaciones de L. Pasteur ilustraron a los productores de vino y cerveza sobre la acción de la levadura y se comenzó a producir la cerveza tal y como hoy la conocemos. De este tipo de fermentación resultaba un producto con mayor estabilidad que el de alta fermentación. En todo caso, los entendidos mantienen que de este último modo se obtienen cervezas de mejor sabor y carácter.

Por otra parte, la cerveza tiene importantes usos medicinales; es vasodilatadora, está indicada en el tratamiento de la anorexia, de la anemia, se metaboliza fácilmente y, sobre todo, es un contrastado diurético. Del siglo XXII a.C., aproximadamente, son unas tablillas sumerias que mencionan la cerveza como remedio, recomendándose para mujeres en estado de lactancia.

En cuanto a los orígenes de la cerveza, se ha llegado a postular que nació con la agricultura. Se conservan numerosas evidencias arqueológicas de que era consumida 4.000 o 3.500 a.C. Los babilonios nos han dejado las primeras recetas de elaboración de cerveza de cebada, de trigo almidonado o de mezcla de ambos.; era una cerveza turbia, y además, espesada con harina, convirtiéndose en la conocida “cerveza-pan bebible”. Fue muy importante para las primeras culturas, particularmente para los sumerios y los egipcios. Estos últimos racionalizaron su fabricación y obtuvieron un producto de alta calidad que era exportada en grandes cantidades a Atenas, especialmente la fabricada en Pelusa. Posteriormente, los griegos perfeccionaron aún más la técnica cervecera y la exportaron a la Galia, a España y a la costa del Adriático. Durante la Edad Media, los europeos, especialmente los monasterios católicos, no sólo mantuvieron el conocimiento de la fabricación de la cerveza, sino que también le aplicaron los refinamientos de la ciencia moderna.

Un problema de la cerveza, que solía ser más dulce en el pasado, es que enmohecía con facilidad, dada la inexistencia de conservantes. Para evitarlo había que aromatizarla, no sólo con mejorana, laurel, mirto o salvia, sino también con rábano blanco, trébol, poleo, altramuz, corteza de roble, menta, absenta o miel. Sin embargo, el empleo de sustancias excitantes o tóxicas era castigado, tanto por las instituciones laicas como por las religiosas. Botánicos destacados, los religiosos fueron posiblemente los que introdujeron el lúpulo, que con su aroma característico y su poder de clarificación, marcó el paso de la cerveza antigua a la moderna, asegurando su conservación por mucho más tiempo y acabando con su localismo. No se sabe con certeza dónde comenzó a utilizarse el lúpulo, en cualquier caso la encontramos en la Alemania del siglo IX, aunque en algunos lugares tarda mucho en imponerse, no encontrándose en Inglaterra hasta el siglo XV.

Por lo que respecta al Nuevo Mundo, los incas tenían una cerveza de maíz (chicha) de la que, por evidencias arqueológicas, se sabe que su consumo estaba muy extendido. La *chicha* no sólo tenía un significado religioso y económico, también cubría necesidades nutricionales. También se tienen referencias de una cerveza brasileña de mandioca, el *kaschiri*, y se conoce bien el *pulque* mexicano (fermentación del zumo de pita). En Norteamérica, la cerveza y el *ale* estuvieron presentes desde el

establecimiento de los colonos ingleses, que pese a su difícil transporte y no encontrarse materia prima a mano fueron utilizadas calabazas, frutos de caqui, maíz, etc.

En el siglo XVIII se produjo una importante innovación en la industria cervecera al introducirse la botella de cristal, que no sólo significó el fácil transporte y almacenamiento, sino también facilitaba en gran medida el consumo privado en los domicilios.

Uno de los países más tradicionales y afamados en la producción de cerveza es Alemania, segundo productor mundial tras los Estados Unidos. Existen numerosas zonas cerveceras y sólo en Baviera se elaboran cinco tipos. Las oscuras cervezas antiguas *muncheneus* o *dunkel*, dieron paso a las claras *hell*. De origen monástico, cervezas fuertes bávaras *bock*. Las cervezas *lager* y *pilsener* pasteurizadas típicas del este del país, y sin pasteurizar *pilsator*, *märzembier* y *bock*. Los cerveceros de Baviera se encontraron en el pasado con un serio problema: durante el verano el desarrollo de levaduras salvajes deterioraban el producto. La solución era dejar de elaborar la cerveza en marzo, sin embargo la solución definitiva llegó con el desarrollo de la técnica de la doble malta. En Munich se celebra anualmente la fiesta de la cerveza llamada Oktoberfest (“fiesta de octubre”), que registra una masiva afluencia donde la cerveza que se sirve es la llamada *märzembier* (“cerveza de marzo”), fuerte y de color cobrizo; y constituye la manifestación cervecera más importante del mundo. En Berlín, *weissebier* se elabora con tres partes de cebada y una de trigo siendo una cerveza poco común, ligera y espumosa, adecuada para el verano acompañada por zumo de frambuesa o esencia de asperula; *weizenbier* producida en el sur del país, sobre todo en Stuttgart es una cerveza de trigo, ligeramente afrutada acompañada de una rodaja de limón.

Bélgica, tras Alemania, es el mayor consumidor del continente europeo. Se producen muchos tipos de cervezas: rojas de *roeselana*, blancas tipo *weisse-berliner* de fermentación baja y poca graduación; y “salvajes” *geuze* y *lambic* elaboradas con malta de avena y fermentación espontánea envejeciéndose durante varios años. *Geuze* se produce con distintos sabores y grados de fuerza, mezclándola y madurándola con infusiones básicas como *lambic* o *lambick*. Una variedad menos corriente *krick*, se le añade cerezas amargas que dan lugar a una segunda fermentación. Según el método tradicional, se encuentra la “cerveza al vapor”, de fermentación alta y/o espontánea, sin

filtrar y procediendo a su crianza en barricas de madera. Entre los principales tipos son las *planches*; *saison* estacional, *ambarinas* con un malteado mayor del cereal y mayores temperaturas, *ácidas* y criadas en barricas de madera durante año y medio, *artesanales* fermentadas al aire libre. Especial mención las cervezas de las abadías trapenses, denominación protegida *Trappiste*, son de fermentación alta, pesada y maduración natural.

En Francia, tiene una gran tradición cervecera basándose en los métodos flamencos, germanos y austriacos. Siguen elaborándose cervezas artesanales de alta fermentación y tradición flamenca. La cerveza *à l'ancienne* (“a la antigua”) se elabora en Lyon.

En las Islas Británicas se elaboran cervezas singulares como la irlandesa, la galesa o la escocesa. Es la zona tradicional de las *bitters* (“amargas”) y las *porter* (“cervezas negras”). Tradicionalmente los cerveceros ingleses producen una cerveza suave y otra amarga. Se prefieren las bebidas sin pasteurizar y servida a temperatura ambiente. El *church ale* era una fiesta en la que se reforzaba la cohesión de la parroquia a través del consumo de cerveza.

Otras regiones productoras son Austria, donde se elaboran unos sesenta estilos; Holanda, Suiza, Escandinavia (donde la elaboración más típica es la doméstica), Chequia y Eslovaquia, y Rusia (se fabrican principalmente a partir de trigo o centeno). Estados Unidos es el mayor productor y consumidor de cerveza, destacando también en el continente americano la producción brasileña y mexicana. En Japón, es una bebida en expansión; y en China la cerveza de arroz es muy aromática y se remonta a más de 6.000 años. Australia es un gran productor y consumidor con una elaboración similar a los ingleses.

En España tenemos producción de cerveza desde la antigüedad. Se tienen referencias de una bebida llamada *ceria*, en Lérida 1200 a.C., elaborada a base de cereales. La cerveza española obtuvo un gran impulso con la llegada de Carlos V, que importó la afición a su consumo de la corte flamenca. Las primeras fábricas se instalan en Madrid. Actualmente es el tercer país productor y el octavo en cuanto a consumo, destacando el comercio de exportación (Agu y Palmer, 1998; García, 2005).

2. CONSIDERACIONES TEÓRICAS Y EXPERIMENTALES

La cerveza es toda bebida fermentada a base de malta (cebada germinada), lúpulo, agua y levaduras. En algunos países, Alemania, Noruega, Grecia, Suiza, etc. la ley limita la utilización de los sustratos para la fermentación a cebada malteada y lúpulo, además de la levadura y el agua. En otros, es normal el que se añadan cereales no malteados (cebada, arroz, maíz, trigo, etc.), refinado de fécula de patata y almíbares derivados de la caña de azúcar, remolacha azucarera o cereales (García, 2013).

Las cervezas tipo Ale son elaboradas con levaduras de fermentación a temperaturas altas, mientras que las Lager, la fermentación es más larga, más fría y tienden a tener un grado alcohólico menor. Las cervezas sin alcohol constituyen un tipo especial, pueden ser elaboradas de diferentes maneras con levaduras especiales, reducción de contenido de mosto original, eliminación de alcohol por destilación, ultracentrifugación, etc. (Duarte *et al.*, 2004).

La mayoría de las grandes industrias de producción de cerveza reciben su malta y los sólidos adjuntos. Las materias primas se mantienen en silos de almacenamiento, normalmente de acero u hormigón de base cónica, a 10 - 15°C y baja humedad con el objetivo de prevenir el desarrollo de los posibles microorganismos contaminantes. La producción de cerveza comprende de una forma esquemática los siguientes pasos como se muestra en la Figura 1:



Figura 1. Proceso de elaboración de cerveza.

- Molienda de la cebada malteada para formar una harina muy basta. (Milling)
- Remojado con agua caliente de la harina. Las enzimas de la malta son las encargadas de solubilizar el endosperma degradado de la malta molida. (Mashing)
- Separación del extracto acuoso, llamado mosto dulce, de los sólidos agotados, pulverizando más agua caliente sobre la malta. (Lautering)
- Ebullición del mosto con el lúpulo, lo cual detiene la acción enzimática, esteriliza el mosto y coagula algunas proteínas y taninos. En esta etapa pueden añadirse adjuntos a la caldera de cocción del mosto. (Boiling)
- Clarificado, enfriado y aireado del mosto hasta convertirlo en un medio ideal para el desarrollo y la fermentación de las levaduras. (Whirlpooling, Cooling)
- Fermentado del mosto con la levadura, hasta que la mayoría de los carbohidratos se hayan convertido en alcohol y anhídrido carbónico. (Fermenting)
- Madurado y clarificado de la cerveza, modificando el sabor y el aroma, pero manteniendo las cualidades de la misma. (Maturing, Filtering)
- Envasado de la cerveza, normalmente después de que haya sido pasteurizada. De manera alternativa, para envasar como botellas o botes, se puede pasteurizar dentro del envase. (Packaging) (García, 2013).

2.1. MATERIAS PRIMAS EMPLEADAS EN LA ELABORACION DE CERVEZA

a) La malta y el proceso de malteado

Son varios los granos de cereales que pueden ser satisfactoriamente malteados, pero los de cebada son los que generalmente presentan menos problemas técnicos. El maíz se maltea muy raras veces, porque su grasa se enrancia. El trigo se maltea a escala comercial, especialmente para la elaboración de ciertos tipos de pan, pero el desarrollo de microorganismos durante la germinación en la superficie del grano plantea ciertos problemas. Para la producción de cervezas nativas africanas se maltean diversos cereales (especialmente sorgo). En el transcurso del tiempo, se ha ido imponiendo, prácticamente en todo el mundo, el aroma de las cervezas elaboradas a partir de cebada malteada. Además, la cebada utilizada para la elaboración de malta destinada a la producción de cerveza es más rica en almidón, que es la sustancia que da origen al extracto fermentable. También contiene proteínas, generalmente en cantidades más que suficientes para proporcionar los aminoácidos necesarios para el crecimiento de la levadura, y las sustancias nitrogenadas que desarrollan un papel importante en la formación de espuma.

La cebada (*Hordeum vulgare*) es una planta gramínea anual, originaria de Asia occidental. Hay dos variedades de cebada: cebada cervecera o de dos carreras (*Hordeum distichum*) que presenta dos hileras de semillas, y la cebada de seis carreras (*Hordeum hexastichum*) con seis hileras de semillas. La variedad de dos carreras es más apta para la elaboración de la cerveza porque produce más azúcares fermentables y tiene menos proteína. La ventaja de la variedad de seis carreras para grandes fabricantes cervecedores es que convierte más que su propio peso de grano sin maltear, como el maíz o el arroz, pero requiere maquinaria de filtración, ya que presenta problemas de clarificación por su contenido en proteínas.

El grano de cebada consiste en tres partes, cáscara, embrión o germen y endospermo. Éste último, la reserva de la planta, consiste en almidón duro e insoluble. Después de la cosecha, los granos se limpian y se secan hasta alcanzar un nivel de humedad del 12%. Se guardan durante seis semanas hasta que se recuperen del secado y

vuelvan a su estado activo para la germinación. Posteriormente durante dos o tres días se procede al remojo, que consiste en tres sesiones de inmersión en agua limpia y tres exposiciones al aire. La temperatura en esta etapa se mantiene a 15°C, y los granos empezarán a germinar cuando el nivel de humedad llegue al 35%. Se requiere seguir con la combinación agua-aire hasta que suba al 46%, que es la humedad suficiente para la modificación deseada del almidón en el endospermo.

Cuando las condiciones son las adecuadas, el embrión libera unas sustancias, principalmente ácido giberélico, que activan las enzimas que degradan las proteínas y el almidón a formas más solubles y fáciles de metabolizar. Este cambio en el endospermo se denomina modificación. El maltero controla este proceso midiendo el tamaño del brote embrionario (o plúmula): para la *Lager Malt*, la modificación se corta cuando hay un mayor extracto de azúcares, pero dejando más proteínas de alto peso molecular cuya conversión a aminoácidos requerirá un proceso de maceración más complicado que el de la *Pale Malt*, normalmente con un grado de modificación más alto. Posteriormente, la malta es llevada a un horno donde se detiene la germinación con calor.

En una maltería moderna la modificación se lleva a cabo en una sala de germinación/horno durante cuatro y seis días hasta llegar al nivel de modificación deseado en función de la longitud del brote; mientras que en una maltería tradicional se pone la cebada en el suelo formando una capa de veinticinco centímetros de espesor y se remueve para mantener la temperatura a 15°C y airearla. Cuando el grado de conversión es el deseado, la malta verde se seca y se tuesta a temperaturas diferentes durante distintos periodos según el proceso final deseado. Primero se seca lentamente a bajas temperaturas (35°C - 60°C) y se tuesta con mayor rapidez a temperaturas más altas (80°C - 105°C), según el tipo, para detener la actividad de las enzimas. Las maltas base, *Pale*, *Pilsner* o *Lager*, *Mild Ale*, *Viena*, *Munich*, y la malta de otros cereales que producirán la mayor parte de los azúcares, no pasan de esta fase para conservar su diastasa y evitar la caramelización de los azúcares. Los niveles de humedad al final del tueste van del 3% al 6%. Las maltas tipo *Crystal* (en general oscuras) se calientan verdes a 65°C, hasta que convierten todo el almidón en azúcares, y se tuestan a temperaturas más altas para conseguir los colores y sabores deseados. La variación de la temperatura y el tiempo producen melanoidinas y pirazinas que pueden dar perfiles

distintos de aroma, sabor y color. Estas maltas, ya que han sido sacarificadas no necesitan pasar por el proceso de maceración.

También hay maltas ahumadas (su uso es imprescindible para cervezas alemanas del tipo Rauchbier, cerveza oscura escocesa y varias artesanas americanas), ácidas, y que se tuestan una vez quitadas las cáscaras. Para elaborar malta ácida, se permite el cultivo de *Lactobacillus* en la malta verde antes de secarla y tostarla. Se recomienda añadir pequeñas cantidades (3% - 5%) a la *Pilsner* o la *Lager Malt* para bajar el pH del mosto para Pilsener y Lager claras, evitando las adiciones de minerales que no son aptas para estos estilos que exigen tener un paladar muy delicado. En cambio, en el caso de los estilos de cerveza oscura, las maltas tostadas bajan el pH sin ayuda. Algunos cerveceros alemanes utilizan ciertas maltas tostadas a las que se ha quitado la cáscara, de esta manera se conserva el color pero no se obtiene un sabor fuerte asociado a cervezas oscuras. Finalmente, hay que guardar la malta una o dos semanas o incluso maltas muy tostadas necesitan hasta seis semanas, para que madure, se desarrolle y suavicen su sabor antes de ser molturadas y maceradas (García, 2013; Huxley, 2011).

Para una mejor comprensión de los tipos de cerveza con varias tonalidades de color y sabor se describen las diferentes clases de malta en el Apéndice 1.

b) Lúpulo

El uso generalizado del lúpulo en la elaboración de la cerveza no se produjo en Europa hasta principios del siglo XV, y en Inglaterra aún más tarde. Se había utilizado desde los tiempos de los romanos, pero era sólo una más entre una miríada de hierbas, especias, etc. que se añadían a la cerveza. Su utilización empezó a difundirse por Europa continental en el siglo VIII, pero no fue aceptada en Inglaterra e incluso llegó a ser prohibida por Enrique VIII. Finalmente, hasta los obstinados ingleses se dieron cuenta de que el lúpulo no sólo era el condimento por excelencia, sino que también conservaba la cerveza. En 1524 se permitió su cultivo.

Húmulus lupulus, es la planta que en latín quiere decir “lobo silvestre”. De la familia de las canábaceas, cuyos frutos, desecados, se emplean para aromatizar y dar sabor amargo a la cerveza. El lúpulo es una planta perenne, trepadora que normalmente

llega a tener cinco metros o más de altura. Sólo se utilizan los conos (o flores) de las plantas femeninas antes de que sean fecundadas. En países como Inglaterra y Bélgica también utilizan, a veces, lúpulos femeninos fecundados que son más fuertes y amargos. Habitualmente, estas flores son desecadas antes de ser usadas. Los conos contienen en su interior unas glándulas de color amarillo, llenas de una resina llamada lupulina, que es el principio activo que los cerveceros buscan en el lúpulo. Recientemente, gracias a años de investigación, se ha conseguido cultivar plantas enanas con unos niveles de resina y una adaptación al almacenaje muy aceptables, con buena resistencia a varios tipos de plagas, y con perfiles de sabor y aroma excelentes.

Una vez separados los conos de las hojas, se secan hasta que sólo tienen un 10% de humedad, se embalan en fardos y se conservan en almacenes secos a temperaturas muy bajas. Se distribuye para su uso en cervecería de tres formas fundamentales: lúpulo natural desecado en recipientes libres de oxígeno, plug (tabletas de lúpulo desecado comprimido, que cuando es rehidratado se convierten de nuevo en conos) y pellets o bolitas (lúpulo desecado, triturado y compactado, con mejor protección al aire).

Los lúpulos tienen una serie de propiedades: proporcionan el amargor que compensa el dulzor de la malta, propiedades antibacterianas conservando la cerveza, contribuyen a la formación y la retención de la espuma, los polifenoles que contienen reaccionan con las proteínas indeseadas de la malta y las hacen insolubles (*hot trub* o *cold trub*, sedimento caliente o frío) lo que permite su filtrado o sedimentación. Según las clases de lúpulo y el momento del proceso en que se añadan, pueden contribuir en el sabor y aroma de forma muy variada y tienen propiedades beneficiosas para la salud.

De los componentes del lúpulo, los materiales interesantes para la cerveza son las resinas, los aceites esenciales y los taninos o polifenoles, que están contenidos en la lupulina, el polvo aceitoso y resinoso que hay dentro del cono. Las **resinas** (10 - 20%), presentes en el lúpulo fresco, llamadas resinas blandas, contienen los principales grupos químicos que dotan a la cerveza de amargor, contribuyen a la formación de espuma y ayudan a la conservación de la cerveza. Dado que el objetivo del presente trabajo es la determinación del amargor de las cervezas, más adelante se dedicará un apartado específico al mismo donde se detallarán los compuestos y las reacciones responsables del sabor amargo en cervezas. Aquí únicamente señalaremos que el parámetro más

utilizado para clasificar las cervezas en función de su amargor es el IBU (Internacional Bittering Units), unidades internacionales de amargor. El IBU es una medida de concentración que se expresa en miligramos de iso- α -ácidos en un litro de mosto o cerveza o en partes por millón (ppm). La fórmula aproximada para conocer el amargor viene dada por la expresión:

$$\text{IBU} = H \cdot (a\% + b\% / 9) \cdot 0.3$$

en la que H es el peso del lúpulo en gramos por litro, a% el porcentaje de α -ácidos, b% el porcentaje de β -ácidos, 9 una constante relacionada con la capacidad nueve veces superior de proporcionar sabor amargo de los α -ácidos respecto a la de los β -ácidos, 0.3 una constante que representa aproximadamente el nivel de eficiencia de extracción de las resinas del lúpulo (después de las pérdidas por la ebullición, espumado, evaporación, maduración y acabado). En el Apéndice 2 se muestran los distintos estilos de cerveza con respecto a su amargor en unidades internacionales de amargor (IBU) comunes. El empleo de los lúpulos es muy importante para escoger un estilo y un perfil de amargor, sabor y aroma. Existen distintos métodos de empleo de los lúpulos:

First Wort Hopping (lupulado del primer mosto): incorporar el lúpulo en la caldera nada más empezar el trasiego del mosto. Era una práctica en desuso que resucitó en los años noventa. Mejora la calidad del amargor, más suave, y aporta sabor y aromas agradables.

Hop Back: adición al final de la cocción, pasando el mosto por un filtro que contiene conos de lúpulo. Además de incorporar aromas frescos, los pétalos de las flores actúan como un nuevo filtro para el mosto.

Dry Hopping (uso de lupulado en seco): es el método por excelencia para asegurar los aromas y es esencial para elaborar una IPA auténtica. Este método fue desarrollado en el siglo XIX en Burton-on-Trent para conservar la cerveza durante su larga travesía en barco de vela hasta la India. Se hace en la cerveza fría y la mayor parte de los compuestos volátiles se quedan en ella. Con todos los demás métodos, durante la fase de fermentación se pierden muchos compuestos volátiles, arrastrados por el dióxido

de carbono (por lo que en este caso se añaden los lúpulos al fermentador secundario o al barril).

Hay muchas variedades de lúpulo, que se pueden clasificar en tres clases: lúpulos de aroma, lúpulos de doble finalidad y lúpulos de amargor. Algunas variedades van estrechamente asociadas a ciertos estilos de cerveza y, en algunos casos, es obligatorio por razones geográficas, históricas y culturales. Una lista de variedades de lúpulo y sus características se puede consultar en el Apéndice 3.

Las cantidades empleadas más usuales oscilan entre 25 - 50 gramos por 25 litros de cerveza. Los lúpulos más utilizados para el *dry hopping* son: ***East Kent Holding***, ***Fuggle***, ***Cascade***, ***Crystal***, ***Willamette***, ***Saaz***, ***Hallertau*** y ***Tettnanger***. Algunas cervezas se hacen con una sola variedad de lúpulo: Pilsner Urquell con *Saaz*, Anchor Liberty con *Cascade*, etc. Este tipo de cerveza se llama monovarietal. Por lo general, se utilizan más las mezclas, aunque para el aporte de amargor sólo se emplea una variedad. A veces se usan dos para el sabor, y dos o más para el aroma. Los lúpulos nobles son ***Hallertauer Mittelfrüh***, ***Tettnang Tettnanger***, ***Saaz*** y ***Spalt Spalter***. También pueden ser considerados lúpulos nobles ***East Kent Goldings*** y ***Fuggles***, porque comparten las siguiente características con ellos: niveles bajos de α -ácidos y niveles reducidos de cohumolona, la proporción entre α y β ácidos es 1:1, bajo contenido en mirceno, la proporción entre humuleno y cariofileno es $> 3:1$, son inestables pero mantienen su fuerza para aportar amargor gracias a la oxidación de sus β -ácidos. Una manera fácil para obtener la relación de amargor y la cantidad de lúpulo necesario es:

$$\text{Lúpulo (g)} = \text{IBU deseadas} \times \text{cantidad de cerveza} / \alpha\text{-ácido} \times 2$$

c) Aromas

Los **aceites esenciales** (0,2 - 0,5%), son el componente aromático que proporciona a la cerveza aroma y sabor. Contienen muchos compuestos que incluyen ésteres, mezclas de alcoholes (fuseles), aldehídos, cetonas y ácidos, aunque el grupo más importante son los llamados terpenos. Los principales terpenos son el humuleno, cariofileno, mirceno y farneseno. El más abundante es el humuleno. El mirceno suele dar un sabor áspero y por ello lúpulos con alto contenido de este compuesto no se

utilizan mucho para el aroma. El aroma es un tema muy complejo porque todos los compuestos aromáticos actúan en sinergia. Además, son sustancias muy volátiles y pocas moléculas sobreviven al proceso de elaboración siendo difícil que el 10% (unas pocas ppm) acabe en la cerveza acabada. El geraniol y el linalol (alcoholes superiores) aportan notas florales; el mirceno, el β -pireno y el limoneno (terpenos) contribuyen con fruta y pino, hierbas y frutas cítricas, respectivamente.

d) Levadura

El hombre primitivo no entendía el proceso de fermentación, pero seleccionaba la madre de las cervezas que más apreciaba. La investigación seria empezó en 1830, cuando Louis Pasteur identificó la levadura como un organismo y como responsable de la fermentación. En 1883, el doctor Emil Christian Hansen consiguió aislar una cepa pura, *Saccharomyces carlsbergensis*, utilizada para fabricar cervezas Lager muy estables. A partir de entonces, se conocen dos clases principales de *Saccharomyces* para la elaboración de la cerveza: *Saccharomyces carlsbergensis*, utilizada para baja fermentación, y *Saccharomyces cerevisiae* para alta fermentación. Actualmente, ambas están clasificadas como *Saccharomyces cerevisiae*, aunque a veces a las levaduras utilizadas para la fermentación baja se les llame *Saccharomyces cerevisiae uvarum*.

La levadura es un organismo eucariótico. Se trata de un hongo microscópico unicelular que transforma los glúcidos y los aminoácidos en alcohol y dióxido de carbono. Hay muchas especies y se las clasifica de acuerdo con las características de su forma celular, de la reproducción, de su fisiología y de su hábitat. Sus hábitats naturales son variados (en simbiosis o como parásitos): frutas, hojas, flores y hasta la piel y el interior de los mamíferos. La característica interesante, es su habilidad para metabolizar azúcares. Además contienen diecisiete vitaminas, todas del grupo B, catorce minerales y 46% de proteínas.

e) Fermentación

Los microorganismos utilizan como sustrato los hidratos de carbono (principalmente azúcares como la glucosa) presentes en el medio para transformarlos en etanol, dióxido de carbono y energía en forma de ATP. La producción de etanol se lleva

a cabo a través de la vía glucolítica, que en su forma más simple, se puede expresar de la siguiente forma:



Las levaduras también pueden crecer al mismo tiempo que producir otros metabolitos, como por ejemplo ácido láctico, glicerol y ácido succínico, aunque en cantidades relativamente pequeñas. Durante el metabolismo de las levaduras se producen principalmente aldehídos, ésteres y alcoholes secundarios o superiores, de gran importancia en las propiedades organolépticas de la cerveza. Estos compuestos derivan de los oxo-ácidos, los cuales son producidos o bien por el metabolismo de los carbohidratos (ácido pirúvico o ácido oxoglutarico) o por aminoácidos por transaminación con un oxo-acido ya existente.

Las cepas de levadura más empleadas en la fabricación del vino, cerveza y pan, son las correspondientes a la especie *Saccharomyces cerevisiae*. Esta levadura sigue un metabolismo fermentativo cuando está en condiciones anaerobias, pero cuando hay oxígeno hace una respiración aerobia y no produce alcohol. Este fenómeno es determinante en la industria de bebidas alcohólicas, pues para que la producción de etanol sea correcta, las levaduras deben desarrollarse en ausencia de oxígeno (Belitz *et al.*, 1997).

Para desarrollarse y funcionar bien, la levadura necesita nutrientes como carbohidratos fermentables, aminoácidos, vitaminas, minerales y oxígeno, siendo el mosto más el lúpulo disponible un medio que se puede considerar rico. De hecho contiene carbohidratos asimilables, una amplia variedad de aminoácidos y otros componentes nitrogenados, sales minerales entre las que se encuentra el calcio, magnesio, sodio, potasio, hierro, cinc, cobre y manganeso, cloruros, sulfatos, carbonatos y fosfatos. También se encuentran presentes vitaminas tales como biotina, ácido pantotico, inositol, tiamina, piridoxina y ácido nicotínico (García, 2013).

Los dos tipos de fermentación son:

Alta fermentación: los mostos se maceran por infusión con malta muy modificada, con niveles bajos de proteínas. Si la temperatura inicial del medio es de 15 - 16°C, se va elevando la misma hasta que aproximadamente a las treinta y seis horas alcance valores de 20 - 25°C. La fermentación principal se lleva a cabo a 18 - 24°C durante 3 - 4 días. Las altas temperaturas favorecen la producción de ésteres, que pueden añadir notas frutales, pero también de alcoholes superiores y otros subproductos no deseables. A las setenta y dos horas comienza a enfriarse gradualmente de modo que durante las últimas diez horas la fermentación es muy baja y la levadura tiende a flotar en la superficie. Las cervezas de alta fermentación incluyen cervezas **Ale, Porter, Stout, Altbier, Kölsch y Wheat.**

Baja fermentación: los mostos para baja fermentación tradicionalmente se han macerado por infusión escalonada o decocción con malta menos modificada, con niveles altos de proteínas. La fermentación comienza con un leve aumento de la temperatura del mosto, hasta un máximo de 10 - 15°C. La fermentación principal se realiza entre 7 - 14°C. El proceso se prolonga unos 3 - 5 días (primera fermentación), tras lo cual la temperatura se reduce lentamente (fermentación secundaria). Las levaduras siguen activas aunque más lentamente hasta alcanzar los 0°C. Las temperaturas más bajas de la primera fermentación favorecen la producción de diacetilo debido al agotamiento de la valina y como resultado del cual la levadura activa la síntesis de productos intermedios que generan el diacetilo. El diacetilo se manifiesta como el aroma y el sabor de los caramelos de azúcar o a mantequilla indeseable (0,02 - 0,15ppm). En muchas cervezas Ale y en algunos estilos de Lager, como Bohemian Pilsner y Viena, es aceptable en concentraciones bajas. En concentraciones altas siempre es un defecto, especialmente en las de tipo Lager, donde es más fácil que se produzca. Las temperaturas más bajas de fermentación secundaria hacen que el proceso sea más lento pero el sabor de la cerveza es más limpio. Entre las cervezas de baja fermentación están las **Pilsener, Dortmunder, Märzen y Bock.**

f) Agua

El 95% del peso de la cerveza es agua. Las factorías de las cervezas se construyeron en aquellos lugares en los que se disponía de agua adecuada para el tipo de cerveza a producir. Así, el alto contenido en sulfato cálcico de Burton-on-Trent

resultaba ideal para la fabricación de cervezas Pale Ale, fuertes y muy aromáticas que se producían en la cervecería del monasterio. En contraste con esto, las aguas blandas de Pilsen, en Checoslovaquia, resultaban ideales para la elaboración de cervezas Lager, y de hecho a este tipo de cervezas se les conoce habitualmente como Pilsner o Pils, cuando se elaboraban en Europa. El agua rica en bicarbonato cálcico (dureza temporal) resultaba excelente para la producción de las cervezas más oscuras, por lo que las de Munich, Londres y Dublín alcanzaron fama y renombre. Ahora el agua puede modificarse para obtener aquella que se desee, siendo otros los problemas, como por ejemplo, la adecuación del agua a los equipos de limpieza. El agua que se utiliza para la limpieza y para el vapor tiene una composición química óptima diferente a la de producción. Se prefiere un agua ligeramente dura que forme una película pasiva sobre las superficies.

g) Densidad

La densidad del mosto indica la cantidad de azúcares en solución. El “grado Plato” es la densidad específica expresada como el peso de extracto en 100g de solución, a la temperatura de 17,5°C. La densidad específica final es la densidad de la cerveza cuando la fermentación ha concluido. Cuanto más denso sea el mosto, más alcohol tendrá la cerveza acabada y mayor cantidad de lúpulo necesitará: en los mostos más densos el α -ácido es menos efectivo y se necesita más amargor para contrarrestar el dulzor de la malta. Además, los mostos densos requieren más tiempo para fermentar y mucho más tiempo de maduración (García, 2013; Huxley, 2011).

h) pH

El pH es un factor importante en la fermentación, debido al control que ejerce frente a la contaminación bacteriana así como en el crecimiento de las levaduras, la velocidad de fermentación y la producción de alcohol. La variación del pH durante el proceso de fermentación es debido a la transformación de los aminoácidos por pérdida de nitrógeno, pasando a ácidos, lo cual origina una disminución del pH del medio. Otro factor que puede originar una variación de pH es la producción de dióxido de carbono en la fase de fermentación aerobia, que en disolución da lugar:



produciendo una caída de pH.

Durante la fermentación anaerobia, aparte de producirse etanol, se generan una serie de ácidos orgánicos como el ácido láctico, propiónico y pirúvico, que influyen también en la disminución del pH.

El pH influye en la actividad de la levadura. Así, se ha podido comprobar que el pH más favorable para el crecimiento de la *Saccharomyces cerevisiae* se encuentra entre 4.4 - 5.0, siendo el pH 4.5 el adecuado para su crecimiento óptimo.

i) Astringencia

Es un gusto áspero que hace fruncir la boca. No tiene aroma y es muy diferente al amargor, estimula los nervios trigéminos presentes en toda la boca. Su causa, son demasiados taninos extraídos del grano o del lúpulo. Si la sensación es extrema, lo más probable es que los responsables sean los polifenoles producidos por bacterias (*Acetobacter* y *Lactobacillus*) o por la levadura salvaje. También puede ser una de las manifestaciones de la oxidación.

j) Amargor

El amargor es uno de los cuatro sabores básicos y una característica deseable en toda cerveza. Se percibe en la parte posterior de la lengua y el cielo de la boca. Es la contrapartida del dulzor conferido por la malta. La intensidad y la calidad varían mucho según el estilo. En algunos estilos casi no se nota (Lambics <10 IBU), mientras que en otros (algunas versiones americanas de IPA >100 IBU) la intensidad de amargor es muy alto. La causa de amargor, es resultado de la solución de los iso- α -ácidos de los lúpulos en el mosto durante la cocción. La intensidad y la calidad del amargor se manipulan a través de la elección de la variedad de los lúpulos, el contenido de α -ácidos o a veces la cantidad de β -ácidos oxidados que se cree que dan un tipo de amargor suave, la duración de la cocción de los lúpulos, y el contenido mineral del licuor. La práctica de *First Wort Hopping* puede influir en la calidad del amargor. Hay otro tipo de amargor conferido por las maltas torrefactas y especialmente la *Roasted Barley*, que tiene mucha importancia en estilos como Robust Porter y Dry Scout.

El amargor desagradable percibido especialmente en el regusto, puede ser producido por la levadura salvaje y la oxidación; normalmente esto iría acompañado de otros defectos. En cuanto al agua utilizada, el magnesio y los sulfatos, aumentan la percepción de amargor y son apropiados para estilos con un perfil alto de lúpulo. El licor con un contenido alto de carbonatos puede acentuar la aspereza del amargor, especialmente si el nivel de IBU es elevado. Se consigue más amargor aumentando la cantidad de lúpulos o su tiempo de cocción, y también dejando que el mosto hierva quince minutos antes de añadir los lúpulos de amargor (algunas de las resinas se pegan a las proteínas cuando se coagulan). Hay que tener en cuenta que si se elabora una cerveza a mucha altitud o no se hierva todo el volumen del mosto final, se necesitarán más lúpulos. Y durante la fermentación, (a más temperatura, más pérdida), la filtración y la maduración, se pierde amargor.

k) Turbidez

Después del envasado, la mayoría de los problemas de turbidez de la cerveza en particular y de las bebidas alcohólicas en general, son debidos a la formación de complejos proteína-polifenoles (taninos) que llevan a la formación de partículas coloidales. Durante la ebullición del mosto, el enfriamiento del mismo y el subsecuente de la cerveza, la proteína asociada a los polifenoles puede precipitar. La capacidad de formar turbidez de un polipéptido es directamente proporcional al porcentaje de prolina existente. Los niveles de hordeína, proteína existente en la cebada al igual que la albúmina, son los que más parecen influir en la formación de la turbidez de la cerveza. En cuanto a los polifenoles formadores de turbidez, presentan al menos dos grupos con la capacidad de formar enlaces con la proteína, cada uno de los cuales tiene al menos dos grupos hidroxilo en un anillo aromático. Principalmente, los polifenoles presentes en la cerveza son proantocianidinas y provocan enlaces más fuertes con las proteínas cuanto mayor tamaño tengan. En presencia de oxígeno disuelto y ciertos metales pesados como hierro o cobre, que actuarían como catalizadores, los polifenoles pueden ser activados reaccionando con una o más moléculas de proteínas y precipitando el complejo formado. En el apartado de color que se describirá más adelante se hará referencia a la relación entre el color y la turbidez.

1) Producto final

La vida de una cerveza depende de varios factores, pero el más importante es el tiempo que transcurre desde su envasado hasta el momento de ser consumida, ya que durante el mismo están comprometidos: la estabilidad del sabor, la turbidez y la microbiológica. El oxígeno disuelto es otro factor importante ya que afecta seriamente la turbidez. Asimismo, otro factor crucial es la temperatura: si se asegurase una correcta cadena de frío no se necesitaría la pasteurización y la cerveza tendría menos posibilidades de deteriorarse en lo que al sabor, turbidez o infecciones se refiere.

Los valores caloríficos de la cerveza vienen derivados principalmente del etanol, los carbohidratos residuales y las proteínas. La cerveza contiene asimismo vitaminas del grupo B, como biotina, el ácido nicotínico, el ácido pantotéico, la piridoxina, la riboflavina, la tiamina, el ácido fólico y la vitamina B12. Por todo ello, un litro de cerveza proporciona 300 - 400 kcal, 3 gramos de proteínas y una pequeña cantidad de vitamina B.

La **cerveza sin alcohol**, se distingue del resto de cervezas desde el punto de vista productivo, básicamente en el tratamiento que sufren durante la fermentación y/o después de la fermentación. Se puede obtener mediante dos procesos diferentes: fermentación controlada o técnicas de post-fermentación.

La fermentación controlada no difiere respecto a la normal ya que no prescinde ni incorpora ningún elemento o instalación adicional. Consiste en detener el proceso de fermentación, mediante un enfriamiento rápido a 0°C cuando se alcanza un valor inferior al 1% de alcohol o bien hasta el 2,5% en volumen.

Las técnicas post-fermentativas siguen el modo habitual de elaboración y una vez concluida la fermentación normal, se emplea alguna de las técnicas de eliminación de alcohol: evaporación (permite rebajar la concentración de etanol hasta un 0,04%), ósmosis inversa (sólo se baja hasta un 0.4% de etanol) o diálisis (García, 2013; Huxley, 2011).

2.2. AMARGOR: ESTRUCTURA QUÍMICA DE LAS RESINAS DEL LÚPULO Y REACCIONES IMPLICADAS

La estructura química de las resinas del lúpulo es compleja. Entre los componentes de dichas resinas se encuentran los denominados α -ácidos y β -ácidos (ver Figura 2), de los cuales los α -ácidos representan entre el 2 y 15% según la variedad de lúpulo.

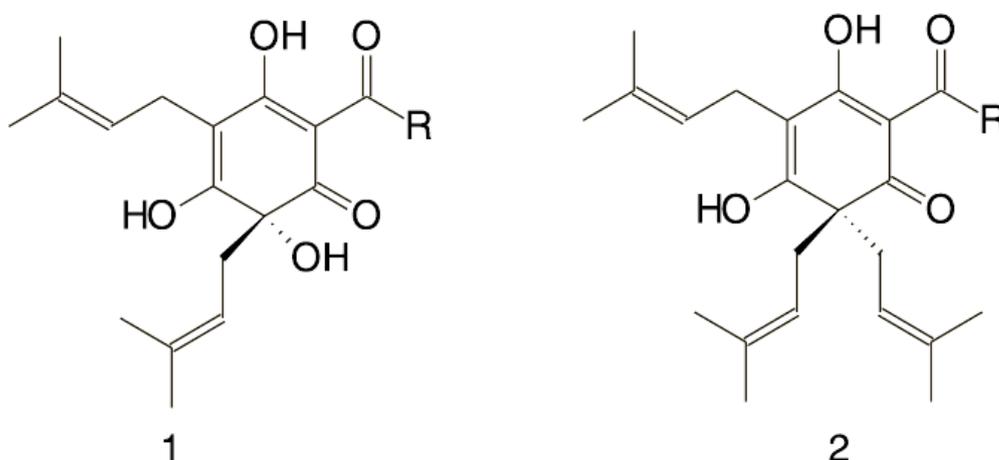


Figura 2. α -ácidos (1) y β -ácidos (2).

Existen cinco análogos de los α -ácidos: tres principales **cohumolona**, **humolona**, **adhumolona**, y dos menores **prehumolona** y **posthumolona** que difieren en su estructura en la cadena lateral. Un α -ácido de la resina del lúpulo está compuesto por 15% de adhumolona, 20 - 50% de cohumolona y 20 - 50% de humolona, pudiendo variar las cantidades de cohumolona y humolona en función de la variedad de lúpulo (Tabla1).

Grupo R	α -ácidos	β -ácidos
$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	Humolona	Lupulona
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	Cohumulona	Colupulona
$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	Adhumolona	Adlupulona

Tabla 1. Análogos de α -ácidos y β -ácidos.

Los α -ácidos se encuentran en concentración elevada en mosto y en menor concentración en la cerveza. Esto se debe a que durante la ebullición del mosto en el proceso de fabricación se produce la isomerización térmica de los α -ácidos a iso- α -ácidos (ver Figura 3). La isomerización en ebullición no es muy eficiente: no más de un 50% de los α -ácidos se isomerizan y menos del 25% del potencial de amargor original se mantiene en la cerveza. Estos iso- α -ácidos son más solubles ($pK_a \approx 3$) que los ácidos originales del lúpulo ($pK_a \approx 5,5$) y son intensamente amargos. Además, en función del carácter hidrofóbico tienen una influencia favorable en la estabilidad de la espuma, por ello *trans*-isohumulonas están presentes en la espuma en mayor proporción que *cis*-isohumulonas debido a su menor carácter hidrofóbico.

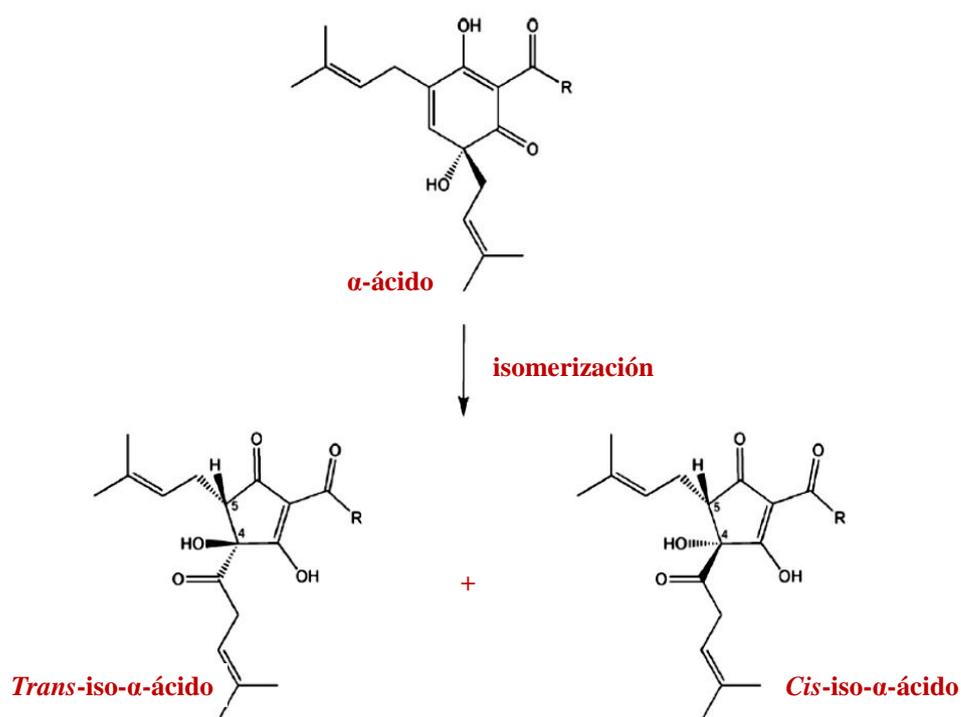


Figura 3. Estructura química de los α -ácidos y su conversión a través de la isomerización a iso- α -ácidos. (Adaptado de Caballero *et al*, 2012)

Cada iso- α -ácido da lugar a dos epímeros que se distinguen en *cis*-iso- α -ácido y *trans*-iso- α -ácido, en función de la disposición espacial del alcohol terciario en C4 y la cadena lateral en C5 como se puede observar en la Figura3. Los *cis/trans*-isohumulona y *cis/trans*-isocohumulona son los productos cuantitativamente predominantes en las cervezas representando el 43 y 39% del contenido total de iso- α -ácidos, seguido por los *cis/trans*-isoadhumolona con un 16,5%. La relación *trans/cis* es de alrededor de 0,4 en

la cerveza de reciente fabricación, pero en el transcurso del tiempo los compuestos *cis* son más estables que los isómeros *trans* afectando a la estabilidad de sabor y aroma.

Las concentraciones de los iso- α -ácidos varían entre 15 y 100 mg L⁻¹, siendo el umbral de detección sensorial alrededor de 5 mg L⁻¹. Aunque aproximadamente el 80% del sabor amargo se debe a los iso- α -ácidos, la mezcla de *cis*- y *trans*- isohumolonas dan un mayor amargor a la cerveza que sólo las *trans*-isohumolonas. Por otra parte, las isohumolonas son más amargas que las isocohumolonas.

2.2.1. Degradación de los iso- α -ácidos.

a) Temperatura.

Muchos estudios revelan que el envejecimiento de la cerveza produce una disminución de los niveles de *trans*-iso- α -ácidos mientras el isómero *cis* permanece estable. Además, la temperatura de almacenamiento también afecta la degradación de los iso- α -ácidos. Así, los *trans*-isómeros decrecen rápidamente cuando la temperatura de almacenamiento es de 40°C, decrecen lentamente a 25°C y no se observan cambios cuando se almacenan a 0°C. Por el contrario, los *cis*-isómeros no varían sustancialmente a 0°C o a 25°C y decrecen ligeramente cuando la cerveza se almacena a 40°C. La proporción de isómeros *cis/trans* es similar para una variedad de cervezas con lúpulos de variedades diferentes; sin embargo, la relación *cis/trans* difiere entre cervezas durante el almacenamiento debido a la disminución del isómero *trans* mientras el isómero *cis* se ve menos afectado. Como se puede observar en la Figura 4, los *trans*-iso- α -ácidos se degradan en productos tri- y tetra-cíclicos, mientras que para los *cis*-iso- α -ácidos no se puede aplicar el mismo mecanismo.

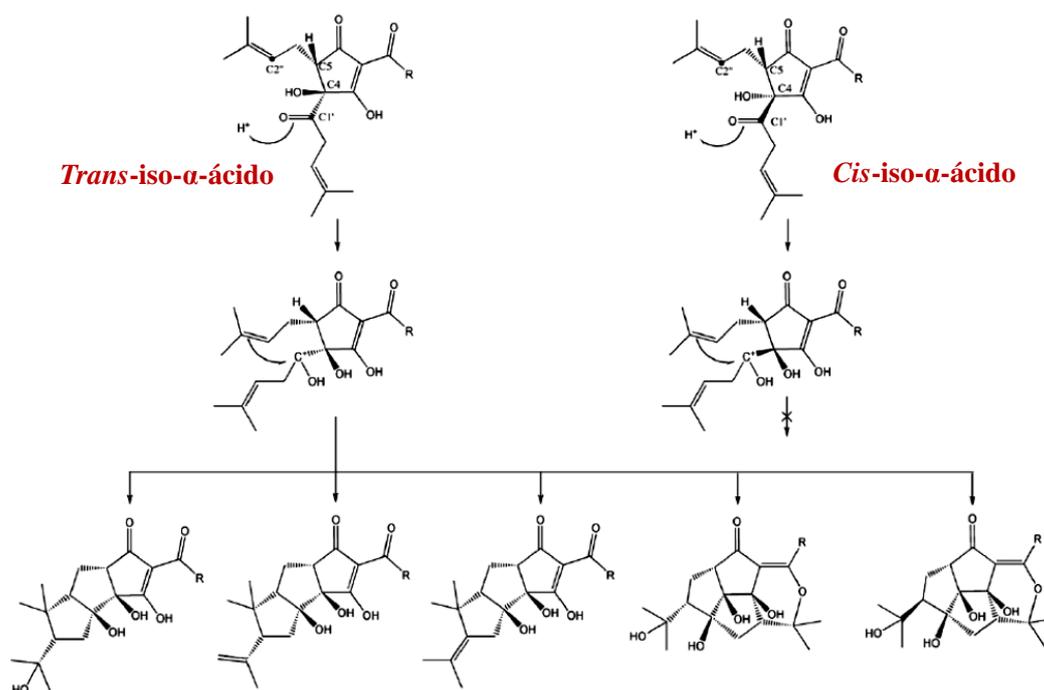


Figura 4. Mecanismo de degradación de los *trans*-iso- α -ácidos. (Adaptado de Caballero *et al.*, 2012)

Los umbrales de amargor de los compuestos de degradación se encuentran en un rango de 1,7 a 25,6 mg L⁻¹ dependiendo de su estructura química. Por ejemplo, mientras las triciclohumolonas y las iso-triciclohumolonas producen un amargor duradero para concentraciones umbral tan bajas como 1,7 y 3,5 mg L⁻¹, respectivamente, el tetraciclohumol tiene una concentración umbral de 25,6 mg L⁻¹.

b) Exposición a la luz

La calidad del sabor también se ve afectada por la exposición a la luz debido a la vulnerabilidad de los iso- α -ácidos. La activación con la luz UV, con la participación de una sustancia fotosensibilizante como la riboflavina (RF), conduce a la formación de un radical cetilo-acilo y recombinación con un radical tiol (procedente de cisteína y homocisteína presentes en la malta) produciendo un compuesto volátil 3-metil-2-buten-1-ol (MBT) como se muestra en la Figura 5. Cuando la cerveza se expone a la luz visible, la riboflavina es excitada pasando desde un estado electrónico de energía singlete a un estado de energía triplete (3RF*), el cual tiene afinidad por los electrones y protones de los iso- α -ácidos, lo que desencadena una serie de reacciones obteniéndose 3-metilbutil-2-enilo, el principal radical precursor de MBT.

La presencia de estos compuestos deja en la cerveza un “sabor a radiación” (*light-struck flavor*), el cual es detectable aunque la degradación de los iso- α -ácidos sea mínima. Esto se debe a que el umbral de sabor de MBT es extremadamente bajo, alrededor de 1 ppm.

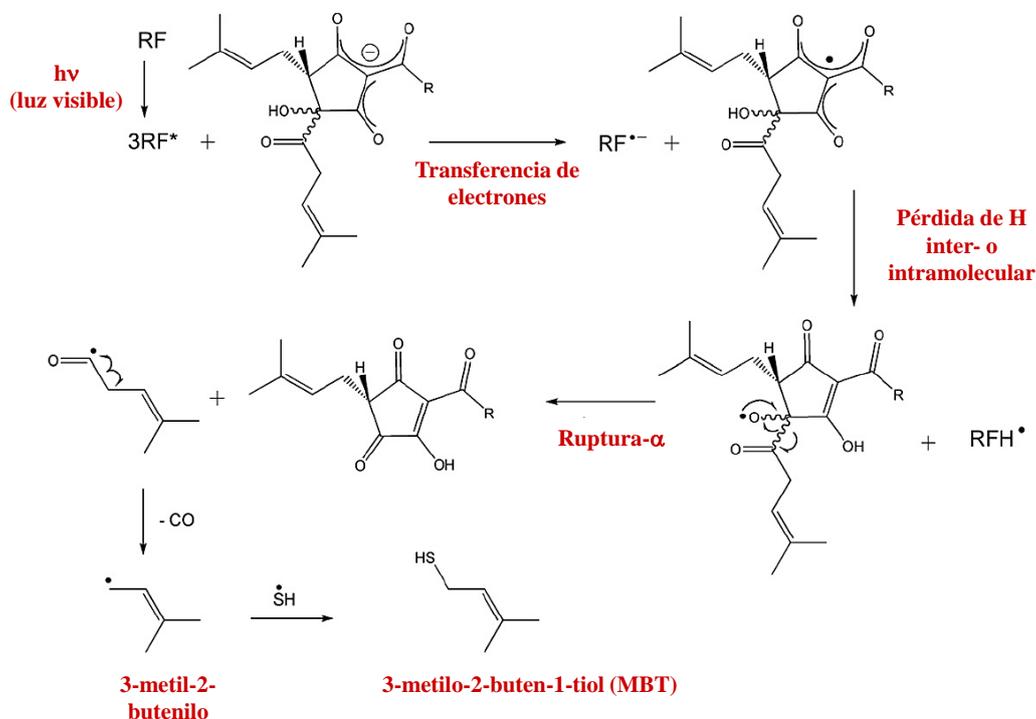


Figura 5. Fotooxidación de isohumulonas mediatizada por la riboflavina (RF). (Adaptado de Caballero *et al.*, 2012)

La riboflavina está presente en la cerveza entre $0,3 - 1,3 \text{ mg L}^{-1}$ y proviene, fundamentalmente, de la malta. Debido a los procesos anteriores, la concentración de riboflavina es un factor importante en la evaluación de la estabilidad del sabor, ya que la concentración de MBT aumenta linealmente con un aumento en la concentración de riboflavina. Cuando la cerveza se mantiene en la oscuridad no se da ninguna degradación de la concentración de riboflavina.

Los compuestos fenólicos se encuentran en la cerveza como ácidos fenólicos, flavonoides, pro-antocianidinas, taninos y compuestos amino-fenólicos. Estos compuestos proporcionan una cierta protección frente la luz, ya que son capaces de desactivar el triplete excitado de riboflavina. Las iso-humulonas también intervienen en la desactivación del triplete excitado de riboflavina, pero con una cinética unas 550 veces menor que los compuestos fenólicos. Algunos flavonoides como (+)-catequina y

(-)-epicatequina provienen de la malta y el lúpulo, y sus niveles de concentración oscilan en los intervalos $0,03 - 4 \text{ mg L}^{-1}$ y $0,02 - 0,73 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente.

Aunque la estabilidad del sabor de la cerveza puede ser mejorada en el proceso de elaboración con el uso de oxidantes naturales o sintéticos tales como flavonoides, sulfitos, ascorbato, la demanda del consumidor y la legislación han conducido a una reducción de uso de aditivos en la elaboración de la cerveza.

Algunos avances tecnológicos permiten ajustar los niveles de amargor en cualquier punto del proceso de elaboración de la cerveza adicionando productos sintéticos de iso- α -ácidos. Los mejores resultados organolépticos se consiguen cuando la adición se produce al final de la ebullición del mosto, cuando participan plenamente en la fermentación y en el almacenamiento. La introducción de iso- α -ácidos antes del envasado requiere de una adición paralela de aceite de lúpulo (1ppm), de manera que estas cervezas son indistinguibles de las tradicionales. Desde el punto de vista de la estabilidad, la adición de isómeros *cis* podría llevar a la elaboración de una cerveza más estable. En la actualidad no todos los estereoisómeros puros están disponibles comercialmente, aunque sí sus mezclas. Así, por ejemplo, los tres tipos reducidos de iso- α -ácidos que se muestran en la Figura 6 (tetrahydro-, dihydro-, y hexahydro-iso- α -ácidos) se comercializan para su utilización en la industria cervecera como sustitutos de los conservantes convencionales o para proporcionar el amargor y estabilidad deseada en la cerveza. La escala de menor a mayor amargor aportado por estos compuestos es: dihydro-iso- α -ácidos < iso- α -ácidos < hexahydro-iso- α -ácidos < tetrahydro-iso- α -ácidos. En la industria cervecera está aumentando el uso de isohumulonas reducidas, principalmente dihydro y tetrahydro, ya que estos derivados son más solubles en la cerveza y tienen una mayor resistencia a la descomposición.

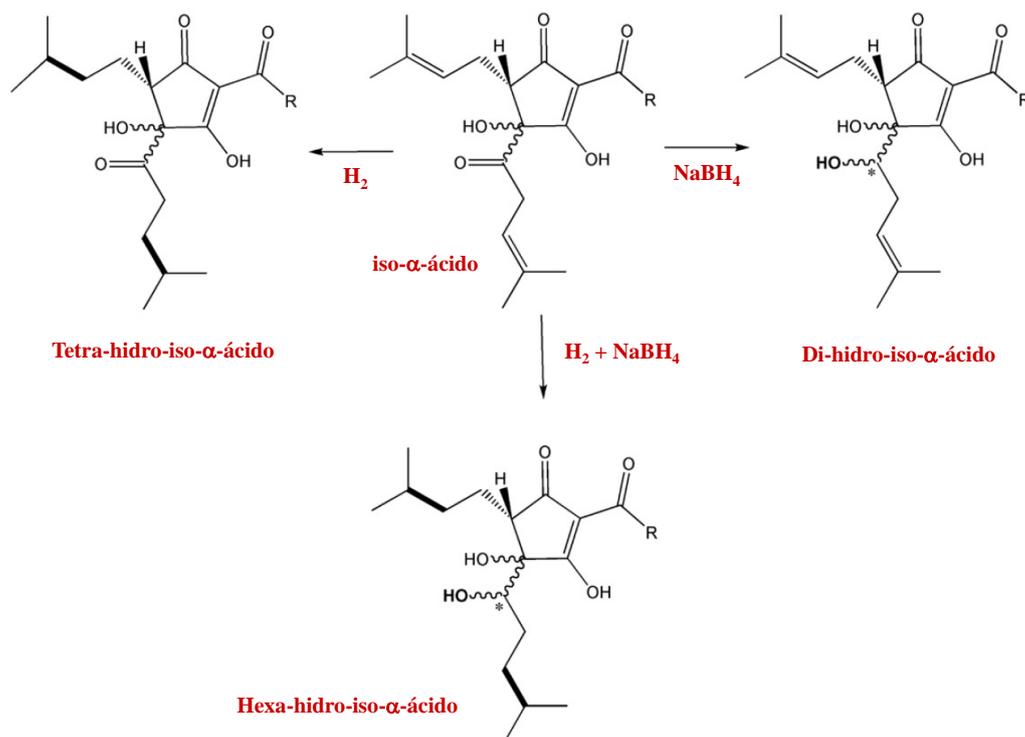


Figura 6. Producción de isohumulonas reducidas. (Adaptado de Caballero *et al.*, 2012).

Hay algunas acciones que se pueden llevar a cabo para minimizar los cambios sensoriales durante el almacenamiento como: a) evitar el enranciamiento oxidativo limitando la presencia de oxígeno o de especies reactivas de oxígeno mediante buenas prácticas de fabricación, b) evitando la exposición a la luz mediante el almacenamiento en recipientes opacos, c) adición de compuestos fenólicos que retardan los procesos de oxidación, d) la estabilización del amargor mediante la reducción de los productos isomerizados del lúpulo y e) adición de proteínas de unión de flavina para evitar la degradación de iso- α -ácidos y el sabor desagradable (Caballero *et al.*, 2012).

2.3. ENVEJECIMIENTO DE LAS CERVEZAS: MÉTODOS ANALÍTICOS DE EVALUACIÓN

Como hemos visto, durante el almacenamiento, la calidad de la cerveza disminuye gradualmente y se producen sabores desagradables, formación de turbidez e incluso, pardeamiento. En la Figura 7 se muestran algunos cambios sensoriales observados en la cerveza en función del tiempo.

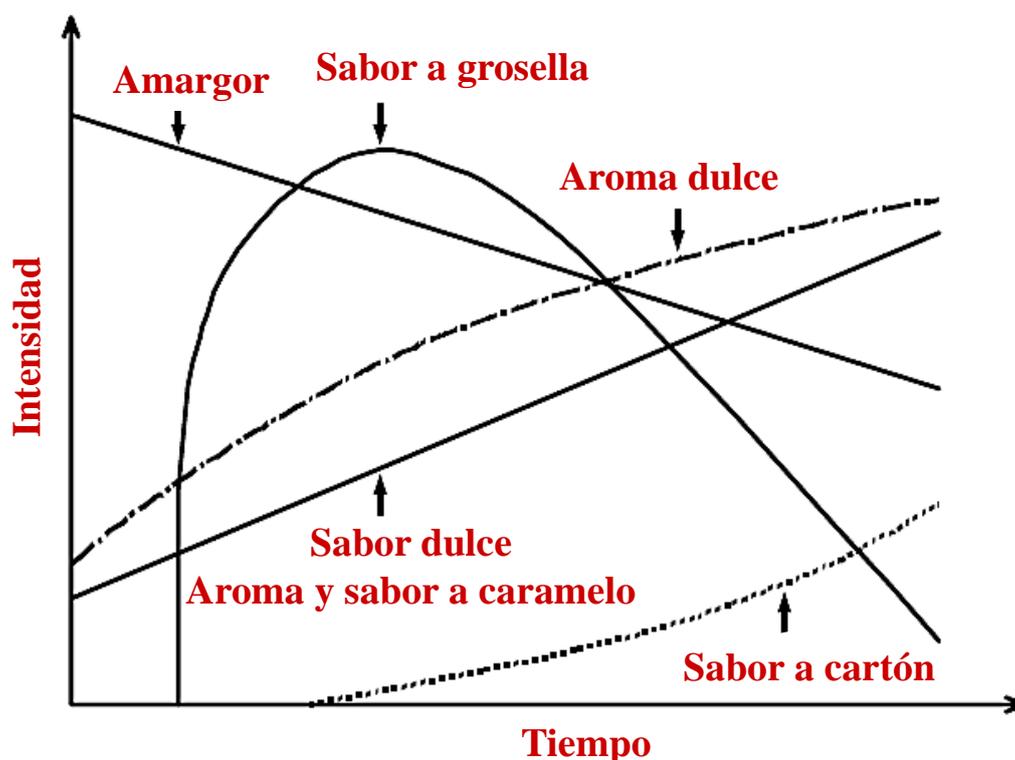


Figura 7. Cambios sensoriales en la cerveza con el envejecimiento. (Adaptado de Dalglish, 1977)

Los mecanismos de envejecimiento de la cerveza no han sido del todo dilucidados, pero existe el consenso de que son reacciones de oxidación las responsables primarias en el proceso. Además, se sabe que el desarrollo de ciertos compuestos de carbonilo juega un papel esencial en la pérdida de estabilidad del sabor.

Los polifenoles (antioxidantes naturales) pueden polimerizar taninos, los cuales son capaces de reaccionar con proteínas que forman compuestos insolubles conocidos

como neblina. También son componentes antioxidantes de la cerveza los productos de reacción Maillard o intermedios, azúcares reductores y vitaminas. Por tanto, la estabilidad coloidal y la vida útil de la cerveza se ven en gran medida afectada por la presencia de polifenoles y de los productos de reacción Maillard (MRPs). Durante la elaboración de la cerveza y el almacenamiento los antioxidantes de origen natural pueden perderse, mientras se forman los productos de reacción Maillard.

a) MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS.

La espectroscopia de absorción molecular se basa en la medida de la transmitancia T (definida como la relación de intensidades lumínicas del haz que atraviesa una muestra entre la del mismo haz en ausencia de muestra) o de la absorbancia A (definida como menos el logaritmo decimal de la transmitancia) de disoluciones que se encuentran en cubetas transparentes que tienen un paso óptico de b cm. La concentración de un analito absorbente está relacionada linealmente con la absorbancia como se presenta en la ecuación:

$$A = -\log T = \log P_0/P = \epsilon bc$$

Representación matemática de la Ley de Beer.

Los métodos espectrofotométricos para la determinación de varias propiedades en la cerveza, como es el amargor y el color, se comenzaron a utilizar a mediados del siglo pasado.

Amargor. Uno de los primeros métodos fue desarrollado por Rigby y Bethune (Rigby y Bethune, 1955) y consistía en la separación por extracción líquido-líquido, en pasos sucesivos, de los iso- α -ácidos y su determinación espectrofotométrica. El fundamento del análisis reside en que los iso- α -ácidos son más solubles en el disolvente orgánico que en el medio acuoso. No obstante, los autores indicaban que el método daba errores por exceso (alrededor de un 30%) cuando se comparaba con una extracción en contracorriente para las mismas cervezas, debido a la presencia de “sustancias interferentes” que también eran extraídas en el proceso.

Otro método, propuesto por el equipo de A.B. Moltke y M. Meilgaard en la misma fecha, empleaba un protocolo de extracción más sencillo para aislar los compuestos que

eran químicamente semejantes a los iso- α -ácidos. El extracto orgánico se medía espectrofotométricamente a 275 nm. Los datos obtenidos se analizaron y se desarrolló una ecuación por regresión lineal para el amargor percibido en función de las medidas espectrofotométricas realizadas. En los 10 años siguientes, el European Brewing Congress (EBC) y la American Society of Brewing Chemists (ASBC) trabajaron sobre este método para desarrollar finalmente, en 1968, la ecuación que aún hoy se sigue utilizando para la determinación del amargor:

$$\text{IBU} = 50 \times \text{Abs}_{275 \text{ nm}}$$

En la que $\text{Abs}_{275 \text{ nm}}$ es la absorbancia del extracto a 275 nm. El coeficiente 50 (redondeado del valor correcto 51,2) relaciona la pendiente de la correlación y la relación de disolvente utilizado.

El método de la ASBC (Methods of Analysis, method Beer 10-C) y el de la EBC (Analytica method 9.8) siguen el mismo protocolo: un volumen de cerveza se acidula con HCl y se agita durante 15 minutos con un volumen doble de 2,2,4-trimetilpentano (iso-octano). La agitación es deseable que sea mecánica para asegurar la reproducibilidad. Se separa el extracto orgánico y se mide espectrofotométricamente a 275 nm, longitud de onda a la cual absorben varias especies que dan amargor a la cerveza. La adición de HCl asegura la protonación de los compuestos ácidos lo que aumenta su hidrofobicidad y favorece su extracción al disolvente orgánico.

En este método no se miden únicamente iso- α -ácidos. De hecho, la adición de 1 ppm de iso- α -ácidos a una muestra, sólo incrementa el valor del IBU en 0,7 unidades. Se ha podido comprobar que además de los iso- α -ácidos, en este ensayo se miden también varios productos de oxidación de los β -ácidos (lupulonas). Estas lupulonas se encuentran junto con los α -ácidos en las glándulas lupulínicas de los conos del lúpulo y, aunque tienen una importancia secundaria en la industria cervecera, influyen en el sabor de la cerveza, particularmente cuando se degradan.

Los productos de degradación de las lupulonas tienden a aumentar el valor del IBU, mientras que la degradación de los iso- α -ácidos actúa en la dirección opuesta,

dando lugar a una pérdida del IBU medido. No obstante, este hecho no afecta la exactitud del método ya que los productos de degradación de los β -ácidos (y de los α -ácidos) no son muy amargos.

La cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), es una técnica que también se utiliza para separar y determinar los α -ácidos del lúpulo, aunque puede llevar a errores del 10% y es poco adecuada para su uso rutinario en producción (Tomlinson *et al.*, 1995).

Color. Son varios los compuestos responsables del color en las cervezas: melanoidinas, productos de caramelización y pirólisis, polifenoles oxidados, riboflavina, carotenoides, antocianinas, clorofilas y sus productos de oxidación así como también catalizadores de la oxidación como son los iones metálicos. De ellos, la fuente primaria de color son las melanoidinas. Estos compuestos poseen un espectro de color que va desde el amarillo al ámbar. Se generan por reacciones de pardeamiento no enzimático (reacciones de Maillard) durante el tratamiento térmico del malteado, la cocción, etc.

El color de las cervezas se evalúa de acuerdo a dos escalas: la SRM (Standard Reference Method) utilizada principalmente en Estados Unidos y la EBC (European Brewing Convention) en el resto del mundo. Ambas se basan en medidas espectrofotométricas, midiendo la absorbancia de la muestra de cerveza a 430 nm (frente a un blanco que contiene agua destilada). Las dos escalas difieren fundamentalmente en la longitud del paso de luz: la SRM utiliza un paso de luz de 12,7 mm mientras que en la EBC se emplea un paso de luz de 1 cm.

La absorbancia SRM se multiplica por 10 para obtener el valor SRM (algunas veces se expresa como grados Lovibond, °L), mientras que la absorbancia EBC se multiplica por 25 para obtener el valor EBC. Ya que en ambos métodos se mide a 430 nm, es posible hacer una conversión de valores simplemente teniendo en cuenta las diferencias de paso de luz. Así, en la práctica, el color EBC es aproximadamente 1,97 veces el color SRM ($EBC = 1,97 \times SRM$ o bien $SRM = EBC/1,97$) (Lovibond, 2008).

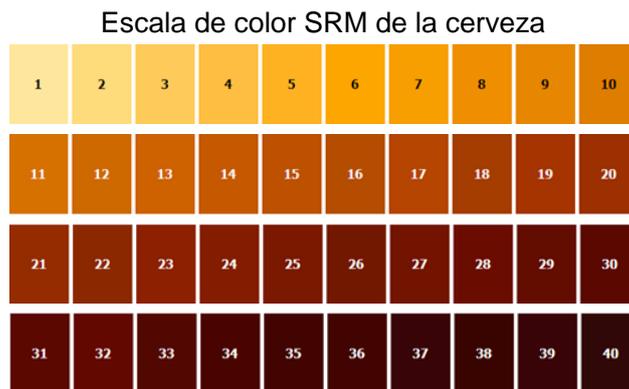


Figura 8. Escala de color SRM.

En la Figura 9 se muestra la relación entre los valores SRM, la absorbancia y la transmitancia.

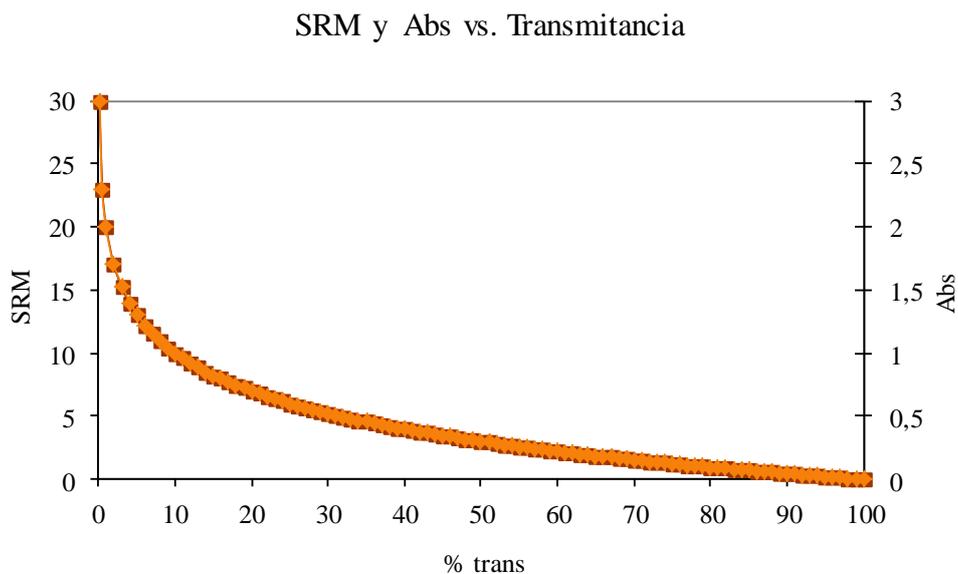


Figura 9. Relación entre valores SRM, absorbancia y transmitancia.

b) MÉTODOS ESPECTROFLUORIMÉTRICOS.

La espectrofluorimetría es una técnica analítica no destructiva, altamente sensible y selectiva, que aporta información sobre la presencia de moléculas con fluorescencia nativa en prácticamente todo tipo de muestras biológicas. En el campo de los alimentos es particularmente interesante para la determinación de amino ácidos aromáticos, vitaminas, cofactores y una gran variedad de aditivos aromatizantes y saborizantes. En

Apperson *et al.*, 2002 se estudiaron la fluorescencia nativa en muestras de cerveza, tanto diluídas como no diluídas, observando que las no-diluídas presentaban menor fluorescencia debido a un efecto de filtro interno (desviación de la ley de Lambert-Beer a concentraciones elevadas).

La fluorescencia nativa de las cervezas proviene de polifenoles complejos, proteínas e iso- α -ácidos. Así, la idea de utilizar la fluorescencia de los iso- α -ácidos como método para determinar el amargor en cervezas se reportó en 1995 en una patente, (Takhar *et al.*, 1995) en la que se empleó un algoritmo quimiométrico para diferenciar la fluorescencia procedente de los iso- α -ácidos de la fluorescencia del resto de la matriz. En esta patente no se mencionaba la necesidad de diluir, lo que suponía una mayor rapidez del método, pero tampoco se daban las características analíticas del método (sensibilidad, selectividad, reproducibilidad, etc). En la Tabla 2, se muestra una selección de fluoróforos comunes en muestras de alimentos y sus características espectrales (www.models.kvl.dk). Algunos de estos compuestos han sido identificados como responsables de la fluorescencia nativa de la cerveza: amino ácidos aromáticos, NADH, riboflavina y vitamina B₆ (Sikorska *et al.*, 2004).

Fluoróforo	Longitud de onda de excitación, λ_{exc} , nm	Longitud de onda de emisión, λ_{em} , nm
Fenil-alanina	258	284
Tirosina	276	302
Triptófano	280	357
Vitamina A (retinol)	346	480
Vitamina B ₂ (riboflavina)	270 (382, 448)	518
Vitamina B ₆ (piridoxina)	328	393
Vitamina E (α -tocoferol)	298	326
NADH	344	465
ATP	292	388
Clorofila a	428	663
Hematoporfirina	396	614

Tabla 2. Fluoróforos responsables de la fluorescencia nativa en alimentos.

Un método alternativo para la determinación del amargor es el empleo de la fluorescencia retardada inducida por iones europio (Tomlinson *et al.*, 1995). Esta técnica requiere la preparación de la muestra, adicionando el Eu³⁺, con objeto de discriminar la fluorescencia de fondo empleando un tiempo de demora en la medida (la fluorescencia se mide transcurrido un tiempo prefijado). Este método es mucho más

rápido que el tradicional método espectrofotométrico que utiliza una extracción líquido-líquido, por lo que es de interés en la industria cervecera.

El fundamento del método reside en la afinidad del ión Eu^{3+} por compuestos con estructuras α - o β -tricarbonilo (p.e. iso-humulona, iso- α -ácidos), formando un quelato, tal y como se muestra en la Figura 10 (Tomlinson *et al.*, 1995), en la que el Eu^{3+} se enlaza a tres moléculas de iso-humulona.

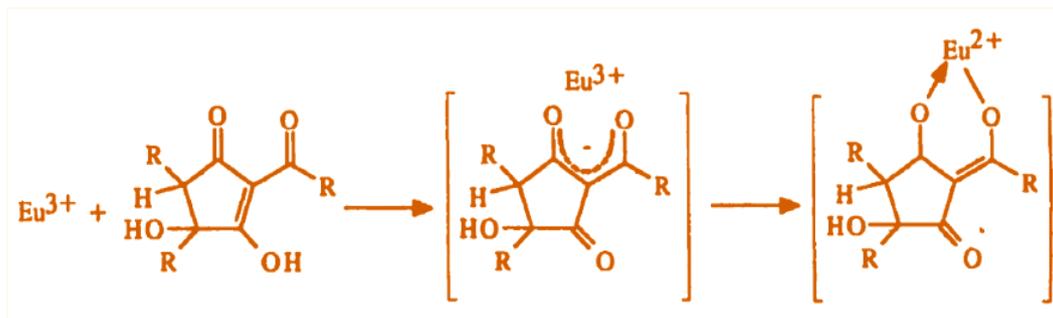


Figura 10. Mecanismo probable de formación del quelato Eu^{3+} -iso-humulona.

Los ligandos absorben radiación a una longitud de onda característica y la radiación emitida por los mismos se transfiere al metal excitándolo. El metal regresa entonces al estado fundamental emitiendo fluorescencia retardada (ver Figura 11).

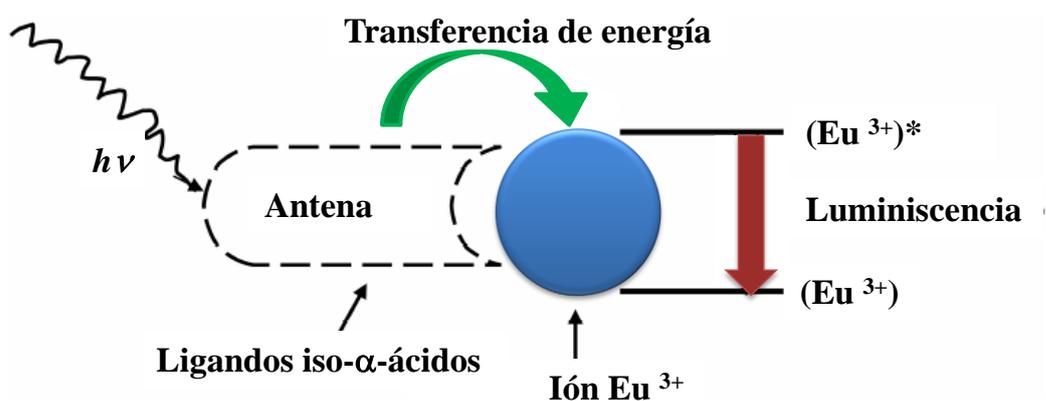


Figura 11. Principio de emisión de fluorescencia retardada en complejos Eu^{3+} -iso- α -ácidos. (Adaptado de Christensen *et al.*, 2005)

De acuerdo a algunos autores (Insińska-Rak *et al.*, 2007) la espectroscopia de fluorescencia sincrónica es un método útil en el control de la calidad de las cervezas. En esta técnica se registran los espectros sincrónicos barriendo simultáneamente las longitudes de onda de excitación y de emisión en el intervalo de 240-700 nm, con una

diferencia fija entre ambas ($\Delta\lambda = 10 - 100$ nm). Normalmente se registra una matriz de espectros 3D, que incluye todos los espectros realizados. La información obtenida permite seleccionar las longitudes de onda de excitación y de emisión más adecuadas para observar las diferencias más significativas en estudios de estabilidad de las cervezas con el tiempo.

Además, empleado la matriz completa de datos se puede optimizar la sensibilidad para cada componente particular dentro de una mezcla, eligiendo el valor más adecuado de $\Delta\lambda$ (Sikorska, 2006; Sikorska *et al.*, 2006). En la Figura 12, se muestran espectros de fluorescencia sincrónica de una cerveza Lager a diferentes valores de $\Delta\lambda$. Se puede comprobar cómo a medida que el valor de $\Delta\lambda$ disminuye van apareciendo nuevos picos fluorescentes, correspondientes a las especies que contribuyen a la fluorescencia total de la muestra.

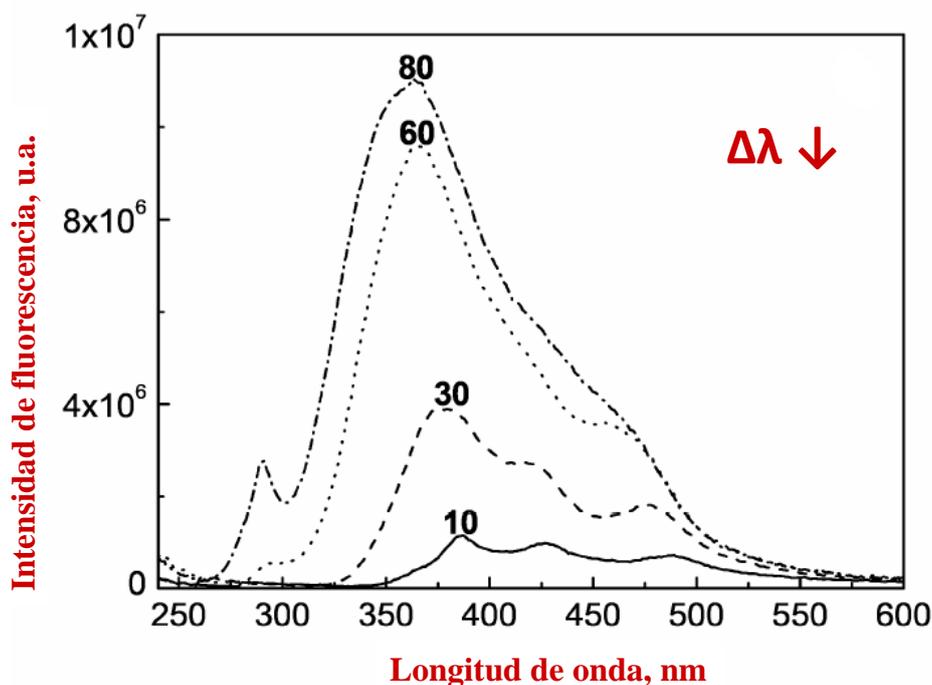


Figura 12. Espectros de fluorescencia sincrónica de una cerveza lager sin diluir. (Adaptado de Sikorska *et al.*, 2004)

c) Otros métodos: RMN y FTIR

La resonancia magnética nuclear es una técnica de análisis no invasiva que permite la caracterización rápida de alimentos, proporcionando información sobre una amplia variedad de compuestos. En la industria cervecera se ha utilizado en la resolución de problemas específicos como la identificación y cuantificación de los componentes del lúpulo y de la malta como son polifenoles, humolonas o isohumolonas. La hibridación con otras técnicas como HPLC o MS se ha utilizado para la identificación de oligosacáridos y compuestos aromáticos. Recientemente se ha demostrado que es posible realizar medidas rápidas y directas de la composición química de las cervezas por RMN sin necesidad de eliminar el gas ni pre-tratar la muestra (Duarte *et al.*, 2002). La obtención de espectros RMN mono- y bi-dimensionales de muestras de cerveza ha permitido identificar aproximadamente 30 compuestos, desde ácidos orgánicos, amino ácidos y alcoholes hasta compuestos de elevado peso molecular como lípidos y polifenoles. A pesar de las ventajas que ofrece esta técnica, no es posible dilucidar todos los espectros obtenidos y asignar los picos a compuestos particulares debido a importantes problemas de solapamiento espectral. Es por ello por lo que en esta técnica se emplean algoritmos matemáticos y quimiométricos en la dilucidación de espectros. (Duarte, 2002).

En la Figura 13 se puede observar que las cuatro cervezas presentan un espectro de ^1H -RMN complejo pero que presentan diferencias en su composición de carbohidratos. Dada la complejidad espectral y el número elevado de muestras que normalmente hay que procesar, este tipo de espectros se analizan empleando algoritmos quimiométricos (Duarte *et al.*, 2004).

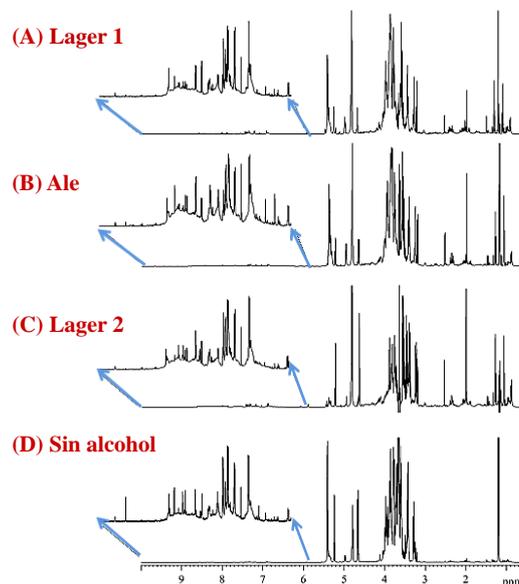


Figura 13. Espectros ^1H -RMN de cuatro muestras de cerveza. (Adaptado de Duarte, 2004)

Comparada con la RMN, la espectroscopía de absorción de infrarrojos con transformada de Fourier (FTIR), resulta una técnica más económica, sencilla y más rápida para obtener información sobre la composición y calidad de la cerveza. Además, las prestaciones analíticas pueden mejorarse si se combina, como en el caso anterior, con tratamientos quimiométricos. Los espectros FTIR de la cerveza permiten determinar las contribuciones de los hidratos de carbono (maltosa y malto-oligosacáridos muestran bandas superpuestas desde 998 a 1155 cm^{-1}) y el etanol (absorbe fuertemente a 879 , 1045 y 1085 cm^{-1}), tal y como se puede apreciar en la Figura 14 para cuatro cervezas diferentes.

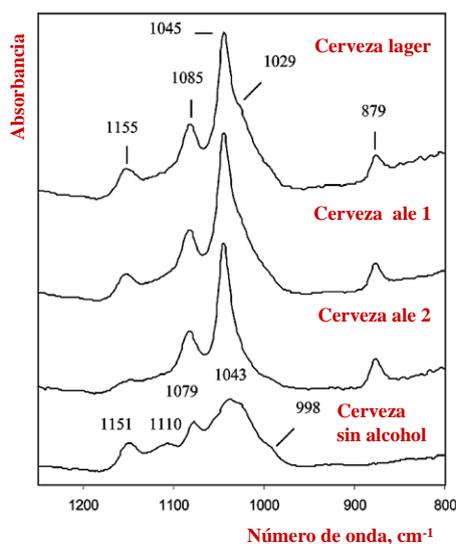


Figura 14. Espectros FTIR-ATR de cuatro cervezas diferentes. (Adaptado de Duarte, 2004)

3. METODOLOGÍA UTILIZADA

3.1 Reactivos y disoluciones

- Agua destilada Elix.
- Agua destilada Milli-Q.
- Europium(III)chloride hexahydrate 99.99% Sigma-Aldrich.
- HCl 37% AnalaR Normapur.
- 2,2,4-Trimethylpentane Sigma-Aldrich.

3.2. Instrumentación analítica

- Balanza Analítica Mettler AE 163.
- Centrífuga Heraeus Labofuge 200 Thermo Electron Corporation.
- Espectrofotómetro de luminiscencia LS50B Perkin Elmer equipado con una lámpara de xenón pulsada (anchura de pulso a la mitad de altura de pico: <10 μ s)
- Espectrofotómetro visible – ultravioleta – infrarrojo cercano Perkin Elmer Lambda 900. Celdillas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.
- Fluorímetro Varian Cary Eclipse. Celdillas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.
- pH metro: Crison microPH 2002.

3.3. Utillaje de laboratorio

- Baño de agua termostatzado Sciencie Basic Solutions TBA-23.
- Baño de ultrasonidos: Selecta Ultrasons MEDI-II.
- Celda de cuarzo para medidas fluorimétricas.
- Erlenmeyer: 100-250 mL.
- Estufa. Function line. Heraeus.
- Frascos ámbar: 30-250 mL.
- Matraces aforados: 5-10-25-100 mL.
- Matraces esmerilados de 100 mL.
- Micropipetas LABMATE+: 100-1000 μ L.
- Perlas de vidrio.

- Pinzas metálicas.
- Pipeta aforada clase A 10 mL.
- Pipeta pasteur.
- Placa calefactora: Heidolph MR-Hei Tec.
- Probetas: 10-25 mL.
- Puntas de micropipeta PIPET TIPS AXIGEN 1-1000 µL BLUE.
- Tubos de ensayo de 10 mL.
- Tubos eppendorf de 2 mL.
- Vaso de precipitados: 10-100-250-500 mL.

3.4. Técnicas de caracterización

A continuación se describen los procedimientos operatorios empleados en la determinación del amargor en diferentes tipos de cervezas. Se seleccionaron 16 tipos diferentes (Tabla 3): 8 tipo lager (7 marcas diferentes), 5 tipo ale (5 marcas diferentes) y 3 de trigo (3 marcas diferentes).

A L E	Porterhouse Celebration Stout	Cerveza irlandesa de tipo Imperial Stout con un 7% de alcohol. Actualmente se elabora una vez al año y solamente se vende en botella. Se emplean en su producción 5 tipos de malta, cebada cruda y lúpulos de diferentes países (República Checa, Alemania, Estados Unidos y Nueva Zelanda).
	Brewdog Punk IPA	Cerveza Pale Ale inglesa con 6% de alcohol, elaborada con una variedad de lúpulos (<i>Chinook, Simcoe, Ahtanum, Nelson Sauvin</i>), y malta <i>Marris Otter</i> .
	Guinness	Cerveza irlandesa de tipo Stout con 5% de alcohol. Para su elaboración se utiliza cebada malteada, cebada tostada, lúpulo y agua procedente de las Montañas Wicklow.
	Orval	Cerveza belga de tipo Trapense. Contiene 6,2% de alcohol. Su elaboración consta de cebada malteada, lúpulo aromático y azúcar candeal blanco. Se añade el lúpulo <i>Goldings de Styria</i> durante la segunda fermentación.
	Caleya	Cerveza Artesanal Asturiana (Parque Natural de Redes).

		Contiene 4,5% de alcohol. Se trata de una Pale Ale elaborada con lúpulos cítricos americanos (<i>Cascade</i> y <i>Nugget</i>).
L A G E R	Samuel Adams Boston Lager	Cerveza americana con 4,9% de alcohol, elaborada con <i>Malta Palida</i> y <i>Caramelo 60</i> ; y dos variedades de lúpulos <i>Hallertauer Mittelfrueh</i> y <i>Tettnang Tettnanger</i> .
	Selecta XV (Mahou-San Miguel)	Cerveza con un contenido de 6,2% de alcohol. Consta de tres variedades de lúpulos centroeuropeos, tres tipos diferentes de malta (malta Pilsen, selecta y oscura) y maduración en bodega.
	Estrella Galicia	Contiene 5,5% de alcohol. Se elabora con un mosto cervecero de aproximadamente 73% de malta de cebada, un 26% de maíz y un 1% de lúpulo.
	1906 Reserva Especial	Contiene 6,5% de alcohol. Se elabora a partir de maltas de cebada tostadas, lúpulos (<i>Perle Hallertau</i> y <i>Nugget</i>), levadura, maíz y agua.
	Budějovický Budvar	Cerveza checa con 5% de alcohol. Es conocida en Europa como <i>Budweiser Budvar</i> y en Estados Unidos como <i>Budweiser Czechvár</i> . Su elaboración se trata del método <i>Plzeň</i> (Pilsen, en alemán), a base de lúpulo <i>Saaz</i> .
	A.K. Damm	Cerveza con 4,8% de alcohol. Cerveza de estilo Alsaciano, con virtudes del carácter de las cervezas alemanas y el refinamiento de las cervezas francesas.
	Heineken	Cerveza Pale Lager neerlandesa con 5% de alcohol. En su producción se utilizada una malta Pilsen de cebada.
	Clausthaler Classic Premium	Cerveza sin alcohol. Elaborada de acuerdo con la ley de pureza alemana (malta, lúpulo y agua).
T R I G	Weihenstephan Vitus	Cerveza alemana con un contenido de 7,7% de alcohol. Se trata de una <i>Weizenbock</i> (<i>bock</i> de trigo). El tipo de lúpulo que emplean es <i>East Kent Golding</i> y está elaborada según la ley de la pureza de 1516 con solamente malta, lúpulo y agua.
	Paulaner Hefe-Weissbier Naturtrüb	Tiene sus raíces en la <i>Orden de los Mínimos</i> , una orden religiosa fundada por San Francisco de Paula en Neuhauser Straße, Múnich en el S. XVI. Contiene 5,5% de alcohol, 60%

O		de trigo malteado, 40% de malta de cebada y el tipo de lúpulo que utilizan es el <i>Hallertau</i> .
	St. Bernardus Witbier	Cerveza belga con un contenido de 5,5% alcohol. La palabra wit o blanches significa blanco, que es el color predominante de esta cerveza. Se le añade azúcar y levadura para producir una segunda fermentación en botella.

Tabla 3. Cervezas utilizadas en este proyecto.

a) PROCEDIMIENTO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE AMARGOR

De cada una de las muestras de cerveza se tomaron 10 mL, se depositaron en un tubo de centrífuga y se sometieron a un centrifugado previo para eliminar partículas en suspensión (3.000 revoluciones/min durante quince minutos). A continuación se trasvasó el sobrenadante a un vaso de precipitados y se procedió a la eliminación dióxido de carbono mediante movimiento suave a fin de no generar/derramar espuma. Tras este tratamiento previo de cada una de las muestras, se mantuvieron a 20°C y se tomaron 5 mL de cada una de ellas y se depositaron en matraces Erlenmeyer. A continuación se adicionaron 5 mL de agua destilada Milli-Q, 0,5 mL de ácido clorhídrico 6N, 20 mL de 2,2,4-trimetilpentano (iso-octano). Finalmente, se introdujeron tres perlas de vidrio, se tapó el Erlenmeyer con parafilm y se agitó mecánicamente durante quince minutos dentro de un baño de agua mantenido a 20°C. Tras el periodo de agitación, las muestras se centrifugaron a 3.000 rpm durante 15 min para separar las fases acuosa y orgánica. Se separa la capa superior y se realiza la determinación espectrofotométrica en la misma. Se registraron los espectros de absorción en el intervalo de 250-450 nm en celda de cuarzo de 1 cm de paso óptico. Asimismo, se registraron las absorbancias a 275 nm utilizando un blanco de iso-octano. Todas las mediciones se realizaron por triplicado, como mínimo, para cada cerveza.

En la Figura 15 se muestra el equipo utilizado (Unidad de Espectroscopía, Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Oviedo).



Figura 15. Espectrofotómetro visible – ultravioleta – infrarrojo cercano Perkin Elmer Lambda 900.

Con los datos obtenidos, se calcula el IBU para cada muestra de cerveza, de acuerdo con la fórmula (ASBC Methods of Analysis, 2013):

$$BU = \text{Absorbancia}_{275 \text{ nm}} \times 50$$

b) FLUORESCENCIA SINCRÓNICA:

CARACTERÍSTICAS ESPECTRALES DE LAS CERVEZAS

Antes de proceder a las medidas de fluorescencia, todas las muestras se desgasificaron tomando un volumen de 30 - 50 mL y sometiéndolo a un baño de ultrasonidos durante 1h. Por otra parte, debido a la concentración elevada de compuestos fluorescentes, fue preciso diluir las muestras de cerveza, una vez desgasificadas, al 3% empleando para ello agua destilada Milli-Q. Se registraron los espectros de fluorescencia sincrónica con las cervezas diluídas y sin diluir en el intervalo 250 - 700 nm, empleando rendijas de 10 nm y 5 nm en los monocromadores de excitación y emisión, respectivamente. Se emplearon intervalos constantes de $\Delta\lambda = 10, 30$ y 60 nm. Tras el análisis de los espectros obtenidos se seleccionaron las longitudes de onda de excitación y emisión más adecuadas para cada muestra. Todas las

mediciones se realizaron por triplicado. Las medidas se llevaron a cabo utilizando un espectrofluorímetro Varian Cary Eclipse (Figura 16).

c) FLUORESCENCIA SINCRÓNICA DE LAS CERVEZAS EN PRESENCIA DE IONES Eu^{3+}

Como anteriormente, antes de proceder a las medidas de fluorescencia sincrónica, cada una de las muestras de cerveza se desgasificó y diluyó al 3% con agua Milli-Q. En matraces de 10 mL se adicionaron: 0,3 mL de la muestra diluida, 5 mL de una disolución de 200 ppm de Europio ($\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) y se llevó a un volumen final de 10 mL con agua Milli-Q. Se procedió a realizar las medidas de fluorescencia sincrónica en las mismas condiciones que se detallaron anteriormente. Las medidas se llevaron a cabo utilizando un espectrofluorímetro Varian Cary Eclipse (Figura 16).



Figura 16. Espectrofluorímetro Varian Cary Eclipse.

d) FLUORESCENCIA RETARDADA EN PRESENCIA DE IONES Eu^{3+}

Para llevar a cabo este estudio se prepararon las muestras como se describe en el apartado anterior. Cada muestra se midió a diferentes tiempos de demora (desde 0,01 hasta 0,09 ms, de unidad en unidad) y un tiempo de integración de 2 ms. Se utilizó una longitud de onda de excitación de 390 nm y se registraron los espectros correspondientes en el intervalo de 455 a 750 nm. Las rendijas de excitación y emisión se fijaron en 15 y 20 nm, respectivamente. Las medidas se llevaron a cabo utilizando un

espectrofluorímetro Perkin-Elmer Lambda 50 (Figura 17). Una descripción del proceso instrumental para la medida de fluorescencia retardada se describe en el Apéndice 4.



Figura 17. Espectrofluorímetro Perkin-Elmer LS50B.

e) REALIZACIÓN DE CATA A CIEGAS

Con el objetivo de contrastar los resultados obtenidos se realizó una degustación, que consistió en realizar una cata a ciegas de cinco cervezas (de las dieciséis que fueron utilizadas para este proyecto) a diez individuos (cinco hombres y cinco mujeres). En este caso, la selección de cervezas para este proyecto (Ale, Lager, de trigo y sin alcohol), se realizó con el objetivo de que los participantes puntuasen el aspecto, color, amargor y sabor. En resultados veremos si la degustación de los participantes se corresponde con los resultados obtenidos. Se muestra el cuestionario en blanco en el Apéndice 5.

4. RESULTADOS EXPERIMENTALES

4.1. Características espectrales: espectros de absorción Vis-UV

Como paso previo a la determinación del amargor, se procedió a realizar los espectros de absorción Vis-UV de las diferentes muestras de cerveza. En las Figuras 18, 19 y 20 se muestran los espectros de absorción de cinco cervezas Ale, ocho Lager y tres de trigo. El máximo de absorción para las Ale y las Lager aparece a 275 nm, longitud de onda utilizada para la determinación del amargor. Se puede comprobar que para las cervezas de trigo, el máximo de absorbancia aparece a longitudes más cortas: 266 nm. También se puede observar que estas cervezas son las que menos absorbancia presentan en el intervalo de longitudes de onda estudiado.

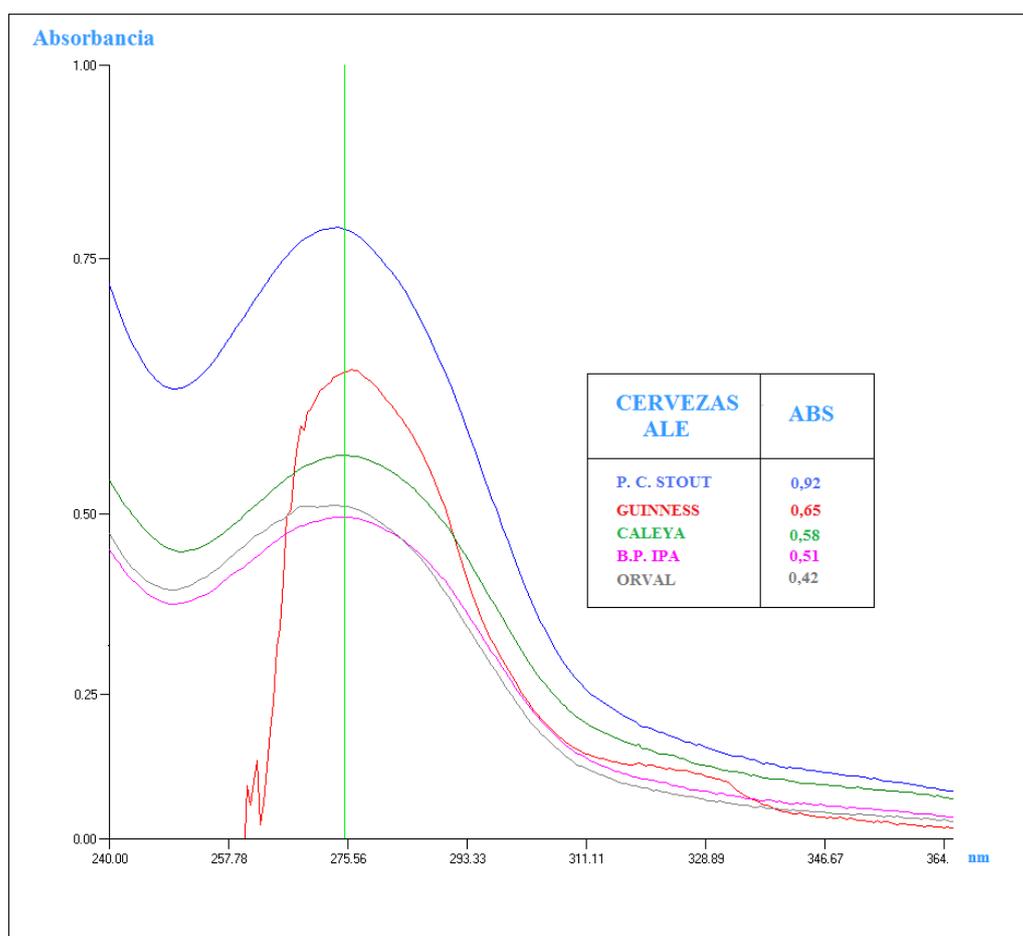


Figura 18. Espectro de Absorción de cervezas Ale.

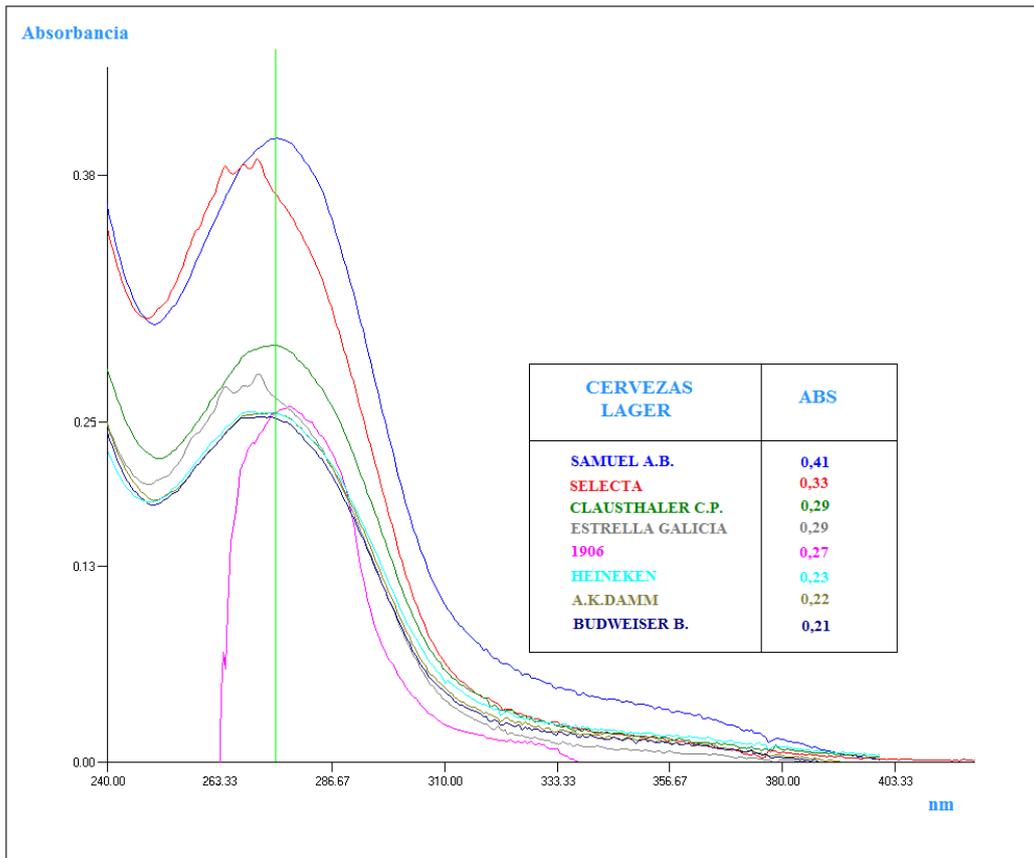


Figura 19. Espectros de Absorción de cervezas Lager.

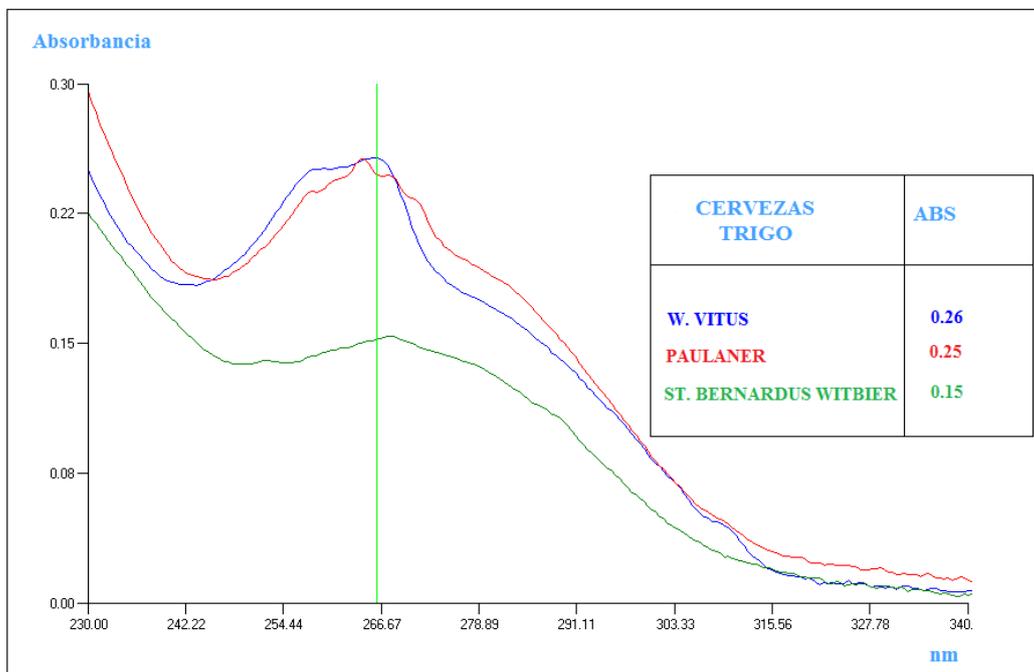


Figura 20. Espectros de Absorción de cervezas de trigo.

4.2. Amargor de la cerveza

El análisis de amargor ha sido realizado a dieciséis cervezas según su proceso de elaboración: Ale, Lager y cerveza de trigo.

Los resultados obtenidos siguiendo el procedimiento descrito para el cálculo del IBU, se muestran en la Figura 2121. Aunque las cervezas de trigo presentan su máximo de absorción a 263 nm, las medidas de absorción se realizaron a la longitud de onda que indica la norma (275 nm) con objeto de tener datos comparativos entre todas las cervezas. Estos datos revelan que las cervezas Ale presentan un contenido mayor de sustancias amargas (amargor) que el resto de las cervezas analizadas, siendo las cervezas Lager y las de trigo las que presentan un menor amargor, y éstas últimas presentando los niveles más bajos.

Es interesante observar que aunque las cervezas Ale y las de trigo son ambas de fermentación alta, el tipo de lúpulo utilizado en su fabricación es decisivo para proporcionar las características organolépticas de cada una. En general, para las cervezas Ale se emplean lúpulos que proporcionan mayor amargor que los empleados en las de trigo (ver Apéndice 3). Como se recordará, el IBU es una medida de los iso- α -ácidos del lúpulo contenido en la cerveza y otros componentes de la cerveza, como polifenoles naturales o sintéticos con cualidades antioxidantes.

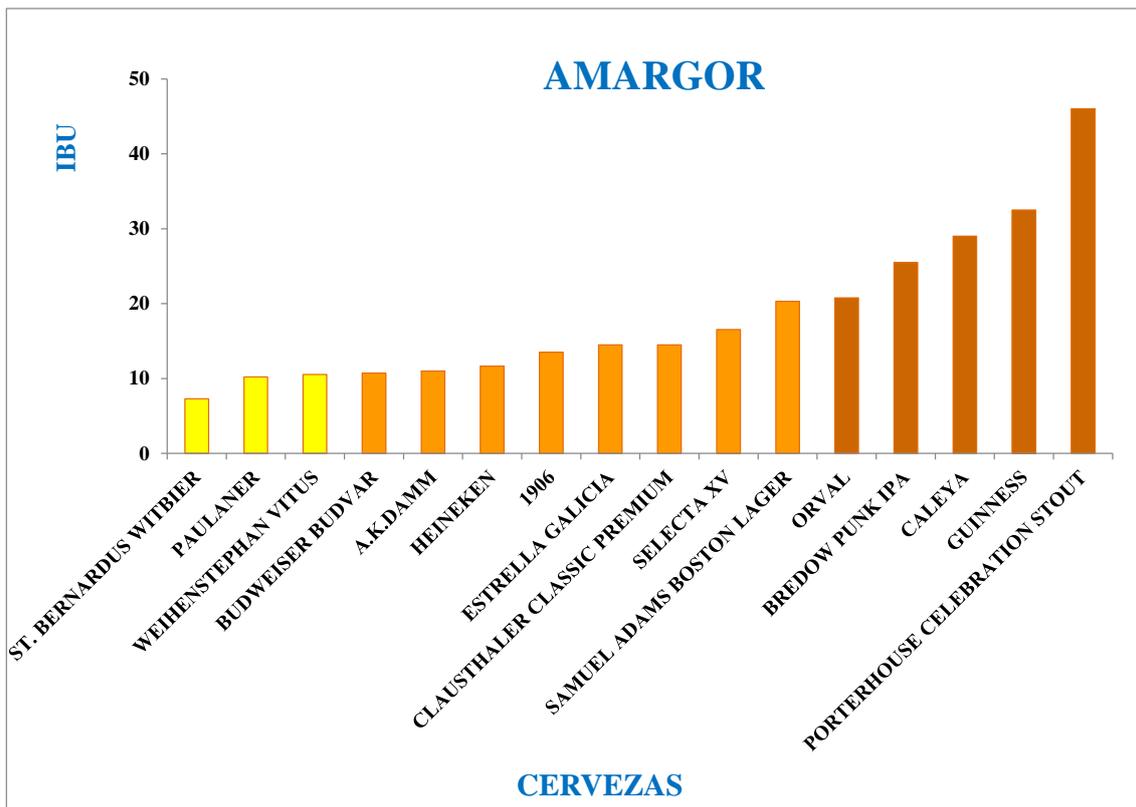


Figura 21. Amargor experimental de la cerveza cuantificado en IBU.

4.3. Amargor de la cerveza comparado con datos bibliográficos

Tras el análisis cuantitativo de amargor en las cervezas, se puede comprobar que se obtuvieron unos valores paralelos a los recopilados de la bibliografía (ver Figura 22).

Las cervezas de trigo siguieron un comportamiento similar a los valores de referencia, situándose en los valores mínimos de la gráfica correspondiente de tal comparación.

Experimentalmente la cerveza blanca, St. Bernardus Witbier, obtuvo el contenido de amargor más bajo, correspondiendo a un tipo de elaboración en el que no se busca la apreciación de amargor ni de lúpulo.

Las cervezas Paulaner y Weihenstephan Vitus tienen un amargor similar, presentando, esta última, una pequeña diferencia debido a su mayor concentración de trigo.

A continuación se sitúan las cervezas Lager, en las que, si bien coinciden en mayor o menor medida con los valores de referencia, estando ellos relacionados con la cerveza dada y su país de procedencia. Así, los valores para las cervezas: Heineken, Estrella Galicia, 1906 Reserva Especial, A. K. Damm, Budweiser Budvar y Clausthaler Classic Premium (cerveza sin alcohol), fueron muy similares dificultando su

ordenación en la escala de amargor creciente. Por el contrario, las cervezas Selecta XV y Samuel Adams Boston Lager mostraron valores ligeramente más altos que las anteriores.

En último lugar de la escala de amargor se encuentran las cervezas Ale, las cuales muestran un creciente amargor en concordancia con los valores de referencia, a excepción de Brewdog Punk IPA para la que hemos obtenido un valor más bajo que el reportado, aunque se encuentra dentro del grupo de cervezas amargas.

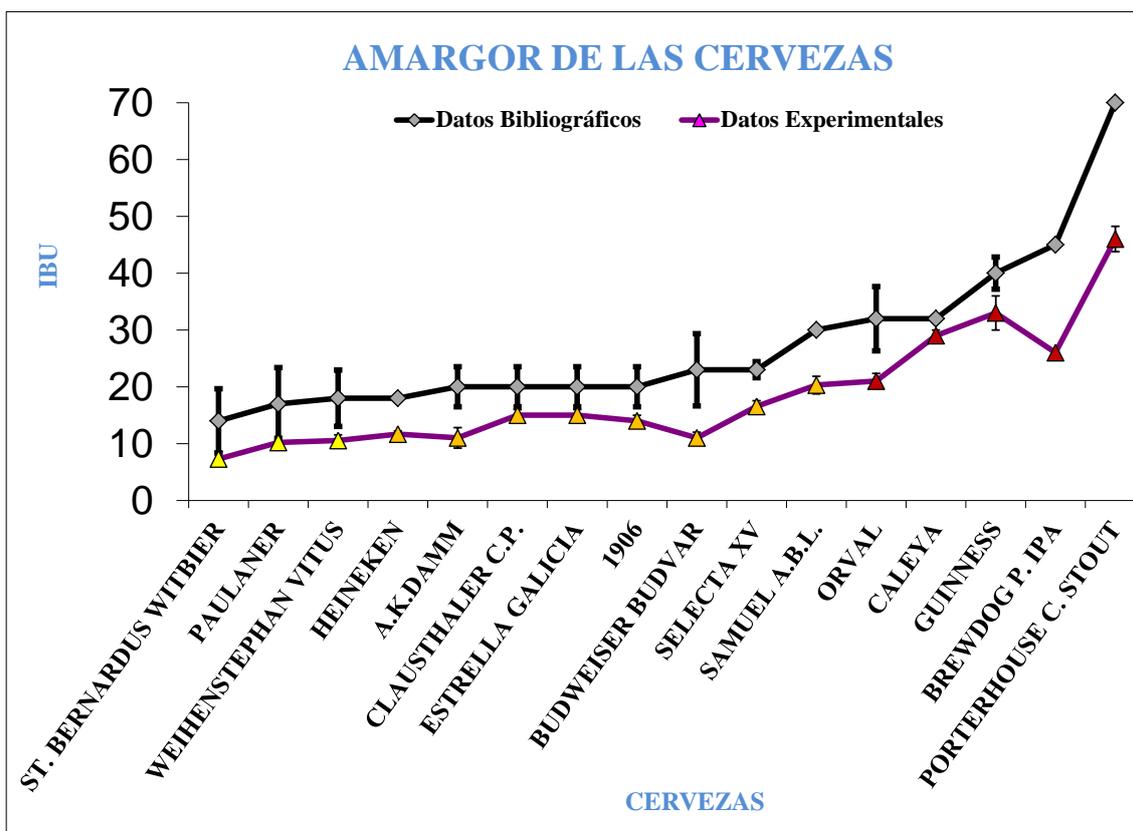


Figura 22. Amargor comparado con datos bibliográficos.

4.4. Amargor de la cerveza durante el almacenamiento

Este estudio se realizó en ausencia de luz para minimizar los posibles mecanismos de fotooxidación en que participa la riboflavina. Asimismo, las cervezas se conservaron cerradas (ausencia de oxígeno) y a baja temperatura para ralentizar los procesos de degradación. Los resultados de IBU muestran que éste fue descendiendo muy lentamente en todas las cervezas a excepción de la cerveza Guinness, en la que se ha observado un descenso más acusado en el primer mes (ver Figura 23). Siendo ésta una de las cervezas amargas, la explicación más plausible es la pérdida de moléculas que

aportan amargor por oxidación a lo largo del tiempo, entre ellas el epímero *trans*-iso ácido, uno de los más sensibles a estos cambios. Asimismo, los polifenoles de la cerveza, también pueden unirse a las proteínas de la cerveza, produciéndose, en ese caso, un descenso en los valores de amargor, como hemos visto en la parte descriptiva de este proyecto.

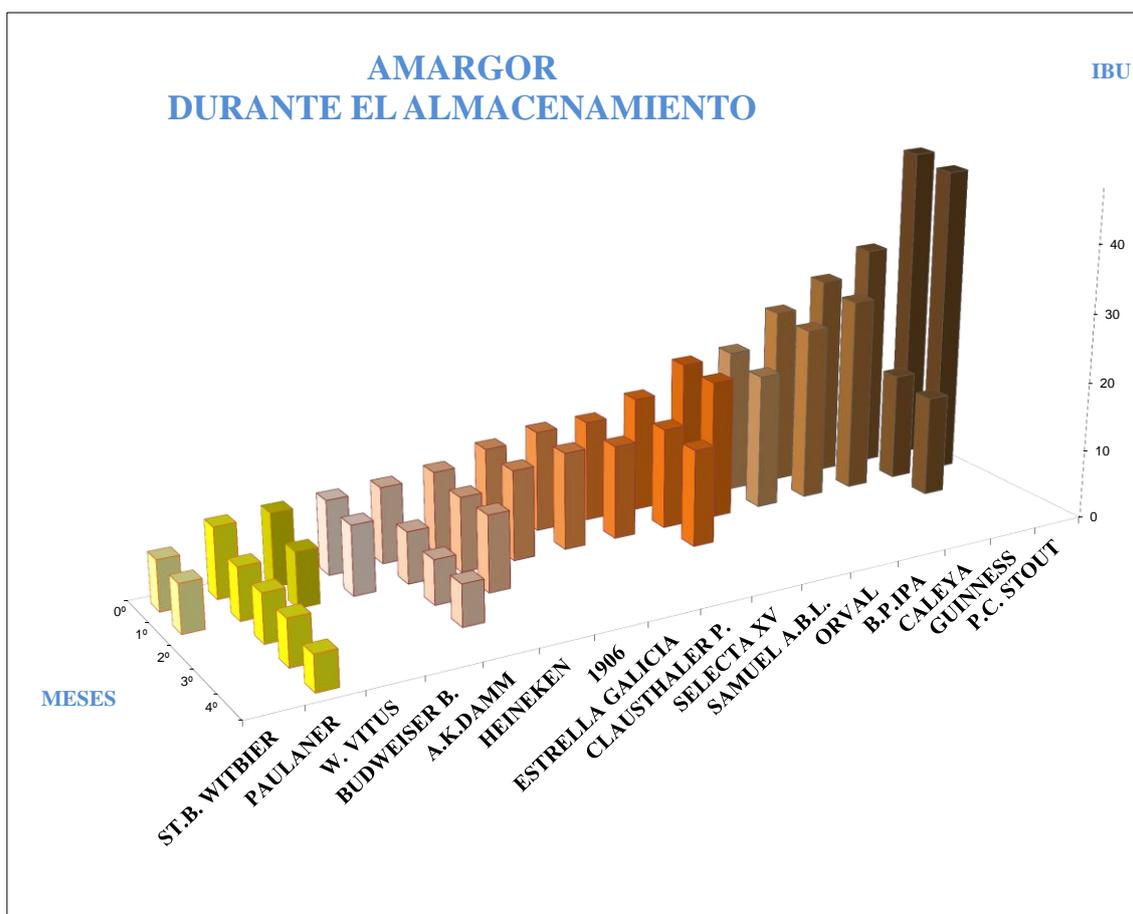


Figura 23. Amargor de la cerveza durante el almacenamiento.

4.5. Fluorescencia sincrónica de la cerveza

El método de fluorescencia sincrónica, aplicado a diferentes incrementos de longitud de onda ($\Delta\lambda = 10 - 210$ nm) muestra diferentes espectros de emisión de los compuestos aromáticos presentes en las cervezas. Los espectros se realizaron para cervezas diluidas con agua Milli-Q al 3%. En la Figura 24 se muestran los espectros sincrónicos a los diferentes $\Delta\lambda$ para una cerveza de trigo (Paulaner) y en ellos se observa que es preciso determinar el valor óptimo de $\Delta\lambda$ para no perder importante información espectral. Así, a medida que el valor de $\Delta\lambda$ crece desde $\Delta\lambda = 10$ nm se muestran tres bandas de fluorescencia sincrónica que van creciendo

paulatinamente en intensidad. Para $\Delta\lambda = 120$ nm, comienza a perderse información, disminuyendo la intensidad de fluorescencia de las bandas, llegando algunas a desaparecer prácticamente a $\Delta\lambda = 210$ nm. A la vista de estos resultados, los estudios siguientes se realizaron para valores de $\Delta\lambda = 10, 30$ y 60 nm. Así, pues, para la cerveza de trigo (Paulaner) se observa en la Figura 25 que la banda en el entorno de 340 nm prácticamente no se observa para $\Delta\lambda = 10$ y 30 .

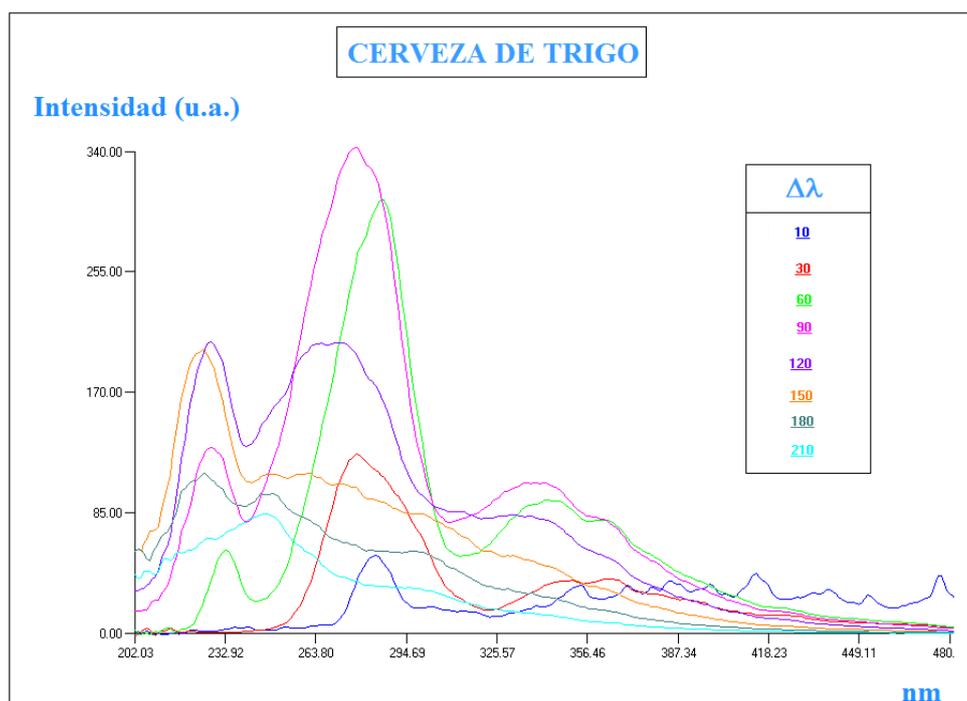


Figura 24. Espectro sincrónico de cerveza Paulaner a $\Delta\lambda = 10, 30, 60, 90, 120, 150, 180$ y 210 nm.

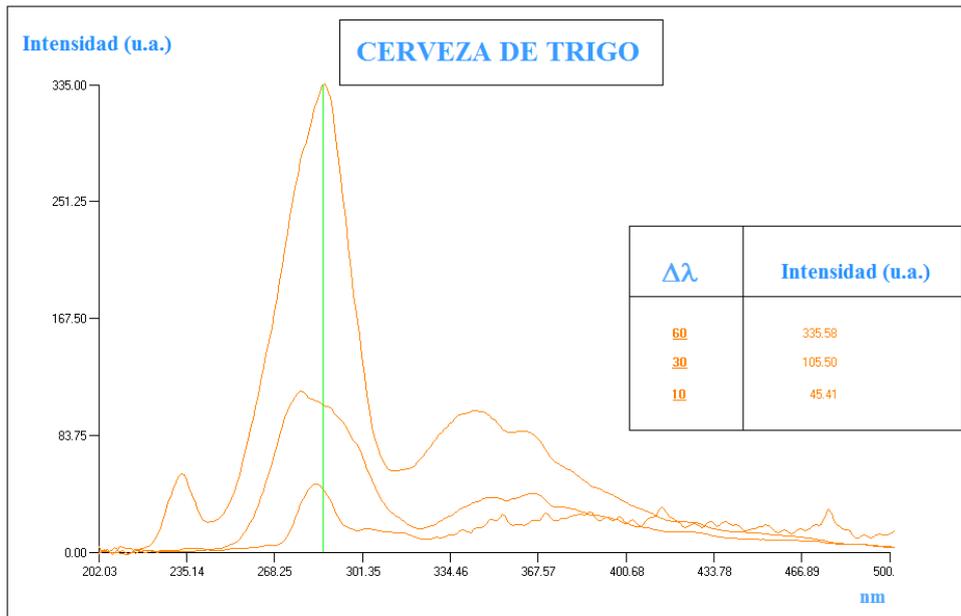


Figura 25. Espectro sincrónico de cerveza Paulaner a $\Delta\lambda = 10, 30$ y 60 nm.

Puede observarse también en este espectro que aparece una banda sincrónica muy intensa a 280 nm y dos bandas de menor intensidad a 232 y 340 nm. Este espectro contrasta con el observado para una cerveza Ale (Guinness), en la que la banda más intensa es la que aparece en el intervalo de 312 - 420 nm (ver Figura 26), siendo las bandas a 225 y 280 nm, de menor intensidad. Asimismo, se observa en este caso que también se pierde información a medida que $\Delta\lambda$ decrece.

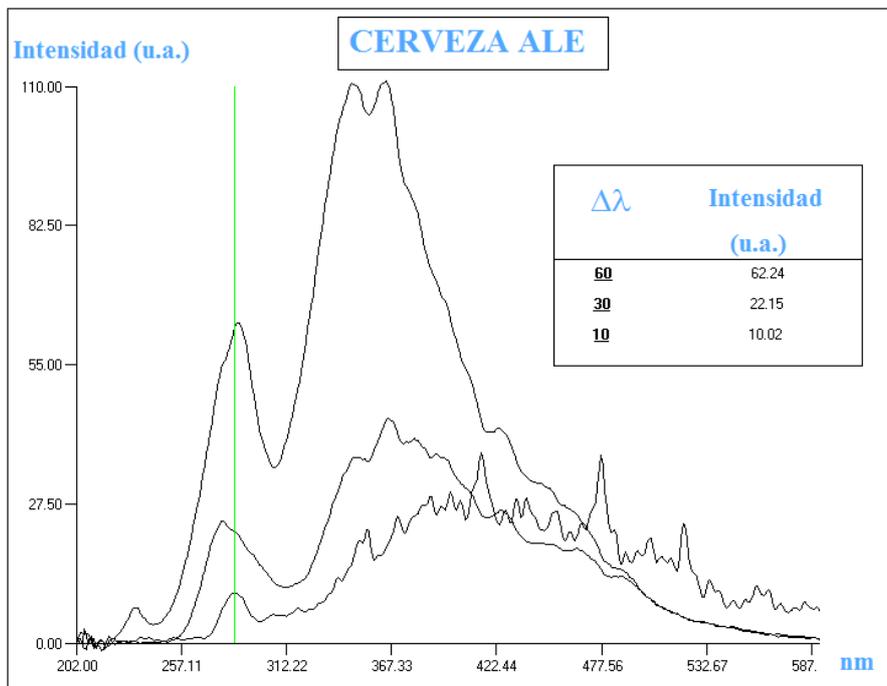


Figura 26. Espectro sincrónico de cerveza Guinness a $\Delta\lambda = 10, 30$ y 60 nm.

Finalmente, en la Figura 27 el espectro sincrónico de una cerveza Lager (Estrella Galicia) es similar al de las anteriores, mostrando tres bandas de fluorescencia para $\Delta\lambda = 60$: dos bandas de intensidad media a 230 y 335 nm y otra más intensa a 280 nm. Como en los casos anteriores, se pierde información con valores de $\Delta\lambda < 60$ nm.

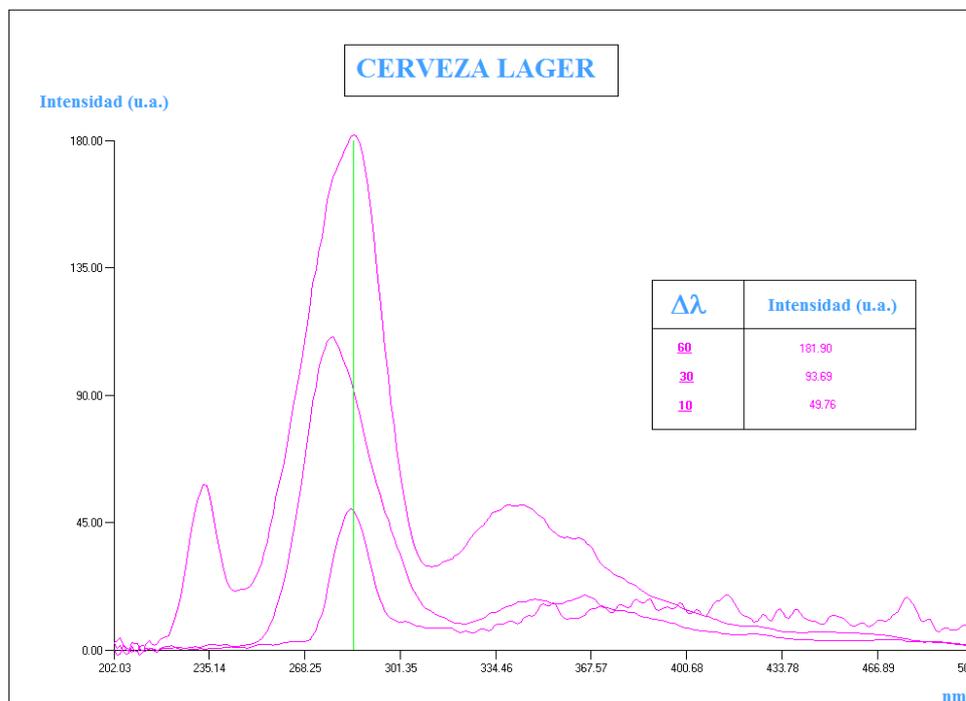


Figura 27. Espectro sincrónico de cerveza Estrella Galicia a $\Delta\lambda = 10, 30$ y 60 nm.

Dado que la banda a 280 nm es la que menos se modifica con los valores de $\Delta\lambda$, se utilizó la misma para fijar las longitudes de onda de excitación y emisión utilizadas en las siguientes experiencias de fluorescencia. En la Figura 28 se muestra la intensidad del pico de fluorescencia sincrónica a 280 nm ($\Delta\lambda = 60$ nm) para los distintos grupos de cerveza. Como se observa, para cada grupo, la intensidad de fluorescencia sincrónica a 280 nm decrece con el amargor de la cerveza.

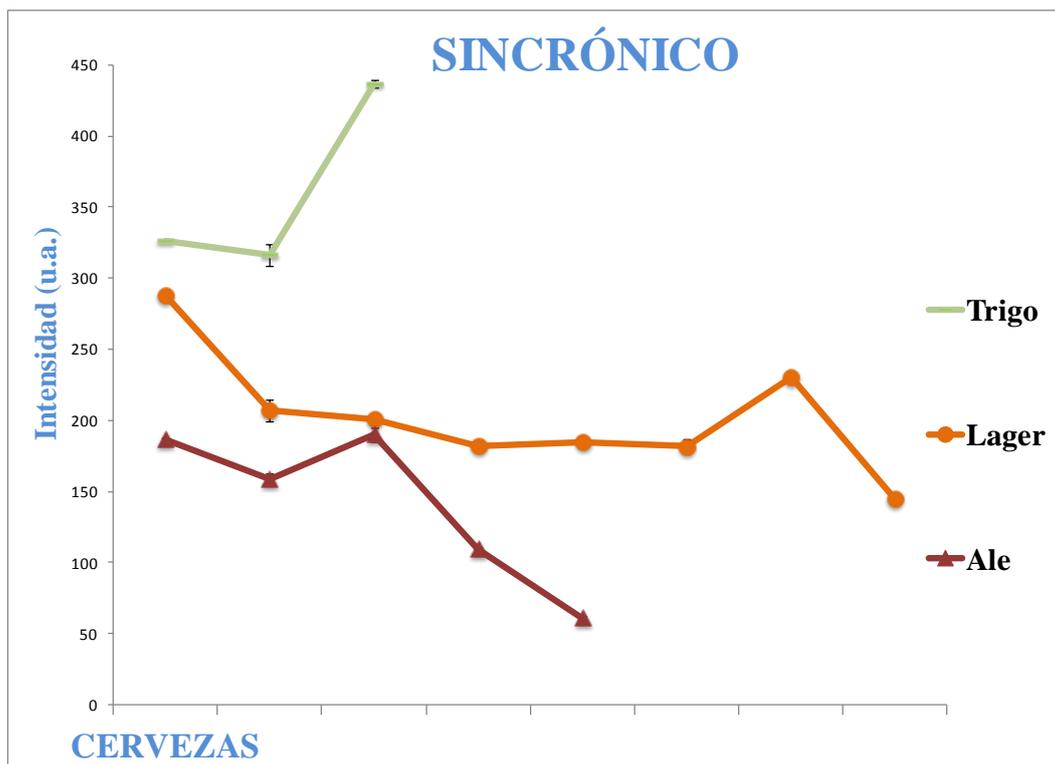


Figura 28. Fluorescencia sincrónica de cervezas Ale, Lager y de trigo a $\Delta\lambda = 60$ nm.

Se realizaron también espectros sincrónicos en presencia de Eu^{3+} con objeto de comprobar la posible aparición de nuevas bandas correspondientes a los complejos que el metal pudiese formar con los compuestos amargos de la cerveza. En la Figura 29 se muestra para una cerveza Lager (Estrella Galicia) que para un $\Delta\lambda = 60$ nm, no aparecen nuevas bandas de fluorescencia y la única modificación observada es un decrecimiento en la intensidad de emisión, como se ve en la Figura 30.

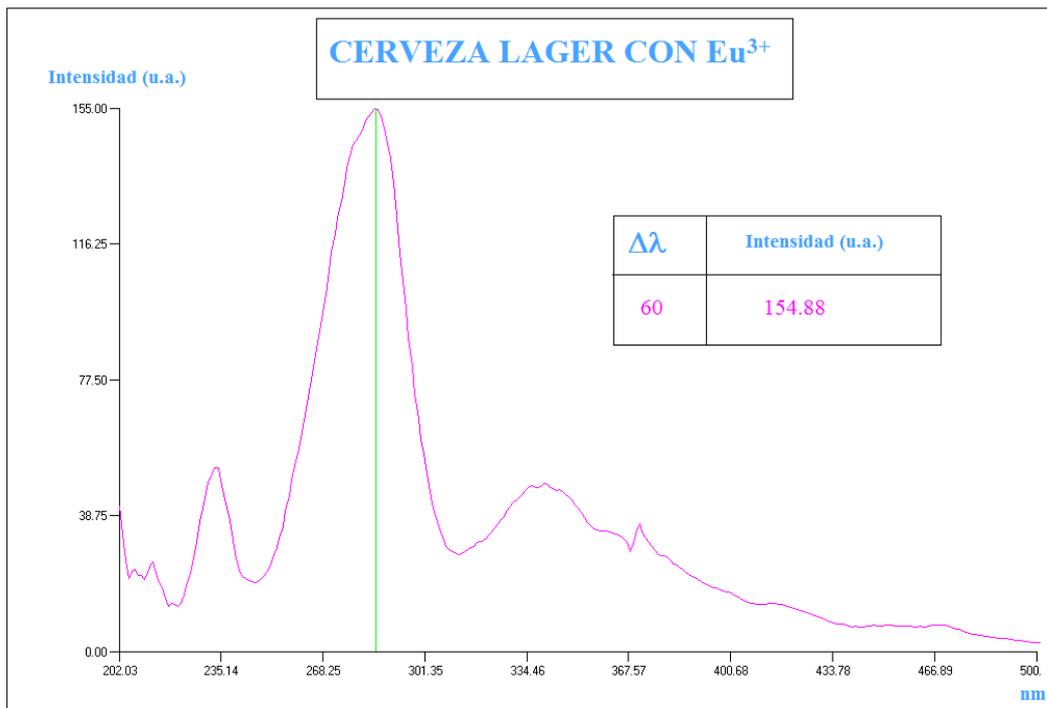


Figura 29. Espectro sincrónico de cerveza Estrella Galicia con Eu^{3+} a $\Delta\lambda = 60$ nm.

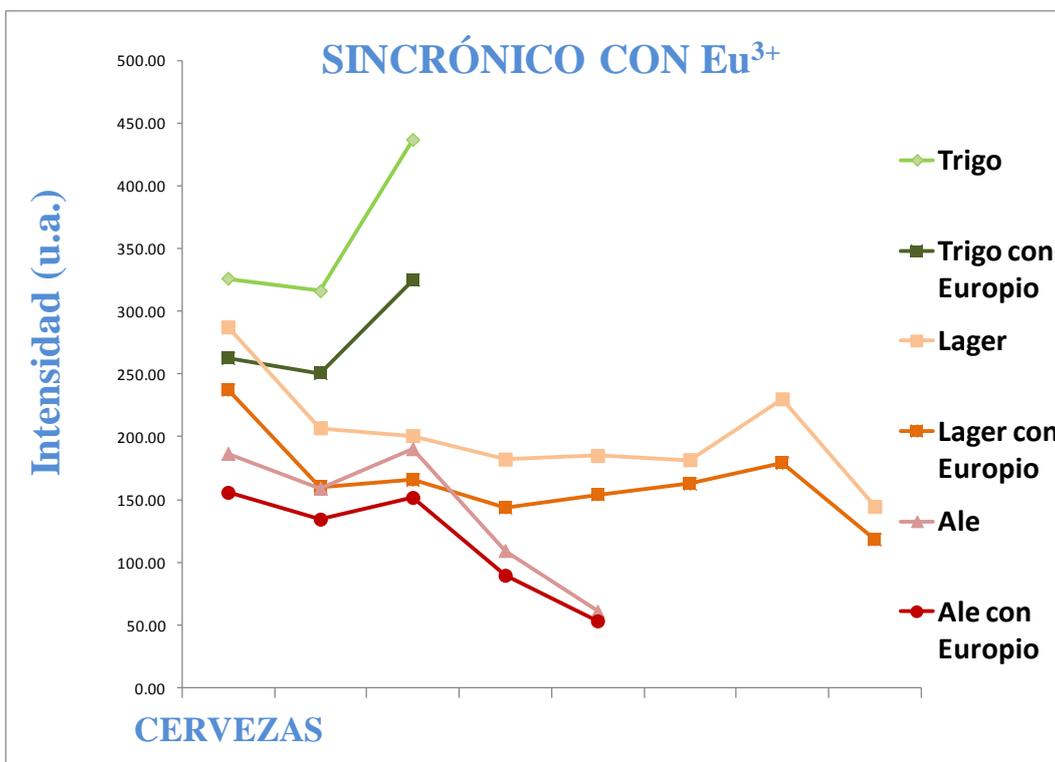


Figura 30. Fluorescencia Sincrónica de las cervezas Ale, Lager y de trigo, y sus disoluciones con Eu^{3+} a $\Delta\lambda = 60$ nm.

En último lugar, se comprobó si la fluorescencia sincrónica se modificaba con el tiempo de almacenamiento (5°C, ausencia de luz y de oxígeno). Los resultados mostraron, que utilizando un $\Delta\lambda = 60$ nm, la emisión a 280 nm no se modificaba para ninguno de los tres grupos de cerveza estudiados (ver Figura 31).

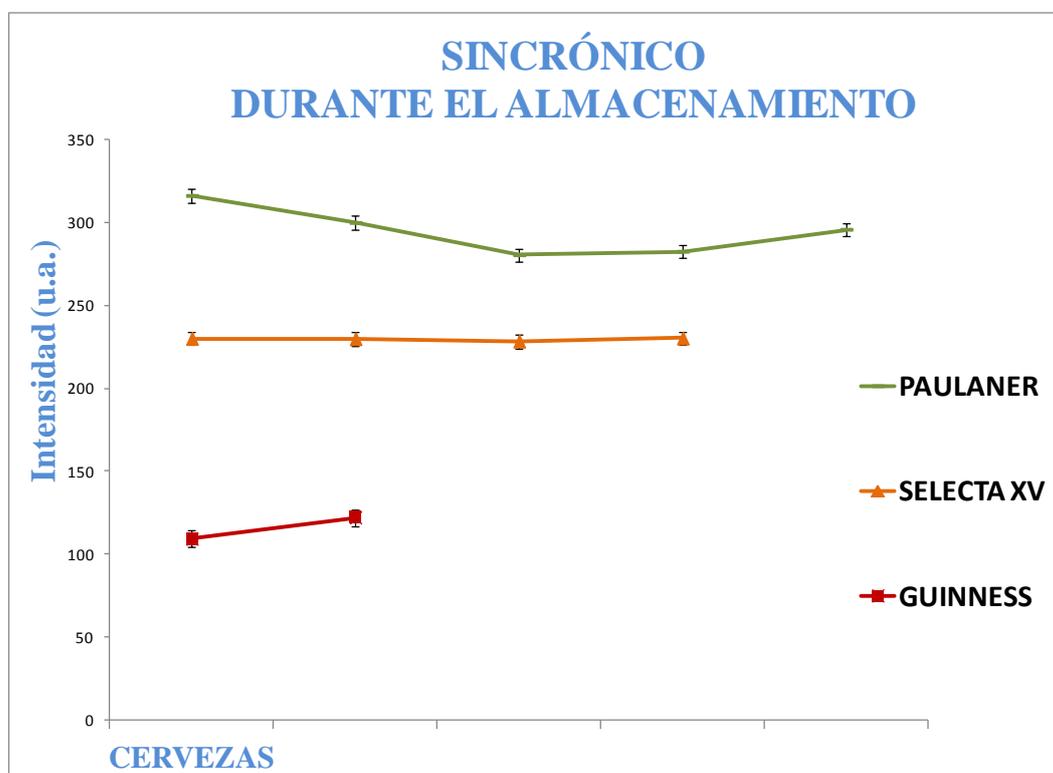


Figura 31. Fluorescencia Sincrónica de las cervezas Paulaner, Selecta XV y Guinness durante el almacenamiento a $\Delta\lambda = 60$ nm.

4.6. Características espectrales de fluorescencia

Se registraron los espectros de excitación y de emisión de fluorescencia de todas las cervezas en estudio. En las Figuras 32, 33 y 34, los espectros de todas las cervezas muestran un máximo de excitación a 280 ± 5 nm y un máximo de emisión de 360 ± 5 nm. Estos datos coinciden, dentro del error experimental, con los obtenidos en los espectros sincrónicos.

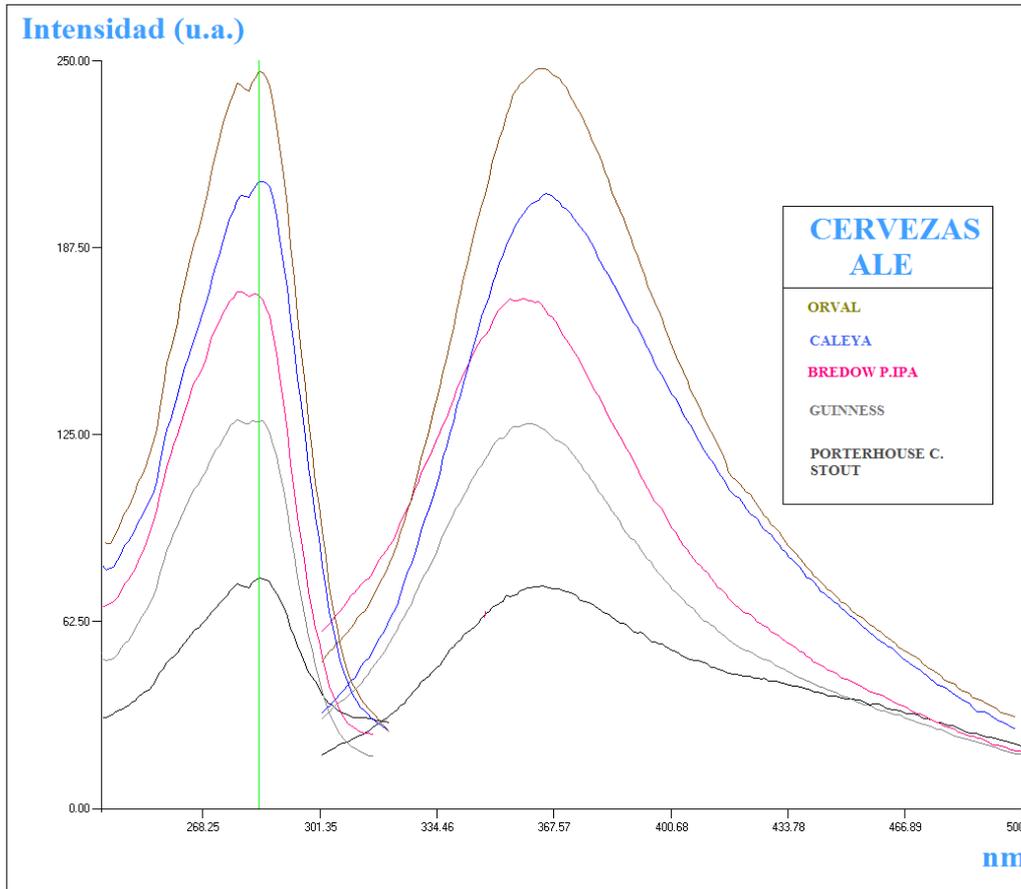


Figura 32. Espectro de Excitación y Emisión de cervezas Ale.

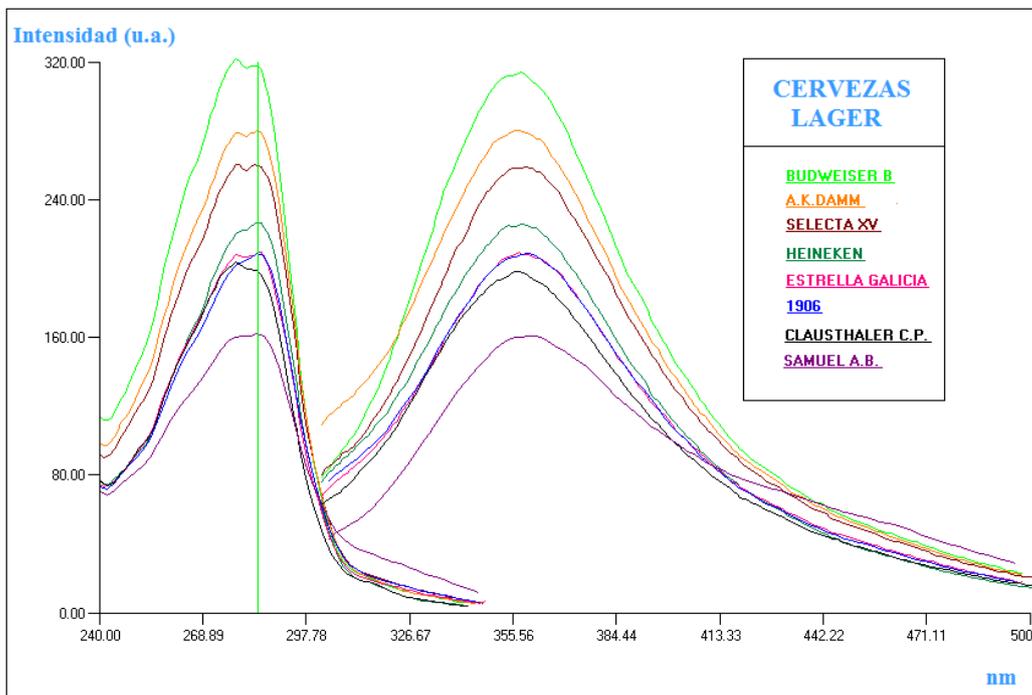


Figura 33. Espectros de Excitación y Emisión de cervezas Lager.

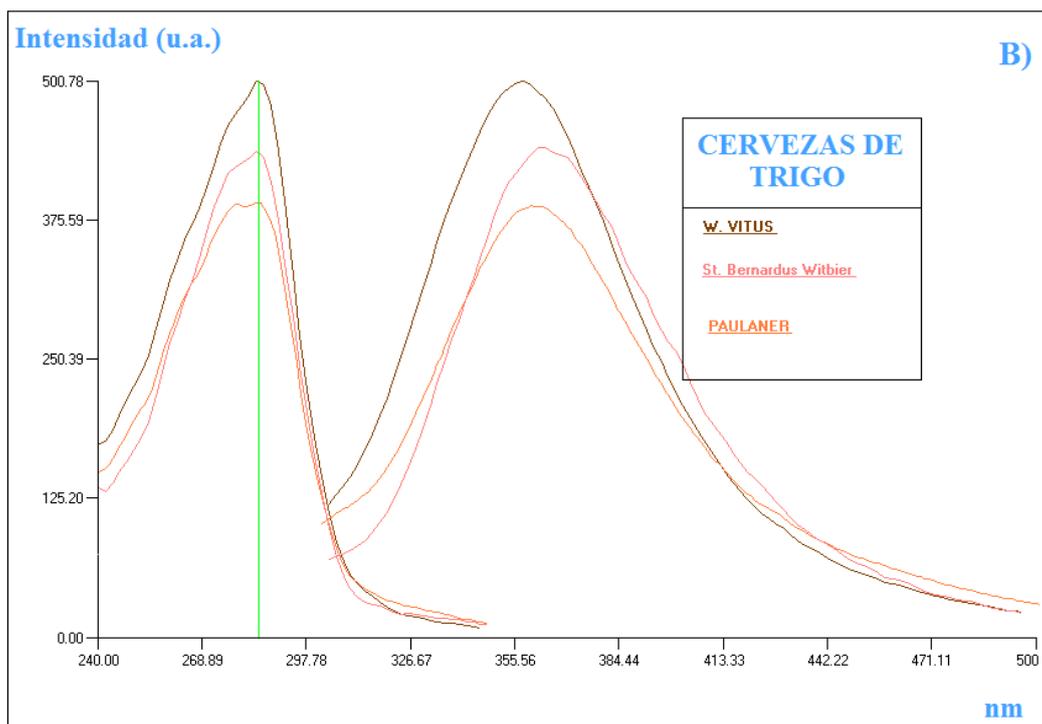


Figura 34. Espectro de Excitación y Emisión de cerveza de trigo.

4.7. Fluorescencia de la cerveza

Siguiendo el protocolo descrito en la parte experimental, se realizaron los ensayos de fluorescencia para los diferentes tipos de cerveza, tanto en ausencia como en presencia de iones europio. Se registraron las intensidades de emisión a 360 nm con una excitación de 280 nm, tanto en ausencia como en presencia del metal. Los resultados demostraron que para las cervezas Lager y Ale la intensidad de fluorescencia a medida que aumenta el amargor (usando como referencia el valor del IBU anteriormente obtenido) disminuye. En presencia de ion europio, las intensidades de fluorescencia son ligeramente menores pero la tendencia a disminuir para las cervezas más amargas es la misma (ver Figura 35). Como puede observarse en la gráfica, el decrecimiento más acusado se observa en las Ale con valores mínimos para las cervezas Porterhouse Celebration Stout y Guinness, que resultan ser las cervezas más amargas y oscuras. En las Lager el decrecimiento de fluorescencia es mucho más suave.

Un comportamiento diferente lo hemos observado en las cervezas de trigo, como se observa en la gráfica, prácticamente no se aprecia una tendencia clara, ni en ausencia ni en presencia de ion europio. No obstante, las muestras de cerveza de trigo resultaron ser mucho más fluorescentes (con y sin europio) que los otros dos tipos de cervezas.

Una posible explicación es la composición de las propias cervezas. Además, aunque se necesitaría un mayor volumen de datos para comprobar esta hipótesis, los resultados apuntan a que la más fluorescente es la que los fabricantes declaran un mayor contenido en trigo (Weihenstephan Vitus).

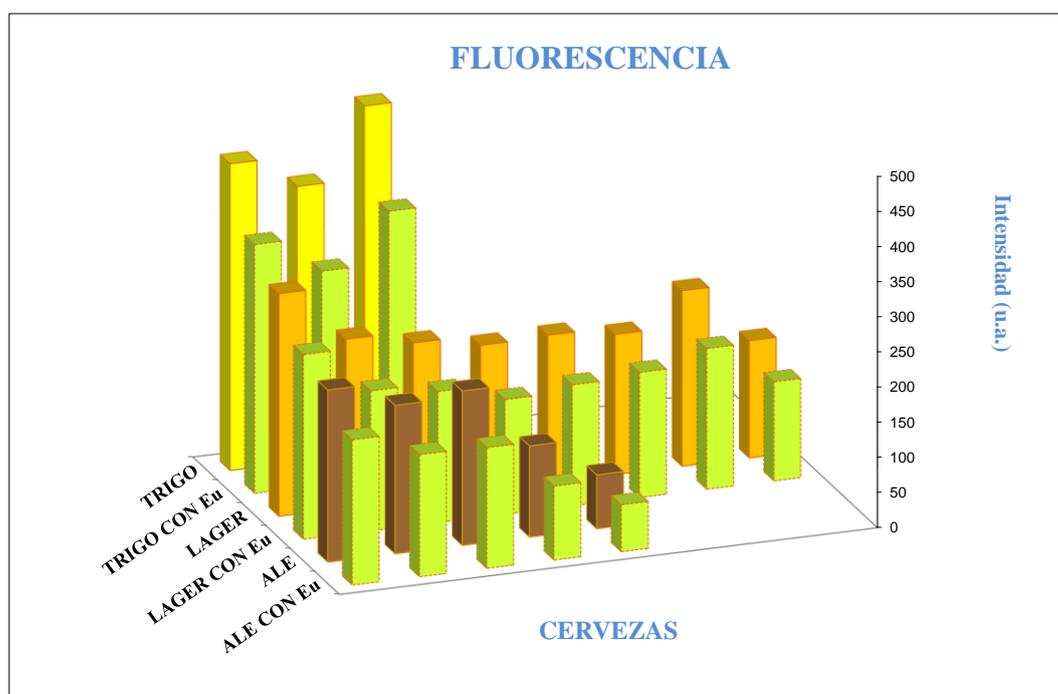


Figura 35. Fluorescencia de la cerveza.

4.8. Fluorescencia de la cerveza durante el almacenamiento

Se estudió la fluorescencia de las diferentes cervezas en función del tiempo de almacenamiento, mantenidas bajo refrigeración a 5°C y en ausencia, tanto de oxígeno como de luz. Las medidas se realizaron utilizando una longitud de onda de excitación de 280 nm y una de emisión de 360 nm para todas las muestras. Los resultados mostraron una ligera disminución en la intensidad de fluorescencia (ver Figura 36) durante el periodo estudiado (hasta 4 meses para algunas cervezas).

Comparando los datos obtenidos para la cerveza Guinness, que presentaba un cambio drástico en el IBU en el primer mes, con los datos obtenidos por fluorescencia, podemos suponer que la pérdida de componentes amargos no supone una pérdida en la fluorescencia de estos compuestos. Este hecho nos indicaría que las medidas de fluorescencia directa no nos permiten evaluar el envejecimiento de las cervezas.

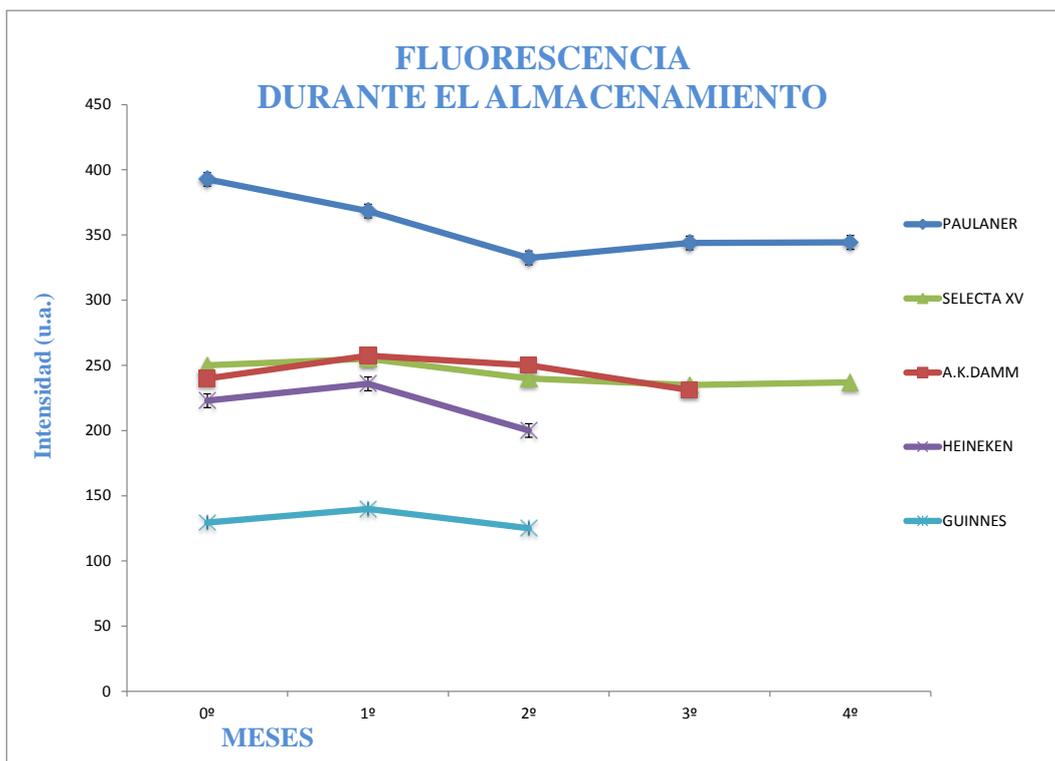


Figura 36. Fluorescencia de la cerveza durante el almacenamiento.

4.9. Fluorescencia retardada con Eu^{3+}

En la Figura 37 se pueden observar los espectros de fluorescencia retardada con tiempos de demora desde 0,01 a 0,09 ms (tiempo de integración 2 ms) de una cerveza Ale (Caleya, artesanal asturiana). Los espectros del resto de cervezas mostraron un hábito similar. Aparece una banda importante a 618 nm, debida probablemente a complejos que el ion europio forma con componentes amargos de la cerveza (moléculas de iso-humulona, ver consideraciones teóricas).

En las experiencias siguientes, las medidas de fluorescencia retardada se tomaron utilizando un tiempo de demora de 0.01 ms y un tiempo de integración de 2 ms, utilizando una longitud de onda de excitación de 390 nm y una longitud de emisión de 618 nm para todas las cervezas.

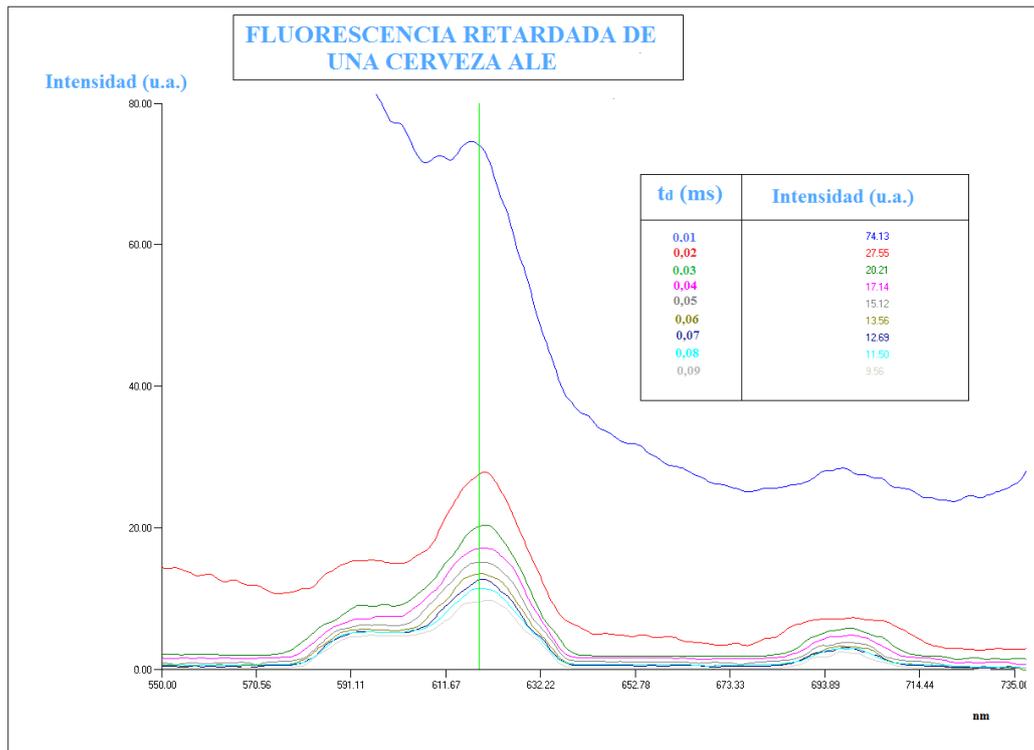


Figura 37. Espectro de fluorescencia retardada de la cerveza Caleyá.

Como se muestra en la Figura 38 la fluorescencia retardada para las cervezas Ale tiene una tendencia creciente con el amargor (IBU), mientras que la fluorescencia normal muestra el hábito contrario (Figura 35). En cuanto a las cervezas Lager, no parece haber una tendencia clara en los valores de fluorescencia retardada, al contrario de lo observado anteriormente en fluorescencia convencional. En este grupo, se ha eliminado la cerveza sin alcohol para obviar el posible efecto de matriz (ausencia de alcohol). Finalmente, en el caso de las cervezas de trigo, los datos no son suficientes para observar una tendencia.

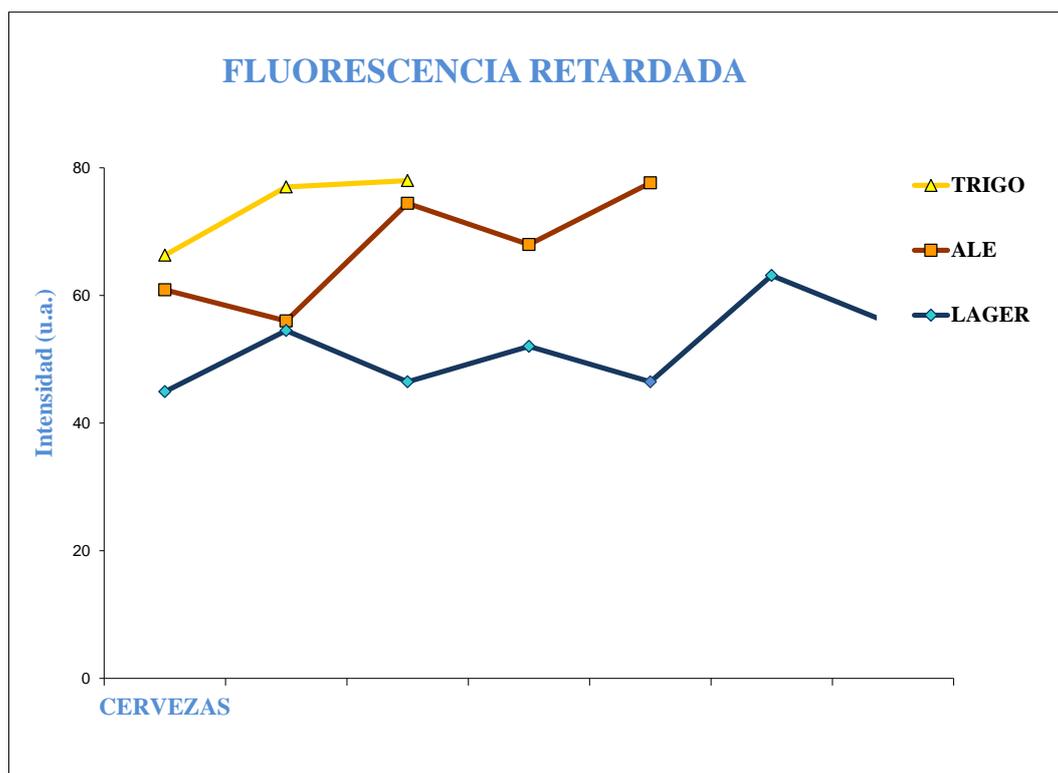


Figura 38. Fluorescencia retardada de la cerveza con Eu^{3+} .

4.10. Determinación del tiempo de vida de fluorescencia retardada

Dado que los datos de fluorescencia retardada no parecen aportar una tendencia clara que relacione el amargor con los valores de intensidad, hemos considerado la posibilidad de utilizar los tiempos de vida de fluorescencia retardada de los complejos que forma el europio con los componentes amargos de la cerveza con el mismo fin.

Para ello, se realizaron medidas de intensidad a diferentes tiempos de demora entre 0,01 a 0,09 ms y se calculó el tiempo de vida (τ) para cada cerveza, utilizando la expresión:

$$I = I_0 e^{-t/\tau}$$

donde, I_0 = intensidad a tiempo cero, I = intensidad de emisión a tiempo t después de la excitación, τ = tiempo de vida medio del estado excitado. Se representaron gráficamente los datos, tomando \ln para obtener la línea de regresión y calcular el tiempo de vida.

En la Figura 39 se muestran los datos para Budweiser Budvar (Lager). El valor del tiempo de vida se calcula a partir de la pendiente de la recta obtenida.

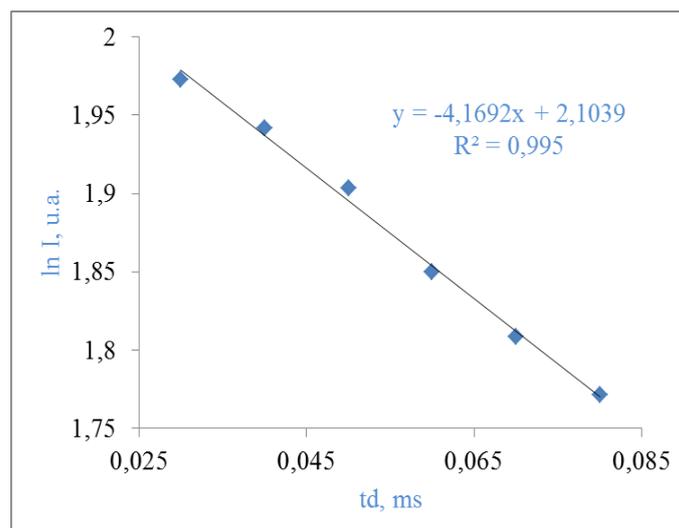


Figura 39. Cálculo de Tiempo de vida de la cerveza Budweiser Budvar.

Para el resto de cervezas, se siguió un procedimiento análogo y los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4. Como puede observarse en la misma, el europeo, en ausencia de complejantes, muestra un tiempo de vida corto, comparado con el de los posibles complejos formados con los componentes amargos de la cerveza.

	Muestra	τ (ms)	IBU	SRM
	Eu	0,06	-	-
TRIGO	ST. B. WITBIER	0,15	7	2,0
	PAULANER	0,13	10	4,0
	W. VITUS	0,22	11	4,0
LAGER	BUDWEISER BUDVAR	0,24	11	3,0
	A.K.DAMM	0,30	11	2,0
	HEINEKEN	0,42	12	2,0
	1906	0,57	14	2,0
	ESTRELLA GALICIA	0,47	15	3,0
	SELECTA XV	0,47	17	10,1
	SAMUEL A.B.L.	0,27	20	11,0
ALE	ORVAL	0,12	21	13,0
	BREDOWPUNK IPA	0,13	26	16,0
	CALEYA	0,10	29	17,0
	GUINNESS	0,10	33	49,2
	P.C. STOUT	0,03	46	50,0

Tabla 4. Tiempo de vida, IBU y SRM de las cervezas.

Analizando los datos de la Tabla, se puede observar que a medida que crece el amargor, el tiempo de vida de fluorescencia retardada crece en las cervezas de trigo. Asimismo, se observa la misma tendencia en las Lager, mientras que en las Ale, las más amargas y que tienen un índice de color muy alto, la tendencia sigue el hábito contrario.

4.11. Variación de la fluorescencia retardada durante el almacenamiento

Como se muestra en la Figura 40, durante el almacenamiento la intensidad de la fluorescencia retardada de las muestras decrece ligeramente para todas las cervezas estudiadas, debido a la degradación paulatina de los compuestos amargos, que forman complejos con el europio.

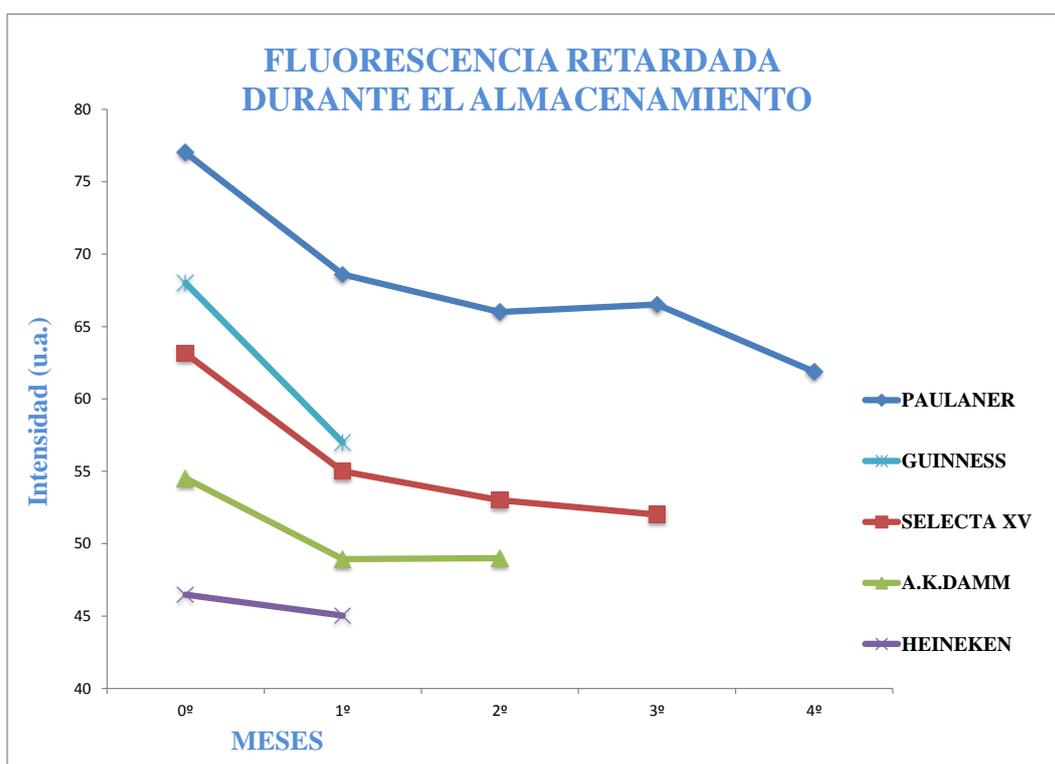


Figura 40. Fluorescencia retardada de la cerveza con Eu^{3+} durante el almacenamiento.

4.12. pH, densidad y color de la cerveza.

Se determinó el pH de todas las cervezas y los resultados se recogen en la Figura 41 que oscila entre $4 \pm 0,3$. Este dato concuerda con el legalmente permitido. Este pH es el resultado del $\text{pH} = 4,5$, óptimo para el crecimiento favorable de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y su proceso de elaboración.

La densidad obtenida de las cervezas fue entorno a 1 g/ml.

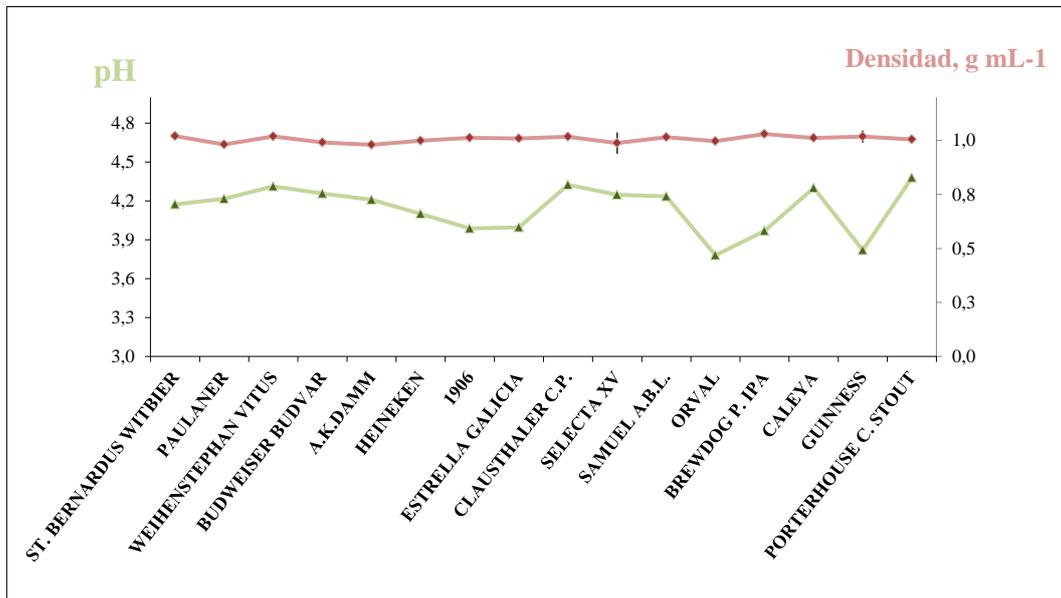


Figura 41. pH y densidad de la cerveza.

El color en las cervezas utilizadas en este proyecto se caracteriza por una variación amplia del mismo, en función del aumento de amargor como se aprecia en la Figura 42 y 43, habiendo utilizado para ello los valores del método estándar de referencia (SRM). El orden de la gráfica se corresponde con los datos de amargor experimentales en orden creciente.

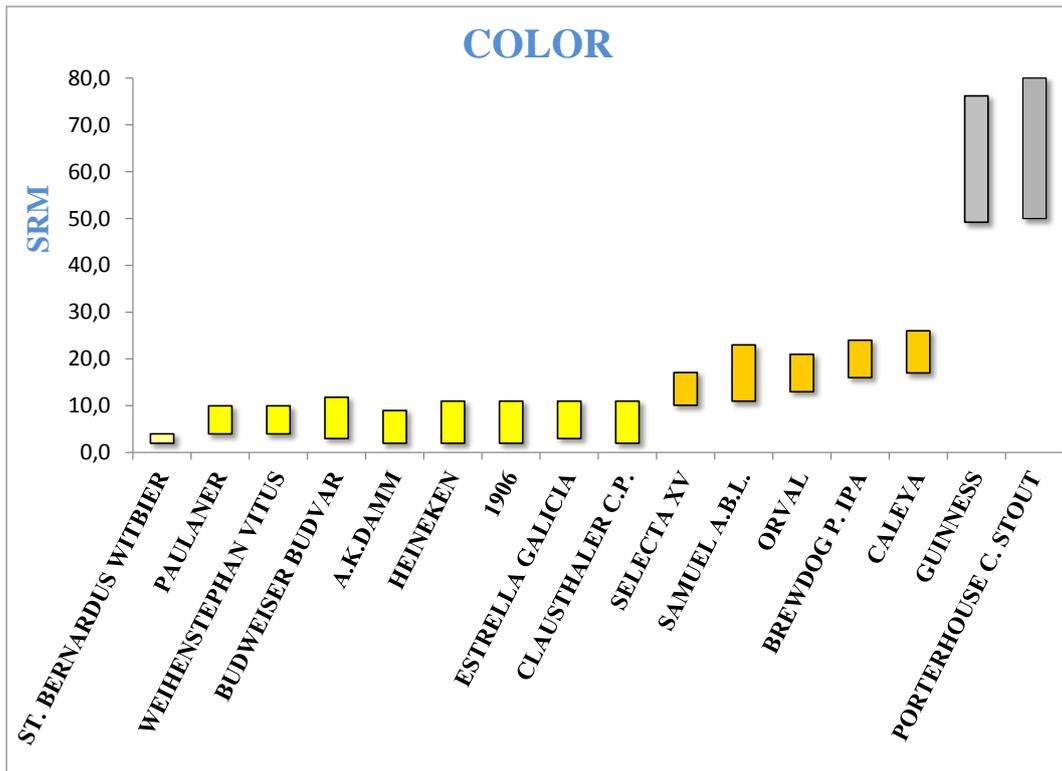


Figura 42. Variación del color en las cervezas.



Figura 43. Color de las cervezas utilizadas en este proyecto.

5. RESULTADOS DE LA CATA A CIEGAS DE LA CERVEZA

La cata a ciegas, cuya composición constaba de las siguientes cervezas: C1 **Budweiser Budvar** (cerveza de tipo Pilsen), C2 **Caleya** (cerveza artesanal asturiana Pale Ale), C3 **Clausthaler Classic Premium** (cerveza sin alcohol), C4 **Weihenstephan Vitus** (cerveza de trigo), y C5 **Porterhouse Celebration Stout** (cerveza de tipo Imperial Stout) arrojó los siguiente resultados:

En relación al **aspecto** como se muestra en la Figura 44: la muestra C1 Budweiser Budvar fue considerada una cerveza clara sin apreciarse partículas en suspensión; la muestra C3 Clausthaler Classic Premium (cerveza sin alcohol) se observó como una cerveza clara, cristalina y transparente sin partículas en suspensión; la muestra C5 Porterhouse Celebration Stout fue considerada opaca, no permite ver en absoluto a través de ella. Por último, en las muestras C2 y C4 (cervezas Caleya y Weihenstephan Vitus) se obtuvo como resultado un empate de apreciación entre turbidez y opacidad.

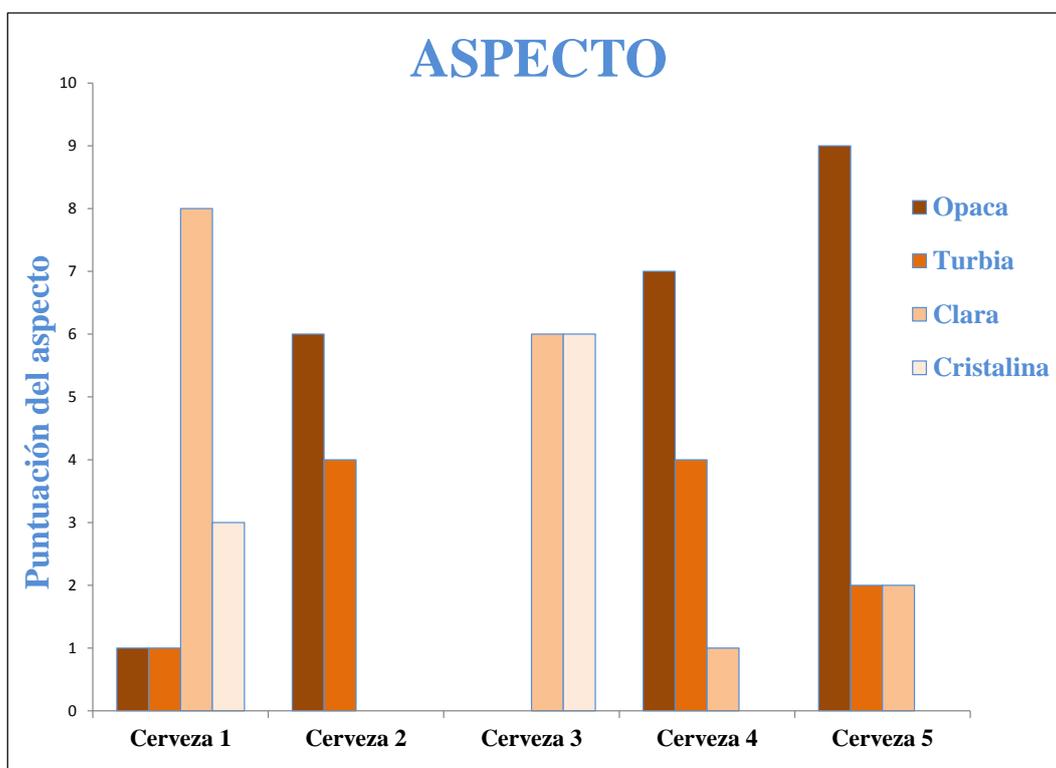


Figura 44. Puntuación del aspecto.

En cuanto a la apreciación del **color** de las cervezas, se dio como resultado una puntuación, por parte de los asistentes, concordante con los valores establecidos para cada tipo de cerveza por el método estándar de referencia (SRM).

Recogiendo como puntuaciones resultantes respectivamente:

Muestra C1 con puntuación entre 6 – 9 (Pilsen 2-7 SRM)

Muestra C2 con puntuación entre 12-15 (Pale Ale 5-14 SRM)

Muestra C3 con puntuación entre 4-6 (Pilsen 2-7 SRM)

Muestra C4 con puntuación entre 6-12 (Bavarian Weizen 4-10 SRM)

Muestra C5 con puntuación entre >24 (Imperial Scout 50-80 SRM).

En cuanto al **amargor** y **sabor** se toma como resultado aquél sobre el que se aprecia mayor consenso en la degustación, si bien en la Figura 45 y Figura 46 también contienen más opiniones, obteniendo como resultados mayoritarios los siguientes:

Muestra C1 cerveza Budweiser Budvar con un IBU intermedio, se obtuvo una puntuación de amargor perceptible y un sabor ácido.

Muestra C2 cerveza Caleyá con un IBU algo más elevado que la precedente, se obtuvo una puntuación de amargor relevante y un sabor frutal.

Muestra C3 cerveza Clausthaler Classic Premium con IBU como la muestra C1, se obtuvo una puntuación de amargor ligero y un sabor ácido.

Muestra C4 cerveza de trigo con un IBU bajo - intermedio, se obtuvo una puntuación de amargor relevante y un sabor a trigo malteado.

Muestra C5 cerveza Imperial Stout con un IBU elevado, se obtiene una puntuación intensa de amargor, sin apreciación de sabor.

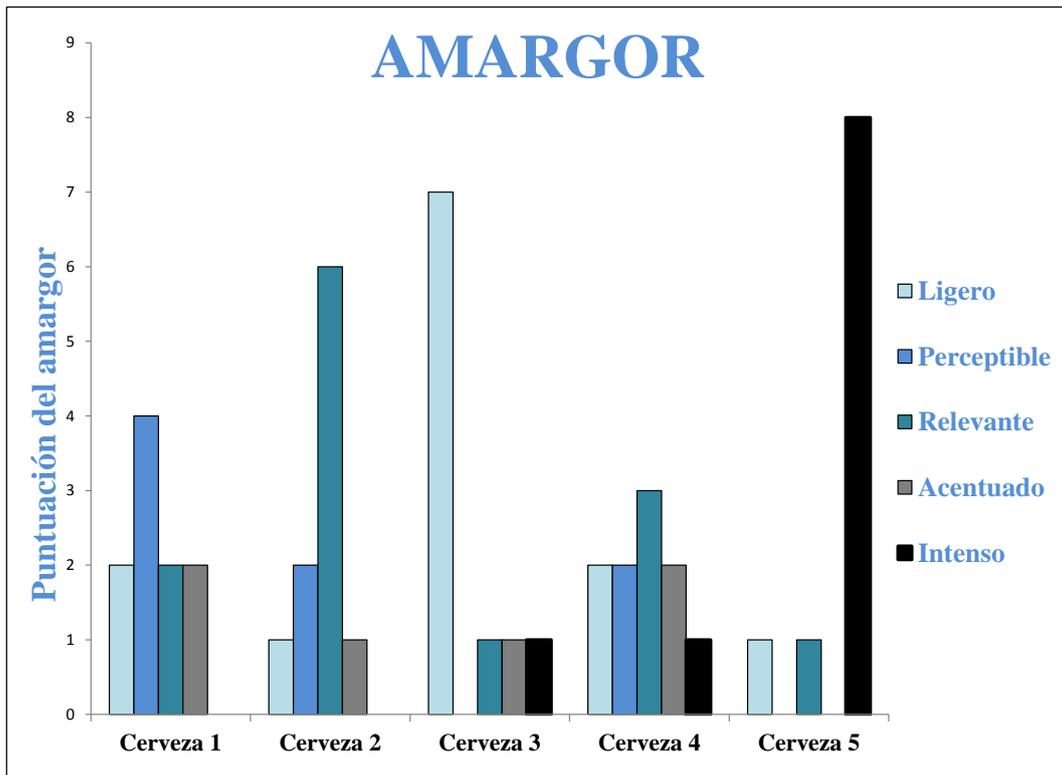


Figura 45. Puntuación del amargor.

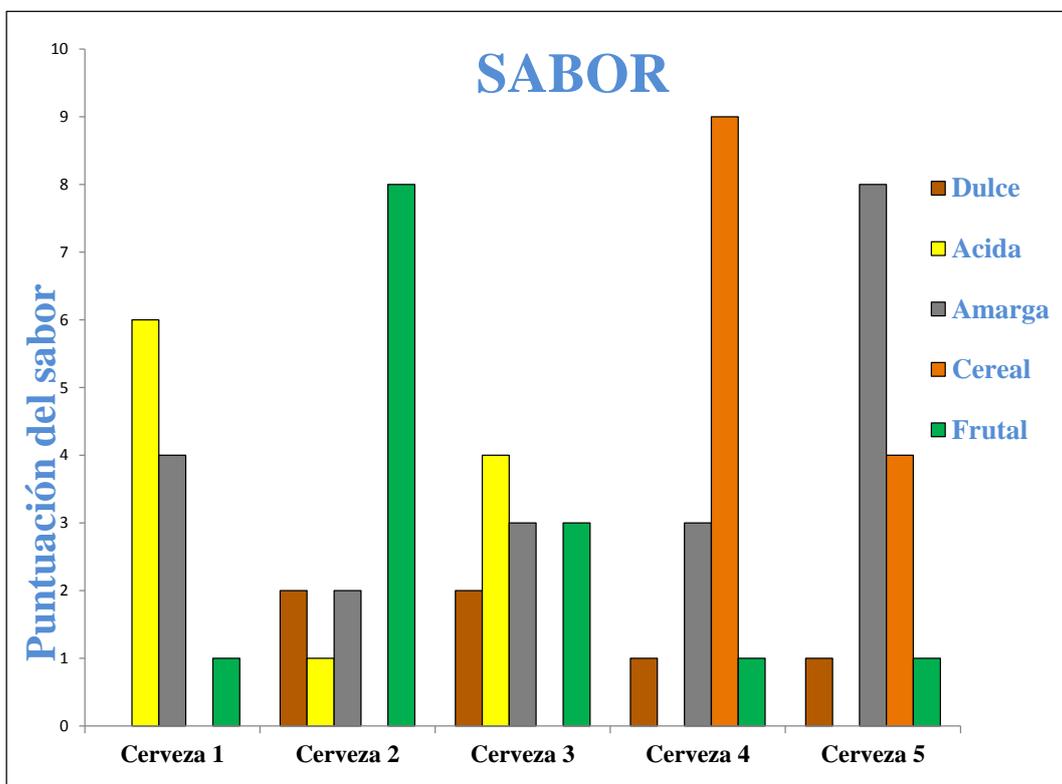


Figura 46. Puntuación del sabor.

6. CONCLUSIONES

1. Sobre dieciséis cervezas tomadas como objeto de estudio (tres grupos: Ale, Lager, Trigo) se determinaron los valores de IBU (amargor), que resultaron coincidentes con los valores de referencia.
2. Los estudios de fluorescencia sincrónica y fluorescencia convencional mostraron que la intensidad de emisión disminuye con el amargor de las cervezas (IBU como referencia).
3. La fluorescencia retardada (en presencia de iones Eu^{3+}) sólo muestra correlación entre intensidad - amargor dentro de los grupos.
4. Los tiempos de vida de la fluorescencia retardada muestra correlación entre amargor - tiempo de vida dentro de cada grupo.
5. El empleo de métodos quimiométricos permitiría clasificar las cervezas dentro de los grupos, utilizando tiempos de vida o intensidades de fluorescencia retardada.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Agu, R.C., Palmer, G.H. *A reassessment of sorghum for lager-beer brewing*. Bioresource Technology 66, 253-261. 1998.
- Alañón, A. *Nuevos métodos fotométricos y fluorimétricos de determinación de penicilinas*. Universidad Castilla – La Mancha. 1993.
- Apperson, K., Leiper, K.A., McKeown, I.P., Birch D.J.S. *Beer Fluorescence and the Insolation, Characterisation and Silica Adsorption of Haze-Active Beer Proteins*. J. Inst. Brew. 108(2), 193-199. 2002.
- ASBC Methods of Analysis. *Beer Bitterness*. Beer - 23. Consulta en Enero, 2013.
Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1094/ASBCMOA-Beer-23>
- Bamforth, C.W. *Beer: An Ancient Yet Modern Biotechnology*. Chem. Educator, 5, 102-112. 2002.
- Belitz, H.D., Grosch, W. *Química de los alimentos*. 2ª Ed. Acribia, 1997.
- Brautechnische Analysenmethoden, Band II, 4. *Bitter-Units Beer, Test 3-44*. ISBN 3-9805814-5-4, Capítel 2.18.1. 2002.
- Caballero, I., Porras, M. *Iso- α -ácidos, bitterness and loss of beer quality during storage*. Trends in Food Science & Technology, 2012.
- Christensen, J., Ladefoged, A.M., Norgaard, L. *Rapid Determination of Bitterness in Beer Using Fluorescence Spectroscopy and Chemometrics*. J. Inst. Bew. 111(1), 3-10. 2005.
- Dalglish, C.E. *Flavour stability. Proceedings of the European Brewery Convention Congress*, 623-659. 1977.

- Duarte, I., Barros, A., Belton, P.S., Righelato, R., Spraul, M., Humpfer, E., Gil, A.M. *J. Agr. Food Chem.* 50, 2475–2481, 2002.
- Duarte, I.F., Barros, A., Almeida, C., Spraul, M., Gil, A.M. *Multivariate Analysis of NMR and FTIR Data as a Potential Tool for the Quality Control of Beer.* *J. Agr. Food Chem.* 52:1031–1038, 2004.
- García Acosta, B. *Sensores químicos cromogénicos y fluorogénicos para la detección de iones y moléculas neutras.* Universidad Politécnica de Valencia. 2007.
- García Álvarez, L. B. *Beber y saber. Una historia cultural de las bebidas.* Editorial Alianza. 2005.
- García, L. A. *Biología de la Producción de Cerveza.* Universidad de Oviedo. 2013.
- Holl, J., Schweber, N. *Indiana Breweries.* Stackpote Books. 2011
- Houg, J. S. *The Biotechnology of Malting and Brewing.* Cambridge University Press, 1985.
- Howarth, L. *The Home Brewer's Recipe Database: Ingredient Information for Over Two Thousand Commercial European Beers.* iUniverse. 2004.
- Huxley, S. *La Cerveza, poesía líquida. Un manual para cervesiáfilos.* Ed. Trea. 2011.
- Insińska-Rak, M., Sikorska, E., Czerwińska, I., Kruzińska, A., Nowacka, G., Sikorski, M. *Fluorescence Spectroscopy for Analysis of Beer.* *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 57, 239-243, 2007.
- Jonson, J.E., Claverie, M., Wooton, D. *The Colour and Turbidity of Beer.* Microptix Technologies. 2010.

- Lakowicz, J.R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3^a Ed. Springer Science, 2006.
- Lovibond, J.W. *Lovibond Beer Colour Database*. 2008.
- Mauri, A., Llobat, M., Herráez, R. *Laboratorio de Análisis Instrumental*. Universidad de Valencia. 2010.
- Mosher, R. *Tasting Beer: An Insider's Guide to the World's Greatest Drink*. Storey Pub. 2009.
- Oñate-Jaén, A., Bellido-Milla, D., Hernández-Artiga, M.P. *Spectrophotometric methods to differentiate beers and evaluate beer ageing*. Analytical, Nutritional and Clinical Methods. 2004.
- Papazian, C. *Home Brewer's Gold: Prize-Winning Recipes from the 1996 World Beer Cup Competition*. Avon Books. 1997.
- Palmer, J.J. *How to Brew: Everything You Need To Know To Brew Beer Right The First Time*. Brewers Publications. 3^o Ed. 2006.
- Preedy, V.R. *Beer in Health and Disease Prevention*. Elsevier. 2009.
- Rigby, F.L., Bethune, J.L. *J. Inst. Brewing*. 61, 325. 1955.
- Rose, A. H. *Economic Microbiology: Alcoholic Beverages*, Vol. I. A. Press. 1977.
- Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Oviedo. Consulta en Enero, 2013.
Disponibile en: <http://www.sct.uniovi.es>
- Sikorska, E., Górecki, T., Khmelinskii, I.V., Sikorski, M. *J. Inst. Brew.*, 110, 267-275, 2004.

- Sikorska, E. *Analysis of vitamin B2 using front-face intrinsic beer fluorescence*. Eur. Food Res. Technol. 225:43-48. 2007.

- Sikorska, E., Górecki, T., Khmelinskii, I.V., Sikorski, M., De Keukeleire, D. *Monitoring beer during storage by fluorescent spectroscopy*. Food Chemistry. Elsevier. 2005.

- Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A. *Principios de Análisis instrumental*. 5ª Ed. McGRAW-HILL. 2001.

- Takhar, G., King, M. *Monitoring the colour and bitterness of beer*. Whitbread PLC. Patent PCT/GB95/00219[WO95/21242]. 1995.

- Tomlinson, J.B., Ormrod, I.H.L., Sharpe, F.R. *A novel method for bitterness determination in beer using a delayed fluorescence technique*. Institute of Brewing. 101, 113-118. 1995.

- Consultas web en Julio 2013:

1906 Reserva Especial:

http://www.club1906.es/es/club1906/inicios?hide_video=true&mayor=1

Guinness:

<http://www.guinness.com/es-es/thebeer-process-ingredients.html>

Samuel Adams Boston Lager:

<http://www.samueladams.com/craft-beers/boston-lager>

Paulaner:

<http://www.paulaner.es/nuestra-marca/como-se-elabora-la-cerveza-paulaner>

Selecta XV:

<http://www.sanmiguel.es/cerveza/selecta-xv>

Heineken:

<http://www.heinekenespana.es/pdfs/EI%20mundo%20de%20las%20cervezas.pdf>

8. APÉNDICES

APÉNDICE 1. Clases de malta

- Malta de cebada.

- Malta base.

Pale Malt (Reino Unido): color 2,5 – 3 SRM; extracto 81%; 100% máximo de la carga. Las cervezas Ale británicas se producen con varios tipos de cebada, cada una con toques característicos. Incluye las variedades *Maris Otter*, *Goleen Promise*, *Pipkin* y *Halcyon*. Las diferencias son sutiles, pero la *Maris Otter* es la más apreciada. Se hornea entre 95 – 105°C hasta que llega a un $\pm 3\%$ de humedad.

Mild Ale Malt (Reino Unido): color 5 – 7 SRM; extracto 80%; 100% máximo de la carga. Producida a partir de cebada *Triumph*. Se hornea a temperaturas un poco más altas para crear el sabor maltoso característico de este tipo.

Pale Malt (Bélgica): color 3,2 SRM; extracto 80%; 100% máximo de la carga. Fundamental para cervezas Ale belgas. Se hornea a temperaturas más bajas que la británica, pero durante más tiempo produciendo un sabor más maltoso y con más color.

Pilsner Malt (Alemania, Bélgica, R. Checa): color 1,2 – 2 SRM; extracto 79%; 100% máximo de la carga. Para Pilsner y Lager clásicas. Se hornea muy lentamente a 50 – 60°C antes de un tueste final a 80°C. Si no se hornea con otra malta especial, se recomienda incorporar 3 – 5% de *Acid Malt*.

Lager Malt (Reino Unido): color 1,4 – 2SRM; extracto 81%; 100% máximo de la carga. Es la equivalente británica de Pilsner. Se hornea a temperaturas más elevadas 55 – 88°C. Se recomienda añadir 3 - 5% *Acid Malt*.

Viena Malt (Alemania): color 3 - 4 SRM; extracto 80%; 100% máximo de la carga. Es la malta esencial para elaborar cervezas *Marzen* y *Oktoberfest*. Produce un color dorado y un sabor característico a malta. Se hornea a temperaturas bajas antes del tueste final a 105°C.

Munich Malt Light (Alemania): color 7 - 10 SRM; extracto 80%; 100% máximo de la carga. Se utiliza para elaborar cervezas maltosas y dulces características de Munich. Algunos cerveceros belgas y británicos la utilizan en pequeñas cantidades para intensificar el sabor a malta en otros estilos. Se empieza el proceso de horneado

cuando los granos todavía están húmedos (20%). Aumentar la temperatura gradualmente hasta 100°C permite un cierto grado de caramelización.

Munich Malt Dark (Alemania): color 20 SRM; extracto 75%; 100% máximo de la carga. Se hornea como en el caso anterior de la *Light*, pero con un tueste final de 118°C. Imprescindible para cervezas tipo Dunkel con un aroma característico.

Rauchmalz-Smoked (Alemania): color 6 - 12 SRM; extracto 80%; 100% máximo de la carga. Sólo se hace en Bamberg, para elaborar la Rauchbier, célebre cerveza ahumada de esta población. Se seca encima de fuego abierto utilizando troncos de haya. El humo impregna la malta y le da su sabor y aroma ahumado. Además de Rauchbier, es utilizada en otros países para conferir toques de humo a la cerveza.

- Maltas Crystal/Caramel

Carapils/Carafoam Malt (Alemania): color 2 SRM; extracto 77%; 15% máximo de la carga. Producida a partir de cebada primaveral de Baviera, se calienta en hornos sellados con una humedad del 50%, a temperaturas entre 65 - 80°C. El secado final se hace a 110°C y durante el tiempo necesario para que se seque sin adquirir demasiado color. Estas condiciones permiten que se macere y que se caramelizen los azúcares producidos. Esta malta ayuda a la formación y retención de espuma, da cuerpo y suaviza los sabores de la cerveza.

Carahell (Alemania): color 8 - 10 SRM; extracto 75%; 15% máximo de la carga. Se produce del mismo modo que la anterior, pero se hornea a temperaturas más altas. Se utiliza para potenciar el cuerpo de las cervezas especiales alemanas y las cervezas bajas en alcohol. Contribuye a la formación y retención de espuma.

Caravienne (Bélgica): color 20 SRM; extracto 74%; 10% máximo de la carga. Se produce de una manera parecida a *Carahell*, pero tiene más color y un sabor característico.

Crystal Malt (Reino Unido): color 10 - 120 SRM; extracto 75 - 72%; 15% máximo de la carga. En estados Unidos se denomina *Caramel Malt*. Se produce de una manera parecida a *Carapils*, pero durante más tiempo, hasta que alcanza el color deseado. Da cuerpo, un toque dulzor y sabores a caramelo, nueces, galletas, etc. Puede ser de diferentes colores, cuanto más color más intensidad de sabor. Si se la pone en las Bitter, contribuye al equilibrio de las cervezas con niveles altos de lupulización, y ahorra tiempo de maduración. También ayuda a la formación y retención de espuma.

Las variedades británicas se clasifican en Light (35 - 50 SRM), Médium (55 - 65 SRM) y Dark (65 - 90 SRM). Las americanas se clasifican en 10L, 20L, 30L, 40L, 50L, 60L, 80L y 120L (L se refiere a Lovibond, sistema antiguo, pero los valores responden a SRM).

Caramüinch (Alemania): color 55 - 70 SRM; extracto 72%; 10% máximo de la carga. Se trata de una malta de Bamberg, Alemania. Se hace de una manera parecida a la de la *Munich Malt*, pero se deja caramelizar más y se seca a temperaturas más altas. Influye mucho en el sabor y el aroma de las Lager y Ale más oscuras.

Special B (Bélgica): color 100 - 180SRM; extracto 65%; 10% máximo de la carga. Es la malta caramelizada más oscura de las que no han sido tostadas. Confiere su sabor y aroma especiales a muchas cervezas clásicas belgas, pero podría añadir sabores a otras Ale.

- Maltas especiales

Acid Malt (Alemania): color 2 - 3 SRM; extracto 60%; 10% máximo de la carga. Se utiliza para algunas Pilsener y Lager pálidas. Es una malta con *Lactobacillus*, y se añade a la carga para bajar el pH.

Amber Malt (Reino Unido): color 17 - 23 SRM; extracto 75%; 15% máximo de la carga. Se seca hasta que tiene un 3% de humedad, y se calienta rápidamente, primero hasta 95°C y luego, lentamente, hasta los 40°C. Se mantiene esta temperatura hasta conseguir el color deseado. Puede sustituir a la *Crystal Malt* en las cervezas Bitter y puede ser una adición muy interesante en las cervezas Ale oscuras, especialmente en las Porter.

Biscuit Malt (Bélgica): color 20 - 25 SRM; extracto 79%; 10% máximo de la carga. Es la malta para dar color sin dejar mucho sabor. Se utiliza en las cervezas belgas cuando interesa el color, pero sin un sabor predominante a malta, especialmente en aquellas que tiene un contenido alto de alcohol.

Aromatic Malt (Alemania, Bélgica): color 20 - 26 SRM; extracto 78%; 10% máximo de la carga. Aunque no está tostada, se la hornea a casi 115°C. Se mantiene esta temperatura hasta conseguir el color deseado. Confiere aroma y sabor a malta. Perfecta para las cervezas con un perfil fuerte de malta.

Melanoidin Malt (Alemania): color 20 - 30SRM; extracto 80%; 15% máximo de la carga. Una malta muy aromática de Bamberg, Alemania. Se puede utilizar en cualquier cerveza de color medio u oscuro.

Chocolate Malt (Reino Unido): color 400 - 450 SRM; extracto 73%; 10% máximo de la carga. Una malta muy tostada que se puede utilizar en las Brown Ale o Porter para darles color y sabores, entre ellos a chocolate. A veces se añade una pequeña cantidad a una Bitter, para ajustar el color.

Roasted Caramalt (Alemania): color 400 - 450 SR; extracto 60%; 5% máximo de la carga. Se produce tostando *Carahell Malt* a temperaturas muy altas, pero sin que se quemé. Se emplea en pequeñas cantidades en varias cervezas oscuras alemanas, especialmente las de Munich y Kulbach.

Black Malt (Reino Unido): color 500 - 550 SRM; extracto 55%; 10% máximo de la carga. Se produce tostando al máximo la *Pale Malt* británica, pero sin que se quemé. Se emplea mucho en las Scout y Porter.

- Carafa Dehusked

Carafa Special I, II, III Dehusked (Alemania): color 300 - 375, 413 - 450, 488 - 500 SRM; extracto 60%; 5% máximo de la carga. Malta tostada sin cáscara. Para poner color, evitando los sabores fuertes normalmente asociados con las maltas oscuras. Se utiliza en estilos alemanes en los que los sabores fuertes no son apropiados.

- Maltas de otros granos

Wheat Malt (Varios países): color 1,6 - 2 SRM; extracto 80 - 84%; 60% máximo de la carga. El trigo tiene el grano muy difícil de maltear por falta de cáscara, pero con muchas características útiles. Se utiliza principalmente en las Weissbier, pero se puede emplear en muchos estilos para suavizar sabores y contribuir a la formación y retención de espuma.

Caramel Wheat Malt (Alemania): color 65 - 90 SRM; extracto 72%; 15% máximo de la carga. Una malta de Baviera. Se puede utilizar en todas las cervezas alemanas de fermentación alta, para añadir cuerpo e intensificar el aroma.

Dark Wheat Malt (Varios países): color 9 - 10 SRM; extracto 84%; 60% máximo de la carga. Tiene más sabor que *Wheat Malt*. Se emplea en las Weissbier, Kolsch, Alt y otras cervezas alemanas de fermentación alta.

Roasted Wheat Malt (Alemania): color 425 - 450 SRM; extracto 55%; 2% máximo de la carga. Sólo se utiliza en cervezas alemanas de fermentación alta, como las Alt o Weissbier oscuras. Intensifica tanto el color como el sabor.

Rye Malt (Alemania): color 5 SRM; extracto 63%; 15% máximo de la carga. Para conferir a la cerveza un color rojizo y el distintivo sabor a centeno.

Roasted Rye Malt (Alemania): color 400 - 450 SRM; extracto 55%; 3% máximo de la carga. El centeno es un grano muy difícil de maltear, pero tiene un sabor especial. Se puede emplear en varios estilos de cervezas de fermentación alta.

Malted Oats (Reino Unido): color 1 SRM; extracto 80%; 5% máximo de la carga. La avena es un grano muy difícil de maltear, pero su contribución a ciertos estilos Ale, especialmente a los estilos oscuros, es importante. La avena contiene mucho aceite y confiere una textura suave. También contribuye a la formación y retención de espuma.

- Adjuntos (granos sin maltear)

Flaked Barley (cebada en copos): color 2 SRM; extracto 70%; 20% máximo de la carga. Se emplea en varias cervezas negras, especialmente las Stout, a las que confiere sabores a grano. En el caso de las cervezas claras, más del 5% podría conferirles turbidez si no se hace el descanso de proteína.

Roasted Barley (cebada tostada, casi quemada): color 450 - 600 SRM; extracto 55%; 10% máximo de la carga. Cebada sin maltear tostada al máximo; el más oscuro de todos los granos. Su sabor ligeramente amargo y quemado es apreciado en las Dry Stout. A veces se utiliza en pequeñas cantidades para el color.

Raw/Flaked Wheat (trigo natural/en copos): color 2 SRM; extracto 79%; 50% máximo de la carga. Se utiliza trigo natural en cantidades muy elevadas en cervezas Lambic. Tiene más sabor a grano que a trigo malteado. En otros estilos, se añade en porcentajes pequeños para la formación y retención de espuma. En cervezas claras, hará falta el descanso de proteína para evitar turbidez.

Torrified Wheat (trigo torrefacto): color 2 SRM; extracto 79%; 10% máximo de la carga. Se utiliza a veces en las Bitter, para que contribuya a la formación y retención de espuma, pero también se puede emplear en otros estilos con los mismos fines.

Flaked Rice (arroz en copos): color 1 SRM; extracto 70%; 10% máximo de la carga. Un adjunto muy apreciado en algunos círculos industriales por su bajo coste.

Añade alcohol y cuerpo sin afectar al sabor o al color. Contribuye a la clarificación gracias a su bajo contenido en nitrógeno.

Flaked Maize (maíz en copos): color 1 SRM; extracto 80%; 10% máximo de la carga. Muy parecido al arroz, pero puede introducir sabor a maíz.

Flaked Oats (avena en copos): color 1 SRM; extracto 80%; 10% máximo de la carga. Añade cuerpo y una textura suave. Contribuye a la formación y retención de espuma. En los estilos claros, hará falta el descanso de proteína para evitar que haya turbidez.

Flaked Rye (centeno en copos): color 2 SRM; extracto 78%; 10% máximo de la carga. Se utiliza para incorporar el sabor distintivo del centeno (Huxley, 2011).

Los extractos de malta: son mostos producidos a escala industrial y reducidos a jarabe (\pm 80% sólidos y 20% agua) o polvo (\pm 97% sólidos y 3 % agua).

APÉNDICE 2. Lista de estilos de cerveza con las IBU comunes

Estilo	IBU	Aroma
American Amber Ale	20-40	medio-alto
American Barleywine	50-100	bajo-alto
American Blond Ale	15-30	bajo-medio
American Brown Ale	25-60	bajo-alto
American Cream Ale	10-20	nada-bajo
American Dark Lager	14-20	nada-bajo
American Dry Lager	15-23	nada-bajo
American Lager	5-15	nada-bajo
American Light Lager	8-20	nada-bajo
American Pale Ale	20-40	medio-alto
American Premium Lager	13-23	nada-bajo
American Wheat Beer	10-30	variable
Bavarian Dunkelweizen	10-20	nada-bajo
Bavarian Weissbier	10-20	nada-bajo
Belgian Blond Ale	20-30	bajo
Belgian Golden Ale	25-35	bajo
Belgian Pale Ale	20-35	bajo
Belgian Speciality Ale	variable	nada-alto
Belgian Strong Dark Ale	25-40+	nada-bajo
Berliner Weisse	3-8	nada
Bière de Garde	20-35	nada-bajo
Bock	20-35	nada-bajo
Bohemian Pilsner	35-45	medio-alto
Brown Porter	20-30	bajo-medio
California Common Beer	35-45	medio-alto
Classic American Pilsener	25-40	medio-alto
Doppelbock	20-40	nada-bajo
Dortmunder Export	23-30	bajo-medio
Dry Stout	30-50	nada-bajo
Dubbel	20-35	nada-bajo
Düsseldorf Altbier	40-60	bajo-medio
Eisbock	25-50	nada
English Barleywine	50-100	bajo-alto
English Brown Ale	10-30	nada-bajo
English Mild	10-25	nada-bajo
English Ordinary Bitter	20-40	medio
English Special Bitter	20-45	medio
Flanders Red Ale	14-25	nada
Fruit Ale	variable	variable
Fruit Lambic	10-15	nada
German Pilsener	25-45	bajo-alto
Gueuze	10-15	nada
Helles Bock/Maibock	20-35	nada-bajo
Herb, Spice and Vegetable Beer	variable	variable
India Pale Ale (IPA)	40-60+	alto
Kölsch	16-30	bajo
Münchener Dunkel	20-28	nada-bajo
Münchener Helles	18-25	bajo
Northern German Altbier	25-40	nada-bajo
Oatmeal Stout	20-50	nada-bajo
Oktoberfest/Märzen	20-30	nada
English Old/Strong Ale	30-60	nada-bajo
Oud Bruin	14-25	nada-bajo
Rauchbier	20-30	nada-bajo
Robust Porter	25-45	bajo-alto
Roggenbier	10-20	nada-bajo
Russian Imperial Stout	50-90+	bajo-medio
Saison	20-45	medio
Scottish Light (60/-)	10-15	nada-bajo
Scottish Heavy (70/-)	10-20	nada-bajo
Scottish Export (80/-)	15-35	nada-bajo
Scottish Strong Ale (Wee Heavy)	20-40	nada-bajo
Schwarzbier	25-35	nada-bajo
Smoked Beer	variable	variable
Straight Lambic	10-15	nada
Sweet o Milk Stout	20-40	nada-bajo
Tripel	20-35	bajo
Vienna	20-30	nada-bajo
Weizenbock	15-30	nada
Witbier 20-40	15-22	nada-bajo

(Adaptado de Huxley, 2011)

APÉNDICE 3. Lista de variedades de lúpulo y sus características

1. Lúpulos de aroma

Ahtanum (EEUU): alfa-ácido 5,0 - 6,5%; estabilidad 30%. Un lúpulo de Washington que aporta aromas: flores, frutas cítricas y pino. Apto para American Ale.

Amarillo (EEUU): alfa-ácido 8,0 - 9,0%; estabilidad 25%. Floral y cítrico. Algo parecido al *Cascade* pero con más alfa-ácidos. Se guarda mejor.

Bramling Cross(Reino Unido): alfa-ácido 6,5 - 7,5%; estabilidad 35%. Aporta un aroma característico, afrutado (grosella y limón), pero suave, para Ale fuertes y oscuras.

Cascade (EEUU): alfa-ácido 6,0 - 6,5%; estabilidad 50%. Es un híbrido de *Fuggles* y *Serebrianker* (de Rusia). Da el toque cítrico (pomelo) tan reconocible en muchas Pale Ale de la costa oeste. Adecuado para el método *dry hopping*.

Cristal (EEUU): alfa-ácido 3,5 - 5,5%; estabilidad 50%. Es la variante más aromática de *Hallertauer Mittelfrüh*. Suave, con notas de flores y especias. Apto para muchos estilos que incluyen Pilsener, Lager, Kölsch, ESB, Alt y las Ale belgas.

East Kent Holding (Reino Unido): alfa-ácido 5,0 - 6,0%; estabilidad 35%. Constituye un grupo de variedades que incluye *Cobbs*, *Amos*, *Early Bird*, *Eastwell Holding*, *Bramling*, *Canterbury Holding* y *Mathons*. El aroma es delicado, con flores y algo de especias. Se puede encontrar en Ale inglesa: Miles, Bitter (Pale Ale), India Pale Ale, Porter y Stout. Para Bitter e IPA auténtica, se aplica el método *dry hopping*.

First Gold (Reino Unido): alfa-ácido 6,5 - 7,5%; estabilidad 12%.

Fuggles (Reino Unido y EEUU): alfa-ácido 4,0 - 4,5%; estabilidad 35%. Lúpulo suave, con aromas de fruta y hierbas. Su utilización es la misma que con *East Kent Holding*, aunque tal vez tiene más éxito en los estilos más oscuros.

Hallertauer Hersbrucker (Alemania): alfa-ácido 3,5 - 4,5%; estabilidad 25%. Originalmente limitado al distrito de Hersbruck, su cultivo se ha extendido a toda la región de Hallertau. Perfecto para todas las Lager y Ale alemanas.

Hallertauer Mittelfrüh (Alemania): alfa-ácido 5,0 - 6,0%; estabilidad 45%. Es uno de los cuatro lúpulos nobles. Se puede utilizar en todo tipo de Lager.

Liberty (EEUU): alfa-ácido 3,5 - 4,0%; estabilidad 49%. Uno de los tres lúpulos cultivado a partir del *Hallertauer Mittelfrüh*, del que comparte muchas características. Es un lúpulo suave y noble. Se puede utilizar en todo tipo de Lager.

Lubelski o LublinK (Polonia): alfa-ácido 3 - 5,0%; estabilidad 40%. La misma variedad de Saaz, pero cultivado en Polonia.

Mount Hood (EEUU): alfa-ácido 5,0 - 5,5%; estabilidad 40%. El primero de los tres lúpulos cultivado a partir del *Hallertauer Mittelfrüh* (como *Cristal* y *Liberty*). Se puede utilizar en todo tipo de Lager.

Perle (Alemania): alfa-ácido 7,5 - 8,5%; estabilidad 15%. Es un lúpulo clasificado como aromático que se utiliza para dar amargor. Aporta un amargor muy limpio y es muy polivalente, especialmente en Lager, pero se puede utilizar para Ale (Sierra Nevada Pale Ale). Con un toque a menta.

Progress (Reino Unido): alfa-ácidos 5,0 - 6,0%; estabilidad 15%. Un lúpulo polivalente que combina aroma con un nivel medio de alfa-ácido. Parecido a *Fuggles*. Se utiliza en Bitter y Pale Ale. Combina bien con *Golding*.

Saaz (Rep. Checa): alfa-ácido 3,0 - 3,5%; estabilidad 42%. Uno de los lúpulos nobles. Es el lúpulo clásico para hacer Pilsner. Su aroma y delicado amargor hacen que sea útil también para otros estilos, como en la Altbier de Dusseldorf.

Spalt Spalter (Alemania): alfa-ácido 4,5 - 5,0%; estabilidad 45%. Uno de los lúpulos nobles. Se cultiva solamente en la región de Spalt. Suave y agradable, con un toque de especias. Para Lager alemanas.

Spalt Select (Alemania): alfa-ácido 4,5 - 5,0%; estabilidad 17%. Crultivado como una versión más resistente de *Spalt Spalter*, uno de los lúpulos nobles, es una variedad delicada y de producción limitada. Se utiliza en Lager alemanas.

Strisslespalt (Francia): alfa-ácido 3,0 - 4,0%; estabilidad 35%. Cultivado en Alsacia. Es muy parecido a *Hallertauer Hersbrucker*. Sirve para todo tipo de Lager.

Styrian Goldings (Eslovenia): alfa-ácido 4,5 - 5,0%; estabilidad 30%. Realmente es un *Fuggles* transplantado a Eslovenia en 1930, cuando las variedades nativas murieron a causa del mildiu.

Tettnang (Alemania): alfa-ácido 4,0 - 5,0%; estabilidad 40%. Uno de los lúpulos nobles. Confiere amargor sin aspereza, es muy útil en cervezas muy amargas. Normalmente se utiliza en Lager y Ale alemanas.

Tradition (Alemania): alfa-ácido 5,0 - 7,0%; estabilidad 10%. Descendente cercano de *Hallertauer Mittelfrüh*, se cultiva en la región de Hallertau. Apto para todo tipo de Lager.

Willamette (EEUU): alfa-ácido 4,5 - 5,5%; estabilidad 40%. Originalmente cultivado a partir de *Fuggle*. Se puede utilizar en todo tipo de Ale.

W. G. V.-Whitbread Golding Variety (Reino Unido): alfa-ácido 7,0 - 8,0%; estabilidad 35%. Se puede utilizar en todo tipo de Ale.

Worcester Goldings (Reino Unido): alfa-ácido 4,5 - 5,5%; estabilidad 35%. Es igual que *East Kent Goldings*.

2. Lúpulos de doble finalidad

Centennial (EEUU): alfa-ácido 8,5 - 11,5%; estabilidad 37%. Perfil parecido a *Cascade*. Se combina bien con él. Utilizado sólo para dar amargor, es muy suave.

Challenger (Reino Unido): alfa-ácido 6,5 - 8,5%; estabilidad 25%. Lúpulo suave, con notas de frutas y especias. En Ale se puede utilizar solo, pero es más normal en combinación con un lúpulo aromático.

Chinook (EEUU): alfa-ácido 12,0 - 14,0%; estabilidad 20%. Desarrollado a partir de *Golding* y USDA. Se puede utilizar para el método *dry hopping*. Aporta a la cerveza un carácter a especias, pino y pomelo; para todo tipo de cervezas.

Green Bullet (Nueva Zelanda): alfa-ácido 11,0 - 13,5%; estabilidad 20%. Combina un contenido alto de alfa-ácido, con un aroma agradable de flores y pasas. Utilizado en muchos tipos de Lager en Nueva Zelanda.

Hallertauer (Nueva Zelanda): alfa-ácido 9,0 - 10,0%; estabilidad 45%. Combina un contenido alto de alfa-ácido con un aroma muy delicado. Para cualquier tipo de Lager.

Northdown (Reino Unido): alfa-ácido 8,5% - 9,5%; estabilidad 15%. Se puede utilizar solo en estilos oscuros y combina bien con *Fuggles* o *Progress*. Confiere un aroma extra, muy adecuado para Dry Stout.

Northern Brewer (Alemania): alfa-ácido 8,0 - 11,0%; estabilidad 35%. Originalmente cultivado en Gran Bretaña, ahora sólo se cultiva en Alemania y los Estados Unidos. Polivalente, se puede utilizar tanto en Ale como Lager. Empleado exclusivamente en la California Common Beer.

Nugget (EEUU): alfa-ácido 13,0 - 13,5%; estabilidad 15%. Un lúpulo con un contenido alto en alfa-ácido, es más utilizado en la caldera, pero tiene un agradable aroma de hierbas. Si sólo se desea amargor, hay que dejarlo hervir el máximo tiempo. Si no, su alto contenido de aceite dejará aroma.

Pilgrim (Reino Unido): alfa-ácido 9 - 13%; estabilidad 15%. Aroma cítrico.

Pioneer (Reino Unido): alfa-ácido 8,0 - 8,5%; estabilidad 17%. Un lúpulo de calidad, polivalente, como el *Green Bullet*. Tiene propiedades parecidas a *Northern Brewer*. Aporta aroma a pino y notas cítricas.

3. Lúpulo de amargor

Admiral (Reino Unido): alfa-ácido 11,0 - 12,0%; estabilidad 15%. Un híbrido de *Challenger* y *Northdown*, cultivado por su alto contenido de alfa-ácido y cuyo económico cultivo es apreciado. Se puede utilizar en la mayoría de los estilos británicos para dar amargor. Tiene poco aroma.

Brewers Gold (Alemania): alfa-ácido 5,0 - 6,0%; estabilidad 50%. Se utiliza en muchas Lager alemanas porque confiere amargor sin aspereza, pero se puede utilizar también en Ale. Combina muy bien con los lúpulos nobles.

Cluster (EEUU): alfa-ácido 7,0 - 7,5%; estabilidad 10. Un lúpulo clásico americano, de aroma suave que daría un amargor neutro a cualquier cerveza.

Galena (EEUU): alfa-ácido 13,0 - 14,0%; estabilidad 10%. Es el lúpulo más cultivado en los Estados Unidos; es apreciado por su alto contenido de alfa-ácido y por su cultivo económico. Es adecuado para amargar cualquier cerveza.

Herald (Reino Unido): alfa-ácido 11,0 - 12,0%; estabilidad 15%. Confiere amargor sin aspereza.

Mágnun (Alemania): alfa-ácido 12 - 14%; estabilidad 15%. Híbrido del *Hallertauer*. Apto para el amargor en muchos estilos.

Pacific Gem (Nueva Zelanda): alfa-ácido 14 - 16%; estabilidad 10%. Un lúpulo de gran contenido en alfa-ácido. Tiene un aroma agradable, con algo de madera y notas de mora.

Phoenix (Reino Unido): alfa-ácido 12 - 15%; estabilidad 10%. Desarrollado en Wye, tiene algo en común con el *Challenger*. Utilizado por su amargor y aroma.

Target (Reino Unido): alfa-ácido 10,0 - 11,0%; estabilidad 50%. Es el lúpulo más cultivado en Gran Bretaña- Se emplea mucho en cervezas comerciales de bajo amargor. Se puede utilizar en combinación con lúpulos de aroma fino, en Bitter y Pale Ale.

La estabilidad indicada en este apéndice, se refiere al porcentaje de alfa-ácido que se pierde en seis meses a 20°C (Huxley, 2011).

APÉNDICE 4. Fluorescencia Retardada

La fluorescencia a tiempo resuelto (o fluorescencia retardada) es la fluorescencia medida después de un tiempo de demora (t_d), durante el cual las especies que tienen una emisión fluorescente rápida se desactivan, permaneciendo aquellas cuya emisión es más lenta.

Se utiliza una lámpara de pulsos, cuyo funcionamiento se esquematiza en la Figura 47 adjunta. El pulso genera una intensidad de luz (I_0) que permite excitar las moléculas fluorescentes que contiene la muestra. Tras ese pulso, la intensidad de emisión de la lámpara decae (área amarilla). Las moléculas excitadas se desactivan paulatinamente (área azul). Tras un tiempo prefijado electrónicamente (t_d) se determina la intensidad de fluorescencia de las moléculas que emiten más lentamente. Esa medida se integra durante un tiempo prefijado electrónicamente (t_g) (área naranja), que tras el primer impulso las moléculas absorben cierta intensidad. Posteriormente producen una emisión con largo periodo de caída, en la que primero se observa como las moléculas emiten fluorescencia rápidamente y después se produce una fluorescencia retardada como se aprecia en la ventana de conteo (t_g) emitida durante un tiempo (t_g).

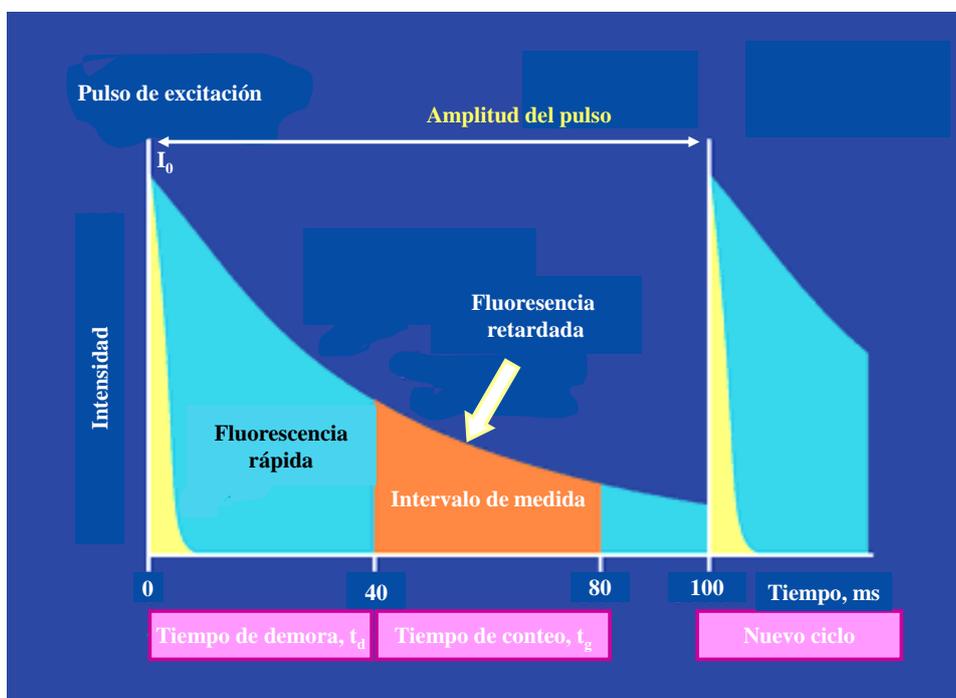


Figura 47. Fluorescencia a tiempo resuelto.

APÉNDICE 5. Cuestionario de la Cata a Ciegas

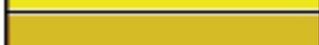
FICHA CATA DE CERVEZAS

Marque con un “X” lo que considere:

Aspecto

	C1	C2	C3	C4	C5
Opaca (no permite ver en absoluto a través de ella)					
Turbia (partículas en suspensión)					
Clara (no se aprecia partículas en suspensión)					
Cristalina y transparente					

Color

	C1	C2	C3	C4	C5
					
					
					
					
					
					
					
					
					
					

Amargor: marque la casilla según la puntuación de amargor que considere

	C1	C2	C3	C4	C5
1- Ligero					
2- Perceptible					
3- Relevante					
4- Acentuado					
5- Intenso					

Sabor

	C1	C2	C3	C4	C5
Dulce					
Ácido					
Amargo					
Cereal (Trigo malteado)					
Frutal					

Valoración Final de la Cata del 1 al 10	
Comentarios:	