



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

EVALUACION DE LA CALIDAD DE CERVEZAS TIPOS LAGER
MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELECTROQUIMICA

CASTILLO SANCHEZ ANDRES ENRIQUE
INGENIERO QUÍMICO

ESTRADA ROMERO ALEX JAVIER
INGENIERO QUÍMICO

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

EVALUACION DE LA CALIDAD DE CERVEZAS TIPOS LAGER
MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA
ELECTROQUIMICA

CASTILLO SANCHEZ ANDRES ENRIQUE
INGENIERO QUÍMICO

ESTRADA ROMERO ALEX JAVIER
INGENIERO QUÍMICO

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

TRABAJO TITULACIÓN
TRABAJO EXPERIMENTAL

EVALUACION DE LA CALIDAD DE CERVEZAS TIPOS LAGER MEDIANTE
ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELECTROQUIMICA

CASTILLO SANCHEZ ANDRES ENRIQUE
INGENIERO QUÍMICO

ESTRADA ROMERO ALEX JAVIER
INGENIERO QUÍMICO

AYALA ARMIJOS JOSE HUMBERTO

MACHALA, 22 DE SEPTIEMBRE DE 2022

MACHALA
2022

EVALUACION DE LA CALIDAD DE CERVEZAS TIPOS LAGER MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELECTROQUIMICA

INFORME DE ORIGINALIDAD

5%

INDICE DE SIMILITUD

5%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad ESAN -- Escuela de Administración de Negocios para Graduados Trabajo del estudiante	<1 %
2	repositorio.utp.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
3	repositorio.pucese.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
4	repositorio.ucv.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
5	wwwsoc.nii.ac.jp Fuente de Internet	<1 %
6	repositorio.uta.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
7	vsip.info Fuente de Internet	<1 %
8	Submitted to BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA BIBLIOTECA	<1 %

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

Los que suscriben, CASTILLO SANCHEZ ANDRES ENRIQUE y ESTRADA ROMERO ALEX JAVIER, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado EVALUACION DE LA CALIDAD DE CERVEZAS TIPOS LAGER MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELECTROQUIMICA, otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Los autores declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

Los autores como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 22 de septiembre de 2022


CASTILLO SANCHEZ ANDRES ENRIQUE
0705970895


ESTRADA ROMERO ALEX JAVIER
0707037784

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi padre, allá donde estés mi viejo, espero que estés orgulloso de mi. Dedico también este trabajo a mi madre y hermanos que me han apoyado durante este largo camino. A mi esposa Leydi y a mis hijos Samuel y Sofía.

Andrés Enrique Castillo Sánchez

A mi hijo Elías Ezequiel por ser mi motivación todos los días para seguir adelante para cumplir mis metas, A mi padre Javier Estrada por el apoyo que me brinda cada día y su gran esfuerzo, sacrificio que realizo todos los días para poder terminar mis estudios universitarios, me enseñó a seguir adelante y los consejos que me brinda cada día de mi vida. A mi madre Lupe Romero por brindarme todo su amor, esfuerzo y ser la motivación de cada día para poder culminar mis estudios universitarios, me enseñó a no rendirme y seguir mis sueños siempre. A mis hermanos (as) Adriana, Ricardo y Lupe Estrada cada consejo estoy muy agradecido por todo lo que hicieron por mí cada día. A mi abuelita Lupe Ulloa agradecer por ser como mi segunda madre el apoyo y los consejos que me ha brindado cada día. A mi abuelito Luis Romero agradecer por ser como mi segundo padre por los consejos que me brinda cada día. A mi pareja Vanessa Coello por darme mi primer primogénito, ser la dicha de ser padre y cumplir todos mis sueños y metas.

Alex Javier Estrada Romero

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi padre ya que sin su esfuerzo no podría haber llegado a ningún lado, gracias por todo lo que hiciste por mí, mi viejo. Agradezco a mi madre y hermanos por su apoyo durante este proceso. Agradezco a mi esposa por darme una maravillosa familia y por brindarme su amor y apoyo. Agradezco también a los maestros que me han formado desde la escuela hasta aquí.

Le agradezco también a mi compañero de tesis, Dr Hugo Romero y a nuestro tutor el Ingeniero Humberto Ayala por su tiempo y paciencia.

Andrés Enrique Castillo Sánchez

En primer lugar, agradecer a mi Señor Jesucristo por brindar salud, vida y tener con salud y vida mis padres, hermanos (as), familiares.

A mis padres Javier Estrada y Lupe Romero por su apoyo que me brindaron cada día de mi vida y enseñarme a nunca rendirme y esforzarme para poder cumplir mis metas y culminar mi carrera universitaria y a los docentes de la Universidad Técnica de Machala de la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud que me brindaron sus conocimientos diarios.

Le doy las gracias a mi compañero Andrés Castillo por colaborar en el trabajo de investigación, Dr Hugo Romero y a nuestro tutor Ingeniero Humberto Ayala por brindarme sus conocimientos, tiempo y paciencia.

Alex Javier Estrada Romero

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se evaluó el efecto del grado alcohólico, azúcares residuales, hidroximetilfurfural y concentración de lúpulo de cinco marcas de cerveza del tipo lager mediante la respuesta de frecuencia determinado por espectroscopia de impedancia electroquímica, también se realizó la medición de los azúcares reductores mediante el uso del espectrofotómetro UV visible. Las cervezas analizadas fueron las siguientes: “A” (estadounidense), “B” (ecuatoriana 1), “C” (ecuatoriana 2), “D” (mexicana) y “E” (amsterdams). El análisis de impedancia de las bebidas se realizó en el Potenciostato SQUIDSTAT TM PLUS el cual está equipado con el software Squidstat User Interface v2.09.28.2018 Beta. Para la realización de los análisis se contó con un electrodo de trabajo (alambre de oro), contra electrodo (alambre de platino) y electrodo de referencia (electrodo de Ag/AgCl). Según los resultados obtenidos de la impedancia de las cervezas A y E demostraron tener cierta similitud entre sus características debido a que tienen ciertas semejanzas entre su composición y grado alcohólico, además, presentan un mayor valor de impedancia comparada con las otras cervezas (B, C y D). En los grados de alcohol se realizó un análisis en el equipo para poder observar las curvas en las cervezas (A, B, C, D y E) y, se estableció una curva de calibrado utilizando una solución de 5mL de alcohol absoluto, luego se aforo hasta los 100 mL con agua destilada, el etanol se midió para hacer la relación con las cervezas y se observó que en las curvas de las cervezas A y E los puntos se unen con la curva de etanol, las cervezas B, C y D tienen menor de 5 % de la curva de etanol. Mediante la impedancia se observó presencia de azúcares residuales en la cerveza B (ecuatoriana 1), no se observó presencia del HMF por el método de impedancia y por este método también pudo observarse que la cerveza B (ecuatoriana), se aproximó a las tres son lúpulo de (0,5, 1 y 1,5).

Al realizar el análisis en el espectrofotómetro de UV visible, se observó que mientras mayor sean los grados de alcohol, mayor será el porcentaje de azúcares reductores. En el método de impedancia se observó el porcentaje de sacarosa relacionada en las cervezas tipo lager, en la cerveza B (ecuatoriana 1) la curva choca con la sacarosa, ya que esta cerveza B tiene un cierto porcentaje de esta. Utilizando el refractómetro se procedió a medir los grados Brix de cada cerveza tipo lager, también se realizó la titulación para medir el porcentaje de acidez de cada tipo de cervezas lager: la cerveza A tiene un porcentaje de acidez de 0,1488%, en la cerveza B dio un porcentaje de acidez 0,1%, en la cerveza C dio una acidez de 0,1%, en la cerveza D su porcentaje de acidez dio 0,11% y en la cerveza E salió una acidez de 0,10%; se

pudo observar que las cervezas B, C y E obtuvieron un porcentaje de acidez similar. En este presente trabajo de investigación se pudo determinar que mediante el método de EIS se logró verificar que las cervezas analizadas cumplen con los parámetros de calidad para su consumo.

Palabras claves: Impedancia, cerveza, grado alcohólico, composición, frecuencia

ABSTRACT

In the present research work, the effect of alcoholic strength, residual sugars, hydroxymethylfurfural and hop concentration of five brands of lager-type beer was evaluated by means of the frequency response determined by electrochemical impedance spectroscopy, the measurement of sugars was also carried out. reducers by using the UV visible spectrophotometer. The beers analyzed were the following: "A" (American), "B" (Ecuadorian 1), "C" (Ecuadorian 2), "D" (Mexican) and "E" (Amsterdam). The target impedance analysis was performed on the SQUIDSTAT TM PLUS Potentiostat which is equipped with the Squidstat User Interface v2.09.28.2018 Beta software. To carry out the analyses, a working electrode (gold wire), a counter electrode (platinum wire) and a reference electrode (Ag/AgCl electrode) were used. According to the results obtained from the impedance of beers A and E, they showed a certain similarity between their characteristics due to the fact that they have certain similarities between their composition and alcoholic strength, and they also present a higher impedance value compared to the other beers (B, C and D). In the degrees of alcohol, an analysis was carried out on the equipment to be able to observe the curves in the beers (A, B, C, D and E) and a calibration curve was established using a 5mL solution of absolute alcohol, then it was calibrated. up to 100 mL with distilled water, ethanol was measured to make the relationship with the beers and it was observed that in the curves of beers A and E the points join the ethanol curve, beers B, C and D have less of 5 % of the ethanol curve. Through impedance, the presence of residual sugars was observed in beer B (Ecuadorian 1), no presence of HMF was observed by the impedance method and by this method it was also observed that beer B (Ecuadorian), approached the three are hops (0.5, 1 and 1.5).

When performing the analysis in the visible UV spectrophotometer, it was observed that the higher the degrees of alcohol, the higher the percentage of reducing sugars. In the impedance method, the percentage of related sucrose in lager-type beers was observed, in beer B (Ecuadorian 1) the curve collides with sucrose since this beer B has a certain percentage of it. Using the refractometer, the Brix degrees of each lager-type beer were measured, the titration was also carried out to measure the percentage of acidity of each type of lager beers: beer A has an acidity percentage of 0.1488%, in beer B it gave an acidity percentage of 0.1%, in beer C it gave an acidity of 0.1%, in beer D its percentage of acidity gave 0.11% and in beer E an acidity of 0.10% came out; it was possible to observe that beers B, C and E obtained a similar percentage of acidity. In this present research work it was possible to determine that by means

of the EIS method it was possible to verify that the analyzed beers comply with the quality parameters for their consumption.

Keywords: Impedance, beer, alcohol content, composition, frequency

CONTENIDO

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN	III
ABSTRACT	V
ÍNDICE DE TABLAS	XI
ÍNDICE DE FIGURAS	XII
ÍNDICE DE ANEXOS	XIII
LISTA DE ABREVIATURAS	XIV
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
Objetivo general:	3
Objetivos específicos:	3
CAPÍTULO I:	4
1. MARCO TEÓRICO	4
1.1. Cerveza	4
1.2. Proceso de producción de cerveza	4
1.2.1. Molienda.	4
1.2.2. Maceración.	5
1.2.3. Cocción.	5
1.2.4. Filtrado.	5
1.2.5. Fermentación.	5
1.3. Tipos de Cerveza Según su fermentación	6
1.3.1. Tipo Ale	6
1.3.2. Tipo Lager.	6
1.4. Calidad de Cerveza	7
1.4.1. Evaluación Sensorial.	7
1.4.2. Evaluación Físicoquímica.	7
1.4.3. Etanol.	8
1.4.4. 5-Hidroximetil furfural.	8
1.5. Componentes Orgánicos de la Cerveza	8
1.5.1. Polifenoles y Flavonoides.	8
1.6. Lúpulo	9
1.6.1. Tipos de Lúpulo.	11
1.6.2. Oxidación del lúpulo	11
1.7. Espectroscopía de Impedancia	12

1.7.1.	Electrodos.	13
1.7.2.	Aplicaciones de la Espectroscopía de Impedancia	14
1.8.	Espectroscopía UV visible	14
1.8.1.	Aplicaciones de la espectroscopía UV-Vis	14
CAPÍTULO II:		16
2.	METODOLOGIA	16
2.1.	Tipo de investigación	16
2.2.	Localización de la Investigación	16
2.2.1.	Área de investigación.	17
2.3.	Materiales, Reactivos y Equipos	17
2.3.1.	Materiales	17
2.3.2.	Reactivos	17
2.3.3.	Equipos	18
2.4.	Toma de muestra para análisis de cervezas.	18
2.5.	Metodología para análisis de cervezas tipo lager mediante Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIS)	18
2.5.1.	Descripción del equipo	18
2.5.2.	Determinación de etanol.	19
2.5.3.	Determinación de Sacarosa	19
2.5.4.	Determinación de Hidroximetilfurfural.	20
2.6.	Metodología para medición de pH a las cervezas tipo lager.	20
2.7.	Metodología para determinación de azúcares reductores en cervezas tipo lager mediante Espectrofotómetro UV visible.	21
2.8.	Metodología para determinación de acidez de cervezas tipo lager mediante titulación.	21
CAPÍTULO III:		22
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
3.1.	Comparación del etanol con las cervezas tipos lager	22
3.2.	Comparación de las cervezas tipo lager vs HMF	23
3.3.	Comparación de lúpulo en porcentaje relacionando con las cervezas tipo lager	26
3.4.	Determinación de sacarosa en las cervezas tipo lager.	27
3.5.	Determinación de los azúcares reductores en las cervezas tipo lager.	28
3.6.	Determinación del porcentaje de acidez en las cervezas tipo lager.	29
3.7.	Comparación de las caracterizaciones de los tipos de cervezas lager	31
CAPÍTULO IV:		32
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	32
	Conclusiones.	32

Recomendaciones.	33
BIBLIOGRAFÍA	34
ANEXOS	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2. Resultados de la impedancia para la curva de calibrado de las cervezas vs HMF	24
Tabla 3. Concentración de sacarosa vs valores de impedancia	27
Tabla 4. Caracterización de las cervezas de tipo lager.	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 flor de lúpulo que expone las glándulas de lupulina	9
Figura 2 Estructuras moleculares de cohumulona, humulona, adhumulona, colupulona, lupulona y adlupulona.	10
Figura 3 Estructuras químicas de algunos componentes de resina blanda, ácidos amargos α y β , y productos de oxidación (peroxidación natural).	12
Figura 4 Modelo de Biosensor amperométrico con sensores de Au, Pt y Ag/AgCl.	14
Figura 5 Laboratorios de la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud.	16
Figura 6. Etanol vs cervezas tipo lager.	22
Figura 7. Confiabilidad del método de detección de etanol mediante Espectroscopía de impedancia electroquímica.	23
Figura 8. HMF vs Cervezas tipo lager.	23
Figura 9. Curva de calibrado y ecuación de la recta para determinación de HMF en cervezas.	24
Figura 10. lúpulo vs cervezas tipo lager	25
Figura 11 Sacarosa vs cervezas tipo lager.	26
Figura 12. Curva de calibrado y ecuación de la recta para concentración de sacarosa vs valores de impedancia.	27

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Cervezas tipo lager de mayor consumo a nivel nacional	39
Anexo 2. Electroodos (Platino, Oro y Ag/Agcl)	39
Anexo 3. Análisis de la cerveza en el potencióstato.	40
Anexo 4. Lúpulo	40
Anexo 5. Dilución del lúpulo para su posterior lectura mediante espectrometría de impedancia electroquímica.	41
Anexo 6. Sacarosa.	41
Anexo 7. Hidroximetilfurfural.	42
Anexo 8. Medición del pH en las cervezas tipo lager.	42
Anexo 9. Resultados de la lectura de las muestras en el espectrofotómetro de UV visible.	43
Anexo 10. Calentamiento de las muestras para medir los niveles de azúcares reductores.	43

LISTA DE ABREVIATURAS

EIS	Espectroscopía de Impedancia Electroquímica
HMF	Hidroximetilfurano
Ca	Calcio
K	Potasio
Mg	Magnesio
CO ₂	Dióxido de carbono
Cl	Cloro
Au	Oro
Pt	Platino
NaOH	Hidróxido de sodio
nm	Nanómetro
mL	Mililitro
μL	microlitro
g	Gramo
UV	Ultravioleta
Ω	Ohmio
SuperCias	Superintendencia de compañías, valores y seguro.
PC	Componentes principales
DNS	Ácido Dinitrosalicílico

INTRODUCCIÓN

La cerveza se ha venido consumiendo por más de 6000 años, desde entonces se ha convertido en una parte básica de la dieta en muchas culturas, por su valor nutricional mayor que otras bebidas ¹. Esta bebida alcohólica debido a sus minerales, ácidos orgánicos, vitaminas, proteínas y demás componentes se utiliza como refresco y en algunos casos con objetivos medicinales ².

La cerveza es una bebida fermentada hecha de granos malteados (generalmente cebada), lúpulo, levadura y agua. Contiene una composición compleja donde principales componentes de la cerveza son agua, etanol y carbohidratos, que comprende azúcares fermentables (es decir, fructosa, glucosa, maltosa) así como oligosacáridos de glucosa. Los azúcares fermentables contribuyen directamente a la dulzura de cerveza, mientras que carbohidratos pueden ser beneficiosas para la percepción de la cerveza, ya que contribuyen al cuerpo o sensación en la boca ³.

La composición compleja de la cerveza disminuye de la calidad después del envasado, y es una preocupación principal porque el sabor, que es la huella dactilar de la cerveza puede ser influenciada por muchos factores que se deterioran poco a poco con el tiempo. El rendimiento de las matrices de sensores voltamétricos de electrodos modificados compuestos por sustancias químicas, puede ser mejorado, introduciendo este concepto en el desarrollo de biosensores. En particular, existen biosensores que han sido utilizado en matrices multisensor para la detección de fenoles y polifenoles. Estos compuestos antioxidantes tienen una importante influencia en las características organolépticas de las cervezas ⁴.

Los resultados recientes indican que los polifenoles de la cerveza pueden producir efectos beneficiosos para la salud, los compuestos fenólicos de la cerveza muestran una buena actividad antioxidante, especialmente los radicales hidroxilos altamente reactivos involucrados en los procesos de peroxidación de lípido ⁵. Además, la cerveza puede jugar un papel activo en la prevención de la enfermedad de Alzheimer y otros trastornos relacionado.

Adicionalmente se sabe que las cervezas contienen una amplia variedad de compuestos fenólicos que se originan de las materias primas en su respectiva elaboración ⁶. Entre estos compuestos fenólicos, los flavonoles son de interés para el cervecero ⁷. Además,

los flavanoles son buenos indicadores de la calidad de la cerveza y puede dar advertencias anticipadas de problemas de la planta o del producto ⁸. Por lo tanto, el análisis de estos compuestos es de gran importancia en la elaboración y evaluación de la calidad de las cervezas ⁹.

La espectroscopia de impedancia es muy buena para medir la concentración de iones de hidrógeno dentro de las diferentes cervezas y los antioxidantes que se oxidan y se reducen a otras sustancias químicas, una cerveza con más trigo en su composición se dice que puede producir mayor contenido de polifenoles ¹⁰.

Los métodos tradicionales de análisis son costosos, de larga duración de tiempo y destructivos por lo cual se considera importante desarrollar métodos alternativos que sean más rápidos y económicos como lo es la Espectroscopía de Impedancia Electroquímica la cuál es relativamente nueva y ha demostrado una gran versatilidad en el análisis de alimentos y bebidas.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar la calidad de las cervezas tipo lager mediante la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica para su caracterización química

Objetivos específicos:

- Determinar el efecto del tipo de lúpulo en la cerveza.
- Caracterización físico-químico de la cerveza.
- Cuantificar el porcentaje de azúcar residual presente en las cervezas tipo lager.

CAPÍTULO I:

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Cerveza

Es una bebida muy compleja y está compuesta por agua (más del 90%), alcoholes resultantes del proceso de fermentación (aproximadamente 5,0% de etanol y 0,5% de glicerol), carbohidratos derivados de la malta de cebada (principalmente dextrinas no fermentables y α - glucanos), minerales (cationes como magnesio, potasio, sodio y calcio; y aniones como cloruro, sulfato, nitrato y fosfato), solubles en agua ¹¹.

Un estilo de patrón de cerveza se basa en muchos factores, sin embargo, se describe como la fermentación de hidratos de carbono por medio de la levadura en ausencia de oxígeno, dando como resultado la producción de alcohol y dióxido de carbono que se puede realizar a bajas o altas temperaturas, utilizando un mosto elaborado con agua y adición de lúpulos que otorgan características físico-químicas y bacteriológicas apropiadas. La cerveza contiene vitaminas del complejo B, pequeñas cantidades de ciertos minerales, como Ca^{+2} , K^+ y Mg^{+2} , y una amplia gama de polifenoles, que ayudan a mantener la salud y tienen efectos protectores contra las enfermedades cardiovasculares ¹².

1.2. Proceso de producción de cerveza

1.2.1. Molienda.

Este proceso consiste en desmenuzar el grano de malta, se elimina la cascara o envoltura y, se tritura toda la malta hasta obtener una harina bien fina, esto ayuda a que la maceración sea mucho más fácil ¹³.

Se podría resumir a la molienda como:

- No debe contener granos enteros.
- Todas las cascara deben estar fuera del grano.
- La cascarilla no debe intervenir en el almidón.

1.2.2. Maceración.

Esta fase es muy importante para su proceso de obtención, puesto que aquí se extra la malta, y una elevada dosis de su extracto con una buena calidad, en relación con el tipo de cerveza que se dese realizar. El almidón que se encuentra en la malta será transformado en azúcares mediante bioquímicos naturales y procesos enzimáticos. Aquí es donde la malata molida se mezcla con agua a temperaturas de entre (60-70 °C), así mismo esto depende del tipo de cerveza que se desea realizar ¹⁴.

1.2.3. Cocción.

En este proceso se realiza la esterilización del mosto, depende en gran medida la estabilidad de almacenamiento de la cerveza, durante el proceso de pasteurización térmica se asegura la estabilidad microbiológica, la pasteurización también se asocia con algunos efectos perjudiciales en la cerveza propiedades sensoriales y coloidales. Se sabe que el tratamiento térmico durante la pasteurización acelera la proceso de envejecimiento de la cerveza, incluido un aumento del color, disminución del amargor, desarrollo de un sabor rancio y otros deterioros de la calidad ¹⁵.

1.2.4. Filtrado.

Permite la separación de partículas sólidas contenidas en el mosto; estas contribuyen a sabores no deseados, lo que harán que la cerveza se dañe; esto se realiza mediante un medio filtrante (puede ser tela, cedazo, filtro) donde se van a depositar los sólidos ¹⁶.

1.2.5. Fermentación.

Esta fase es muy importante dentro de la producción de cerveza, ya que es aquí donde ocurre el crecimiento de la levadura, obteniendo alcohol y dióxido de carbono a partir de la fermentación del azúcar contenido en el mosto. La fermentación dura entre 5-20 días dependiendo del tipo de cerveza que estás realizando. Las cepas de levadura más usadas son *Saccharomyces cerevisiae* (cerveza negra, ale y porter) y *Saccharomyces uvarum* (lager cervezas); sin embargo, también se han utilizado cepas de levadura no convencionales ¹⁷.

En la fermentación de la cerveza, el factor que limita los niveles de biosíntesis de etanol a menudo se reconoce como la disponibilidad de nutrientes. La concentración de nitrógeno asimilable (nitrógeno amino libre - FAN) parece ser un factor clave en la fermentación de mostos de alta densidad. Las sustancias nitrogenadas determinan tanto la mejora del rendimiento de las levaduras y su tolerancia al etanol ¹⁸.

1.3. Tipos de Cerveza Según su fermentación

La fermentación espontánea carecen de levaduras para su fermentación ya que los microorganismos que existen en él realizan el proceso por sí solos. Además, en su receta también se puede sustituir el lúpulo por frutas.

1.3.1. Tipo Ale

Las cervezas Ale presentan una gran ventaja, el tiempo de fermentación que va de 1-2 semanas y generalmente no necesita maduración. Del tipo Ale la conforman varios estilos: Stout, Pale Ale, Weisse, Barley, Porter, Lambic, Weizen ¹⁹.

1.3.2. Tipo Lager.

Las de baja fermentación (0 y 4°C) se nombran lager. Se las llama así por su origen alemán el cual significa almacenar aluyendo a como se mantenían estas en profundos depósitos o en las cavernas frías en donde desarrollaban su característico sabor y aromas. Las cervezas del tipo lager están conformadas por los siguientes estilos: Pilsen, Ice Beer, Bock, Draft, Marzen, Rauch, Dry. Las de alta fermentación (13 a 20°C) o llamadas Ale, se las conoce por su origen inglés y por su antigüedad. La mayoría se caracterizan por su ligereza, olor prominente a lúpulo y mayor contenido alcohólico (4 a 5 %) ¹⁷.

1.4. Calidad de Cerveza

1.4.1. Evaluación Sensorial.

Para asegurar la calidad de las materias primas y de los productos terminados, el análisis sensorial debe ser una herramienta obligatoria. Es un método para evaluar la calidad de la cerveza utilizando solo los sentidos de un individuo donde evalúan constantemente la frescura, la calidad, la artesanía, equilibrio, conformidad con el estilo o la marca y

bebibilidad; dicho trabajo no es fácil debido a que La cerveza se compone de más de 800 sustancias químicas compuestos provenientes de diferentes materias primas (malta, levadura, agua y lúpulo), y muchos de ellos se forman durante la maduración y el almacenamiento ²⁰.

1.4.2. Evaluación Fisicoquímica.

Se evalúan la calidad de la cerveza con base en los siguientes criterios: color, contenido de alcohol, turbidez, espuma (retención, adherencia), perfil de sabor y estabilidad, junto con el contenido de CO₂. Entre estas características, la espumación de la cerveza parece ser el atributo más importante debido a que por medio de ella se logra las propiedades organolépticas de las cervezas; en especial debe prestar atención a la formación de turbidez y la estabilidad de la espuma por ser las principales características de calidad directamente relacionadas con el contenido y el peso molecular de proteínas presentes en las cervezas ²¹.

El consumo de oxígeno durante la fermentación es importante para la levadura principalmente como un oligoelemento que estimula la formación de esteroides y ácidos grasos no saturados que forman parte de la estructura de las membranas biológicas; sin embargo, una cantidad excesiva de oxígeno disuelto en el medio puede conducir a procesos negativos: un aumento en la potencial redox; el predominio de la actividad respiratoria de la levadura sobre la capacidad de fermentación; aumento significativo de la biomasa; síntesis en concentraciones elevadas de subproductos y productos de fermentación que afectan negativamente las características organolépticas de la cerveza; reducir el durabilidad de la bebida terminada ²².

1.4.3. Etanol.

La calidad de las bebidas alcohólicas (licores, licores, cerveza, vino), los alimentos y la pulpa deben controlarse mediante métodos analíticos firmes para la determinación de etanol. Hay varios procedimientos convencionales disponibles para la detección de etanol, como refractometría, colorimetría, valoraciones redox, cromatografía y técnicas espectroscópicas ²³.

El contenido de etanol es uno de los elementos más importantes de la cerveza y se utiliza para garantizar la autenticidad de la cerveza, por lo tanto, el desarrollo de métodos analíticos que permiten una rápida y eficaz detección de etanol en la cerveza es muy necesaria ⁷.

1.4.4. 5-Hidroximetil furfural.

El 5-hidroximetilfurfural (HMF) ha aumentado el interés debido a su amplia presencia en los alimentos como contaminante neoformado. Las fuentes principales de HMF correlacionado significativamente en la dieta son: el café, los productos de la panadería, los cereales del desayuno, los jugos, la cerveza, leche UHT y productos de tomate ²⁴.

1.5. Componentes Orgánicos de la Cerveza

1.5.1. Polifenoles y Flavonoides.

El conocimiento sobre la caracterización de los compuestos fenólicos en las materias primas, así como en todas las etapas de elaboración de la cerveza, es importante en la elaboración de cerveza, ya que los polifenoles influyen en la formación de la turbidez, el color, el amargor y la astringencia de la cerveza, la estabilidad de la espuma y el estado redox ²⁵.

En algunos tipos de cerveza, como las lagers, la manifestación de notas fuertes de lúpulo y amargor que origina los polifenoles es indeseable. La polimerización de compuestos fenólicos en polifenoles se produce durante la ebullición y la fermentación, Los polifenoles de bajo peso molecular aumentan el poder de reducción de la cerveza, mientras que cuando los monómeros de polifenoles o fenoles simples reaccionan con las proteínas, no se forma turbidez ²⁶.

La astringencia se produce cuando los polifenoles de gran peso molecular reaccionan con las proteínas ricas en prolina que se encuentran en la saliva. Tras su interacción, se precipitan sobre la superficie de la boca, lo que conduce a la sensación de sequedad de la capa. Por lo general la gama de moléculas que provocan respuestas amargas es muy amplia; por ejemplo, la reactividad de los flavanoles con iones metálicos y oxígeno molecular da como resultado polímeros de flavanoles ²⁶.

La cerveza es una bebida rica en compuestos fenólicos derivados del lúpulo (30%) y la malta (70-80%). Se ha descrito que su contenido de ácido fenólico varía de 3 a 12 mg/L y su contenido de polifenoles totales y de 74 a 256 mg/L en 34 cervezas lager diferentes elaboradas en varias ubicaciones ¹⁷.

Los antioxidantes y polifenoles asociados a un bajo contenido alcohólico determinan la función calidad nacional de las cervezas. Numerosas investigaciones evidenciaron que la cerveza que contiene altas concentraciones de flavonoides puede tener propiedades antiinflamatorias y propiedades antioxidantes ²⁷.

1.6. Lúpulo

El lúpulo (*Humulus lupulus* L.) es una planta trepadora perenne del familia de las cannabáceas ²⁸, los conos de lúpulo glándulas de lupulina contienen el total de resinas y aceites esenciales como se aprecia en la Figura 1, además principalmente se compone de celulosa, lignina, agua, proteínas, monosacáridos, pectinas, aminoácidos, lípidos y cera ²⁹.

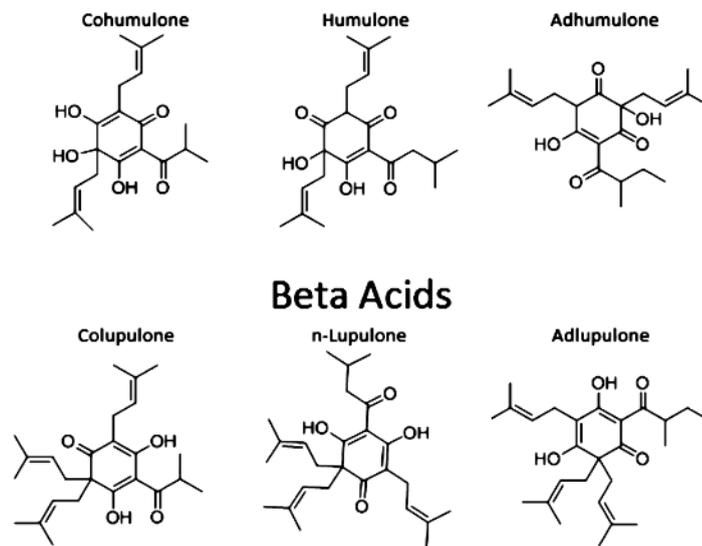
Figura 1 flor de lúpulo que expone las glándulas de lupulina



Fuente: ²⁹.

Su inflorescencia es valiosa no sólo porque contienen ácidos amargos (conocidos como α -ácido/humulonas y β -ácidos/lupulonas) las cuales se observan en la Figura 2, pero también aceites esenciales y polifenoles, utilizados en la industria cervecera, el lúpulo es el principal responsable del aroma y sabor de la cerveza, y la estabilidad microbiana y del sabor. Se puede colocar durante el proceso de ebullición (kettle hopping), al remolino (late hopping), y también durante la fermentación o maduración (dry hopping), solo para mejorar el rendimiento amargo o los aromas en la cerveza ³⁰.

Figura 2 Estructuras moleculares de cohumulona, humulona, adhumulona, colupulona, lupulona y adlupulona.



Fuente: ³¹

El rendimiento de los ácidos α aumenta con el tiempo de ebullición, mientras que la mayoría de los compuestos volátiles se pierden por evaporación. Los polifenoles del lúpulo también pueden contribuir positivamente a la calidad del sabor de la cerveza al mejorar la sensación en la boca e incluso la estabilidad del almacenamiento ³¹.

1.6.1. Tipos de Lúpulo.

La cerveza de alta calidad con sabor amargo característico y aroma se obtiene solo con el uso de lúpulo y productos de lúpulo que contiene una determinada composición bioquímica. Al mismo tiempo, la eficiencia de extracción, isomerización y transformación de numerosos compuestos de lúpulo separados en el proceso de hervir el mosto de la cerveza es muy importante ³².

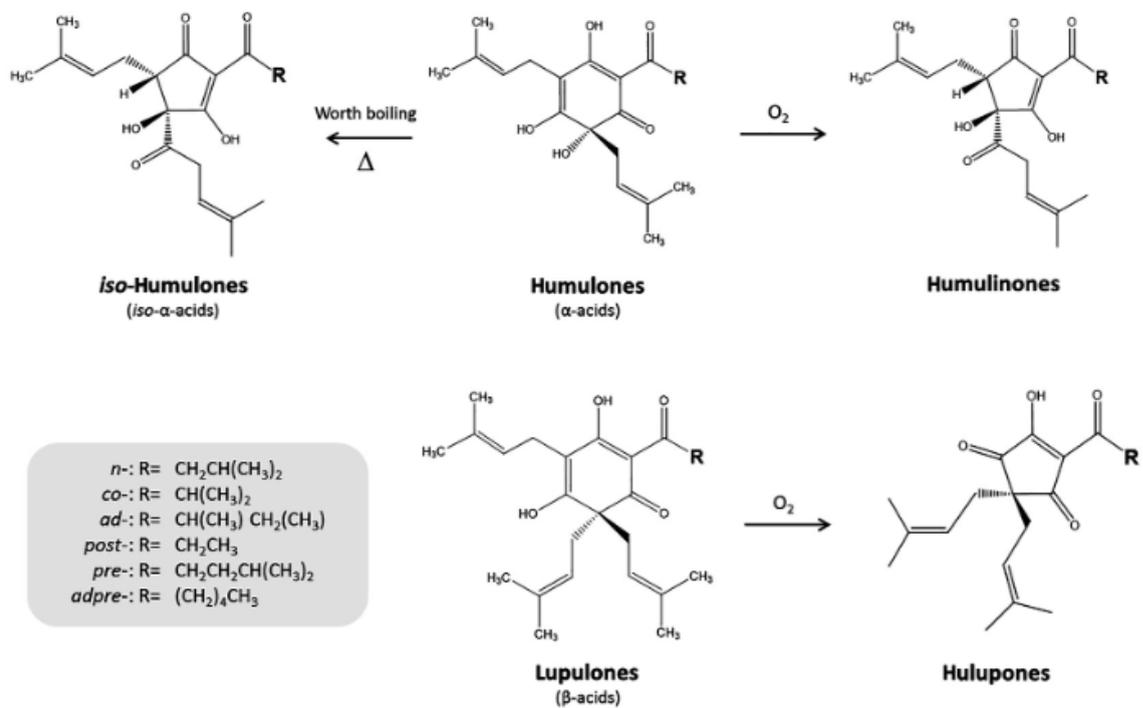
1.6.2. Oxidación del lúpulo

Las humulinonas y los hulupones son dos grupos importantes compuestos que se forman por oxidación de ácidos α y β respectivamente (ver Figura 2), tienen un gran potencial de amargor, aunque menos amargos que los iso- α -ácidos, son más polares, por lo tanto, más solubles en la cerveza; por lo tanto presentan un impacto significativo en

el amargor de la cerveza a pesar que los β -ácidos se consideran prácticamente irrelevantes para la industria cervecera ²⁹.

La oxidación ocurre en una tasa mucho más lenta, pero la tasa aumenta cuando se deja envejecer el lúpulo en un ambiente cálido. Los β ácidos preoxidados son insolubles en el mosto por lo tanto, los β -ácidos no se tienen en cuenta al calcular el amargor (IBU) de una cerveza ³¹

Figura 3 Estructuras químicas de algunos componentes de resina blanda, ácidos amargos α y β , y productos de oxidación (peroxidación natural).



Fuente: ²⁹.

1.7. Espectroscopía de Impedancia

La espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS) es una poderosa técnica de caracterización que estima la función de transferencia entre corriente y potencial. Para medir la EIS, un sistema de características electroquímicas es sometido a un voltaje sinusoidal pequeño (modo potenciostático) o perturbación actual (modo galvanostático) para un conjunto dado de frecuencias y, concomitantemente, registra la respuesta sinusoidal de corriente o voltaje resultante ³³.

Cabe señalar que, para que el EIA sea significativo, las condiciones de estabilidad y linealidad debe cumplirse la causalidad.

- El sistema de características electroquímicas necesita ser estable, porque si cambia con el tiempo también $Z(f)$
- Es crítico que la perturbación sea lineal: si la amplitud de la perturbación sinusoidal aplicada es suficientemente pequeña, entonces la respuesta será una senoide de la misma frecuencia.
- Se requiere causalidad: la corriente (o tensión) medida debe ser el resultado directo de la tensión (o actual) perturbación aplicada.

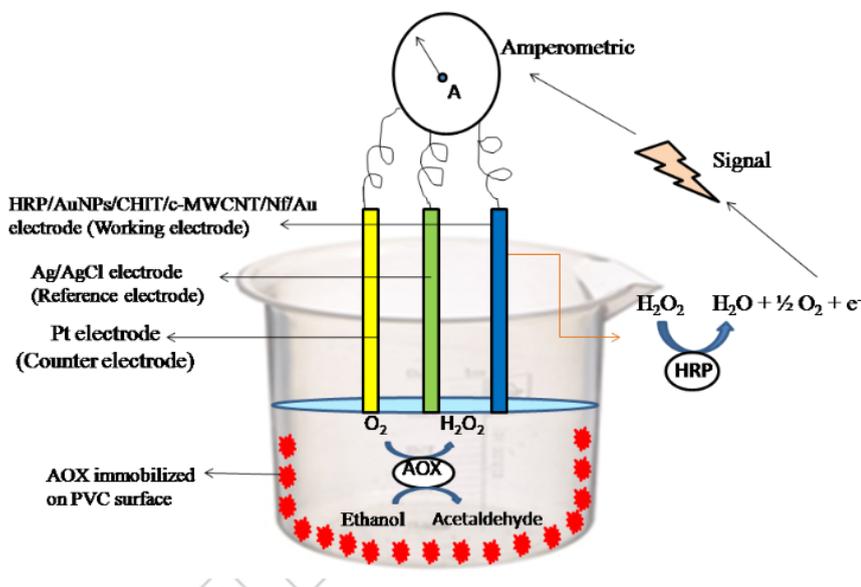
1.7.1. *Electrodos.*

1.7.1.1. *Electrodo de Oro (Au), Platino (Pt) y Plata-Cloruro de Plata (Ag/AgCl).*

Los electrodos son un componente importante para formar un completo celda electroquímica para análisis de analitos ³⁴ (ver figura 4).

- **Electrodo de trabajo:** El electrodo de trabajo es el electrodo donde se controla el potencial y donde se mide la corriente. Para muchos experimentos de electroquímica física, el electrodo de trabajo es un material "inerte" como el oro, el platino o el carbono vítreo ³⁴.
- **Electrodo de referencia:** El electrodo de referencia no está implicado en el proceso de oxidación reducción. En la mayor parte de las aplicaciones electroanalíticas es deseable que el potencial de uno de los electrodos sea conocido, constante y completamente insensible a la composición de la solución en estudio. Ésta es la función del electrodo de referencia, controlar en todo momento el potencial de la disolución. En nuestro caso el electrodo de referencia es de AgCl que consiste en un electrodo de plata sumergido en una disolución de cloruro de potasio que ha sido saturada de cloruro de plata ³⁴.
- **Contra electrodo:** El contraelectrodo es de acero inoxidable, igual que el electrodo de trabajo. En los ciclos de oxidación reducción pueden depositarse en el contraelectrodo sales de litio procedentes del electrolito ³⁴.

Figura 4 Modelo de Biosensor amperométrico con sensores de Au, Pt y Ag/AgCl.



Fuente: ²³

1.7.2. Aplicaciones de la Espectroscopía de Impedancia

Para el análisis de analitos en la calidad de los alimentos se logra mediante métodos de electroanálisis tales como amperometría, potenciometría, voltametría y espectroscopia de impedancia ³⁴.

1.8. Espectroscopía UV visible

La espectroscopía UV-Vis es un método de espectroscopia molecular sensible que utiliza luz ultravioleta y visible en el rango de longitud de onda de 200 a 780 nm, este método espectroscópico se basa en las propiedades de absorción, dispersión, difracción, refracción y reflexión de la muestra que se analiza. La absorción de luz UV y Visible está limitada a ciertos grupos funcionales moleculares llamados cromatóforos, donde los electrones se excitan a diferentes frecuencias³⁵.

1.8.1. Aplicaciones de la espectroscopía UV-Vis

El desarrollo e implementación de estos métodos espectroscópicos en el campo del análisis de alimentos se basan en la interacción entre la materia y la luz dando lugar a

eventos característicos de absorción, emisión y dispersión de la muestra. En el análisis de alimentos, estas aplicaciones se basan en una variedad de métodos y técnicas espectroscópicos que aprovechan diferentes rangos de longitud de onda. Por lo tanto, en función de la medición de absorbancia, la presencia y concentración de analitos en la matriz alimentaria se puede identificar y cuantificar en función de sus propiedades químicas y físicas³⁵.

CAPÍTULO II:

2. METODOLOGIA

12.1. Tipo de investigación

En este trabajo presente se realizó una investigación tipo experimental con diferentes parámetros que son permitidos de ser modificados y a su vez para poder controlarlos, emplearlos en un análisis respectivo en el laboratorio.

12.2. Localización de la Investigación

La presente investigación se realizó en los laboratorios de Biotecnología dentro de la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud que pertenece a la Universidad Técnica de Machala (ver Figura 5).

Figura 5 Laboratorios de la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud.



Fuente: Google Maps

21.2.1. Área de investigación.

Esta investigación se realizó en el periodo junio-agosto 2022 en el laboratorio de Electroquímica de la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud, perteneciente a la Universidad Técnica de Machala.

12.3. Materiales, Reactivos y Equipos

21.3.1. Materiales

- Balones volumétricos de 50,100, 1000 ml
- Pipetas volumétricas de 10 ml
- Vaso de precipitación de 50 ml
- Espátula
- Varilla de vidrio de agitación
- Piseta
- Electrodo de Ag/AgCl, Oro y Platino
- Soporte de Electroodos
- Celda Electroquímica de 3 electrodos (cuarzo)
- Cocineta
- Pastilla de agitación
- Lúpulo
- Luna de reloj

21.3.2. Reactivos

- Agua destilada
- Sacarosa
- Alcohol absoluto
- DNS
- Fenolftaleína
- Hidróxido de sodio

21.3.3. Equipos

- Balanza analítica (Radwag AS 220 X2)
- Medidor de Ph digital

- Potenciostato (SQUIDSTATTM PLUS) está equipado con un software Squidstat User Interface v2.09.28.2018 Beta
- Espectrofotómetro UV visible
- Potenciometro BOECO BT675
- Refractometro

12.4. Toma de muestra para análisis de cervezas.

Se procedió a tomar las muestras de las cervezas tipo lager A (estadounidense), B (ecuatoriana 1), C (ecuatoriana 2), D (mexicana) y E (amsterdams), se consideró estas cervezas como consumo regular a nivel nacional según la SuperCias.

12.5. Metodología para análisis de cervezas tipo lager mediante

Espectroscopia de Impedancia Electroquímica (EIS)

21.5.1. Descripción del equipo

21.5.1.1. *Celda electroquímica Stand VA 747*: Usar una celda de 25 ml donde se realiza las medidas de corriente y potencial desde un sistema de electrodo.

21.5.1.2. *Electrodo de referencia de Ag/AgCl*: es un electrodo que tiene un material sintético con un diagrama de cerámica y contiene como relleno de KCl con concentración de 3 mol/L.

21.5.1.3. *Contraelectrodo*: es un tipo de electrodo auxiliar compuesto por un alambre de platino.

21.5.1.4. *Electrodo de trabajo*: se utilizó un electrodo con una punta de oro.

21.5.2. Determinación de etanol.

Se preparó una solución de 100 mL de alcohol absoluto al 5% v/v, posteriormente se colocó una muestra de 25 ml en la celda de cuarzo para realizar la impedancia por medio del potenciostato ³⁶.

21.5.3. Determinación de Sacarosa

Se preparó una solución de sacarosa a 10000 ppm en un balón volumétrico de 50 mL.

Dilución de la sacarosa.

- *Dilución 1 de la sacarosa a 5000 ppm:* De la solución madre (sacarosa a 10000 ppm) se procedió a medir 25 mL de muestra y luego aforamos con agua destilada en un balón de 50 mL, posteriormente se procedió a agitar la muestra, luego en la celda electroquímica se vertió 25 mL de muestra y se realizó la lectura en el Potenciostato.
- *Dilución 2 de la sacarosa a 2500 ppm:* De la dilución 1 se procedió a medir 25 mL de muestra y luego aforamos en un balón de 50ml con agua destilada, luego se tomó 25 mL de muestra en la celda electroquímica y se realizó la lectura con el equipo.
- *Dilución 3 de la sacarosa a 1250 ppm:* Se tomó 12,5 ml de muestra de la dilución anterior para realizar la dilución 3 y luego aforamos en un balón volumétrico de 50ml con agua destilada, se vertió 25ml de muestra en la celda electroquímica y se realizó la lectura con el equipo.
- *Dilución 4 de la sacarosa a 625 ppm:* La dilución 4 resultó de tomar 6,25ml de muestra de la dilución 3 y aforar en un balón volumétrico de 50ml con agua destilada, para luego verter 25ml en la celda electroquímica para realizar la lectura en el equipo Potenciostato.

21.5.4. Determinación de Hidroximetilfurfural.

Se procedió a pesar 1 g de sacarosa, luego se colocó en un vaso de precipitación y se colocó 40 mL con agua desionizada para luego calentar en una cocineta eléctrica por unos 30 min hasta que el agua comienza a evaporar dejando un residuo color marrón, se retiró y colocó 20 ml de agua desionizada³⁷.

- *Solución 1:* Se preparó la solución con 10 mL de muestra, y agua desionizada en relación 1:1, luego se procedió a colocar la muestra en la celda electroquímica, se realizó las curvas en el equipo Potenciostato.
- *Solución 2:* Se procedió a tomar una alícuota de 10 ml de la dilución anterior y se agregó 10ml de agua desionizada, se procedió colocar la muestra en la celda electroquímica con 20 ml de muestra preparada y se realizó las curvas en el equipo Potenciostato.
- *Solución 3:* Se procedió a tomar 10 ml de la dilución anterior y nuevamente se aforó con 10ml de agua desionizada, se procedió colocar la muestra en la celda electroquímica con 20 ml de muestra preparada y se realizó las curvas en el equipo.
- *Solución 4:* Se procedió a tomar 10 ml de la dilución 3 y se aforó con 10ml de agua des ionizada, luego se procedió a colocar la muestra en la celda electroquímica con 20 ml de muestra preparada y se realizó las curvas en el Potenciostato.
- *Solución 5:* Se procedió a tomar 10ml de muestra de la dilución 4 y 10ml de agua desionizada, se procedió colocar la muestra en la celda electroquímica con 20 ml de muestra preparada y se realizó las curvas en el equipo Potenciostato.

12.6. Metodología para medición de pH a las cervezas tipo lager.

Se procedió a medir el pH de cada muestra de cerveza en el Potenciómetro BOECO BT675.

12.7. Metodología para determinación de azúcares reductores en cervezas tipo lager mediante Espectrofotómetro UV visible.

Se procedió medir con la micropipeta 250 µl de cada cerveza tipo lager y se vertió en tubos de ensayos, luego se colocó 250 µl del reactivo DNS en las muestras y se añadió 2,5ml de agua desionizada y se procedió a calentar por 5 min a 100 °C después se vertió la muestra en la celda de cuarzo para ser llevada al equipo espectrómetro con una longitud de onda de 540 nm. En otro tubo de ensayo se preparó 250 µl del reactivo DNS y se añadió 2,5ml de agua desionizada para el “blanco”. Para calcular los azúcares reductores presentes se utilizó la siguiente ecuación³⁸:

$$Y = 672,05 x + 21,46$$

(1)

12.8. Metodología para determinación de acidez de cervezas tipo lager mediante titulación.

Para realizar la caracterización de la acidez en la cerveza se procedió a titular una alícuota de 10 mL de muestra (bebida alcohólica) con una solución de 25 mL de Hidróxido de Sodio (NaOH) al 0.1N. Como indicador se utilizó 3 gotas de fenolftaleína.

El porcentaje de acidez se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ acidez} = \frac{(\text{ml NaOH consumidos})(0,1N)(\text{acido predominante})}{\text{ml de muestra}} * 100$$

(2)

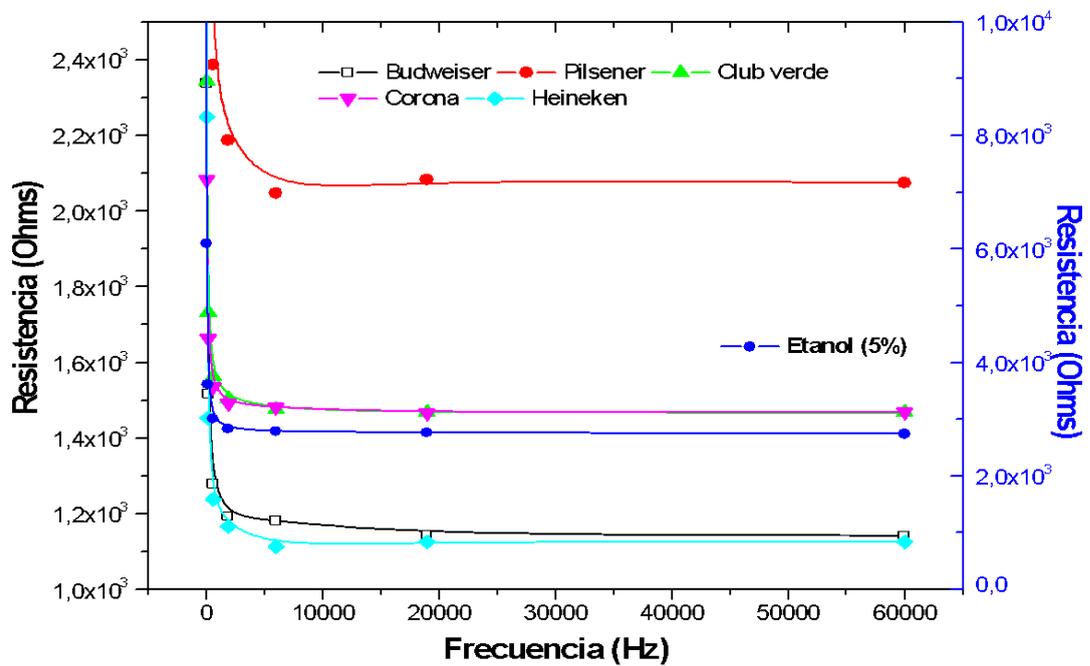
CAPÍTULO III:

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

13.1. Comparación del etanol con las cervezas tipos lager

Se preparó una solución con una concentración de etanol al 5% que se relacionó con las otras curvas de las cervezas tipo lager.

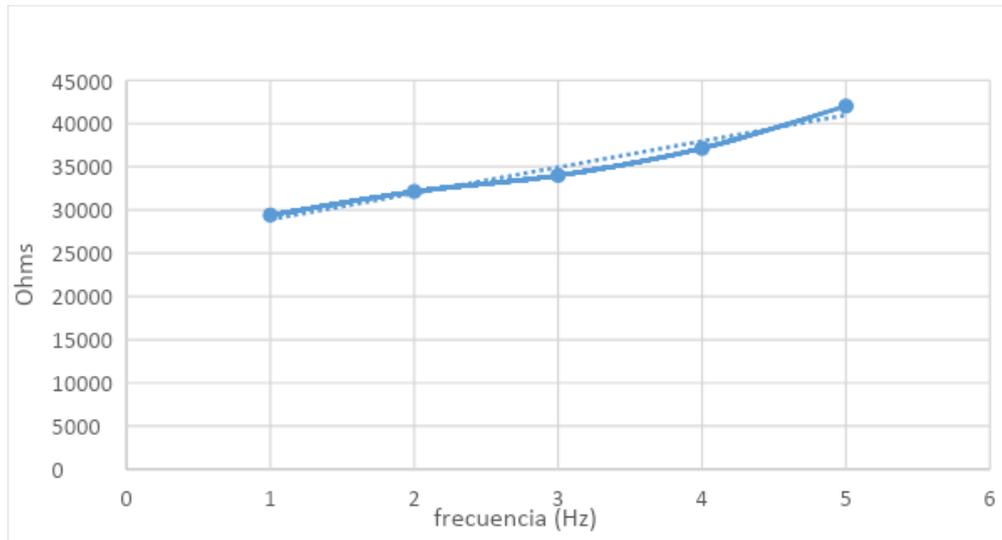
Figura 6. Etanol vs cervezas tipo lager.



Fuente: Elaboración Propia

En la figura 6 se observa que las curvas de color turquesa que pertenece a la muestra E (amsterdams) y la curva de color negro A (estadounidense) se asemejan ya que estas contienen 5 grados de alcohol. Las curvas del color rosado perteneciente a la muestra D (mexicana) y la curva de color verde caña C (ecuatoriana 2) presentan una similitud de en sus curvas ya que estas contienen porcentajes similares de alcohol (4,5 y 4,3 respectivamente). La curva de color rojo B (ecuatoriana 1) un menor porcentaje de alcohol con respecto a las otras bebidas. Posteriormente se realizó una curva de calibración y se observa una alta confiabilidad (96.7%) del método³⁶.

Figura 7. Confiabilidad del método de detección de etanol mediante Espectroscopía de impedancia electroquímica.



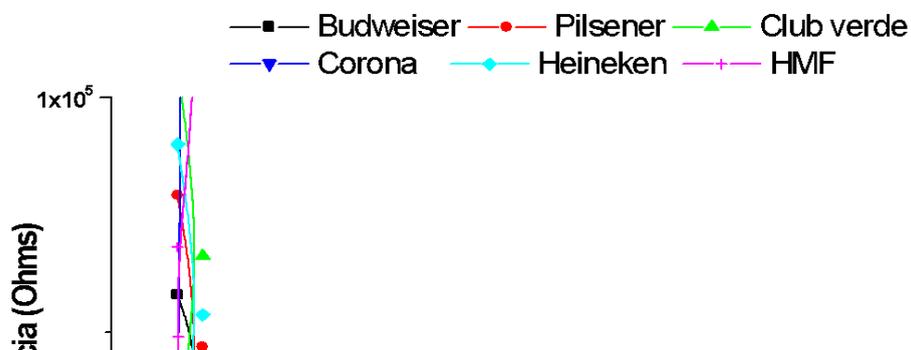
Fuente: Elaboración Propia

En la figura 7 se observa la curva de espectroscopía de impedancia electroquímica para la detección de etanol, cuyo coeficiente de determinación (R^2) tiene un valor de 0.9686 que indica la confiabilidad del método. El estudio de los datos fue realizado en Microsoft Excel 2010.

13.2. Comparación de las cervezas tipo lager vs HMF

La figura 8 nos muestra una gama de resultados en las cervezas tipo lager presenta una gran diferencia en sus curvas de las siguientes cervezas A (color negro), B (color rojo), C (color verde caña), D (color azul), E (color turqués) y el HFM (color rosado) no hay presencia de significativa de HFM en las cervezas tipos lager presentaron ²⁴

Figura 8. HMF vs Cervezas tipo lager.



Fuente: Elaboración Propia

En la figura 8 se muestra que para las muestras de cerveza rubia pálida es importante el Hidroximetilfurfural (HMF). Es un compuesto que tiene un marcador conocido del envejecimiento de la cerveza ya dado que estas muestras de cervezas tipo lager parecen tener un contenido alto y son más propensas al envejecimiento rápido que otros estilos de cerveza y pueden ser más deteriorado que el de otras cervezas cuyo contenido de HMF se encuentra más bajo³⁷.

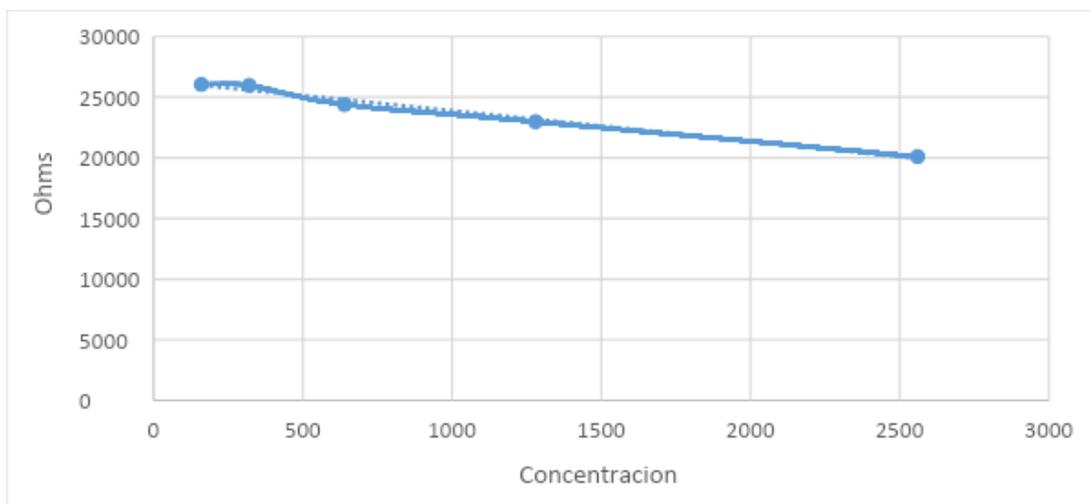
Tabla 2. Resultados de la impedancia para la curva de calibrado de las cervezas vs HMF

ppm	Frecuencia
2560	20100
1280	22980
640	24390
320	25970
160	26050

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla 2 se muestra los resultados obtenidos por medio de la impedancia electroquímica realizada en el calibrado de la curva cervezas vs HMF.

Figura 9. Curva de calibrado y ecuación de la recta para determinación de HMF en cervezas.



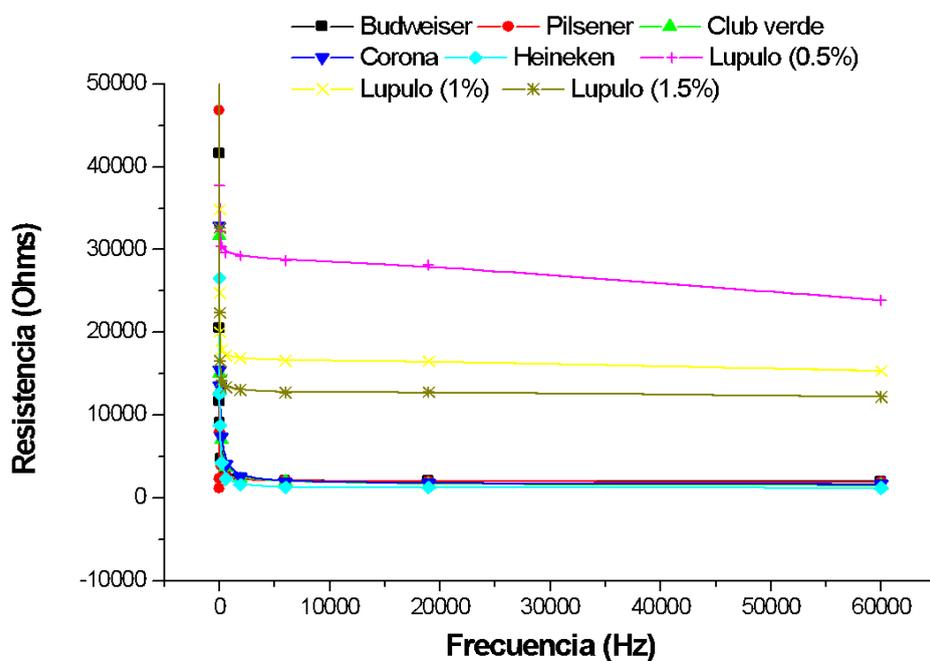
Fuente: Elaboración Propia

En la figura 9 se observa la curva obtenida por medio del programa Microsoft Excel, para la determinación de HMF en las cervezas tenemos un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9852 que índice una confiabilidad del método.

13.3. Comparación de lúpulo en porcentaje relacionando con las cervezas tipo

lager

Figura 10. lúpulo vs cervezas tipo lager

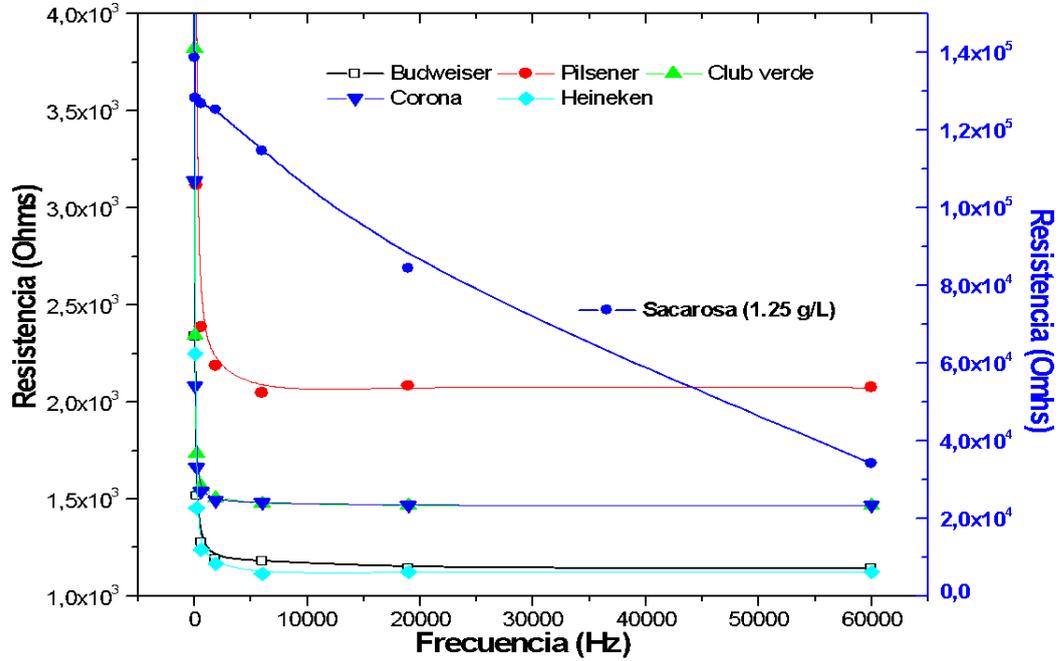


Fuente: Elaboración Propia

En la figura 10 se observa que en la curva de las cervezas C (ecuatoriana 2) y D (mexicana) (verde caña y azul respectivamente), tienen una similitud con el lúpulo 1 y 1,5 ya que son cervezas tipo lager, en la cerveza A (color rojo) tiene similitud con el lúpulo 0,5 y en la cerveza C (ecuatoriana 2), E (amsterdamés) y D (mexicana) tienen similitud con el lúpulo 1 y 1, 5²⁹.

13.4. Determinación de sacarosa en las cervezas tipo lager.

Figura 11 Sacarosa vs cervezas tipo lager.



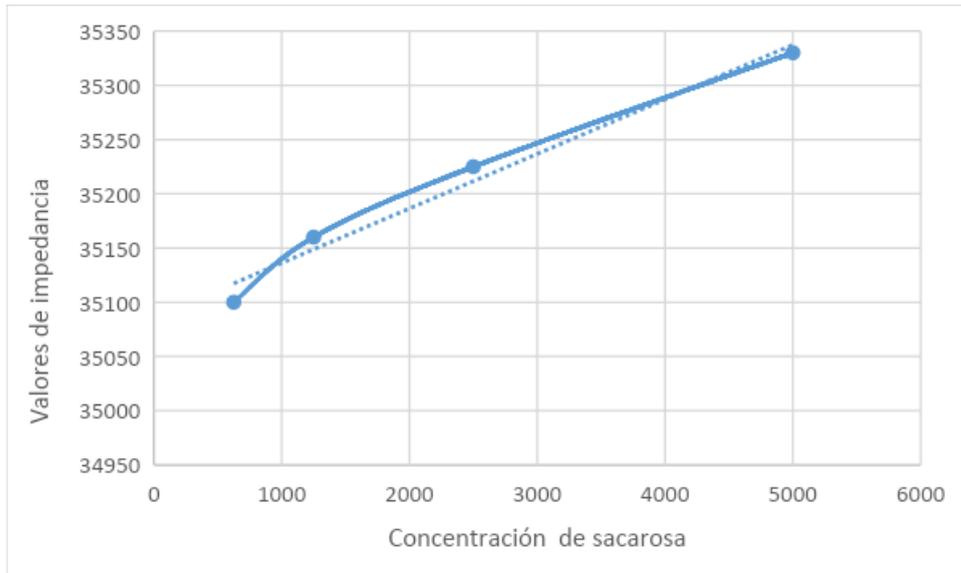
Fuente: Elaboración Propia

En la figura 11 se logra comparar las espectrospía de impedancia los resultados son representados como diagramas de Bode plot en la Fig. 9, donde se puede observar que la curva de la sacarosa y la curva de cerveza Pilsener se chocan, no sólo se muestra la influencia de la temperatura sino también el efecto de un cambio en el contenido de sacarosa disuelta o cristalina, así como un aumento en el ion contenido³⁹.

Tabla 3. Concentración de sacarosa vs valores de impedancia

Ppm	Ohms
5000	35330
500	35225
1250	35160
625	35100

Figura 12. Curva de calibrado y ecuación de la recta para concentración de sacarosa vs valores de impedancia.



13.5. Determinación de los azúcares reductores en las cervezas tipo lager.

Se procedió a calcular el porcentaje de azúcar residual utilizando la Ec. 1, se tomó las muestras y se colocó en el reactor uv. visible. con los resultados obtenido del análisis.

$$\text{Cerveza A} = 1,130 - 0,091 = 1,039$$

$$672,05 x = 21,46 - 1,039$$

$$672,05x = 20,421$$

$$x = 32,90$$

$$\text{Cerveza B} = 0,858 - 0,091 = 0,767$$

$$672,05 x = 21,46 - 0,767$$

$$672,05x = 20,693$$

$$x = 30,547$$

$$\text{Cerveza c} = 1,310 - 0,091 = 1,219$$

$$672,05 x = 21,46 - 1,219$$

$$672,05x = 20,241$$

$$x = 33,20$$

$$\text{Cerveza } d = 1,525 - 0,091 = 1,435$$

$$672,05 x = 21,46 - 1,219$$

$$672,05x = 20,025$$

$$x = 33,56$$

$$\text{Cerveza } e = 1,446 - 0,091 = 1,435$$

$$672,05 x = 21,46 - 1,4$$

$$672,05x = 20,105$$

$$x = 33,56$$

13.6. Determinación del porcentaje de acidez en las cervezas tipo lager.

Se procedió a calcular el porcentaje de acidez utilizando la ecuación. 2

Cerveza A

$$\% \text{ acidez} = \frac{(4,8\text{ml})(0,1)(0,031015)}{10\text{ml de muestra}} * 100$$

$$\% \text{ acidez} = 0,14188\%$$

Cerveza B

$$\% \text{ acidez} = \frac{(3,5\text{ml})(0,1)(0,031015)}{10\text{ml de muestra}} * 100$$

$$\% \text{ acidez} = 0,1085\%$$

Cerveza C

$$\% \text{ acidez} = \frac{(3,3\text{ml})(0,1)(0,031015)}{10\text{ml de muestra}} * 100$$

$$\% \text{ acidez} = 0,1023\%$$

Cerveza D

$$\% \text{ acidez} = \frac{(3,6\text{ml})(0,1)(0,031015)}{10\text{ml de muestra}} * 100$$

$$\% \text{ acidez} = 0,1116\%$$

Cerveza E

$$\% \text{ acidez} = \frac{(3,4\text{ml})(0,1)(0,031015)}{10\text{ml de muestra}} * 100$$

$$\% \text{ acidez} = 0,1054\%$$

Al verificar los valores obtenidos, podemos observar que mientras más ácida es la muestra, mayores son los grados de alcohol presentes en las bebidas

13.7. Comparación de las caracterizaciones de los tipos de cervezas lager

Tabla 4. Caracterización de las cervezas de tipo lager.

Parámetros	A	B	C	D	E
pH	3,547	3,538	3,623	3,523	3,782
° Brix	5	4,3	4,5	5,2	5
Azúcares reductores					
(g/L)	0,39	0,24	0,33	0,4	0,4
Acidez (%)	0,1488	0,1	0,1	0,11	0,,10
° GL	5	4,2	4,5	4,5	5

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla 4, la caracterización se centra en las agrupaciones relacionadas con los estilos de cerveza y la tendencia relacionada con el contenido de alcohol, grados brix, azúcares reductores (g/l) y pH son componentes principales (PC) más significativos.

CAPÍTULO IV:

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones.

- La espectroscopia de impedancia electroquímica ha demostrado ser un método rápido y confiable para evaluación de la concentración de los diferentes componentes de las cervezas y de esta forma determina la calidad, para este método es necesario electrodos de platino (contraelectrodo), oro (trabajo) y Ag/AgCl (referencial).
- Se pudo establecer que todos los componentes de las cervezas (lúpulo, etanol, azúcares e HMF) sufren una ligera reducción de la concentración de sus componentes, lo cual se evidenció al compararlos con la curva de calibrado de los diferentes analitos.
- Los Bode plot de las diferentes curvas del lúpulo en las distintas concentraciones 1 y 1,5 coincidieron con los puntos de las curvas de las cervezas C y D demostrando que contienen una mayor concentración similares a las de la curva de lúpulo, evidenciados que las otras muestras se encuentran en concentración de lúpulo menor a 1%
- La concentración de azúcares reductores en todas las muestras estudiadas indica que se encuentran en concentraciones residuales menores a 0.4 g/l y solidos solubles alrededor de 5° Brix

Recomendaciones.

Utilizar sustancias derivatizantes para poder obtener resultados similares.

Es recomendable utilizar el método espectroscopia de impedancia electroquímica ya que es rápido, económico y eficiente ya que esta técnica a demostrado ser versátil en análisis de alimentos y bebidas.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Grossi, M.; Lecce, G. Di; Toschi, T. G.; Riccò, B. Fast and Accurate Determination of Olive Oil Acidity by Electrochemical Impedance Spectroscopy. *IEEE Sens. J.* **2014**, *14* (9), 2947–2954. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2014.2321323>.
- (2) Baiano, A.; Terracone, C. Physico-Chemical Indices, Iso-Alpha-Acid, Phenolic Contents and Antioxidant Activity of Commercial Beers. *J. Food Res.* **2013**, *2* (4), 107. <https://doi.org/10.5539/jfr.v2n4p107>.
- (3) Nogueira, L. C.; Silva, F.; Ferreira, I.; Trugo, L. C. Separation and Quantification of Beer Carbohydrates by High-Performance Liquid Chromatography with Evaporative Light Scattering Detection. *J. Chromatogr. A* **2005**, *1065* (2), 207–210. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.12.074>.
- (4) Ghasemi-Varnamkhasi, M.; Rodríguez-Méndez, M. L.; Mohtasebi, S. S.; Apetrei, C.; Lozano, J.; Ahmadi, H.; Razavi, S. H.; Antonio de Saja, J. Monitoring the Aging of Beers Using a Bioelectronic Tongue. *Food Control* **2012**, *25* (1), 216–224. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.020>.
- (5) Hiralal, L.; Olaniran, A. O.; Pillay, B. Aroma-Active Ester Profile of Ale Beer Produced under Different Fermentation and Nutritional Conditions. *J. Biosci. Bioeng.* **2014**, *117* (1), 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2013.06.002>.
- (6) Blakey, R. T.; Morales-Partera, A. M. Microwave Dielectric Spectroscopy – A Versatile Methodology for Online, Non-Destructive Food Analysis, Monitoring and Process Control. *Eng. Agric. Environ. Food* **2015**, *9* (3), 264–273. <https://doi.org/10.1016/j.eaef.2016.02.001>.
- (7) Cinti, S.; Basso, M.; Moscone, D.; Arduini, F. A Paper-Based Nanomodified Electrochemical Biosensor for Ethanol Detection in Beers. *Anal. Chim. Acta* **2017**, *960*, 123–130. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.01.010>.
- (8) Schweikert, N.; Hofmann, A.; Schulz, M.; Scheuermann, M.; Boles, S. T.; Hanemann, T.; Hahn, H.; Indris, S. Suppressed Lithium Dendrite Growth in Lithium Batteries Using Ionic Liquid Electrolytes: Investigation by Electrochemical Impedance Spectroscopy, Scanning Electron Microscopy, and in Situ ⁷Li Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *J. Power Sources* **2013**,

228, 237–243. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2012.11.124>.

- (9) Chiriaco, M. S.; De Feo, F.; Primiceri, E.; Monteduro, A. G.; De Benedetto, G. E.; Pennetta, A.; Rinaldi, R.; Maruccio, G. Portable Gliadin-ImmunoChip for Contamination Control on the Food Production Chain. *Talanta* **2015**, *142*, 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.04.040>.
- (10) Amouzadeh Tabrizi, M.; Jalilzadeh Azar, S.; Nadali Varkani, J. Eco-Synthesis of Graphene and Its Use in Dihydronicotinamide Adenine Dinucleotide Sensing. *Anal. Biochem.* **2014**, *460* (May), 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2014.05.002>.
- (11) Cortese, M.; Gigliobianco, M. R.; Peregrina, D. V.; Sagratini, G.; Censi, R.; Di Martino, P. Quantification of Phenolic Compounds in Different Types of Crafts Beers, Worts, Starting and Spent Ingredients by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2020**, *1612*, 460622. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460622>.
- (12) Rani, H.; Bhardwaj, R. D. Quality Attributes for Barley Malt: “The Backbone of Beer.” *J. Food Sci.* **2021**, *86* (8), 3322–3340. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15858>.
- (13) Baranowski, M.; Jackowski, M.; Pawlak-kruczek, H.; Trusek, A.; Systems, E. Beer Malt Explosion Parameters. *XXIV Int. Symp. Combust. Process.* **2019**, 150–151. <https://doi.org/10.6084/M9.FIGSHARE.9890117>.
- (14) Bertuzzi, T.; Mulazzi, A.; Rastelli, S.; Donadini, G.; Rossi, F.; Spigno, G. Targeted Healthy Compounds in Small and Large-Scale Brewed Beers. *Food Chem.* **2020**, *310*, 125935. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125935>.
- (15) Štulíková, K.; Bulíř, T.; Nešpor, J.; Jelínek, L.; Karabín, M.; Dostálek, P. Application of High-Pressure Processing to Assure the Storage Stability of Unfiltered Lager Beer. *Molecules* **2020**, *25* (10). <https://doi.org/10.3390/molecules25102414>.
- (16) Alves, V.; Gonçalves, J.; Figueira, J. A.; Ornelas, L. P.; Branco, R. N.; Câmara, J. S.; Pereira, J. A. M. Beer Volatile Fingerprinting at Different Brewing Steps. *Food Chem.* **2020**, *326*, 126856. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126856>.

- (17) Vazquez-Cervantes, G. I.; Ramirez Ortega, D.; Blanco Ayala, T.; Pérez de la Cruz, V.; González Esquivel, D. F.; Salazar, A.; Pineda, B. Redox and Anti-Inflammatory Properties from Hop Components in Beer-Related to Neuroprotection. *Nutrients* **2021**, *13* (6). <https://doi.org/10.3390/nu13062000>.
- (18) Kucharczyk, K.; Zyla, K.; Tuszyński, T. Control of Selected Fermentation Indices by Statistically Designed Experiments in Industrial Scale Beer Fermentation. *Czech J. Food Sci.* **2020**, *38* (5), 330–336. <https://doi.org/10.17221/291/2019-CJFS>.
- (19) Bonatto, D. The Diversity of Commercially Available Ale and Lager Yeast Strains and the Impact of Brewer's Preferential Yeast Choice on the Fermentative Beer Profiles. *Food Res. Int.* **2021**, *141* (January), 110125. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110125>.
- (20) Habschied, K.; Krstanović, V.; Mastanjević, K. Beer Quality Evaluation—A Sensory Aspect. *Beverages* **2022**, *8* (1). <https://doi.org/10.3390/beverages8010015>.
- (21) Patraşcu, L.; Banu, I.; Bejan, M.; Aprodu, I. Quality Parameters of Fruit Beers Available on Romanian Market. *Sci. Study Res. Chem. Chem. Eng. Biotechnol. Food Ind.* **2018**, *19* (3), 323–335.
- (22) Permyakova, L. V.; Kiseleva, T. F.; Sergeeva, I. Y. Influence of the Yeast Aeration Method on the Quality Characteristics of Beer. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* **2021**, *640* (2). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/2/022034>.
- (23) Hooda, V.; Gahlaut, A.; Hooda, V. A Novel Amperometric Biosensor for Rapid Detection of Ethanol Utilizing Gold Nanoparticles and Enzyme Coupled PVC Reaction Cell. *Environ. Technol. (United Kingdom)* **2021**, *42* (21), 3318–3328. <https://doi.org/10.1080/09593330.2020.1726472>.
- (24) Viegas, O.; Prucha, M.; Gökmen, V.; Ferreira, I. Parameters Affecting 5-Hydroxymethylfurfural Exposure from Beer. *Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.* **2018**, *35* (8), 1464–1471. <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1483584>.
- (25) Šibalić, D.; Planinić, M.; Jurić, A.; Bucić-Kojić, A.; Tišma, M. Analysis of Phenolic Compounds in Beer: From Raw Materials to the Final Product. *Chem. Pap.* **2021**, *75* (1), 67–76. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01276-1>.

- (26) Habschied, K.; Košir, I. J.; Krstanovi, V.; Kumri, G.; Mastanjević, K. Beer Polyphenols—Bitterness, Astringency, and Off-Flavors. *Beverages* **2021**, *7* (38), 1–14. <https://doi.org/10.3390/beverages7020038>.
- (27) Muscolo, A.; Marra, F.; Salafia, F.; Andronaco, P.; Di Sanzo, R.; Carabetta, S.; Russo, M. Bergamot and Olive Extracts as Beer Ingredients: Their Influence on Nutraceutical and Sensory Properties. *Eur. Food Res. Technol.* **2022**, *248* (8), 2067–2077. <https://doi.org/10.1007/s00217-022-04031-w>.
- (28) Iannone, M.; Ovidi, E.; Vitalini, S.; Laghezza Masci, V.; Iriti, M.; Tiezzi, A.; Garzoli, S.; Marianelli, A. From Hops to Craft Beers: Production Process, VOCs Profile Characterization, Total Polyphenol and Flavonoid Content Determination and Antioxidant Activity Evaluation. *Processes* **2022**, *10* (3), 1–15. <https://doi.org/10.3390/pr10030517>.
- (29) Machado, J. C.; Faria, M. A.; Ferreira, I. *Hops: New Perspectives for an Old Beer Ingredient*; Elsevier Inc., 2019. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816689-5.00010-9>.
- (30) Gerhards, S.; Talaverano, M. I.; Andrés, A. I.; Sánchez-Vicente, C.; Lozano, J.; García-Latorre, C.; Petró, M. J.; Rodrigo, S. Different Dry Hopping and Fermentation Methods: Influence on Beer Nutritional Quality. *J. Sci. Food Agric.* **2021**, *101* (7), 2828–2835. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10912>.
- (31) Schindler, R.; Sharrett, Z.; Perri, M. J.; Lares, M. Quantification of α -Acids in Fresh Hops by Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography. *ACS Omega* **2019**, *4* (2), 3565–3570. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00016>.
- (32) Bober, A.; Liashenko, M.; Protsenko, L.; Slobodyangyuk, N.; Matseiko, L.; Yashchuk, N.; Gunko, S.; Mushtruk, M. BIOCHEMICAL COMPOSITION OF THE HOPS AND QUALITY OF THE FINISHED BEER. *Slovak J. Food Sci. Potravin.* **2020**, *14*, 307–317. <https://doi.org/10.5219/1311>.
- (33) Ciucci, F. Modeling Electrochemical Impedance Spectroscopy. *Curr. Opin. Electrochem.* **2019**, *13*, 132–139. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2018.12.003>.
- (34) Goh, G. L.; Tay, M. F.; Lee, J. M.; Ho, J. S.; Sim, L. N.; Yeong, W. Y.; Chong, T. H. Potential of Printed Electrodes for Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS): Toward Membrane Fouling Detection. *Adv. Electron. Mater.* **2021**, *7* (10), 1–23. <https://doi.org/10.1002/aelm.202100043>.

- (35) Roberts, J.; Power, A.; Chapman Id, J.; Chandra, S.; Cozzolino, D. The Use of UV-Vis Spectroscopy in Bioprocess and Fermentation Monitoring. *Fermentation* **2018**, *4* (18), 1–8. <https://doi.org/10.3390/fermentation4010018>.
- (36) Conesa, C.; Gil Sánchez, L.; Seguí, L.; Fito, P.; Laguarda-Miró, N. Ethanol Quantification in Pineapple Waste by an Electrochemical Impedance Spectroscopy-Based System and Artificial Neural Networks. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2017**, *161*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOLAB.2016.12.005>.
- (37) Shimizu, C.; Nakamura, Y.; Miyai, K.; Araki, S.; Shinotsuka, K.; Shimizu, C.; Nakamura, Y.; Miyai, K.; Araki, S.; Takashio, M.; Shinotsuka, K. Factors Affecting 5-Hydroxymethyl Furfural Formation and Stale Flavor Formation in Beer Factors Affecting 5-Hydroxymethyl Furfural Formation and Stale Flavor Formation in Beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **2018**, *59* (2), 9. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-59-0051>.
- (38) Deshavath, N. N.; Mukherjee, G.; Goud, V. V.; Veeranki, V. D.; Sastri, C. V. Pitfalls in the 3, 5-Dinitrosalicylic Acid (DNS) Assay for the Reducing Sugars: Interference of Furfural and 5-Hydroxymethylfurfural. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *156*, 180–185. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.045>.
- (39) Eder, C.; Briesen, H. Impedance Spectroscopy as a Process Analytical Technology (PAT) Tool for Online Monitoring of Sucrose Crystallization. *Food Control* **2019**, *101*, 251–260. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2019.02.005>.

ANEXOS

Anexo 1. Cervezas tipo lager de mayor consumo a nivel nacional



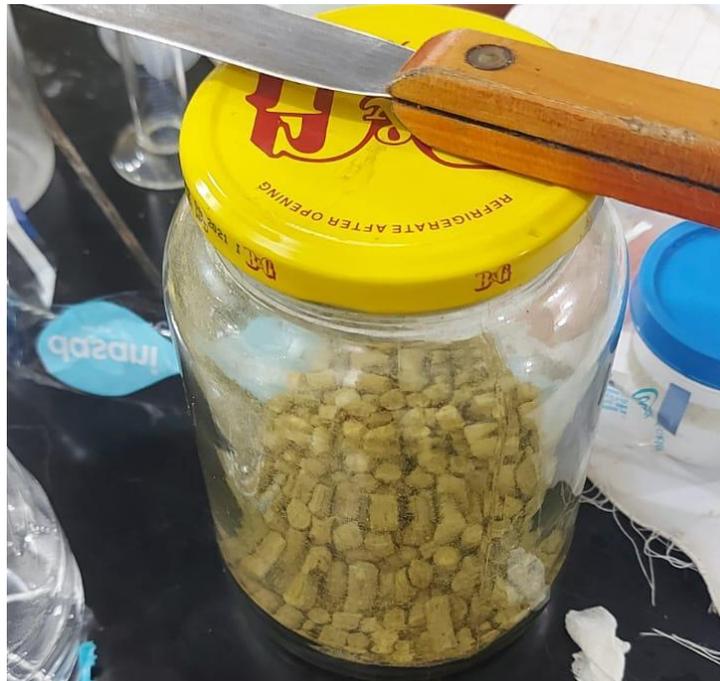
Anexo 2. Electrodo (Platino, Oro y Ag/AgCl)



Anexo 3. Análisis de la cerveza en el potencióstato.



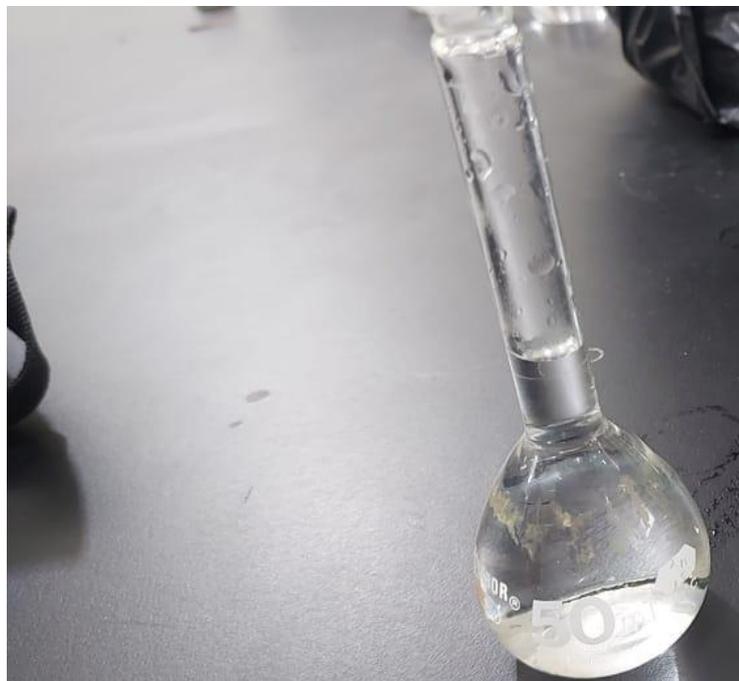
Anexo 4. Lúpulo



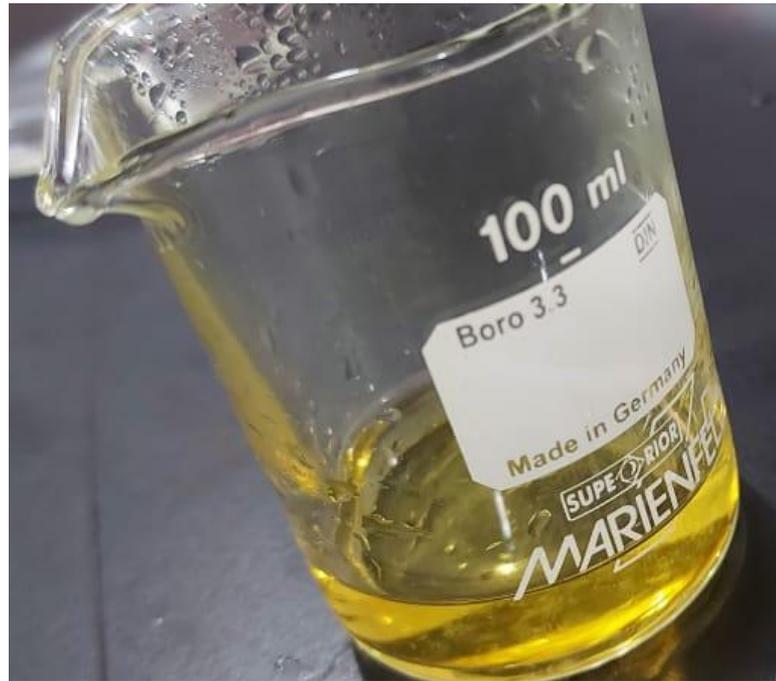
Anexo 5. Dilución del lúpulo para su posterior lectura mediante espectrometría de impedancia electroquímica.



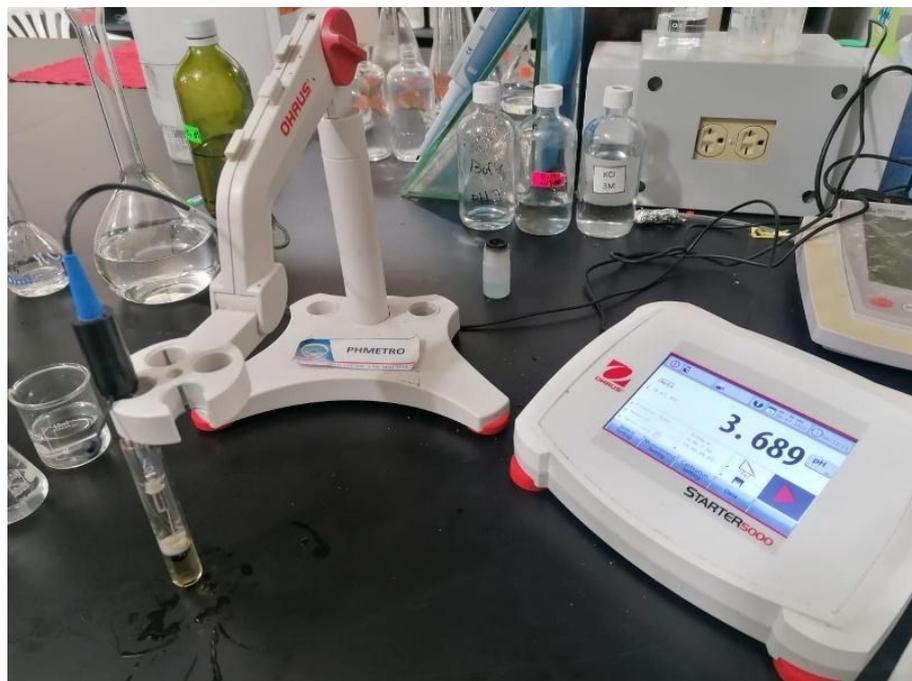
Anexo 6. Sacarosa.



Anexo 7. Hidroximetilfurfural.



Anexo 8. Medición del pH en las cervezas tipo lager.



Anexo 9. Resultados de la lectura de las muestras en el espectrofotómetro de UV visible.



Anexo 10. Calentamiento de las muestras para medir los niveles de azúcares reductores.

