

# DR6000 en el sector de la industria cervecera: Métodos importantes según MEBAK y ASBC

Autor: Nagore Aguirrezabala, Regional MarCom Manager Spain

## Introducción

La conformidad normativa y una gran calidad constante son los dos objetivos esenciales en el sector de las bebidas. Hach le ayuda a conseguir estos objetivos poniendo a su disposición unos completos sistemas de análisis de agua y cerveza.

El espectrofotómetro DR6000 UV-VIS puede realizar un gran número de mediciones analíticas necesarias para las labores de supervisión en todo el proceso de elaboración de cerveza: desde las materias primas hasta el producto final. El software específico para la elaboración de cerveza del DR6000 se ha ampliado y ahora incluye los parámetros más importantes recomendados por la MEBAK<sup>1</sup> y la American Society of Brewing Chemists (ASBC)<sup>2</sup>. Esto significa que el DR6000 se puede utilizar para medir la calidad de la cerveza en todo el mundo.

## Métodos clave en detalle

### **Color de la cerveza**

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1ª edición, 2012, página 185 y siguientes.  
ASBC Beer 10-A

Las unidades de la EBC y la ASBC se utilizan en toda Europa y en Estados Unidos para describir el color (más específicamente, la intensidad del color) de la cerveza y del mosto de cerveza. El valor estipulado por la European Brewery Convention (EBC) o la ASBC indica cuánta luz absorbe la cerveza de un determinado contenido de mosto original. El color real de cada cerveza es simplemente la variación de un tono marrón, que varía según la concentración de colores rojos, cobrizos y ámbar a tonos amarillo dorado y amarillo claro.

Además del color de la malta y del mosto de origen, la intensidad del color de la cerveza final también depende de muchos otros factores, como la preparación del mosto, el pH y el proceso de fermentación.

La medición del color puede parecer trivial. Sin embargo, es el color lo que produce la primera impresión en el cliente antes de consumir la cerveza. La obtención del color de cerveza establecido es, por tanto, un asunto importante que se puede controlar durante todo el proceso de fermentación.

La absorbancia de la cerveza se mide a una longitud de onda de 430 nm. Tradicionalmente, el color de la cerveza en unidades EBC es 10 x absorbancia a 430 nm medida en una cubeta de 1 pulgada (2,54 cm). Sin embargo, para MEBAK se estipula una cubeta cuadrada de 1 cm (10 mm). Por consiguiente, se aplica el siguiente cálculo para la determinación del color de la cerveza según MEBAK:

$$\text{Absorbancia de la cerveza a 430 nm} \times 25 = \text{Color en unidades EBC}$$

Tradicionalmente, el color de la cerveza en unidades ASBC es 10 x absorbancia de la cerveza a una longitud de onda de 430 nm con una cubeta de ½ pulgada (1,27 cm). Con el uso de una

cubeta intermedia estipulada de 1 cm (10 mm), se aplica el siguiente cálculo según el método de ensayo Beer-10A de la ASBC:

$$\text{Absorbancia de la cerveza a 430 nm} \times 12,7 = \text{Color en unidades EBC}$$

Además, la turbidez de la muestra se comprueba en el método ASBC mediante la medición de la absorbancia a 700 nm.

Una muestra no se clasifica como turbia si la absorbancia a 700 nm es  $\leq 0,039 \times 430$  nm.

En el DR6000, los programas de medición del color de la cerveza están disponibles para su medición según la MEBAK y la ASBC.

Color de la cerveza MEBAK Programa 2006 De 0 a 60 unidades

Color de la cerveza ASBC\* Programa 2020 De 0 a 60 unidades

La siguiente escala de color de la cerveza es útil a modo orientativo:

Figura 1: (Fuente: [http://de.wikipedia.org/wiki/EBC\\_\(Bier\)](http://de.wikipedia.org/wiki/EBC_(Bier)))

| EBC | Ejemplo  | Color de la cerveza   |
|-----|--|---|
| 4   | Pale Lager, Witbier, Pilsener, Berliner Weisse |    |
| 6   | Maibock, Blonde Ale                            |    |
| 8   | Weißbier                                       |    |
| 12  | American Pale Ale, India Pale Ale              |   |
| 16  | Weißbier, Saison                               |  |
| 20  | English Bitter, Extra Special Bitter           |  |
| 26  | Biere de Garde, Double IPA                     |  |
| 33  | Dunkles Lager, Märzen, Amber Ale               |  |
| 39  | Brown Ale, Bock, Dunkelbier, Dunkelweizen      |  |
| 47  | Irish Dry Stout, Doppelbock, Porter            |  |
| 57  | Stout  |  |
| 69  | Foreign Stout, Baltic Porter                   |  |
| 79  | Imperial Stout                                 |  |

## Unidades de amargor

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1ª edición, 2012, página 234 y siguientes.

ASBC Beer-23, Wort-24

La concentración del amargor es una cualidad fundamental de la cerveza. El amargor aparece durante el hervido debido a la isomerización de los ácidos  $\alpha$  de los lúpulos. El amargor se extrae con isoctano de la muestra acidificada y se mide la absorbancia mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 275 nm.

Los métodos MEBAK y ASBC se diferencian mínimamente en su ejecución. Mientras que el método MEBAK usa 6 N HCl para acidificar las muestras, el método ASBC solo usa 3 N HCl. Tras la extracción, se mide la absorbancia en una cubeta de cuarzo de 10 mm con respecto a un blanco de isoctanol de la misma calidad.

Según la definición de la MEBAK y la ASBC, los resultados se calculan del siguiente modo:

$$\text{Cerveza: absorbancia 275 nm} \times 50 = \text{Amargor en unidades de amargor}$$

Mosto: absorbancia 275 nm × 100 = Amargor en unidades de amargor

Los diversos cálculos resultan de las diluciones de las muestras de cerveza o de mosto especificadas en el procedimiento.

Los valores estándar de acuerdo con la MEBAK son de 10 a 40 UA (unidades de amargor) para la cerveza y de 20 a 60 UA para el mosto. De acuerdo con la ASBC, el rango de medición de la cerveza es de 100 unidades (mosto, 200) y se indica en UAI (unidades de amargor internacionales).

En el DR6000, los programas de medición de las unidades de amargor están disponibles para su medición según la MEBAK y la ASBC.

Unidades de amargor, cerveza Programa 2001 De 10 a 40 UA

Unidades de amargor, mosto Programa 2003 De 20 a 60 UA

Unidades de amargor ASBC, cerveza\* Programa 2021 De 10 a 100 UAI

Unidades de amargor ASBC, mosto\* Programa 2011 De 20 a 200 UAI

Nota: Para el análisis de las unidades de amargor, también se puede usar la cubeta test de Hach LCK241 (solo disponible en Europa). Mediante la introducción de productos químicos en las cubetas predosificadas, se ahorra en tiempo y en productos químicos (principalmente, en isooctano de gran calidad).

Tabla 1: unidades de amargor de los tipos de cerveza más populares (Brauerei-Forum, VLB)

| Tipo de cerveza | Unidades de amargor | mg iso-alfa ácidos/L de cerveza |
|-----------------|---------------------|---------------------------------|
| Trigo           | De 15 a 20          | De 15 a 20                      |
| Vollbier        | De 18 a 24          | De 18 a 24                      |
| Märzen          | De 20 a 25          | De 20 a 25                      |
| Export          | De 22 a 26          | De 22 a 26                      |
| Bock            | De 28 a 36          | De 28 a 36                      |
| Pils            | De 30 a 38          | De 30 a 38                      |
| Alt             | De 35 a 50          | De 35 a 50                      |

## Iso- $\alpha$ y $\beta$ -ácidos

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1ª edición, 2012, página 237 y siguientes.

Las humulonas (o ácidos  $\alpha$ -lupúlicos amargos) del lúpulo dan a la cerveza su sabor amargo. Durante la producción de la cerveza (hervido del lúpulo), los iso- $\alpha$ -ácidos amargos salen de los lúpulos. Por tanto, el contenido en iso- $\alpha$ -ácido es un factor esencial en el sabor de la cerveza.

Los  $\beta$ -ácidos también contribuyen al sabor amargo y se registran en esta medición.

Una vez extraídas las sustancias que amargan (ver anteriormente) de la muestra con isooctano, y tras el posterior lavado de la muestra, el contenido en iso- $\alpha$  y  $\beta$ -ácido se determina midiendo la absorbancia de la muestra a 255 nm y 360 nm [1]. Se utiliza una cubeta de cuarzo de 10 mm y ambos tipos de ácido se determinan en una medición combinada a dos longitudes de onda.

Los valores estándar según la MEBAK son:

Cerveza: 10 – 40 mg/L de iso- $\alpha$ -ácidos y menos de 2 mg/L de  $\beta$ -ácidos

Lúpulo: 15 – 50 mg/L de iso- $\alpha$ -ácidos y menos de 1 – 15 mg/L de  $\beta$ -ácidos

En el sistema DR6000, el programa para medición de los iso- $\alpha$  y  $\beta$ -ácidos está disponible según lo establecido por MEBAK.

Iso- $\alpha$  y  $\beta$ -ácidos Programa 2013 De 0 a 60 mg/L de iso- $\alpha$ -ácidos y de 0 a 80 mg/L de  $\beta$ -ácidos

## FAN (amino nitrógeno libre)

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1ª edición, 2012, página 84 y siguientes.

ASBC Beer-31, Wort-12

La suma de los compuestos nitrogenados biodisponibles en el lúpulo está representada por el amino nitrógeno libre (FAN). Un excesivo contenido de amino nitrógenos libres puede dar lugar a problemas, tanto en el sabor como en la estabilidad microbiológica de la cerveza. La levadura y la levadura salvaje utilizadas en la producción de la cerveza fermentan el excedente de aminoácidos y lo convierten en alcoholes de cadena larga (propanol, isobutanol). Los niveles de amino nitrógeno libre

son también un buen indicador de la finalización de la fermentación. El control de los niveles de amino nitrógeno libre con el sistema DR6000 contribuye a saber con mayor prontitud cuando se deben vaciar y rellenar los depósitos una vez alcanzado el nivel de amino nitrógeno libre. El contenido habitual de amino nitrógenos libres es de entre 200 y 250 mg/L en el mosto y de 10 a 120 mg/L en la cerveza (MEBAK).

Los métodos de MEBAK y ASBC son idénticos. La cerveza preparada o el mosto se mezclan con un reactivo de color (a base de ninhidrina) y se mide la absorbancia a una longitud de onda de 570 nm en una cubeta de 10 mm.

Esta absorbancia se compara con el color producido por 2 mg/L del estándar de glicina como elemento de referencia. Para lograr una determinación más precisa, el valor del blanco, el estándar de glicina y la muestra se miden por triplicado y se calcula el valor promedio. Debido a la distinta preparación de la muestra de cerveza y de mosto, son necesarios factores internos de 50 (para la cerveza) o 100 (para el mosto).

En el caso de las cervezas oscuras y los mostos, el método MEBAK ofrece herramientas de medición del valor del blanco de la muestra, además del valor habitual del blanco del reactivo, con el objeto de tener en cuenta la coloración intrínseca de la muestra. El proceso de medición y el cálculo de la concentración de las cervezas oscuras y de los mostos se almacenan en el sistema DR6000 como programas separados. En el DR6000, los programas de medición de los amino nitrógenos libres

están disponibles para su medición según la MEBAK y la ASBC.

FAN, cerveza clara Programa 2008 De 0 a 400 mg/L de FAN

FAN, mosto claro Programa 2007 De 0 a 400 mg/L de FAN

FAN, cerveza oscura Programa 2016 De 0 a 400 mg/L de FAN

FAN, mosto oscuro Programa 2015 De 0 a 400 mg/L de FAN

FAN según ASBC, cerveza\* Programa 2024 De 0 a 400 mg/L de FAN

FAN según ASBC, mosto\* Programa 2025 De 0 a 400 mg/L de FAN

## Polifenoles totales

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1ª edición, 2012, página 223 y siguientes.

ASBC Beer-35

Los compuestos fenólicos de la malta y los lúpulos pasan a la cerveza en distintas cantidades dependiendo de la técnica de producción. La estructura y el tamaño de la molécula influyen en gran medida en diversas características de la cerveza, como, por ejemplo, el color, el sabor, la estabilidad del sabor, la espuma y la estabilidad físico-química<sup>1</sup>. Los polifenoles también influyen en gran medida en el aspecto final de la cerveza. Los niveles altos de polifenoles dan lugar a una cerveza turbia.

Los métodos según la MEBAK y la ASBC son idénticos. Los polifenoles de la muestra reaccionan con los iones de hierro(III) en la solución alcalina y forman complejos de color de hierro. Su absorbancia se mide mediante espectrofotometría en una cubeta de 10 mm a una longitud de onda de 600 nm.

El cálculo se realiza de la siguiente manera:

Absorbancia a 600 nm  $\times$  820 = mg/L de polifenoles totales

Los valores estándar en la cerveza son de 150 a 200 mg/L de polifenoles totales. El rango de medición de los programas almacenados es de hasta 800 mg/L.

En el sistema DR6000, los programas de medición de los polifenoles totales están disponibles para su medición según la MEBAK y la ASBC.

Polifenoles totales Programa 2006 De 0 a 800 mg/L de fenoles

Polifenoles totales según la ASBC\* Programa 2020 De 0 a 800 mg/L de polifenoles

## Dicetonas vecinales

MEBAK brew-technical analysis methods, 4ª edición, 2002, página 134 y siguientes.

ASBC Beer-25 B

Actualmente, MEBAK<sup>1</sup> describe la medición por cromatografía de gases del diacetil y la 2,3-pentanodiona.

Anteriormente, tanto la MEBAK<sup>3</sup> como la ASBC proporcionaban dos métodos fotométricos diferentes para la determinación de las dicetonas vecinales.

Durante el metabolismo de la levadura, el 2-acetolactato y el 2-acetohidroxitirato aparecen en el transcurso de la fermentación. Por oxidación se convierten en dicetonas vecinales, diacetil y 2,3-pentanodiona.

Sin embargo, el diacetil también puede aparecer ya que es un producto característico del metabolismo de determinados microorganismos<sup>1</sup>. Los niveles muy altos de dicetonas vecinales en la cerveza producen un sabor extraño. A menudo provocan un sabor a mantequilla azucarada, un regusto aceitoso en la boca, que no resulta agradable para el consumidor.

Según el método de la MEBAK, las dos dicetonas, el diacetil y la 2,3-pentanodiona, reaccionan con la 1,2-fenilendiamina y forman un producto final de color, cuya absorbancia se mide en una cubeta de cuarzo de 2 cm a 335 nm. Este método, usado con frecuencia en análisis operativos, es claramente más rápido que el método por cromatografía de gases; sin embargo, no permite la diferenciación entre el diacetil y la 2,3-pentanodiona.

Con la calibración realizada por MEBAK, el contenido de dicetonas vecinales se calcula del siguiente modo:

Absorbancia a 335 nm  $\times$  1,2 = mg/kg de DCV (dicetonas vecinales)

El valor objetivo para la cerveza clara es inferior a 0,15 mg/kg.

El método según la ASBC se describe en el método Beer-25 B en el título "Diacetyl – Broad spectrum method for VDK" (Diacetil: método de amplio espectro para DCV). Con este método tampoco se registra el diacetil de forma independiente, sino todas las diacetonas vecinales presentes.

Según el método ASBC Beer-25 B, el diacetil (y la 2,3-pentanodiona) reacciona con una solución de naftol y forma un complejo de color, que se mide a una longitud de onda de 530 nm. Este método ha sido calibrado por Hach con soluciones estándar de diacetil y el factor correspondiente se ha almacenado en el programa. Por tanto, se puede omitir una medición por parte del usuario de los estándares del diacetil para el registro de una curva de calibración.

Con la calibración realizada por Hach, el contenido de dicetonas vecinales se calcula del siguiente modo:

Absorbancia a 530 nm  $\times$  3,7 = mg/L de diacetil (dicetonas vecinales)

En el sistema DR6000, los programas de medición de las dicetonas vecinales están disponibles para su medición según la MEBAK y la ASBC.

Dicetonas vecinales Programa 2014 De 0 a 1 mg/kg de DCV

Diacetil según la ASBC\* Programa 2023 De 0 a 1 mg/L de diacetil

Nota: Al igual que en la determinación del amargor, hay también una cubeta test de Hach con el número LCK242 (solo disponible en Europa) o TNT819 (disponible en EE. UU.) para la determinación de las dicetonas vecinales.

## Capacidad de reducción de la cerveza

Reducibility MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1ª edición, 2012, página 204 y siguientes.

La capacidad de reducción de la cerveza es un factor fundamental para su sabor y estabilidad biológica, química y física. La reducción de los compuestos derivados de la malta y los lúpulos impide o reduce los procesos oxidativos en la cerveza.

Todos los compuestos que se reducen con rapidez presentes en la cerveza se denominan en conjunto con el término capacidad de reducción. Se miden por su efecto reductor en el reactivo de Tillman (DPI). La decoloración de este reactivo en presencia de la muestra de cerveza se mide a una longitud de onda de 520 nm y se compara con la coloración original del reactivo. Esta capacidad de reducción se expresa mediante un número adimensional. Indica qué porcentaje de reactivo reduce la muestra de cerveza.

En la evaluación de la capacidad de reducción de las cervezas, se aplica la siguiente escala según la MEBAK<sup>1</sup>:

|            |               |
|------------|---------------|
| 60         | Muy buena     |
| De 50 a 60 | Buena         |
| De 45 a 50 | Satisfactoria |
| < 45       | Pobre         |

En el sistema DR6000, el programa para la medición de la capacidad de reducción está disponible según lo establecido por la MEBAK.

Capacidad de reducción Programa 2004 De 0 a 100

## Número de ácido tiobarbitúrico (ATB)

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1ª edición, 2012, página 55 y siguientes.

El número de ácido tiobarbitúrico es una característica importante que indica la carga térmica de la malta y del mosto. Junto con el 5- hidroximetilfurfural (HMF), un gran número de sustancias que se derivan de la reacción de Maillard (calor producido por la reacción de azúcares y aminoácidos) reaccionan con el ácido tiobarbitúrico.

En la prueba de MEBAK, las sustancias que se han de medir reaccionan con el ácido tiobarbitúrico y forman un complejo de color amarillo que se analiza fotométricamente a una longitud de onda de 448 nm.

Los valores estándar en el proceso de elaboración de cerveza son (en relación con un 12 % del mosto original):

- Mosto completo ligero kettle: < 22
- Mosto ligero cast: < 45
- Mosto frío ligero tras su enfriamiento: < 60

Un nuevo enfoque para este análisis usa una prueba llamado TBARS (sustancia reactiva al ácido tiobarbitúrico) que, básicamente, registra el malondialdehído. Aquí también se registra en la medición la magnitud de la carga térmica del mosto producida por efecto del calor.

En el sistema DR6000, el programa para la medición del ATB está disponible según lo establecido por la MEBAK.

ATB en cerveza/mosto Programa 2011 De 0 a 100 de ATB (dilución 1/10)

ATB en mosto tipo Congress Programa 2012 De 0 a 100 de ATB (dilución 1/5)

## Antocianógenos

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1ª edición, 2012, página 226 y siguientes.

Los antocianógenos, o leucoantocianidinas, son una forma especial de antocianidinas. Las antocianidinas son la parte de las antocianinas que aporta el color, un grupo de colorantes vegetales con una base fenólica. El ácido clorhídrico caliente convierte los antocianógenos (leucoantocianidinas de los lúpulos) en las antocianidinas de color rojo.

En la medición, los antocianógenos, en primer lugar, se adsorben en la poliamida y, a continuación, son convertidos por el ácido clorhídrico en una solución roja. La medición se realiza a una longitud de onda de 550 nm en una cubeta de 10 mm.

Los valores estándar de acuerdo con la MEBAK en la cerveza son de 50 a 70 mg/L, dependiendo de las técnicas de producción.

Cuando se estabilizan con PVPP, los valores estándar son en consecuencia inferiores.

En el sistema DR6000, el programa para la medición de los antocianógenos está disponible según lo establecido por la MEBAK.

Antocianógenos Programa 2005 De 0 a 100 mg/L de ATC

## Muestra de yodo fotométrica

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1ª edición, 2012, página 52 y siguientes.

Una vez producida la malta a partir de granos, principalmente cebada, se muele. El verdadero proceso de elaboración de la cerveza comienza con la maceración. En este proceso, se calienta el agua a aproximadamente 60 °C, a continuación, se añade la malta molida y la mezcla resultante se calienta removiendo constantemente a una temperatura de alrededor de 75 °C, dependiendo del proceso. Con distintas temperaturas de tostado, las enzimas convierten el almidón de la malta en

maltosa. Por otra parte, se hierven partes de la mezcla, que produce una gelatinización física del almidón. Se mide entonces una muestra de yodo para determinar si el almidón disuelto se ha sacarificado completamente.

Las dextrinas y el almidón de los mostos o de la cerveza se precipitan, se disuelven en el tampón de fosfato y se mezclan con la solución de yodo. La coloración de rojo a azul se mide en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 578 nm en una cubeta de 4 cm. Los valores estándar (en el mosto) según la MEBAK son < 0,45.

En el sistema DR6000, el programa para la medición de los antocianógenos está disponible según lo establecido por la MEBAK.

Muestra de yodo Programa 2010 Valor de yodo de 0 a 1

## Hierro

MEBAK, Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1ª edición, 2012, página 423 y siguientes.

Puede penetrar en la cerveza hierro procedente de la materia prima y de los agentes de filtrado o clarificantes. También puede proceder de los distintos instrumentos, conductos o latas, o de los agentes estabilizadores de la espuma de la cerveza.

El hierro afecta de forma negativa a la estabilidad coloidal, al sabor, a la espuma y a la tendencia a la efervescencia de la cerveza.

Además de mediante AAS, el hierro en la cerveza se puede determinar con espectrofotometría. El hierro trivalente se reduce en primer lugar a hierro bivalente. El hierro bivalente reacciona con FerroZine y forma un complejo de color violeta. El método almacenado en el sistema DR6000 para la determinación del hierro ya contiene el coeficiente de absorbancia del hierro. El aumento de la curva de calibración es 0,037/μg/L de Fe<sup>2+</sup>. Por tanto, el usuario de este programa no tiene que

generar una serie estándar del hierro propia para la calibración. El valor de referencia de la cerveza es 0,200 mg/L.

En el sistema DR6000, está disponible el programa para la medición del hierro de acuerdo con la MEBAK.

Hierro Programa 2017 De 0 a 1 mg/L de hierro

## Referencias

<sup>1</sup> MEBAK Wort, Beer, Beer-Based Beverages, 1ª edición, 2012

<sup>2</sup> American Society of Brewing Chemists, Methods of Analysis, 14ª edición

<sup>3</sup> MEBAK, brew-technical analysis methods, volumen II, 4ª edición, 2002

\* American Society of Brewing Chemists (ASBC): reproducido con permiso de la ASBC para su uso únicamente por parte de los compradores de instrumentos específicos de Hach. No se permite ninguna otra reproducción o uso sin permiso por escrito de la ASBC.