

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA



112

**ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LOS METODOS
ANALITICOS TRADICIONALES PARA LA DETER-
MINACION DE ALCOHOL EN CERVEZA.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A**

SOCORRO DEL CARMEN HEREDIA CARDENAS

1 9 8 0



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA

PRESIDENTE:

Prof. NINFA GUERRERO DE CALLEJAS.

VOCAL:

Prof. EMILIO BARRAGAN HERNANDEZ.

SECRETARIO:

Prof. MARTHA RODRIGUEZ PEREZ.

1er. SUPLENTE:

Prof. FIDEL FIGUEROA MARTINEZ.

2o. SUPLENTE:

Prof. FEDERICO GALDEANO BIENZOBAS.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: CERVECERIA MODELO S.A.

NOMBRE Y FIRMA DEL SUSTENTANTE:

Socorro del Carmen Heredia C.

SOCORRO DEL CARMEN HEREDIA GARDENAS.

NOMBRE Y FIRMA DEL ASESOR DEL TEMA:



Q.F.B. NINFA GUERRERO DE CALLEJAS.

A mis padres Alicia Cárdenas de H. y Rodrigo
José Heredia Vadillo, con respeto y gratitud.

A mi esposo Manuel Guijosa Fragoso, por su -
gran ayuda.

A mi hijo Pablo Guijosa Heredia, con cariño.

I N D I C E

<u>CAPITULO</u>	<u>PAGINA</u>
INTRODUCCION.....	1
GENERALIDADES.....	3
Valor nutritivo de la cerveza.....	4
Análisis químico de alcohol en cerveza.....	6
DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	10
Descripción de métodos analíticos.....	10
1.-Método de la densidad.....	10
2.- Método refractométrico.....	12
Obtención y descripción de muestras.....	15
Análisis químico.....	15
Análisis estadístico.....	17
CONCLUSIONES.....	25
BIBLIOGRAFIA.....	27
ANEXO I.-Resultado de análisis químico realizado sobre las muestras de cerveza utilizadas.	29
FIGURA I.- Aparato para destilación de alcohol....	30

I N T R O D U C C I O N .

En la industria cervecera como en toda industria, juega un papel muy importante el control de calidad de la materia prima, productos intermedios y productos terminados.

Un parámetro fundamental a considerar dentro de este control de calidad lo representa el contenido de alcohol en la cerveza terminada. El contenido de alcohol de una cerveza es usualmente considerado como una medida de su fuerza.

El análisis químico tanto de la cerveza como del mosto empleado para su elaboración representa un control invaluable para el diseño del producto, el control del proceso, establecimiento de calidades, estimación de estabildades, cualidades organolépticas, etc. Cada cervecera en particular, cuenta con un laboratorio analítico en donde se aplican las técnicas de análisis, las cuales se originan principalmente en los laboratorios de grandes cerveceras, laboratorios de investigación, asesores de industrias e industrias asociadas.

Tradicionalmente se ha venido realizando el control del contenido de alcohol durante el proceso de elaboración de la cerveza, mediante el análisis de alcohol (etanol)

en el producto terminado, sin ser necesario realizar esta determinación en cada fase del proceso de producción, -
pues se ha comprobado que es suficiente realizar el análisis del grado Balling en cada una de estas fases, para -
tener una medida del grado de conversión de la materia -
prima (carbohidratos) en alcohol y bióxido de carbono (CO_2),
principalmente.

Entre los métodos más comunmente empleados para el análisis rutinario de alcohol en cerveza tenemos:

-Método Refractométrico.

-Método por Densidad.

De los dos métodos anteriores, el segundo (método por densidad) es el menos empleado en análisis rutinarios siendo considerado tradicionalmente como el más exacto(2). No obstante, el método refractométrico es ampliamente usado ya que es posible tener una buena seguridad en los re-sultados y gran ahorro de tiempo en el análisis.

El presente estudio comparativo se ha realizado con el fin de decidir sobre la conveniencia de emplear alguno de los dos métodos mencionados para el análisis rutinario de alcohol en cerveza, estableciendo las ventajas y desven-tajas que cada uno de ellos representa, en lo concerniente a parámetros como la exactitud, precisión, rapidez y costo.

GENERALIDADES.

Los dos productos que en mayor cantidad son generados durante el proceso de fermentación, en la elaboración de cerveza, son el etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) y el bióxido de carbono (CO_2), por lo cual no es de extrañar que la concentración de alcohol en la cerveza haya servido como criterio para establecer el tipo de cerveza, fuerza de la cerveza y en general el servir como una base taxonómica. El alcohol juega inclusive un papel importante en el sabor de la cerveza.

Las propiedades de la cerveza varían naturalmente con el tipo y el lugar de origen de la misma.

La cerveza se divide comunmente en dos tipos, dependiendo de la levadura empleada en su elaboración: Cuando se emplea la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, la cual floclula en la superficie de las tinas de fermentación (fermentación alta) se obtiene la cerveza tipo "Ale". Cuando se emplea la levadura *Saccharomyces carlbergensis*, la cual floclula en el fondo de la tina de fermentación (fermentación baja) se obtiene la cerveza tipo "Lager".

Las propiedades de la cerveza de algunos países se muestran en la tabla I (2). Como puede verse en esta tabla, los parámetros presentados no dicen mucho acerca de la calidad de la cerveza, ya que es necesario tomar en cuenta otros atributos muy importantes, como son el sabor, aroma, apariencia, formación de espuma y estabilidad de la misma.

T A B L A I.- Análisis típicos de algunas cervezas.

Parámetro Analítico	Lager Mexicana	Lager U.S.	Pilsener Danesa	Ale Inglesa	Lowenbraw Munich
Extracto original(°P)	11.3	11.5 12.0	10.6	15.0	13.3
Extracto real(°P)	4.73	5.5	3.1	5.0	6.4
Alcohol en peso(%)	3.86	3.4 3.8	3.9	5.2	3.6
Proteína(%)	0.36	0.28 0.35	0.3	0.6	0.5
CO ₂ (%)	0.59	0.53	0.50	0.40	--
Color ^a	3.20	2.7	5	---	40
Aire en la botella cm ³ /botella	0.85	1.5	2	8	---
pH	4.20	4.25 4.50	4.0	--	---
Grado real de atenuación (%)	--	60-75	69	66	48

^a de acuerdo a la Convención Cervecera Europea.

Valor nutritivo de la cerveza.-La cerveza es, por supuesto, una bebida de moderación que se emplea para apagar la sed, y preferida por su sabor agradable y refrescante. El contenido calórico de la cerveza se estima en aproximadamente 37 cal/ 100g de cerveza, dadas por el contenido de alcohol y residuos no fermentados. En la tabla 2, se muestra un análisis bromatológico de cerveza (promedio) Mexicana, que representa el análisis del valor nutritivo de este producto(4).

TABLA 2.- Valor nutritivo de la cerveza Mexicana.

Componente	contenido	Requerimientos ^a	% Aportación ^b
Porción CO- mestible(%)	100	----	----
Kcal/100g	37	2750	1.34
Proteínas (%)	0.3	83	0.36
Grasas (%)	0.0	---	---
Carbohidra- tos (%)	5.1	---	---
Calcio	0.0 mg/100g	500 mg	0.0
Hierro	0.1 "	10 "	1.0
Tiamina	0.01 "	1.4"	0.70
Riboflavina	0.03 "	1.7"	1.76
Niacina	0.6 "	24.8 "	2.41
Acido			
Ascórbico	0.0 "	50.0 "	0.0
Eq. Retinol	0.0 "	1000.0"	0.0

^a.- Necesidades diarias de una persona adulta normal de sexo masculino, de 65 Kg de peso y una edad de 18-34 años.

^b.- Porcentaje de nutrimentos que aportan 100 gramos de cerveza a la dieta de un individuo igual al descrito anteriormente. Se considera solo el aspecto cuantitativo.

Como puede verse en la tabla anterior, la cerveza contribuye solo en una mínima parte de los requerimientos nutricionales de una persona, siendo necesaria una gran cantidad de esta bebida para cubrir los requerimientos nutricionales diarios, y esto sin tomar en cuenta otros factores muy impor

tantes como es la calidad de proteína y el costo del producto.

Análisis químico de alcohol en cerveza.- Mediante el término "contenido alcohólico" se designa generalmente el contenido aproximado de etanol en una bebida alcohólica. Generalmente se obtiene un valor aproximado de este compuesto en los laboratorios de cada cervecería ya que no es muy importante determinar la cantidad absoluta de alcohol y esto es debido también a que la determinación exacta de este parámetro requiere de un tiempo relativamente largo.

Para estimar el contenido alcohólico en una cerveza u otra bebida alcohólica, es usualmente necesario separar el alcohol del medio en donde se encuentra, mediante un proceso de destilación, microdifusión, diálisis ó cromatografía gas-líquido. Es posible, sin embargo, determinar el contenido de alcohol en una cerveza directamente mediante el uso de la enzima alcohol-deshidrogenasa, la cual cataliza la oxidación del alcohol en acetaldehído; la enzima requiere la presencia de NAD (nicotín adenín dinucleótido) como un aceptor de hidrógeno, y la reducción de este cofactor se mide espectrofotométricamente (13).

En otro método el cual ha servido como base para la elaboración del análisis automatizado, el alcohol es separado de la cerveza mediante un proceso de diálisis, y una vez separado se estima colorimétricamente empleando - -

hexanitritocerato, para formar el complejo colorido. (13)

El contenido de alcohol de la carveza puede medirse rápidamente usando cromatografía líquido-gas, siendo necesario aquí que tanto el detector como la fase estacionaria, no se vean afectados por el exceso de agua. (13)

El método ebuliométrico para la determinación de alcohol (2) , provee un procedimiento rápido para el análisis de etanol y se basa en la medición del punto de ebullición de la muestra problema mediante un aparato medidor de puntos de ebullición o ebuliómetro, el punto de ebullición obtenido se compara con patrones obtenidos en la misma forma y ya conocidos . La velocidad de calentamiento y la cantidad de calor aplicados durante la ebullición son extremadamente críticos, necesitándose cierta experiencia por parte del analista para dominar esta técnica.

El alcohol en un destilado puede ser estimado a -- partir de su densidad, del índice de refracción ó por algunos otros medios químicos enzimáticos. Estos últimos son métodos más sensitivos y comunmente empleados en la medición de pequeñas cantidades de alcohol.

Entre los métodos de análisis para la determinación de alcohol con los que se obtienen resultados bastante - aproximados tenemos por densidad, refractometría, cromatografía gas líquido y oxidimetría. El uso de uno u otro método depende de la conveniencia de cada laboratorio.

El método refractométrico es ampliamente usado al igual que el método por densidad; el primero se basa en la medición del índice de refracción de la cerveza el cual se lleva a una curva de calibración previamente preparada, en la que se relaciona este índice de refracción con el contenido de alcohol, para la preparación de esta curva se efectúa el análisis de alcohol por un método diferente que puede ser el método por densidad.

El método por densidad se basa en la destilación de la materia volátil, seguido de la determinación de la densidad del destilado, el destilado incluye toda la materia volátil entre la cual se encuentran ácidos grasos que afectan la lectura y por consiguiente el valor del contenido de etanol (2). Consideraciones similares pueden aplicarse a las otras técnicas analíticas brevemente descritas en párrafos anteriores.

En la práctica, existe usualmente una fuerte demanda para la determinación de alcohol en un laboratorio de cervecería, ya que se tiene un gran número de muestras por analizar, las cuales deben ser acomodadas convenientemente a las necesidades de cada lugar, para analizarse mediante un sistema múltiple y simultáneo y en el mejor de los casos por un método automático que permita cubrir todo el trabajo requerido.

De los métodos anteriores como ya se mencionó en el capítulo correspondiente a Introducción, los más empleados para el análisis rutinarios de cerveza son en primer lugar el método refractométrico y en segundo lugar el método por densidad, siendo el segundo un método que requiere de un mayor tiempo de ejecución y el uso de mayor cantidad de material de laboratorio.

La American Society of Brewing Chemists (ASBC) cuenta con un gran número de métodos de análisis que se recomiendan para su aplicación en industria cervecera.(5)

En el libro titulado Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists (1), sección 10, se encuentran contenidos métodos de análisis para mosto y cerveza, idénticos a los de la ASBC.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

DESCRIPCION DE METODOS ANALITICOS

Los métodos analíticos utilizados para la determinación de alcohol, y que han sido comparados en el presente estudio se describen a continuación.

1.- Método de la Densidad (5)

1.1 Aparatos y reactivos.

-Matraz de destilación de 500 cm³.

-Matraz volumétrico de 100 cm³ (± 0.1 cm³)

-Pícnómetro.

-Termómetro.

-Balanza analítica.

-Pipeta volumétrica de 100 cm³.

-Aparato para destilación, provisto con una trampa de destilación (tipo Kjeldahl), y un condensador vertical. (ver figura 1).

1.2 Determinación.

Tomar con una pipeta volumétrica ± una alícuota de 100 cm³ de cerveza previamente descarbonatada y puesta a una temperatura de 20°C, colocar la alícuota en un matraz de destilación de 500 cm³ (matraz de fondo redondo, fondo plano ó matraz Kjeldahl), y añadir aproximadamente 50 cm³ de agua destilada. Conectar el matraz al aparato de destilación mediante una trampa tipo Kjeldahl de que se encuentra provisto el mismo (ver figura 1). Colocar a la salida del condensador un matraz volumétrico de 100 cm³ el cual

debe encontrarse sumergido en un baño de hielo. Aplicar calor a la muestra lentamente evitando la formación de un exceso de espuma, continuar el calentamiento aumentando el calor poco a poco hasta obtener una ebullición moderada. La destilación se suspende cuando se tenga un volumen de destilado de aproximadamente 96 cm^3 que debe ser obtenido a una velocidad de destilación uniforme en un tiempo de 30 a 60 minutos. Cerciorarse que la temperatura del agua de salida del condensador no exceda de 25°C . Mezclar el destilado obtenido, ajustar su temperatura a 20°C y completar hasta la marca con agua destilada.

Determinar la densidad ($20^\circ\text{C} / 20^\circ\text{C}$) del destilado por medio de un picnómetro.

1.3 Cálculos

La lectura de la densidad del destilado se lleva a unas tablas reportadas en la literatura (1), (8) en donde se determinan los g alcohol / 100 cm^3 de destilado. El % alcohol en peso en la muestra se calcula mediante las siguientes expresiones:

%Alcohol en volumen de la cerveza = $\frac{\text{\%Alcohol en volumen del destilado}}{\text{densidad del destilado}}$

Lo cual se obtiene directamente de tablas (1)

%Alcohol en peso de la cerveza = $\frac{\text{g alcohol en } 100 \text{ cm}^3 \text{ de destilado}}{\text{gravedad específica de la cerveza}}$

3.-El volumen de cerveza que deja salir la pipeta volumétrica debe ser exactamente la misma que puede contener el matraz volumétrico usado como matraz receptor. Otra

alternativa es tomar la alícuota de cerveza con un matraz volúmetrico de 100 cm^3 en vez de la pipeta volumétrica.

2.- Método Refractométrico (5).

2.1 Aparatos y reactivos.

- Refractómetro de inmersión Carl Zeiss catálogo No. 50-02-00 ó equivalente, con prisma para índice de refracción de 1.32-1.37.
- Fuente de luz, cuba y portador de cubas para el refractómetro requerido.
- Baño de agua controlable a una temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 0,05^{\circ}\text{C}$.
- Picnómetro.
- Termómetro.
- Balanza analítica.
- Hidrómetro ó densímetro.
- Cilindro para densímetro.

2.2. Determinación.

Calibración.- Para convertir las lecturas obtenidas en el refractómetro y las determinaciones de densidad, a % alcohol, debe construirse una curva de calibración. Las diferencias en el contenido de alcohol y en los extractos de cada cerveza hacen necesario que se construya una curva de calibración por cada tipo de cerveza por analizar.

Para construir la curva de calibración se debe analizar un cierto número de cervezas del mismo tipo, que cubran el rango del contenido de alcohol que nos interesa, este análisis debe ejecutarse tanto por el método de destilación como por el refractométrico que se describe más adelante. Con los resultados obtenidos de estas determinaciones construir una gráfica colocando en las ordenadas el valor de $(R-N)$, en donde : R =lectu-

ra refractométrica($R_{\text{cerveza-Ragua}}$) y $N = 1\ 000 (\rho - 1)$, -
contra el contenido de alcohol (%en peso) en las abscisas.
Mediante un análisis de regresión estadística calcular la
ecuación de la recta obtenida ó bien trazar la línea que
une a los puntos marcados en la gráfica descrita.

La curva de calibración así obtenida pue
de utilizarse directamente para determinar el contenido-
de alcohol. ó bien pueden prepararse tablas que relacionen
el porcentaje de alcohol en peso correspondiente a una -
lectura refractométrica contra la densidad ó grado plato
($^{\circ}P$) de la cerveza a partir de la misma.

Procedimiento.- Determinar la densidad de la cerveza des-
carbonatada, por el método del picnómetro $20^{\circ}C/20^{\circ}C$ ó -
alternativamente aunque con menor precisión puede emplears
se el método del hidrómetro (densímetro)..

Ajustar la fuente de luz del refractómetro
de tal manera que se obtenga el máximo contraste entre el
campo luminoso en el instrumento.. Después de esto ajustar
el compensador de color hasta que la línea divisoria este
bien conformada, sea clara y libre de color, afocar el ins
trumento con el ocular hasta que se obtenga una línea -
bien definida.

Colocar la cerveza descarbonatada dentro
de la cuba, evitando la formación de espuma ó burbujas,
si la cerveza es turbia puede ser filtrada ó centrifuga-
da tomando las precauciones necesarias para evitar cambios
en su densidad ó en el contenido de alcohol, debido a -
una evaporación.

Colocar la cuba que contiene la muestra
problema dentro de un baño de agua y junto con una cuba-
que contenga agua destilada, ajustar el baño a una tempera-
tura de $20^{\circ}C \pm 0.05^{\circ}C$. Después de 10 a 15 minutos, cuándo

las muestras estén a la temperatura correcta, colocar el prisma del refractómetro en la cuba que contiene agua destilada durante 10 minutos con el objeto de atemperar el prisma.

El prisma del refractómetro debe ser limpiado con agua destilada y secado con un material suave antes de cualquier inmersión en las muestras de agua o cerveza.

Tomar cinco lecturas refractométricas hasta una décima de unidad de la escala divisoria del refractómetro (correspondiente a 0.01 unidades) utilizando agua destilada y determinar el promedio de estas lecturas. El promedio debe ser aproximadamente 14.50 y se denominará R del agua, las lecturas del agua deben tomarse por lo menos una vez al día y al comienzo de las determinaciones (los refractómetros de inmersión son contruidos de tal manera que la lectura del agua destilada sea de 14.50 a 20°C. Sin embargo, desviaciones menores a ésta escala de lectura no afectan seriamente los resultados).

Para las lecturas de la cerveza, transferir el prisma a la cuba que contiene la muestra problema y esperar por lo menos un minuto para atemperar el prisma antes de tomar la serie de lecturas. El promedio de estas lecturas se denominara R de la cerveza.

2.3 Cálculos

El % Alcohol en peso puede obtenerse de dos maneras:

(a) A partir de la ecuación de la curva de calibración que es:

$$A = F \times (R - N) - Q$$

en donde:

A = %Alcohol en peso de la cerveza.
R = Lectura refractométrica (Rcerveza-Ragua).
N = 1.000 (ρ - 1.00000)

F= Pendiente de la curva de calibración.

C= Constante de la ecuación de la curva de calibración, igual a la ordenada al origen.

El % de alcohol en peso puede tomarse también directamente de la gráfica trazada de la curva de calibración sin necesidad de recurrir a la ecuación de la misma.

(b).- Se puede calcular alternativamente el % de alcohol en peso con el uso de un hidrómetro ó densímetro como el utilizado para calcular el grado aparente de la cerveza, construir una tabla a partir de la curva de calibración, tabla que muestre el % de alcohol en peso contra el grado plato ($^{\circ}$ Pa) y las lecturas refractométricas. De esta tabla puede obtenerse el contenido de alcohol.

OBTENCION Y DESCRIPCION DE MUESTRAS

Las muestras utilizadas en este estudio corresponden a cerveza terminada, siendo estas, cuatro diferentes cervezas, todas tipo lager y de fabricación nacional. Las muestras fueron obtenidas durante un periodo de 60 días durante el cual se iban analizando, cada muestra el mismo día de su obtención. En la tabla 3 se presenta una breve descripción de las muestras mencionadas.

ANALISIS QUIMICO

Puesto que el objeto fundamental del presente estudio es el de comparar el comportamiento de los

dos métodos ya descritos en la parte correspondiente a -- Descripción de métodos analíticos (método de la densidad y método refractométrico) se procedió primeramente a realizar el análisis químico de las cuatro muestras descritas - en la tabla 3, para lo cual se aplicó cada uno de estos métodos analíticos sobre cada una de las cuatro muestras descritas y con una serie de diez determinaciones por muestra y por método. Los métodos en cuestión se aplicaron siguiendo la técnica ya descrita y efectuando los análisis por -- duplicado; el promedio se tabuló junto con el total de los valores. Los resultados obtenidos de este análisis químico se presentan en el anexo I que se adjunta al final de este trabajo..

TABLA 3.- Descripción de las muestras de cerveza empleadas en el presente estudio comparativo.

Muestra No.	Tipo	Color	Envase	Características de la cerveza.	
				Cont. teórico de alcohol.	Otros.
1	Lager	Clara	Botella	menos de 6° G.L.	Pasteurizada.
2	"	"	Bote	"	"
3	"	Obscura.	Botella	"	"
4	"	"	"	"	"

ANALISIS ESTADISTICO

Los valores obtenidos con el análisis químico fueron ordenados y tabulados para su tratamiento estadístico. Como primer paso de esta parte, se realizó una aplicación de las pruebas de rechazo de valores críticos ó extremos (prueba de Dixon) descritas en la literatura consultada (12), cuyo objeto es eliminar aquellos valores extremos que resulten extraños al resto de la serie de valores obtenidos y que por tanto no son valores razonables. Esta prueba se aplicó a cada serie de valores obtenidos -- para cada muestra y que corresponden a cada una de las ocho columnas que aparecen en el anexo I. Del resultado de esta prueba se advierte que todos los valores obtenidos por análisis químico son aceptables y por lo tanto susceptibles a un tratamiento estadístico que abarque todos estos valores.

Posteriormente se calculó el promedio (media aritmética) de cada serie de valores así como la desviación estándar, % coeficiente de variación (desviación estándar relativa) y el rango de las mismas, utilizando las siguientes expresiones (11) (12).

Media aritmética (\bar{x}) = $(x_1 + x_2 + \dots + x_n)/n$ en donde:

x_1, x_2, \dots, x_n = Valores individuales de cada serie.

n = Número de determinaciones de cada serie.

Desviación estándar (s) = $\left[\sum (x_i - \bar{x})^2 / (n-1) \right]^{1/2}$ en donde:

x_i = Cada uno de los valores individuales de cada serie.

\bar{x} = Promedio ó media aritmética.

n = Número de determinaciones de cada serie.

n-1 = Grados de libertad.

% Coeficiente de variación = $(s \times 100) / \bar{x}$ en donde:

s = Desviación estándar.

\bar{x} = Promedio ó media aritmética.

Rango = $x_n - x_1$ en donde:

x_n = Valor máximo de cada serie.

x_1 = Valor mínimo de cada serie.

Los valores promedio así como los valores de la desviación estándar y coeficiente de variación - (desviación estándar relativa), se encuentran tabulados en el anexo 1 y corresponden a los presentados en la tabla 5.

TABLA 5.- Valores del promedio, desviación estándar, --
coeficiente de variación, obtenidos para cada una de las
muestras de cerveza descritas en la tabla 3.

Muestra No.	Promedio (\bar{X}) Método		Desviación estándar. Método		% Coef. de variación. Método	
	1	2	1	2	1	2
1	3.547	3.534	0.101	0.108	2.836	3.059
2	3.412	3.411	0.107	0.055	3.138	1.604
3	3.222	3.301	0.067	0.119	2.070	3.611
4	4.292	4.302	0.184	0.128	4.280	2.966

Nota.- El método 1 corresponde al método refractométrico
y el método 2 al método de la densidad respectivamente.

Mediante una inspección visual puede observarse en
la tabla anterior que los valores del promedio y desviación
estándar son, en general muy cercanos entre si para cada -
una de las muestras y empleando los dos métodos en cuestión,
esto en primera instancia significa que la diferencia en-
tre usar uno ú otro método es relativamente mínima.

La desviación estándar nos da una medida en general,-
de la precisión del método el coeficiente de variación por
lo tanto será una medida de precisión relativa del mismo,
aunque para decidir cual de los dos métodos comparados es
mejor se hace necesario aplicar un tratamiento estadístico
más profundo que nos indique si existe alguna diferencia
significativa entre estos dos métodos.

Con este fin se procedió a realizar algunas pruebas estadísticas cuyo objetivo como ya se dijo es el detectar la existencia de diferencias significativas entre estos métodos. Las pruebas realizadas fueron:

Prueba F para la comparación de desviaciones estándar.- Esta prueba sirve para observar si existen diferencias significativas entre las desviaciones estándar de dos ó más métodos comparados y que en este caso nos servirá para comparar las desviaciones estándar, es decir, las precisiones del método refractométrico y de la densidad, para cada muestra en particular.

Para la aplicación de la prueba F se hace uso de la expresión: $F = S_1^2 / S_2^2$, en donde S_1 mayor S_2 y son las desviaciones estándar de cada uno de los dos métodos (6). El valor de F se calculó comparando los dos métodos en cuestión y para cada muestra en particular, estos valores corresponden a F calculado.

Ahora bien, dentro de la literatura existen tablas que muestran valores críticos de F tablas (6). Con los valores de $F_{cal.}$ y F tablas puede determinarse si existe diferencia significativa entre ambas desviaciones estándar. Los valores de $F_{cal.}$ y F tablas (a un nivel de significancia de 95% y 99%) se muestran en la tabla 6.

Una vez obtenidos los valores de $F_{cal.}$ y F tablas, estos son comparados entre sí de tal manera que cuando se tiene un valor de $F_{cal.}$ mayor al valor de --

F tablas, se dice que existe una diferencia significativa, y cuando F calculada menor a F tablas, se dice que no existe diferencia significativa.

TABLA 6.- Valores de F calculado y F tablas para las desviaciones estándar comparadas.

Muestra	Desviación estándar (s)		Valores de F ($S_1 > S_2$)		
	Método Refract.	Método de la densidad	Fcalc. (S_1^2 / S_2^2)	F tablas 95%	F tablas 99%
1	0.100	0.108	1.16	3.18	5.35
2	0.104	0.055	3.57	"	"
3	0.067	0.119	3.15	"	"
4	0.184	0.128	2.07	"	"

Como puede observarse en la tabla anterior, los valores para F calculado con respecto a los valores de F tablas son menores a un nivel de 99% de significancia, por lo que a este nivel, por tanto, no existe diferencia significativa entre ambos métodos.

Para el nivel de 95% de significancia se observa que los valores de F calculado son también menores a los valores de F tablas exceptuando la muestra 2 para F calculada (3.57) es mayor que F tablas (3.18). Lo anterior significa que para un nivel de 95% no se tiene diferencia significativa entre las desviaciones estándar de los dos métodos comparados para las muestras 1, 3 y 4, y para la muestra 2 si se tiene diferencia significativa a este nivel.

Prueba t para la comparación de promedios
.- Esta prueba tiene como finalidad determinar la existen
cia de diferencias significativas entre los promedios de -
dos ó más métodos comparados y que en nuestro caso particu
lar nos servirá para comparar los promedios de los dos mé-
todos empleados en el análisis de alcohol en cerveza para
cada tipo de cerveza utilizada.

La prueba consiste en obtener un valor al
que se le denominará "t calculado", mediante formulas mata
máticas y el cual será comparado con un valor denominado -
"t tablas" que se encuentra reportado dentro de la litera
tura (5). El valor de t calculado se obtendrá a partir de
los promedios y las desviaciones estándar de los dos méto
dos en cuestión.

Para aplicar esta prueba se asumirá la hipó
tesis de que $\mu_1 = \mu_2$, en donde μ_1 y μ_2 son los valores -
reales del contenido de alcohol de cada muestra analizada
y se asumirá también que $\sigma_1 = \sigma_2$, en donde σ_1 y σ_2
son las desviaciones estándar reales de cada método(6)

Bajo estas condiciones específicas, el
valor de t será calculado mediante la siguiente expresión:
(6)

$$t = (\bar{X}_1 - \bar{X}_2) / s \sqrt{(1/n_1) + (1/n_2)}$$

en donde:

\bar{X}_1 , \bar{X}_2 = Promedios de los valores obtenidos con cada método de análisis sobre una misma muestra de cerveza.

n_1 , n_2 = Núm. de determinaciones de cada serie.

Puesto que en este caso $n_1 = n_2 = 10$ tenemos que:

$$s^2 = 1/2 (s_1^2 + s_2^2)$$

$$s = \left[1/2 (s_1^2 + s_2^2) \right]^{1/2} , \text{ en donde:}$$

s_1 , s_2 = Desviaciones estándar de los valores obtenidos con cada método de análisis sobre una misma muestra de cerveza y que corresponden a los valores promedio \bar{X}_1 y \bar{X}_2 respectivamente (6).

En base a lo anterior y aplicando estas fórmulas, se obtienen los valores de S y t calculado, para cada muestra de cerveza. Estos valores se presentan en la tabla 7.

TABLA 7 .-Valores de S y t calculado correspondientes a cada tipo de cerveza.

Valores promedio (% Alcohol)				
Muestra No	Método Refract. (\bar{X}_1)	Método de la Densidad (\bar{X}_2)	S	t calc.
1	3.547	3.534	0.104	-0.278
2	3.412	3.411	0.085	-0.262
3	3.222	3.301	0.097	1.829
4	4.292	4.302	0.158	0.141

Ahora bien puesto que los valores promedio fueron obtenidos de una serie de diez determinaciones - tendremos un número de grados de libertad (6) igual a $n_1 + n_2 - 2 = 10 + 10 - 2 = 18$. Tomando éste valor y considerando dos niveles de significancia de 95% y 99% respectivamente, tenemos que los valores de t tablas para estos dos niveles son (11):

$$t \text{ tablas (18 grados lib. 95\% de sig.)} = \pm 2.101$$

$$t \text{ tablas (18 grados lib. 99\% de sig.)} = \pm 2.878$$

Una vez obtenidos los valores de t calculado y t tablas, estos son comparados entre sí de tal manera que cuando se tiene un valor de t calculado mayor al valor de t tablas se dice que existe una diferencia significativa entre los promedios, y cuando t calculado menor que el valor de t tablas se dice que no existe diferencias significativa entre los promedios.

Como puede observarse en la tabla 7, los valores de t calculado se encuentran todos dentro del rango de ± 2.101 y por supuesto dentro del ámbito de ± 2.878 lo que quiere decir que no se tiene diferencia significativa entre ambos niveles de significancia.

G O N C L U S I O N E S

1.- De los resultados obtenidos al aplicar la prueba F - para comparar las desviaciones estándar del método refractométrico contra el método de la densidad, para el análisis de alcohol, puede verse que para un 99% de probabilidad no existe diferencia significativa entre ambos métodos, sin embargo a 95% de probabilidad se observa que para la muestra de cerveza número 2 (cerveza clara tipo lager) si se tiene una diferencia significativa, es decir que para esta muestra la precisión que se obtiene aplicando uno ú otro método es significativamente diferente, aunque en general, puede inferirse que la precisión que se logra con uno ú otro método es equivalente.

2.-De los resultados obtenidos al aplicar la prueba t para la comparación de los promedios obtenidos con ambos métodos en estudio y por tipo de muestra, se observa que no se tiene diferencia significativa entre estos a un nivel de 95% de probabilidad y por consiguiente también a 99% de probabilidad, motivo por el cual se puede inferir que la exactitud de estos dos métodos es equivalente.

3.-Puesto que las diferencias entre los promedios y desviaciones estándar obtenidas tanto con el método refractométrico, como el de la densidad no son significativas, puede decirse

que la adopción de uno u otro de estos dos métodos de análisis para la determinación de alcohol en cerveza es indistinta, obteniéndose prácticamente los mismos resultados al aplicar cualquiera de ellos.

4.- De los métodos comparados puede decirse que el método refractométrico resulta más conveniente para el caso en que sea necesario realizar el análisis de un gran número de muestras y de forma rutinaria ya que con este método es suficiente con preparar la curva de calibración respectiva para cada tipo de cerveza, efectuar la medida refractométrica y la densidad de la muestra problema para conocer su contenido de alcohol.

Sin embargo, en el caso en que solamente se trate de un número reducido de muestras se considera que el método de la densidad sería el más apropiado, puesto que no se necesita por un lado la preparación de la curva de calibración y por otro resulta ser este un método más económico ya que el equipo necesario para aplicar el método de la densidad es menor en cuanto a número y por tanto más barato.

5.- Por lo anterior puede decirse entonces que el método refractométrico podría adoptarse como método de rutina a seguir en un laboratorio de cervecería ya que esto significa un ahorro considerable de tiempo pudiéndose tener el - -

método de la densidad como método alternativo en caso de ser requerido.

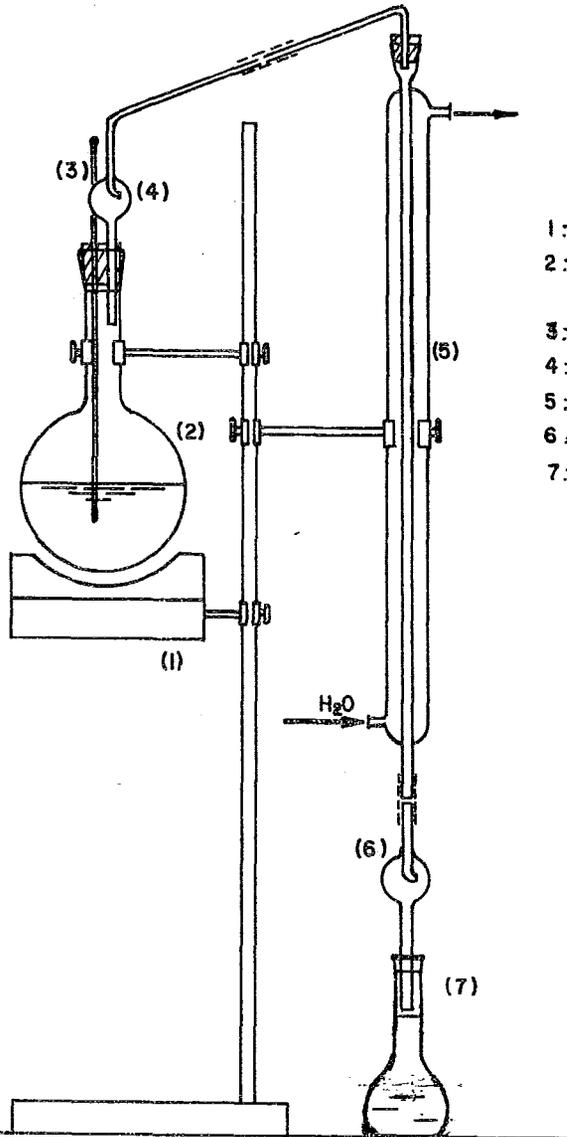
B I B L I O G R A F I A

- 1.- Horwitz, H., Editor. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Twelfth edition. Published by the AOAC, Washington, D. C (1975) 170-171.
- 2.- Kirk-Othmer, Encyclopedia of Chemical Technology. Second completely revised edition. Interscience Publishers (1972) U.S.A. Vol. 3: 297, 8:196, 7:541.
- 3.- Leland, S. Gamer, .. Adaptation of the Immersion -- Refractometer to the Determination of Extract and Alcohol in the Brewery. American Society of Brewing Chemists, Proceedings (1959) 102-106.
- 4.- Mercedes, H., Chavez, A., Bourges H. Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos, Tablas de uso práctico. Publicaciones de la División de Nutrición -I-12, - 6^a edición. Instituto Nacional de la Nutrición. - México. (1970) 5, 21.
- 5.- Methods of Analysis of the American Society of - Brewing Chemists, Published by American Society of Brewing Chemists. 7th edition. (1976) Beer. 1-6.
- 6.- Perry, H.R., Chilton, H.C., Chemical Engineers. - Handbook, Fifth edition Mc Graw-Hill, Kogakusha, Ltd. (1973) 2-62, 2-72.

- 7.- Snell D.F. Etre, L.S. Encyclopedia of Industrial -
Chemical Analysis. Interscience Publishers, New York,
U.S.A.. (1974) vol. 7..
- 8.- Tables Related to Determinations on Wort, Beer, and
Brewing Sugars and Syrups. The Society : St. Paul, -
Minn.. (1958) rev.. 1975.
- 9.- Van Gheluwe, J.E.A., Stock , A.L. and Mc. Rae J.P..
Expanded Nomograph Technique Applied to Routine Refrac
tometric Analysis of Wort and Beer.. ASBC Proceedings
(1959) 107-112..
- 10.- Willard, H.H., Merrit, L.L. Jr and Dean, J.A. Instru-
mental Methods of Analysis, 3 rd. ed.. Van Nostrand
Princeton . N.J.. (1958) 302.
- 11.- Youden, W.J. Statistical Methods for Chemists..
John Wiley and Sons, Inc. New York, N.Y.. (1977) -
1-7, 24, 31..
- 12.- Youden, W.J. Statistical Techniques for Collabora-
tive Tests. Edited by Association of Official -
Analytical Chemists, Inc. Washington, D.C (1975)
170, 171.
- 13 .- Hough, J.S. Briggs, D.E. and Stevens, R..
Malting and Brewing Science.
Chapman and Hall LTD. Printed in Great Britain.
(1971) 608, 611..

ANEXO I.-Resultado del análisis químico realizado sobre las muestras de cerveza utilizadas.

<u>Determinación No</u>	<u>Método Refractométrico</u>				<u>Método de la Densidad</u>			
	<u>Muestra No.</u>				<u>Muestra No.</u>			
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	3.55	3.55	3.35	4.61	3.62	3.39	3.46	4.33
2	3.40	3.28	3.21	4.34	3.40	3.45	3.37	4.27
3	3.56	3.45	3.24	4.35	3.43	3.48	3.49	4.48
4	3.58	3.29	3.20	4.24	3.51	3.38	3.15	4.02
5	3.46	3.36	3.21	4.18	3.45	3.37	3.18	4.45
6	3.43	3.58	3.10	4.05	3.46	3.46	3.15	4.27
7	3.66	3.43	3.19	4.26	3.68	3.49	3.31	4.34
8	3.62	3.30	3.28	4.09	3.69	3.35	3.30	4.35
9	3.50	3.49	3.26	4.23	3.62	3.34	3.27	4.29
10	3.71	3.39	3.18	4.57	3.48	3.40	3.33	4.22
<u>Promedio (x)</u>	3.547	3.412	3.222	4.292	3.534	3.411	3.301	4.302
<u>Desv. est. (s)</u>	0.100	0.104	0.067	0.184	0.108	0.055	0.119	0.128
<u>% coef. var.</u>	2.847	3.135	2.080	4.287	3.056	1.612	3.604	2.975



- 1: Elemento de calentamiento
- 2: Matraz de fondo redondo de 500 cm³
- 3: Termómetro
- 4: Trampa para evitar arrastres
- 5: Condensador
- 6: Trampa de absorción
- 7: Matraz volumétrico de 100 cm³

FIG1.- Aparato para destilación de alcohol