



**ISOHUMULONES EN EL PROCESO CERVECERO  
Y EN CERVEZAS MEXICANAS.**

**ENRIQUE ARAMBURU ZUBIRIA**

**MEXICO, D. F.**

**1962**



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.

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Escuela de Ciencias Químicas

U. N. A. M.  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

- Isohumulones en el Proceso Cerve-  
cero y en Cervezas Mexicanas.

T E S I S

Que para obtener el título de:

Q U I M I C O

p r e s e n t a :

ENRIQUE ARAMBURU ZUBIRIA

MEXICO, D. F.

1969



A mi padre, D. Enrique Aramburu  
con veneración y respeto

Fraternalmente a mis hermanos.  
Mauricio y Jorge.

Con cariño a mi prometida  
Emma Portola L.

A mis tíos y primos, con mi  
reconocimiento.

A D. Pablo Diez y su señora Dña. Rosario G.  
de Diez, con mi agradecimiento.

Al Ing. Quím. y Quím. D. Vicente San José,  
director del presente trabajo

Al Dr. en Química D. Jesús Serrano de Pablo,  
por su valiosa cooperación

A mis profesores, amigos y compañeros.

Mi agradecimiento a la Carvecoria Modelo, S. A.  
por las facilidades que me otorgó para la  
elaboración del presente trabajo.

## ISOHUMULONES EN EL PROCESO CERVECERO Y EN CERVEZAS MEXICANAS

I.- Introducción.

II.- Método Analítico Elegido  
Discusión.

III.- El Espectrofotómetro Beckman DU, su calibración y su uso.

IV.- Isohumulones en el Proceso Cerveceo

a) Generalidades sobre el Lúpulo.

b) Breve Descripción del Proceso Cerveceo.

c) Método de Análisis y Análisis de Humulón y Lupulón en Lúpulo.

d) Análisis del Contenido de Isohumulones en los Diferentes pasos del Proceso Cerveceo:

1) Sala de Cocimientos (mosto caliente).

2) Mosto frío.

3) Sala de Fermentación (a los dos días y al salir).

4) Salones de Reposo (al salir).

5) Cerveza fría (sin pasteurizar)

6) Cerveza Pasteurizada.

V.- Isohumulones en las Cervezas Mexicanas.

VI.- Conclusiones.

VII.- Bibliografía.



## INTRODUCCION

El sabor amargo de las cervezas ha ido disminuyendo en estas dos últimas décadas hasta quedar reducido a la mitad de su valor; este hecho, que es más patente en los Estados Unidos que en Europa, ha sido debido en una gran parte, a razones de índole económica, debido a lo cual las cervezas de hoy día son más claras y más ligeras, lo que corresponde a un grado Balling en mosto original que oscila alrededor de 11.5 y un color de 3° Lovibond y que por lo tanto, requieren menor contenido de sustancias amargas.

Sin embargo, al adquirir las cervezas este carácter más delicado, han obligado a los productores de cerveza a desarrollar el control de calidad, de manera que se obtenga un producto de máxima uniformidad. Esto ha traído como consecuencia que el cervicero abandone los métodos empíricos para las adiciones -- del lúpulo y se ha franqueado el paso a los métodos técnicos analíticos para el control de las sustancias amargas contenidas en los lúpulos y que son, en particular, los determinantes de las dosis que se han de añadir de esta flor a los mostos, en la olla de cocimientos.

En este trabajo se ha investigado, por una parte, el contenido de humulonas y lupulonas en los lúpulos (sustancias amargantes) y luego se ha visto su distribución, en forma de isohumulones, a lo largo del proceso cervicero. Por último, se ha observado el contenido de estas sustancias amargantes (isohumulones), en las cervezas mexicanas.

### METODO ANALITICO ELEGIDO. Discusión.

El método analítico elegido para la determinación de isohumulones, es el espectrofotométrico, debido a que tiene tanta exactitud -- como los otros métodos existentes y a que posee la cualidad de poder realizarse en un tiempo menor, además de requerir menos -- muestra, menos reactivos y en menor cantidad.

#### Discusión.

A continuación se da una tabla, que es el extracto comparativo de los métodos espectrofotométricos, para la determinación de isohumulones en cerveza.

	Rigby-Bethune.		Moltke	
	I	II	Meilgaard	Klopper
Vol. de cerveza (ml)	50	50	20	10
Vol. de isoctano (ml)	50	50	20	20
Vasija de extracción	erlenmeyer especial	erlenmeyer especial	frasco especial	cilindro tapado
Agitación medio tiempo	mecánico 15 min.	mecánico 15 min.	manual 5 min	mecánico 5 min
Lavado del extracto	--	metanol alc.	--	--
Dilución	metanol alc	metanol alc	--	--
Longitud de onda (m $\mu$ )	255	256	275	275

Como se puede notar, la mayor diferencia que existe entre los métodos de Rigby-Bethune (I y II) y los de Moltke-Meilgaard y Klopper, estriba en que los primeros usan metanol alcalino para diluir el isoctano, cosa que los segundos no hacen, ni el método espectro-

fotométrico lo pide. Esta alcalinización, trae consigo una absorción máxima a 255  $\mu$ , sustituyendo a la correspondiente a una solución neutra, que es de 275  $\mu$ . El segundo método de Rigby-Bethune, - uncluye un lavado con metanol ácido del isooctano original, después de la extracción en la cerveza. Sin embargo, los autores encontraron que este paso resultaba innecesario y su eliminación dió resultados correspondientes al contenido de isohumulones en cerveza.

Moltke y Meilgaard usaron el extracto de cerveza en isooctano, directamente, con lo cual también se obtienen resultados correspondientes al contenido de isohumulones de la muestra. La lectura de la absorbancia en 275  $\mu$ , usada en este método, es totalmente correlativa a la de 255  $\mu$ , pues el metanol alcalino sirve de factor de corrección.

Ahora bien, tanto a Rigby-Bethune, como a Moltke-Meilgaard, se les producían emulsificaciones extrañas durante el proceso de extracción, lo cual fue eliminado por Klopffer, cambiando la razón - cerveza-isooctano, de 1:1 a 1:2 y extrayendo por medio mecánico, en vez de manual, con objeto de hacer más uniforme la extracción, ya que un período de 5 minutos es imposible uniformizarlo manualmente. En los casos en que llegaba a aparecer emulsificación, ésta se destruía por medio de una centrifugación más o menos energética, siguiendo en ésta, las experiencias de sus antecesores, - pero su análisis dió invariablemente resultados altos; sin embargo, al repetir la extracción, con la misma muestra y el mismo solvente, no se obtenía la antedicha emulsificación y el resultado era del orden debido.

El procedimiento elegido está basado en la extracción por medio de agitación manual, en 30 segundos, lo cual nunca da emulsiones y sí produce resultados comparables a los demás métodos. El análisis de muestras por duplicado, produce resultados de mayor semejanza que en las otras técnicas.

Hay que aclarar que este procedimiento da resultados más bajos que los de Rigby-Bethune y más altos que los de Moltke-Meilgaard y Klopper, por lo cual cabe pensar que se obtienen resultados muy cercanos al promedio de los procedimientos desechados. La tabla siguiente aclarará estas ideas:

	ISOHUMULONES (mg/lit)		
	margen	promedio	desviación
Rigby-Bethune I	15.4-35.3	21.35	0.27
Rigby-Bethune II	14.7-39.1	22.45	0.32
Moltke-Meilgaard	8.9-34.2	16.61	0.95
Klopper	8.9-34.2	16.61	0.95
Espectofotométrico	11.6-33.9	18.89	0.23

Nota 1: la desviación está basada en la determinación por duplicado de 30 cervezas.

Nota 2: ASBC Proceedings, 1956, pág. 48.

El método usado en el presente trabajo para el análisis de isohumulones en las cervezas, fue el siguiente:

**Reactivos:**

- a) 2, 2, 4 trimetil pentano (Isooctano) en grado certificado espectrofotométrico.
- b) ácido clorhídrico 3N.

**Aparatos:**

- a) Espectrofotómetro Beckman DU, equipado con accesorio para luz ultravioleta.
- b) Frascos de tapón esmerilado y boca ancha, de 50 ml. de capacidad.

**Procedimiento:**

se toman 10 ml. de cerveza, medidos con pipeta volumétrica y se depositan en un frasco de tapón esmerilado de boca ancha de 50 ml. de capacidad, agregando 1 ml. de HCl 3N y 20 ml. de iso octano; se tapa, se ajusta la temperatura a 20°C y se agita vigorosamente en forma manual, por espacio de 30 segundos. A continua ción se deja reposar 1-2 minutos para lograr la separación de las capas (oleosa y acuosa), y se pipetea una muestra de la capa sobre nadante (la del trimetil pentano), llevándola a la celda del ospecto fotómetro, en el cual se hace la lectura de la absorbancia a 275 m $\mu$ , con un diafragma de 0.4 mm. y calibrando el aparato con un testigo de isooctano.

**Cálculos:**

Isohumulones, mg/lit = absorbancia X 57.2 - 5.9

### EL ESPECTOFOTOMETRO BECKMAN DU SU CALIBRACION Y SU USO.

El espectrofotómetro Beckman DU, fabricado por la casa Beckman Instruments, Inc. de E. E. U. U. tiene la característica esencial de abarcar un margen de longitudes de onda muy amplio, desde 220 a 1,000 milimicrons (mu) con muy buena capacidad selectiva.

El aparato en sí, sólo hace mediciones, ya sea de absorbancia o de transmitancia, en longitudes de onda por arriba de 350 mu, - pero con un accesorio para luz ultravioleta, se pueden hacer mediciones desde 220 mu. Estos límites, según boletín de la casa Beckman, tienen una tolerancia de un 10%, sin que haya posibilidad de error, pues queda dentro del margen de seguridad.

El espectrofotómetro en cuestión, consta de un bloque que lleva los instrumentos de precisión y sus escalas correspondientes (en su caso), como son:

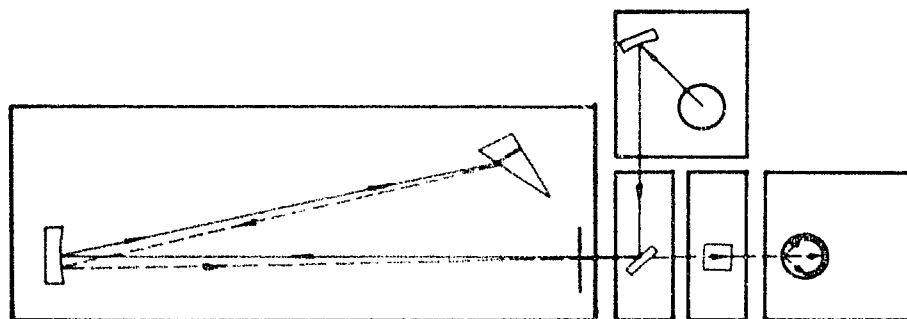
- control de sensibilidad
- botón selector
- control de corriente
- selector de longitud de onda y su escala
- control de transmitancia y absorbancia, con su escala doble
- galvanómetro con escala
- control de rendija o diafragma y su escala
- deslizador de las celdas
- control de posición de los fototubos

control de paso de luz a los antedichos  
manija seleccionadora de resistencias.

Además, el accesorio de luz ultravioleta, que está compues-  
to esencialmente por:

fuente de poder  
lámpara de Hidrógeno.

Ahora bien, en lo que respecta a la parte óptica, tenemos el -  
diagrama siguiente:



- 1.- lámpara emisora
- 2.- espejo condensador
- 3.- espejo de entrada
- 4.- diafragma o rendija
- 5.- espejo colimador
- 6.- prisma de cuarzo
- 7.- celdilla para muestra
- 8.- fototubo.

Definiciones y símbolos:

Transmitancia: (t) está dada por la relación:

$$t = \frac{P}{P_0}$$

donde  $t$  es la razón del poder radiante transmitido por la muestra  $P$  y el poder radiante de incidencia de la muestra  $P_0$ , ambos medidos con la misma abertura de diafragma.

Bajo las condiciones del presente método tenemos:

$$\text{Trasmitancia} = t = 10^{-abc}$$

(a, b, y c, se definirán posteriormente).

Absorbancia: (A) está dada por la relación:

$$A = \log \frac{1}{t} = abc.$$

Se dice que la absorbancia es el logaritmo de base 10 - del recíproco de la transmitancia.

Absorbtividad: (a) es la razón de la absorbancia al producto de la concentración (c) y la longitud del paso óptico (b).

$$a = \frac{A}{bc}.$$

Paso Óptico: (b) es la distancia en centímetros, que recorre el rayo de luz, por el interior de la muestra.

Concentración: (c) es la cantidad de sustancia absorbente, -- por unidad de volumen. En el presente trabajo se expresa en --- gr/lt.

Coefficiente de calibración: (K) es la razón de la absorbancia de un compuesto puro, a la concentración. Esta cantidad tiene significado sólo con respecto a una coloa de absorción particular y es usado para la calibración y el análisis de mezclas.



#### Datos técnicos del aparato:

es un espectrofotómetro equipado para muestras líquidas, con celdillas de sílice, con un paso óptico de un centímetro de longitud. Este instrumento debe ser capaz de medir la absorbancia, con una aproximación de 1% o más, en la región espectral dada entre los valores de 240 y 250  $\mu$ , con una banda nominal de un  $\mu$  o menos. La posición del espectro debe ser reproducible con 0.1  $\mu$  de aproximación.

#### Solventes:

##### a) Isooctano en grado de solvente espectrofotométrico.

El isooctano industrial es una buena fuente para la preparación del solvente. Técnica: se toman 4-5 lt. del material y se pasan a través de una columna de sílica-gel activada (malla 200) de 5.0-7.5 cm. (2-3 pulg.) de diámetro y una longitud de 60-90 cm. (2-3 pies). Se recoge sólo la porción que tenga una transmitancia (t), comparable a la del agua destilada, mayor del 90% sobre el espectro entero del margen de 240-300  $\mu$ . Se guarda en frascos de tapón esmerilado, escrupulosamente limpios y que siempre estarán cerrados.

En general, es mejor usar sílica-gel fresca para cada partida del solvente espectrofotométrico, pero ésta puede ser reactivada pasándole 500 ml. de acetona, a través de la columna, dejándola escurrir, sacándola por succión y calentando la sílica-gel en capas delgadas, en un horno, a 400°C, hasta obtener un color blanco. Se guarda en recipientes herméticamente cerrados y se destapa sólo al momento de usarse.

Para llevar a cabo el presente trabajo, se partió de 2, 2, 4 trimetil pentano (isooctano) industrial, el cual se sometió al proceso anterior y se logró un buen solvente, según lo muestra la tabla de la página siguiente.

## T R A S M I T A N C I A S

agua destilada	longitud de onda	isooctano	<u>isooctano</u> agua dest.
17.2	240	15.8	91.9 %
19.2	245	17.7	92.3
22.3	250	20.6	92.6
26.3	255	24.4	92.7
28.2	260	26.2	93.0
30.9	265	28.7	93.0
32.9	270	30.7	93.4
34.4	275	32.3	93.7
36.4	280	34.2	93.9
38.4	285	36.1	94.0
41.1	290	38.9	94.6
43.8	295	42.2	96.8
46.4	300	45.3	97.6
49.1	305	48.5	98.8
51.8	310	51.2	98.8
54.6	315	54.2	99.3
56.9	320	56.6	99.5
58.7	325	58.4	99.7
60.3	330	60.1	99.7
61.6	335	61.3	99.7
63.3	340	63.1	99.7
63.7	345	63.6	99.8
63.9	350	63.8	99.8
64.0	355	63.9	99.8
64.0	360	63.9	99.8
.	.	.	.
.	.	.	.
.	.	.	.

- b) Eter de petróleo (A. R.).
- c) Metanol en grado de solvente espectrofotométrico.
- d) Acetona (para la limpieza de las celillas).

#### Preparación del aparato:

Ajustes preliminares: se verifica y si es necesario se ajusta la escala de la longitud de onda, de acuerdo con las instrucciones dadas por el fabricante del aparato. Con el ajuste de rendija o diafragma, completamente abierto y la lámpara de hidrógeno en foco, debe obtenerse una intensidad máxima. El ajuste de la escala de la longitud de onda y el enfoque de la lámpara de hidrógeno, debe ser hecho con sumo cuidado, ya que un enfoque defectuoso de la lámpara, puede ser causa de una mala calibración del instrumento y conducir a errores en las lecturas.

Debido a que la absorbancia es sensible a los cambios de temperatura (mayores de  $5^{\circ}\text{C}$ ), se debe tener cuidado de que esta fluctuación no tenga lugar en las determinaciones, ya que cada cambio de  $5^{\circ}\text{C}$  entre la temperatura del bloque del aparato y la celilla, origina un error aproximado de 1% en la determinación de la muestra. Si las variaciones de temperatura alcanzan este valor, el filtro se inserta, de manera que el rayo de luz pase por él y así compensar el efecto del cambio de temperatura. Cuando una muestra, tiene una temperatura que difiere apreciablemente de la del bloque, del aparato, debe dejarse hasta un largo tiempo dentro de él, para lograr el equilibrio térmico y poder así, efectuar buenas lecturas.

Selección de la abertura de rendija: se debe usar una abertura de rendija en concordancia con la energía que sale del aparato, pero no excediendo de 0,5 mm. Siempre se debe usar la misma abertura, para un mismo tipo de análisis, de manera que los resultados sean comparativos. Si el instrumento no -

va a ser balanceado usando el control de diafragma como es el caso, las miras deberán ser limpiadas y reajustadas, con el fin de obtener la energía necesaria.

**Limpieza de las celdillas:** las celdas de absorción de sílica se deberán limpiar por enjuague, por tres veces, con acetona o metanol y secando con vapor o con aire limpio. Las partes exteriores de ellas, se limpiarán con papel óptico. Antes de usar las celdillas, se deben examinar y sólo se usarán en el caso de que estén totalmente limpias. Tanto la acetona como el metanol, tienen su margen de absorción en la misma región espectral que el isoocetano, por lo que se hace uso de ellos a entera satisfacción.

**Medida de la absorbancia:** se hace, comparando el solvente espectroscópico en su celda, a una dilución apropiada, según se verá más tarde, con el solvente más el problema, en su celdilla.

**Determinación de la corrección de celda:** la lectura de la absorbancia comparando el solvente espectroscópico en su celda, con el mismo más el problema, en la celda con muestra, para cada valor del espectro (longitudes de onda). Esta absorbancia, es una medida de diferencia entre las dos celdillas de sílica, razón por la cual se deben usar las celdillas pareadas, según los datos del fabricante.

#### Procedimiento:

**Diluciones de la muestra:** con una pipeta se toma una porción de la muestra y se introduce en una celdilla, perfectamente limpia, con lo cual se procede a hacer la lectura de la absorbancia. Si esta lectura es mayor de 1, se hace una primera dilución, partiendo de 5 ml. de la muestra y diluyéndolos con solvente espectrofotométrico a 50 ml., en un matraz alorado; se mezcla bien y se hace la determinación. Si la lectura aún está por encima -

del valor de 1, se debe hacer otra dilución, para lo cual se parte de una alícuota de la solución anterior (4 ml.), se pasa a un matraz aforado de 50 ml. se agrega el solvente (mismo que en la dilución anterior), se mezcla y se hace la determinación. Con ésto, generalmente ya se logra una lectura inferior a 1, pero en caso negativo, se debe partir de un volumen menor de muestra inicial y hacer las diluciones señaladas con anterioridad.

Medida de la absorbancia: se pipetea porciones de la mezcla dentro de la celda del espectrofotómetro. Se tapa inmediatamente para prevenir evaporaciones del solvente que traerían como consecuencia concentraciones perjudiciales, ya que quedan fuera de control. Se revisan las paredes de la celda de absorción y si es necesario, se limpian con papel óptico. Se hace la medición de la absorbancia lo más rápidamente posible y por dos veces. Se apunta el resultado y se le resta la absorbancia del solvente, a esa misma longitud de onda y con la misma abertura de rendija o diafragma.

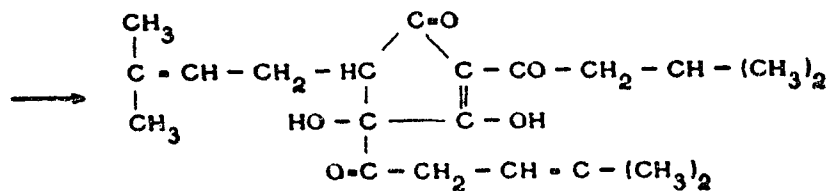
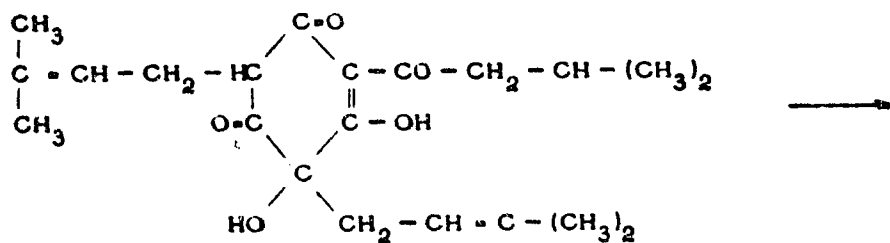
## ISOHUMULONES EN EL PROCESO CERVECERO

El sabor impartido por los lúpulos es, probablemente, el distintivo más característico de la cerveza; debido a ello, el lupulado se considera como uno de los más importantes pasos en la elaboración de lo cual hace un arte el maestro cervecero. Investigaciones recientes en la composición y determinación analítica del gusto amargo del lúpulo, tanto en lúpulos como en cerveza, están obligando a hacer un uso racional de esta materia prima, lo cual repercute directamente en el precio.

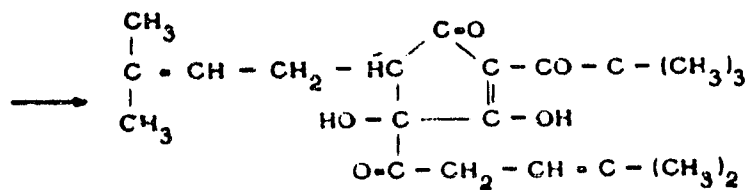
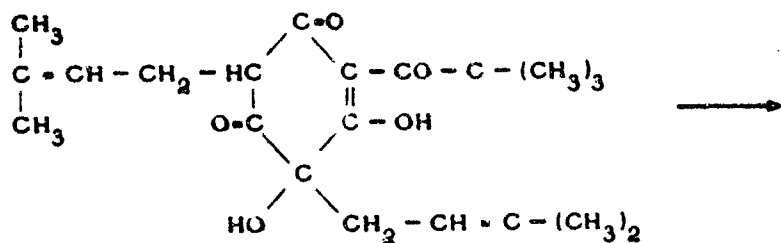
El sabor amargo es generalmente atribuido a los humulones y a sus componentes: humulona, adhumulona, posthumulona y cohumulona. Estos compuestos están presentes en la cerveza en forma isómera, transformación que se lleva a cabo durante el proceso de ebullición en la olla de cocimientos, produciendo los respectivos compuestos iso: isohumulona, isoadhumulona, isoposthumulona e isocohumulona.

A continuación se expone la estructura química de la humulona o isohumulona; la cohumulona, la adhumulona y la posthumulona, así como sus respectivos compuestos iso, difieren de los expuestos, tan sólo, en su estructura química interna.

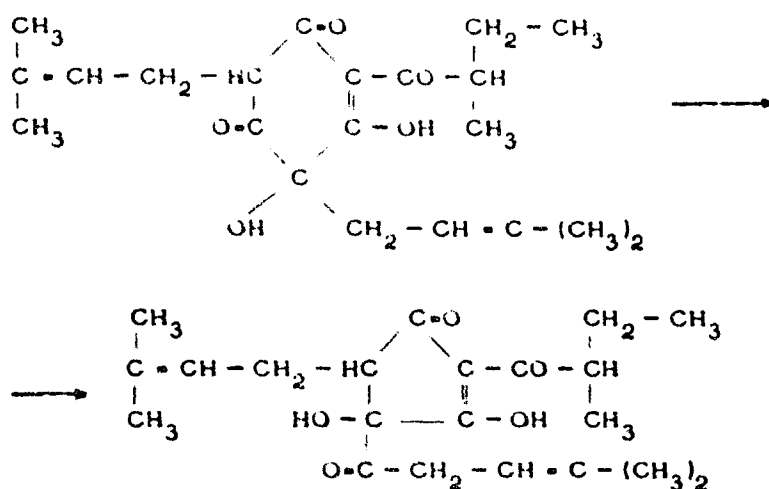
## Humulona e isohumulona:



## Adhumulona e isoadhumulona:



Posthumulona o isoposthumulona:



De lo anterior, se deduce la necesidad de un método rápido y preciso para la determinación de estas sustancias, a fin de controlar y cuidar el lúpulo, en todas sus fases: cosecha, empaclado, transporte y almacenamiento, ya que en condiciones desfavorables (temperaturas mayores a 10°C, circulación de aire y luz solar), los compuestos humulónicos sufren transformaciones (oxidaciones) que bajan el valor cervecero del lúpulo.

El método descrito a continuación reúne las dos condiciones antedichas y fue el usado para la determinación del lúpulo del que se partió para el proceso cervecero. Los resultados que da, son correspondientes a la humulona, adhumulona, y posthumulona (humulones); los lupulones aunque son también sustancias amargantes, se relegan a segundo término, ya que están en una relación de 6:1 y aun de 10:1, con respecto a los anteriores.



#### a) GENERALIDADES SOBRE EL LUPULO:

El lúpulo es una planta que pertenece al género *Humulus*, con -- cuatro especies reconocidas: *lupulus*, *americanus*, *japonicus* y *neo-mexicanus*. Las dos primeras especies incluyen todas las variedades comerciales de lúpulo y desde este punto de vista se pueden -- reunir en : *Humulus lupulus*.

Las matas, que son enredaderas a la derecha, se plantan generalmente sobre montículos, a unos dos y medio metros de distancia, a medida que van creciendo, se adaptan a tutores o guías de palo - o de alambre. A finales del verano o a principios del otoño, se recogen las inflorescencias y se llevan a la secadora o estufa, donde las operaciones se realizan con mucha precaución, para conservar - lo más posible el material; a continuación se empaca y se distribuye.

La planta de lúpulo, *Humulus lupulus* es de larga vida, dioica y está propagada comercialmente. Es una de las pocas plantas que se cosechan separadamente como flores masculinas y femeninas y que además crecen en diferentes matas. Las flores femeninas, - que son las que tienen valor en cervecera, tienen forma de piñas - o conos.

El valor cervecero del lúpulo depende de la cantidad de "lupulina" que contengan los conos, la cual se presenta en forma de pequeños gránulos en la base de las antedichas flores femeninas.

Esta flor es muy difícil de conservar, debido a que es extremadamente sensible al sol, aire, calor, lluvia, insectos y a las enfermedades y a la calidad de los conos, depende del tipo, color, aroma y

contenido de lupulina.

La lupulina está compuesta primordialmente por resinas y aceites esenciales. Las resinas son: duras y suaves. Las duras no tienen valor en cervecaría, en cambio, las suaves producen el sabor amargo de la cerveza y tienen un papel primordial en el mosto, ya que además del amargor, proporciona agentes preservativos.

Las resinas suaves están constituidas por ácidos alfa (humulón) - y por ácidos beta (lupulón), que por oxidación producen isohumulón e isolupulón.

Los principales productores de esta planta, son los siguientes - países: Estados Unidos, Inglaterra, Alemania, Checoslovaquia, Yugoslavia, Francia, Bélgica y Suiza.

## b) BREVE DESCRIPCIÓN DEL PROCESO CERVECERO.

El primer paso en el proceso cervecero es la maceración, en la cual la malta molida se somete a un proceso de desdoblamiento de su almidón por medio de temperaturas y tiempos controlados.

De aquí se pasa a los filtros, donde se elimina el bagazo, costado por la cáscara del grano de malta.

La siguiente etapa del proceso cervecero se realiza en las ollas de cocimientos, que es el primer paso que nos interesa en la elaboración del presente trabajo ya que aquí es donde se agrega el lúpulo; el líquido que llegó a la olla denominado mosto dulce, recibe aquí el nombre de mosto lupulado. El lúpulo total se agrega en varias porciones a la olla de cocimientos, de cuyas adiciones, sólo se tomaron dos etapas: una antes de la última adición del lúpulo, estando el mosto aún en la olla y otra, cuando ya todo el producto ha sido agregado, muestra que se toma en la tina de mosto caliente -- que es el paso inmediato del proceso.

Antes de llegar a la tina el mosto caliente pasa por el filtro de lúpulo. Una vez en la tina, el mosto lupulado sufre un enfriamiento inicial y un asentamiento de la materia en suspensión que contiene, ya que el filtro de lúpulo sólo detiene dicho producto.

Los enfriadores de cerveza es el siguiente equipo que entra en acción y con ellos se logra abatir la temperatura de 45-50°C a --- 4-6°C.

El siguiente paso del proceso consiste en la inoculación del mosto lupulado, ya frío, con levadura del tipo *Sacharomyces cerevisiae*. De estas tinas de inoculación se trasiega a los tanques de fermentación, donde permanecen durante un tiempo, hasta lograr que la acción de la levadura de los valores de control, por medio de la fermentación alcohólica predeterminados para cada tipo de cerveza. De este paso se sacaron dos muestras: una a los dos días de estar fermentando y la otra al salir de estos tanques, para pasar a los de reposo, que es el paso inmediato.

En estos tanques de reposo, la cerveza queda a temperaturas inferiores, cercanas a 0°C y durante este período se lleva a cabo el asentamiento de la levadura y de partículas amorfas, que producen el enturbiamiento del producto, a la vez que es saturado de CO<sub>2</sub> por medio de la fermentación secundaria. Así mismo, se logra afinar el gusto de la cerveza. El tiempo que está el producto en los tanques de reposo, depende de la calidad y tipo de la cerveza que se está elaborando. En este paso sólo se muestreó al finalizar el tiempo de reposo, ya que una muestra al principio, hubiera correspondido totalmente al último día de fermentación.

De los salones de reposo, la cerveza pasa a los filtros, con objeto de lograr una clarificación perfecta, al mismo tiempo que su brillantez característica. De aquí pasa a las embotelladoras y a continuación la cerveza es pasteurizada a temperaturas cercanas a los 60°C, con lo cual se logra matar la levadura remanente en el producto. De los pasteurizadores se encartona y se distribuye.

c) METODO DE ANALISIS Y ANALISIS DE HUMULON Y LUPULON EN LUPULO.

Procedimiento:

Se pesan en balanza granatada 25 g. de lúpulo en hojas y se pican finamente. A continuación se pesan exactamente 5 g.  $\pm$  0.1 y se introducen en un Erlenmeyer de tapón esmerillado. Se agregan con pipeta volumétrica, 100 ml. de éter de petróleo, de bajo punto de ebullición. Se engrasa la parte esmerillada del tapón del Erlenmeyer, con grasa a base de silicón y se tapa perfectamente. Acto seguido, se pesa el Erlenmeyer con su contenido, en balanza analítica, y con una lectura hasta la segunda cifra decimal, que se anota. Se procede a extraer, por medio de agitación mecánica horizontal, durante 30 minutos, después de lo cual se vuelve a pesar el frasco. Este segunda pesada, debe dar un resultado igual al anterior, cuando menos hasta la segunda cifra decimal. En caso contrario, se deshecha el trabajo y se empieza de nuevo, cuidando de tapar perfectamente bien el frasco, por medio del sello a base de grasa de silicón, pues un defecto en esto, es causa de la pérdida de peso, por evaporaciones y produce inexactitudes en el análisis.

Se deja reposar, con objeto de permitir el asentamiento del lúpulo y la clarificación del líquido sobrenadante. Una alcuota apropiada, se diluye con metanol alcalino recién preparado (0.2 ml. de NaOH 6N en 100 ml. de metanol R. A.). Se recomiendan diluciones que den lecturas de absorbancia entre 0.8 y 0.4. Para lúpulos que contengan aproximadamente 8% de ácidos alfa y beta y para determinaciones con el espectrofotómetro Beckman DU, se puede obtener el margen anteriormente citado, diluyendo 5 ml. de extracto de éter de petróleo en un matraz aforado de 50 ml. (dilución A), con metanol alcalino fresco y haciendo una segunda dilución partiendo -

de 4 ml. de la solución recién diluida (A) y llevándolos a 50 ml. -- con metanol alcalino (dilución E).

El uso de pipetas de precisión y a ser posible volumétricas, es recomendable, así como también el hacer el dragado de ellas, en un tiempo mínimo de 20 seg.

Se prepara el correspondiente testigo. La lectura de la dilución B, se da por diferencia con el anterior, a las longitudes de onda siguientes: 275, 325 y 355  $\mu$ , con el aparato ajustado a la máxima sensibilidad. La concentración total de ácidos alfa y beta, (concentración de humulón:  $C_H$ . Concentración de lupulón:  $C_L$ ), en mg/lt, está dada por las siguientes ecuaciones:

$$\text{ácidos alfa} = \text{humulón} = C_H = -51.56A_{355} + 73.79A_{325} - 19.07A_{275}$$

$$\text{ácidos beta} = \text{lupulón} = C_L = 55.57A_{355} - 47.59A_{325} + 5.10A_{275}$$

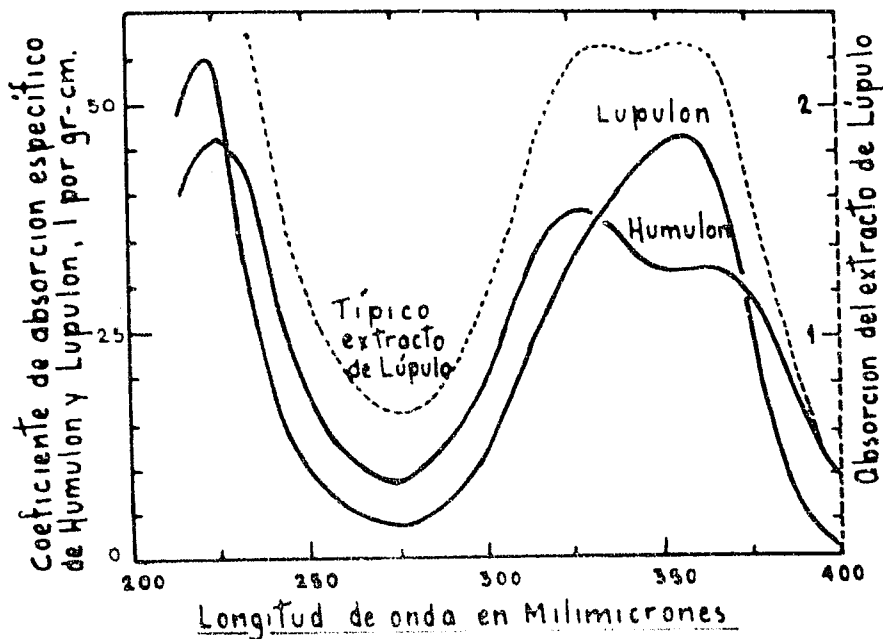
donde  $A_{355}$ ,  $A_{325}$  y  $A_{275}$  son los valores de las absorbancias de una muestra con un peso óptico de un centímetro de longitud, a las longitudes de onda indicadas en los subíndices. La absorbancia se lee como el logaritmo de la razón de la energía transmitida por la celdilla de referencia (testigo) y la transmitida por la celdilla de la muestra.

Multiplicando los valores obtenidos para  $C_H$  y  $C_L$  por el factor de la dilución, se dan los porcentajes totales del contenido de ácidos alfa y beta, respectivamente:

$$C_H \text{ (mg/lt)} \times F = \% \text{ de humulón en el lúpulo.}$$

$$C_L \text{ (mg/lt)} \times F = \% \text{ de lupulón en el lúpulo.}$$

La base de este método está dada por el espectro de absorción, según muestra la figura siguiente:



Esta figura fue lograda a base de los espectros de absorción en metanol alcalino del humulón y lupulón y del extracto típico del lúpulo, variando las longitudes de onda desde los 200 milimicrones, --- hasta 400. Las longitudes de onda de 325 y 355  $\mu$ , producen altos factores de absorción de humulón y lupulón respectivamente y una baja absorción de los otros constituyentes del extracto de lúpulo. La absorción a 275  $\mu$  está fuertemente influenciada por constituyentes que no son ni lupulón ni humulón y da un tercer valor que sirve de factor de corrección. Cuando se hace las lecturas tan sólo a 325 y 355  $\mu$ , se dice que es un análisis binario y si se hace a las tres longitudes de onda antedichas, terciario; así tenemos los siguientes resultados, de los cuales, los terciarios, son los más compatibles con la gráfica anterior.

Lúpulo		Humulón	
Análisis Binario	Análisis Terciario	Análisis Binario	Análisis Terciario
5.4	5.5	8.3	7.6
4.8	4.9	6.6	6.2
4.9	5.0	6.2	5.8
1.9	2.1	7.1	6.4
3.7	3.9	6.4	5.6
1.5	1.6	4.0	3.4
2.0	2.1	3.6	3.2
1.6	1.6	2.6	2.4

**Práctica:**

Se hicieron determinaciones por duplicado de dos tipos de lúpulo; cada uno de ellos, se usó por separado en los dos procesos analizados.

**Lúpulo # 1.****Análisis A.**

$$A_{355} = 0.890$$

$$A_{325} = 0.900$$

$$A_{275} = 0.300$$

**Análisis B.**

$$A_{355} = 0.956$$

$$A_{325} = 0.980$$

$$A_{275} = 0.348$$

\* Alcuota de 4 ml., por tanto F = 0.25; humedad: 6.0%.

Aplicando las fórmulas antedichas, tenemos:

**Análisis A**

$$C_H = 45.68 + 66.46 = 4.92$$

$$C_L = 45.46 = 42.64 + 1.54$$

**Análisis B**

$$C_H = 49.30 + 72.32 = 6.64$$

$$C_L = 53.12 = 46.64 + 1.78$$



$$C_H = 14.82 \text{ gr/lit.}$$

$$C_L = 8.16 \text{ "}$$

Base húmeda:

$$C_H = 3.71\%$$

$$C_L = 2.04\%$$

$$C_H = 15.38 \text{ gr/lit.}$$

$$C_L = 8.26 \text{ "}$$

$$C_H = 3.65\%$$

$$C_L = 2.07\%$$

Media:

$$C_H = 3.78\%$$

$$C_L = 2.06\%$$

Base seca:

$$C_H = 4.03\%$$

$$C_L = 2.22\%$$

$$C_H = 4.18\%$$

$$C_L = 2.25\%$$

Media:

$$C_H = 4.10\%$$

$$C_L = 2.23\%$$

Lúpulo # 2.

Análisis A\*

$$A_{355} = 0.250$$

$$A_{325} = 0.220$$

$$A_{275} = 0.190$$

Análisis B\*

$$A_{355} = 0.230$$

$$A_{325} = 0.220$$

$$A_{275} = 0.178$$

\* Alícuota de 2 ml., por tanto F = 0.5; humedad: 8.4%.

Aplicando las fórmulas expuestas anteriormente, tenemos:

$$C_H = 36.67 + 55.13 = 91.80$$

$$C_L = 41.65 = 34.20 + 0.97$$

$$C_H = 37.64 + 53.13 = 90.77$$

$$C_L = 40.57 = 34.26 + 0.91$$

$C_H = 10.84 \text{ gr/lit.}$  $C_L = 8.39 \text{ "}$ 

Base húmeda:

 $C_H = 5.92\%$  $C_L = 4.20\%$  $C_H = 12.10 \text{ gr/lit.}$  $C_L = 7.22 \text{ "}$  $C_H = 6.05\%$  $C_L = 3.61\%$ 

Media:

 $C_H = 5.98\%$  $C_L = 3.90\%$ 

Base seca:

 $C_H = 6.46\%$  $C_L = 4.58\%$  $C_H = 6.60\%$  $C_L = 3.96\%$ 

Media:

 $C_H = 6.53\%$  $C_L = 4.27\%$

d) ANALISIS DEL CONTENIDO DE ISOHUMULONES EN LOS DIFERENTES FASOS DEL PROCESO CERVECERO.

1) SALA DE COCIENTOS. Mosto caliente.

Aquí en la olla y hasta el momento de la toma de la muestra, que corresponde a la primera etapa de adiciones, tenemos, partiendo de lo anteriormente expuesto, para el lúpulo número 1, 50 partes por millón (ppm) de humulón agregado.

Ahora bien, se tomó una muestra en tales condiciones y su determinación fue la siguiente: (el resultado es el promedio del análisis por duplicado y siguiendo el método descrito en el capítulo anterior.

$$A_{275} \text{ mu} = 0.321$$

Por la fórmula:  $C_{\text{mg/lt}} = A_{275} \times 57.2 = 5.9$

Tenemos:  $C_{\text{mg/lt}} = 0.321 \times 57.2 = 5.9$

$$C = 12.46 \text{ ppm de isohumulones}$$

De este resultado y por relación, se puede deducir el porcentaje de aprovechamiento:

$$50:100::12.46:x$$

$$x = \frac{12.46 \times 100}{50} = 24.92 = 25\%$$

Para la determinación de los isohumulones totales extraídos en la olla, se tomó una muestra al final de las adiciones y el contenido de humulones en el lúpulo agregado, fue de 32 ppm.

El análisis de la muestra dió el resultado siguiente:

$$A_{275} \text{ mu} = 0.472$$

Aplicando la fórmula tenemos:

$$C_{\text{mg/lit}} = 0.472 \times 57.2 = 5.9$$

$$C = 21.13 \text{ ppm. de isohumulones.}$$

De donde el porcentaje de aprovechamiento resulta:

$$82:100::21.13:x$$

$$x = \frac{21.13 \times 100}{82}$$

$$x = 25.8\%$$

En el otro momento que se analizó, se partió de 77 ppm. de humulón agregado, a partir de lúpulo #2.

Debido a que los resultados de porcentaje de aprovechamiento, resultan muy similares en los dos procesos, los datos referentes a este último, se darán sin entrar en pormenores.

Primera muestra:

$$A_{275} = 0.078$$

$$C = 10.41 \text{ ppm de isohumulón}$$

Aprovechamiento: 24.6%

Segunda muestra:

$$A_{275} = 0.241$$

$$C = 19.71 \text{ ppm de isohumulón}$$

Aprovechamiento: 25.6%

Nota: en el segundo proceso analizado, la adición inicial de humulones, fue de 42 ppm.

**2) MOSTO FRIO.**

Esta muestra fue tomada precisamente antes de la inoculación - del mosto con levadura y dió el resultado siguiente:

$$A_{275} \text{ mu} = 0.419$$

Aplicando la fórmula tenemos:

$$C_{\text{mg/lit}} = 0.419 \times 57.2 = 5.9$$

$$C = 16.07 \text{ ppm de isohumulones.}$$

Teniendo en cuenta que partimos de 52 ppm de humulones agregados, tenemos por relación, aprovechamiento de:

$$52:100::16.07:x$$

$$x = \frac{16.07 \times 100}{52}$$

$$x = 22\%$$

**Segundo proceso:**

$$A_{275} \text{ mu} = 0.196$$

$$C = 17.09 \text{ ppm de isohumulones.}$$

$$\text{Aprovechamiento: } 22.2\%$$

### 3) SALA DE FERMENTACION.

Debido a que el mosto lupulado permanece durante un tiempo - en la sala de fermentación, se tomaron dos muestras; una de ellas a los dos días de estar fermentando y la otra al salir de los tanques de fermentación, para pasar a los de reposo.

Los análisis, como se podrá ver a continuación, reportaron propiamente igual contenido de mohos en una y otra muestra, -- por lo cual cabe deducir que no hay transformaciones humulónicas - durante la fermentación alcohólica, que produce la levadura en el mosto.

### 3) SALA DE FERMENTACION.

Debido a que el mosto lupulado permanece durante un tiempo - en la sala de fermentación, se tomaron dos muestras; una de ellas a los dos días de estar fermentando y la otra al salir de los tanques de fermentación, para pasar a los de reposo.

Los análisis, como se podrá ver a continuación, reportaron propiamente igual contenido de molibdomos en una y otra muestra, -- por lo cual cabe deducir que no hay transformaciones humulónicas - durante la fermentación alcohólica, que produce la levadura en el mosto.

A) Análisis de la muestra tomada a los dos días de fermentación del mosto lupulado.

$$A_{275 \text{ mu}} = 0.438$$

Por la fórmula:

$$C_{\text{mg/lt}} = 0.438 \times 57.2 = 5.9$$

C = 19.15 ppm. de isohumulones.

Lo cual da un porcentaje de aprovechabilidad de:

$$82:100::19.15:x$$

$$x = \frac{19.15 \times 100}{82}$$

$$x = 23.6\%$$

Segundoproceso:

$$A_{275 \text{ mu}} = 0.200$$

C = 17.32 ppm de isohumulones.

Aprovechamiento: 23.8%.



B) La muestra tomada del mosto, al final del período de fermentación, dió el resultado siguiente:

$$A_{275} \text{ mu} = 0.437$$

que por fórmula aplicada, da:

$$C_{\text{mg/lt}} = 0.437 \times 57.2 = 5.9$$

$$C = 19.10 \text{ ppm de isohumulones.}$$

lo cual da un porcentaje de aprovechamiento, de 23.5%, que es propiamente igual, al inmediato anterior, confirmando la afirmación que se hizo al empezar a hablar de la fermentación.

Segundo proceso.

$$A_{275} \text{ mu} = 0.200$$

$$C = 17.32 \text{ ppm de isohumulones.}$$

$$\text{Aprovechamiento: } 23.8\%.$$

#### 4) SALONES DE REPOSO (al salir).

En este período del proceso, no se tomó muestra al principio, debido a que correspondería totalmente al último día de fermentación.

Tampoco se muestró durante el reposo, para que las condiciones fueran totalmente idénticas a las que se tienen en toda la producción.

El análisis produjo los siguientes resultados:

$$A_{270 \text{ mu}} = 0.437$$

este valor, es igual al inmediato anterior, por lo tanto:

$$C = 19.10 \text{ ppm de isohumulones}$$

$$\text{Aprovechamiento: } 25.5\%$$

Segundo proceso:

La identidad de los resultados se repitió aquí, según se ve a continuación:

$$A_{275 \text{ mu}} = 0.200$$

$$C = 17.32 \text{ ppm de isohumulones.}$$

$$\text{Aprovechamiento: } 23.8\%$$

5) CERVEZA FRIA (sin pasteurizar).

Esta muestra fue tomada en el tren de embotellado, después de ser tapada, pero antes de entrar a la pasteurizadora, por lo tanto, tiene de diferencia con la inmediata anterior, la gasificación total y la filtración.

Los resultados del análisis, en los dos procesos, fueron totalmente iguales a los anteriores, según lo siguiente:

$$A_{275} \text{ mu} = 0.437$$

C= 19.10 ppm de isohumulones.

Aprovechamiento: 23.5%.

**Segundo proceso:**

$$A_{275} \text{ mu} = 0.200$$

C= 17.32 ppm. de isohumulones.

Aprovechamiento: 23.8%.

## 6) CERVEZA PASTEURIZADA.

Esta muestra fue tomada inmediatamente de salir de la -  
pasteurización y el resultado de su análisis, no reportó cambio algu-  
no en la concentración de isohumulones.

Cabe aclarar que todas las muestras que se analizaron, fue--  
ron desgasificadas previamente, con el fin de poder hacer medicio--  
nes correctas en las pipetas y además evitar interferencias debidas  
a las burbujas de gas carbónico, al efectuar las determinaciones es  
pectofotométricas.

### ISOHUMPLONES EN LAS CERVEZAS MEXICANAS

Para llevar a cabo este capítulo, se hizo una recolección de todas las cervezas de la producción nacional. El número total de cervezas analizadas, dos veces y por duplicado, fue de 39, cuyos resultados se dan, en ningún orden de marcas ni de tipos. (los resultados están confidencialmente a disposición de los interesados).

## ISOHUMULONES (ppm)

Muestra	1a. determinación	Segunda	Promedio	Desviación
1	24.70			
2	32.65	24.70	24.70	
3	20.27	32.82	32.74	0.00
4	18.01	19.71	20.00	0.17
5	24.45	17.71	17.86	0.56
6	20.43	25.03	24.74	0.30
7	23.05	19.83	20.13	0.58
8	24.30	23.00	23.03	0.40
9	15.72	24.10	24.20	0.05
10	24.35	15.84	15.78	0.20
11	19.85	24.31	24.33	0.12
12	19.90	19.90	19.88	0.04
13	27.15	19.90	19.90	0.05
14	19.55	27.35	27.25	0.00
15	17.10	20.00	27.25	0.20
16	21.10	17.20	19.76	0.45
17	18.35	21.05	17.15	0.10
18	22.13	18.45	21.08	0.05
19	19.10	22.25	18.40	0.10
20	24.10	19.21	22.19	0.12
21	23.45	24.20	19.16	0.11
22	19.38	23.10	24.15	0.10
23	23.15	19.35	23.28	0.35
24	17.18	23.30	19.37	0.03
25	21.35	16.98	23.23	0.15
26	27.85	21.38	17.06	0.20
27	17.35	28.00	21.37	0.03
28	17.50	17.35	27.93	0.15
29	30.13	17.55	17.35	0.00
30	21.96	29.97	17.53	0.05
31	24.39	22.00	30.05	0.16
32	19.95	24.50	21.98	0.04
33	28.10	19.90	24.44	0.11
34	19.64	28.10	19.93	0.05
35	22.69	10.00	28.10	0.00
36	22.59	23.00	19.82	0.36
37	19.45	22.70	23.84	0.31
38	20.70	19.55	22.64	0.11
39	28.53	20.45	19.50	0.10
		27.96	20.56	0.25
			26.25	0.46

## Resumen:

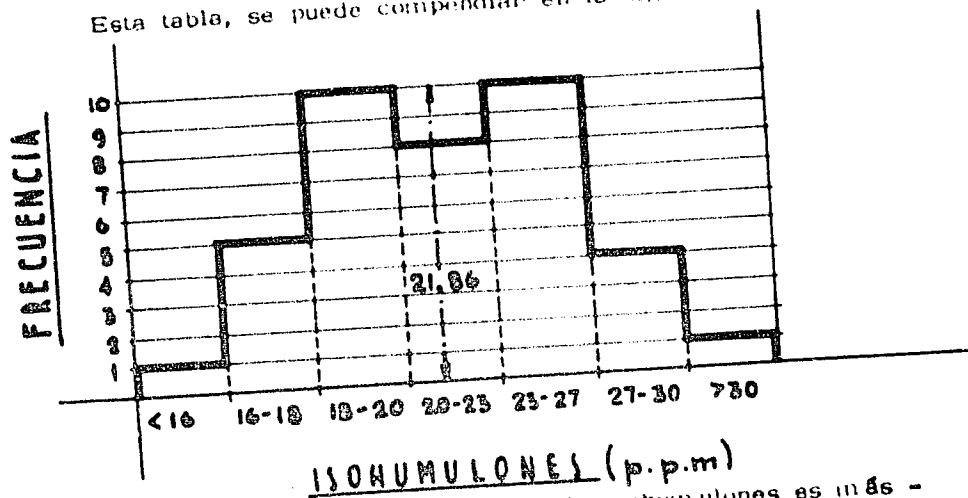
margen  
17.52-32.62

Promedio de valores  
21.86

Desviación  
0.17

Nota: para la elaboración de la tabla anterior, cada determinación se hizo por duplicado, se sacó promedio y equivale al resultado que se da en cada caso, lo que corresponde a cuatro determinaciones por cada cerveza, con un tiempo de diferencia en cada determinación de una semana aproximadamente.

Esta tabla, se puede compendiar en la siguiente gráfica:



Este valor promedio de 21.86 ppm de isohumulones es más alto que el correspondiente a la producción de Estados Unidos, que es de 18.69.

En lo que respecta a la estabilidad de los isohumulones en las cervezas ya embotelladas, se tiene que permanece constante, al menos durante un período aproximado de un mes, que es el tiempo máximo promedio, calculado para la venta del producto.

Sin embargo, y para corroborar lo anterior, se hicieron determinaciones con tres marcas diferentes, a los dos meses y el resultado fue el siguiente: (las muestras en cuestión, fueron las correspondientes a los números 5, 6 y 32).

## Isohumulones originales:

Cerveza # 5: 24.74 ppm.  
Cerveza # 6: 20.13 ppm.  
Cerveza # 32 : 19.93 ppm.

## Isohumulones obtenidos en los análisis de comprobación:

Cerveza # 5: 24.62 ppm.  
Cerveza # 6: 20.15 ppm.  
Cerveza # 32: 19.89 ppm.

Las desviaciones encontradas en estos análisis quedan totalmente dentro del orden de los resultados y así se comprobó la aseveración hecha anteriormente, respecto a la estabilidad de los isohumulones en las cervezas mexicanas, ya embotelladas.



## VI

### CONCLUSIONES

- 1.- El método espectrofotométrico aquí usado, es el más rápido hasta el momento, además de que las desviaciones promedio son -- menores, que en los demás métodos descritos (pág. 14).
- 2.- El porcentaje de extracción de los isohumulones, por parte del mosto, no varía apreciablemente en la olla de mosto caliente y -- se puede decir que la cuarta parte de los humulones agregados -- inicialmente a la olla, se transforman en isohumulones (pág. 40).
- 3.- Esta concentración de isohumulones, baja en un 3% aproximada-- mente al enfriarse el mosto, debido a coagulaciones, ya que la -- turbidez aumentó de 400 unidades Helm a 435 (pag. 41).
- 4.- UNA VEZ SALVADO EL PASO DE ENFRIAMIENTO INICIAL DEL MOSTO, LA CONCENTRACION DE ISOHUMULONES NO VARIA -- EN TODO EL PROCESO (pág. 42 a 47).
- 5.- Las cervezas mexicanas son más amargas que las de Estados U-- nidos, acentuación que coincide con el valor promedio más alto -- para las cervezas mexicanas, en lo que respecta a isohumulones (pág. 51).
- 6.- La estabilidad de los isohumulones en cerveza embotellada no es problema para la industria cervecera (pág. 52).

## BIBLIOGRAFIA.

- 1.- American Society of Brewing Chemists  
Gimbel, Schwartz y Owades  
1959  
pág. 32, 33, 181 a 190.
- 2.- American Society of Brewing Chemists  
Brenner, Vigilante y Owades  
1956  
pág. 48 a 61, 248 a 260.
- 3.- American Society of Brewing Chemists  
Verzele y Howard  
1957  
pág. 144 a 160.
- 4.- American Society of Brewing Chemists  
Meilgaard y Verzele  
1958  
pág. 144 a 153.
- 5.- Wallerstein Laboratories Communications  
Verzele  
Vol. XIX, No. 67  
pág. 323 y 324.

- 6.- Le Petit Journal du Brasseur  
Barte G.  
Octubre de 1957  
pág. 478 a 482.
- 7.- American Brewer  
K. Keller  
Marzo de 1954  
pág. 54.
- 8.- Brewer Journal  
Lewis Carson y Alderton  
Julio de 1955  
pág. 12 a 17.
- 9.- Wallerstein Laboratories Communications  
Lewis J. C., Carson J. F. y Alderton G.  
Vol. XVIII No. 60  
pág. 33 a 38.
- 10.- Brewer Digest  
R. Sottoffel  
Agosto de 1949  
pág. 51.
- 11.- Chemical Engineering Hand Book  
Perry, John H.  
Mc Graw Hill, New York, 1950.
- 12.- Química General  
Jimeno E.  
Sacta, Barcelona 1954.

13.- Course de Brasserie.  
Jean de Clerck  
Vols. I y II. 1948.  
Imprimerie Van Linthout  
Belgique.

14.- Organic Chemistry  
Fieser & Fieser  
Reinhold publishing Corp.  
Third edition 1956.

15.- Instrumental Methods of Chemical Analysis  
Calen W. Ewin  
Mc Grew Hill Book Corp. Inc.  
Second Edition 1960  
Chap. Emulsion Espectrographic (95-129).