



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

ANALISIS DE ALGUNOS ELEMENTOS
INORGANICOS EN CERVEZAS.

MONOGRAFIA

Que para obtener el título de:
INGENIERO QUIMICO

p r e s e n t a :
AURELIO MELENDEZ GARCIA

México, D. f.

1978



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

TESIS 1978

281

M.T. 25

12801

Universidad Nacional Autónoma

FECHA

PROC

FACULTAD DE QUIMICA



ANALISIS DE ALGUNOS ELEMENTOS

ORGANISMO



MONOGRAFIA

Que para obtener el título de

INGENIERO QUIMICO

Presenta

RAFAEL MELÉNDEZ GARCÍA

PRESIDENTE: Guillermo Hernández Angeles.

VOCAL: Alfredo Echegaray Alemán.

SECRETARIO: Carlos Romo Medrano.

1er. SUPLENTE: Jorge Soto Soria.

2do. SUPLENTE: Jorge Campos Robles.

Sitio donde se desarrollo el tema: Facultad de Química.

Nombre y firma del sustentante: Aurelio Meléndez - García.

Nombre y firma del asesor del tema: Carlos Romo Medrano.

A MI MADRE:

ELVIRA GARCIA BECERRIL

Con todo mi amor y agradecimiento
por tu esfuerzo y ayuda inapreciaa
ble hacia mí.

A MI ESPOSA:

SILVIA

Por el aliento
nuevo que has
traído a mi vida.

A MI HIJO:

MARCO AURELIO

Que este paso represente
un impulso para la superación
de tu vida.

A MIS HERMANOS:

ROBERTO, JUAN CARLOS, GUADALUPE,
SERGIO, ELVIRA y ANGELES.

A quienes de todo corazón les
deseo superación y felicidad.

IV

ANALISIS DE ALGUNOS ELEMENTOS
INORGANICOS EN CERVEZAS

C A P I T U L O S

- I INTRODUCCION.
- II ANALISIS DE CATIONES.
- III ANALISIS DE ANIONES.
- IV IMPORTANCIA Y CONCLUSIONES.
- V BIBLIOGRAFIA.

INDICE

PAGINA

CAPITULO I INTRODUCCION.

| | |
|---|----|
| a) Introducción..... | 2 |
| 1.- Historia..... | 2 |
| 2.- Procedimiento general de fabricación..... | 3 |
| 3.- Tipos de cerveza..... | 5 |
| b) Materias para fabricar cerveza..... | 7 |
| 1.- Malta..... | 7 |
| 2.- Materiales auxiliares..... | 8 |
| 3.- Lúpulo..... | 9 |
| 4.- Levadura..... | 10 |
| 5.- Agua..... | 10 |
| c) Operaciones en la fabricación de la cer veza..... | 13 |
| 1.- Fermentación..... | 13 |
| d) Factores biológicos..... | 18 |
| e) Operaciones de bodega..... | 21 |
| f) Control de la fabricación. Análisis ge nerales..... | 21 |
| 1.- Valor I.T.T..... | 22 |
| 2.- Degustación de la cerveza..... | 27 |
| 3.- Determinación del contenido de Dióxido de Azufre por Destilación y Titulación..... | 27 |
| 4.- Determinación de Dimetil-sulfuro por Cro- matografía de Gases..... | 31 |

CAPITULO II. ANALISIS DE CATIONES.

| | |
|--|----|
| 1.- Determinación de Aluminio por un metodo Colorimétrico..... | 39 |
| 2.- Determinación de Calcio en mosto y cerveza con EDTA..... | 44 |
| 3.- Determinación de Fierro y Cobre por Espectroscopia de Absorción Atómica..... | 47 |
| 4.- Determinación de Plomo y Magnesio por Espectrofotometria de Absorción Atómica..... | 55 |
| 5.- Determinación de Zinc por Colorimetría.... | 61 |
| 6.- Determinación de Zinc por Espectroscopia de Absorción Atómica..... | 71 |

CAPITULO III. ANALISIS DE ANIONES.

| | |
|--|----|
| 1.- Determinación de Cloro Potenciométricamente..... | 77 |
| 2.- Determinación de Cloro por Gravimetría.... | 82 |
| 3.- Determinación de Sulfatos por Turbidimetría..... | 86 |

CAPITULO IV. IMPORTANCIA Y CONCLUSIONES.

| | |
|---|----|
| 1.- Importancia y efecto de cada elemento en la cerveza..... | 94 |
| 2.- Efecto de los elementos metálicos en la espuma de la cerveza..... | 97 |
| 3.- Comparación de los métodos de análisis empleados..... | 97 |

CAPITULO V. BIBLIOGRAFIA.

| | |
|-------------------|-----|
| Bibliografía..... | 102 |
|-------------------|-----|

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

a) Introducción.

El arte de producir bebidas ligeramente alcohólicas haciendo fermentar con levadura materias naturales que contienen almidón, lo han practicado desde tiempos muy remotos todas las razas humanas, y sus orígenes y su química guardan estrecha relación con la fabricación del pan. La cerveza es en esencia una solución acuosa carbónica con cantidades variables de alcohol, azúcares no fermentados y de tr in as, sustancias proteínicas y componentes aromáticos derivados de la malta, el lúpulo y la levadura empleados en su preparación. Como componentes secundarios, tiene sales inorgánicas, subproductos metabólicos de la levadura, vitaminas, indicios de fierro, cobre y materias extractivas vegetales menos conocidas.

El propósito de este trabajo es enumerar los métodos comunes de análisis empleados en los laboratorios de las cerveceras para la determinación de ciertos elementos inorgánicos en la cerveza. La importancia de estos análisis radica en el hecho de que dichos elementos afectan de una u otra forma al proceso de fabricación y, al producto terminado.

1.- Historia.

La preparación de la cerveza es una industria muy antigua. Los egipcios preparaban cerveza partiendo de la cebada germinada y la malta de cebada, que ha seguido siendo la materia fundamental para la fabricación de la cerveza. El empleo del lúpulo se inició en la Edad Media.

El lúpulo se empezó a utilizar probablemente para conservar la cerveza; pero el sabor amargo del mismo se ha convertido después en un carácter esencial de la cerveza.

En la época en que los gremios cerveceros de Inglaterra, Alemania, Holanda y Dinamarca recibieron sus cartas de privilegio (hacia el año 1400), existía ya un procedimiento general de fabricación, semejante a los métodos modernos. Los tipos de cerveza que bebemos hoy, como Pilsen, Munich y otros; fueron creados en diversas ciudades europeas antes del año 1950.

Los procedimientos modernos para la preparación de la cerveza varían en algunos detalles de un país a otro. La diferencia más importante entre la práctica norteamericana y la europea es el fenomenal desarrollo que ha alcanzado en América la cerveza embotellada en comparación con la cerveza vendida en barriles. Esto se debe en gran parte, al progreso de la maquinaria para embotellar y a los perfeccionamientos en el proceso de la fabricación, que han conducido a la producción de una cerveza clara, estable y que puede enfriarse sin que se enturbie. Aquí se describe principalmente la práctica norteamericana actual, con alguna que otra referencia a otros procedimientos.

2.- Procedimiento general de fabricación.

La materia prima principal para la fabricación de la cerveza es el almidón. Es necesario convertir este almidón en azúcares por que la levadura ordinaria no puede utilizarlo. En la fermentación-

de los azúcares por la levadura se forman alcohol y dióxido de carbono. Durante la fabricación de la cerveza, el almidón es convertido en azúcares por procedimientos bioquímicos enzimicos.

Al germinar las semillas de diversas plantas se desarrollan en gran cantidad enzimas amilolíticas (amilasas), que tienen la propiedad de digerir el almidón y convertirlo en maltosa. Si se detiene la germinación en la fase inicial secando las semillas, el producto resultante se conoce con el nombre de malta. La malta de cebada es la principal materia usada para preparar la cerveza, y suministra la mayor parte de las enzimas y el almidón.

Con frecuencia se llegan a utilizar otros ingredientes, como arroz y maíz y diversos productos azucarados para reemplazar y suplementar porciones de la malta. En algunos países orientales se emplean diversos hongos ricos en enzimas, en lugar de la malta, a efecto de convertir el almidón en azúcares fermentables.

En la práctica se tritura la cebada germinada (malta) hasta convertirla en polvo grueso y se macera en agua. En este punto de la fabricación pueden añadirse ciertos ingredientes, pero otros exigen una cocción preliminar. Esta masa o malta remojada se hace pasar por un ciclo de calentamiento perfectamente definido para solubilizar las proteínas y convertir el almidón en azúcares solubles y dextrinas (sacarificación). Los granos insolubles se separan por filtración y se riegan con agua caliente. El líquido con sus materias solubles (mosto) se une al agua del riego y se hierve.

Se añade el lúpulo a la mezcla en ebullición. El calor inactiva las enzimas, esteriliza el caldo, extrae del lúpulo los componentes deseados, coagula sustancias proteínicas y concentra el caldo hasta que tiene el contenido deseado de sólidos solubles (extracto). Después de la cocción, se filtra el caldo o mosto y se enfría. Se añade la levadura y se deja que se produzca espontáneamente la fermentación. Para la cerveza propiamente dicha se emplea levadura baja, cuyas células caen al fondo de la cuba en el curso de la fermentación; para la cerveza más ligera (ale) se emplea levadura alta, cuyas células ascienden a la superficie. Esas levaduras son cepas o especies diferentes del género *Saccharomyces*. Cuando se ha terminado la fermentación, se traslada la cerveza a tanques de almacenamiento para envejecerla y clarificarla a temperatura baja. La filtración y la disolución de gas carbónico (carbonatación) completan el proceso para obtener la cerveza terminada (4).

3.- Tipos de cerveza.

Hay dos tipos fundamentales de cervezas, de fermentación baja y de fermentación alta, nombres que derivan del tipo de levadura empleada. Después de la fermentación, la levadura flota en la superficie del líquido o forma un sedimento en el tanque de fermentación.

La levadura alta es del tipo 'primitivo' y se utiliza todavía para las cervezas ale, porter y stout. La levadura baja o de fondo se empezó a usar en Munich hacia mediados del siglo XIX y ha encontrado después aceptación general para preparar

todas las demás cervezas. (del tipo llamado cerveza lager; cerveza de bodega o de fermentación baja).

Tipos de fermentación alta. La cerveza ale - se originó en las Islas Británicas, pero se fabrica también en el Canadá y los Estados Unidos, en especial en los estados del Noreste. Esta cerveza tiene color pálido, sabor ácido y posee un marcado aroma (bouquet) característico de la fermentación alta. - La cerveza ale inglesa no es gaseosa, mientras que la americana está carbonatada, como la cerveza ordinaria. La cerveza porter es también de fermentación alta, pero de color más oscuro que la ale, y tiene más cuerpo. La stout es semejante a la porter, con algo de más contenido de alcohol y un aroma acentuado.

Tipos de fermentación baja. El término alemán lager significa 'almacen' y se aplica a las cervezas fabricadas con levadura baja cuya fermentación se completa lentamente teniendo el caldo varios meses en una bodega.

La cerveza Pilsen, originaria de Bohemia, - tiene color pálido y un sabor característico seco - del lúpulo; este nombre se aplica en todos los países a las cervezas claras. La cerveza bock se fabricó originalmente en Baviera para celebrar la Pascua de Resurrección; pero la costumbre de preparar en - determinada estación del año una cerveza oscura de sabor fuerte, espeso y rico, ha sido aceptada generalmente. Los nombres de Munich, Kulmbach y Wurzburg corresponden a cervezas oscuras del mismo tipo que la bock.

La cerveza americana es clara y más carbonatada que ninguna otra. El público americano prefiere la cerveza espumosa, clara y que sea diáfana y limpiada aún después de enfriada con hielo. La distribución de la cerveza en grandes distancias, en condiciones climáticas variadas, impone muchas exigencias a su estabilidad coloidal. Por consiguiente es natural que la cerveza clara del tipo Pilsen, con una estabilidad superior, se haya convertido en el tipo de cerveza americana.

b) Materias para fabricar cerveza.

1.- Malta.

Se da este nombre a los granos germinados cuya germinación se ha detenido en sus comienzos.

Durante la germinación se desarrollan en la semilla varias enzimas. Aunque pueden maltearse diversas especies de granos, suele entenderse por malta la de cebada, la que se emplea principalmente en la industria cervecera y a la que se deben los caracteres especiales de la cerveza aceptados por la tradición.

Durante el braceado o sacarificación, las enzimas amilolíticas de la semilla actúan sobre el almidón, y las enzimas proteolíticas solubilizan algunas proteínas. La malta aporta casi todos los componentes proteínicos solubles de la cerveza, que dan estabilidad a la espuma. Se hace que la cascarrilla de los granos forme un lecho filtrante del caldo.

La malta se prepara con cebada de dos carreras o de seis carreras. La primera rinde aproximadamente 75% de su peso de sólidos solubles (extracto); la segunda, alrededor del 70% de extracto.

Los cerveceros europeos emplean la cebada de dos carreras, mientras que los americanos han aceptado generalmente la de seis, que aunque de un rendimiento más bajo, se aprecian sus mejores cualidades para la fabricación. La industria cervecera norteamericana utilizó en 1946, 1 000 000 de toneladas de malta de cebada, que representaron un 62% del total de las materias empleadas en la fabricación de la cerveza. La fracción de malta empleada por los distintos cerveceros varía entre 50 y 75% del total de las materias utilizadas en la fabricación.

Para la producción de cervezas oscuras se emplean maltas especiales, como la malta caramelo y la malta negra, que tienen color y aroma fuertes, pero poco o ningún poder diástático.

2.- Materias auxiliares.

Los cereales auxiliares tienen importancia en la fabricación de la cerveza clara y muy estable. Por su almidón, son una fuente de alcohol, lo mismo que el almidón de la cebada, pero contribuye poco al color, sabor, aroma y contenido de proteínas de la cerveza.

Los cereales con un contenido elevado de aceite, que pueden enranciarse y producen olores o sabores desagradables, se consideran indeseables para la fabricación de la cerveza. La sémola refi-

nada obtenida en la molienda húmeda del maíz, es el ingrediente auxiliar más puro y que da el rendimiento más elevado. Sin embargo, la sémola de maíz, obtenida en la molienda en seco, es el auxiliar comúnmente empleado (3).

El arroz tiene buenas cualidades para la fabricación de cerveza y puede usarse con la sémola de maíz, o en sustitución de ella, según su precio y la mayor o menor facilidad para adquirirlo. A medida que le añade el caldo soya en pequeñas cantidades, éste ingrediente contiene sustancias nutritivas para la levadura y mejora la fermentación. Su modo de acción no se conoce bien.

3.- Lúpulo.

Se emplea para dar a la cerveza su sabor amargo característico y su aroma agradable. Sólo se utilizan las flores femeninas del lúpulo, que están agrupadas en conos o estróbilos, con brácteas entre las flores. Los conos se recolectan no fecundados y maduros. El componente más útil del lúpulo es el lupulino, sustancia resinosa situada en las glándulas pequeñas que hay en la base de cada bráctea.

El lupulino es un polvo resinoso, de color amarillo limón en el lúpulo nuevo. Se oxida durante el almacenamiento prolongado del lúpulo y adquiere un color anaranjado apagado. En locales refrigerados, es más lenta la oxidación, y el lúpulo conserva mucho mejor sus cualidades. Se han aislado e identificado dos compuestos ácidos, y son la humalona (ácido α -lupulínico), $C_{21}H_{30}O_5$, y la lupulona (ácido β -lupulínico), $C_{26}H_{38}O_4$, que son los componentes más importantes de las resinas del lúpulo.

10. Para la composición del lúpulo véase la tabla -
1.

4.- Levadura.

Para la fabricación de la cerveza puede propagarse la levadura partiendo de cultivos de una sola célula (cultivo puro); pero de ordinario la levadura de los cerveceros se recupera después de terminada la fermentación y se vuelve a utilizar una y otra vez durante muchas generaciones. Las fábricas de cerveza pequeñas compran la levadura a otras fábricas mayores.

La levadura alta es esporógena, produce fuerte fermentación a temperatura elevada y tiende a flotar en la superficie. La levadura de fondo no suele formar esporas; se adapta bien a la fermentación lenta a temperatura baja y se deposita en el fondo del tanque al terminar la fermentación. Diversas cepas de ambos tipos de levadura tienen características individuales de sabor. Por consiguiente, la levadura para la fabricación de la cerveza no se elige basándose solamente en su poder de fermentación, sino más bien en el sabor que comunica a la cerveza.

5.- Agua.

La naturaleza del agua empleada para preparar la cerveza ha sido objeto de mucha atención en el pasado, y se llegó a decir que el éxito en la fabricación de la cerveza dependía del empleo de la adecuada clase de agua.

La concentración del ión hidrógeno, o sea el pH, es de la mayor importancia para las reacciones bioquímicas que se verifican durante la fabricación. En todos los pasos de la fabricación hay disminución del pH, y los amortiguadores minerales del agua contrarrestan en parte este cambio. Las aguas duras, con una cantidad excesiva de bicarbonatos, pueden producir en la cerveza un amargo persistente y desagradable sabor. Pueden hacerse pequeños ajustes de la dureza del agua añadiendo yeso o simplemente ácido a la malta remojada, pero no es conveniente corregir la dureza del agua empleada por las fábricas de cerveza. Sin embargo, pueden precipitarse los bicarbonatos con agua de cal.

El agua empleada para la fabricación de la cerveza no se desendurece, como el agua para las calderas de vapor, por intercambio de los iones Ca^{2+} y Mg^{2+} , por iones Na^+ porque después de este cambio el sistema regulador del pH subsiste, y el tratamiento no ejerce ningún efecto en la regulación del pH durante el braceado.

La influencia del contenido mineral del agua sobre el pH es de una importancia primordial durante la fabricación, y algunos componentes minerales ejercen una influencia específica, como el poder estabilizador de los iones de calcio sobre las amilasas de la malta.

Los iones de calcio reaccionan también con los fosfatos orgánicos e inorgánicos de la malta y son precipitados como fosfato de calcio. El resultado es la acidificación del caldo si el calcio se halla en forma de sulfato. El ión magnesio produce el

TABLA I

Algunos componentes del lúpulo (4)

| Componente | Cantidad % | Componente | Cantidad % |
|------------|------------|---------------------|------------|
| Humedad | 6 - 12 | Pectinas | 12 - 14 |
| Cenizas | 7 - 10 | Taninos | 2 - 4 |
| Resinas | 11 - 21 | Proteínas | 13 - 24 |
| Aceite | 0.2 - 0.5 | Glucosa y Fructuosa | 3 - 4 |

TABLA II

Contenido mineral del agua en diversos centros
cerveceros de los Estados Unidos y Europa
(4)

| Localidad | Contenido mineral p.p.m. | | | | | |
|-----------------|--------------------------|------------------|------------------|-------------------------------|-----------------|-------------------------------|
| | Total de sólidos | Ca ⁺² | Mg ⁺² | SO ₄ ⁻² | Cl ⁻ | HCO ₃ ⁻ |
| Milwaukee | 148 | 34 | 11 | 20 | 6 | 11 |
| Nueva York | 28 | 4 | 1 | 7 | 1 | -- |
| St. Louis | 201 | 22 | 12 | 77 | 10 | 65 |
| Pilsen | 63 | 8 | 3 | 3 | 5 | 37 |
| Burton-on-trent | 1206 | 268 | 62 | 638 | 36 | 287 |
| Munich | 270 | 71 | 18 | 18 | 2 | 283 |
| Dublin | 312 | 100 | 3 | 44 | 15 | 266 |
| Copenhague | 480 | 114 | 15 | 62 | 60 | 347 |

mismo efecto, pero en grado menor. La mayoría de los demás iones, como los de cloruro, sulfato, sodio y potasio, no tienen otro efecto en la cerveza que su influencia directa en el sabor. Un exceso de silicatos o de fierro perjudica a la cerveza. En lo que respecta al contenido mineral del agua empleada para fabricar la cerveza, véase la tabla II.

En la fabricación de la cerveza se emplea también gran cantidad de agua para la limpieza y para diversas operaciones. El consumo total de agua asciende a 10-15 barriles de agua por cada barril de cerveza producido.

c) Operaciones en la fabricación de la cerveza.

La fabricación de la cerveza comprende multitud de procesos químicos, físicos y biológicos que se suceden unos a otros o marchan paralelamente, y muchos procesos influyen unos sobre otros. La cerveza es un producto coloidal; por consiguiente, es sensible a los cambios en la manera de fabricarla. Esta es la razón por la cual se sigue con bastante rigor el procedimiento tradicional de fabricación discontinua o por partidas. En este trabajo sólo se hará mención a la operación de fermentación, que es la clave de la fabricación correcta de la cerveza.

1.- Fermentación.

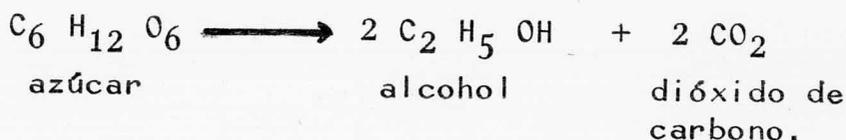
El sabor y el carácter de la cerveza dependen en gran parte del tipo de levadura y de la manera como se conduce la fermentación. Esta es la operación clave de la fabricación de la cerveza, si bien la composición de la cerveza terminada depende de la preparación del mosto.

La fermentación debe conducirse de modo que todos los azúcares fermentados sean consumidos por la levadura y sólo queden en la cerveza dextrinas - no fermentables. Los esfuerzos encaminados a conseguir esta fermentación total deben tener en cuenta el sabor de la cerveza.

Al mosto enfriado se le añade aproximadamente 1 lb. (450 g.) de levadura líquida por barril, - lo que representa una inoculación de ocho a diez millones de células de levadura por mililitro. Desde el momento de la siembra, el líquido resultante no se llama ya 'mosto', sino 'cerveza'. En la fase inicial de la fermentación se produce una vigorosa división de las células, y el número de células de levadura se triplica o quintuplica. El oxígeno es muy importante para la multiplicación de la levadura, si bien la levadura de cerveza descompone el azúcar aún en presencia del aire, por ejemplo, en cultivos de placa sobre agar-mosto, la fase de la fermentación, que sigue a la fase inicial de crecimiento, es un proceso anaeróbico típico.

La fermentación es el resultado de la acción de la zimasa, un complejo de endoenzimas que están estrechamente relacionadas con la célula viva de la levadura. Los fosfatos desempeñan un papel importante en el mecanismo de fermentación por células vivas de levadura. Sin embargo, es interesante observar que la adición de fosfatos acelera de 10 a 20 veces la fermentación por el jugo de levadura producido - por el histórico experimento de Buchner de moler la levadura con materiales abrasivos. La fermentación se verifica dentro de las células vivas de levadura o en su superficie, donde son adsorbidas y descompuestas las moléculas de azúcar (1).

La levadura no asimila el azúcar ni los productos de descomposición en grado apreciable. La fermentación proporciona simplemente la energía para la célula de levadura. El mecanismo real de la fermentación es complejo. La reacción total es:



En la reacción anterior ocurre un desprendimiento de calor. La descomposición de una mol de glucosa produce 27 kilocalorías. La levadura utiliza 3 kilocal., para el crecimiento y 24 kilocal son cedidas al líquido. A medida que prosigue la fermentación se eleva la temperatura de la cerveza y es necesario enfriar el líquido fermentante para evitar sobrecalentamiento, que cambiaría el sabor característico de la cerveza. Las cubas de fermentación están provistas de serpentines interiores para la circulación de salmuera. Por lo general, son tanques de acero, cerrados, con un revestimiento interior de vidrio o de material plástico.

La fermentación con levadura de fondo o láger se lleva a cabo a temperaturas relativamente bajas. Empezando con una temperatura aproximada de 7° C, se deja subir la temperatura de la cerveza en fermentación hasta un máximo de 13° C. Antes de reducir la fermentación por enfriamiento. A medida que se va agotando el azúcar fermentable, después de transcurrir de 6 a 9 días de fermentación, se hace descender la temperatura hasta 7° C. Cuando se tiene la seguridad de que se ha completado la fer--

mentación, se enfría la cerveza hasta una temp. de 3° C, con lo que la levadura se deposita en el fondo del recipiente dejando relativamente clara la cerveza.

Después de trasladar ésta a los tanques de almacenamiento, se recoge la levadura del fondo del fermentador. Una parte de ella vuelve a utilizarse para la inoculación del mosto, y el sobrenadante se vende como subproducto. Los primeros signos de fermentación se producen 16-18 horas después de la inoculación, cuando el líquido queda saturado de gas carbónico y las burbujas ascendentes forman espuma blanca en las paredes del tanque de fermentación. A medida que prosigue la fermentación, desciende el pH y se acerca al punto isoeléctrico de las proteínas, con lo que se coagula una parte de éstas. Por otro lado, la solubilidad de las resinas ácidas del lúpulo disminuye cuando baja el pH.

Las partículas gruesas en suspensión son arrastradas hasta la superficie por las burbujas de gas y quedan en la espuma, formando así una nata parda.

A medida que es más vigorosa la fermentación, aumenta esta nata formando primero rizos bajos cremosos y luego rizos altos espumosos los rizos partidos de sabor amargo son estabilizados por las partículas de proteínas coaguladas y las resinas del lúpulo.

La regularidad de la formación de la espuma se explica por el hecho de que las películas líquidas de las burbujas se colocan siempre de modo que los ángulos entre ellas son de 120° . Cuando se jun

tan las burbujas uniformes de esta manera, se forma un sistema semejante a las celdas de un panal. El ascenso regular de burbujas desde el fondo, empuja el sistema hacia arriba y las burbujas se rompen de manera uniforme, por capas enteras a la vez, de modo que la regularidad de las unidades de espuma produce la regularidad de la nata espumosa. A medida que prosigue la fermentación, se deprime la nata y finalmente cae al fondo de la cuba, porque ascienden menos burbujas para sostener la cubierta, y el mayor contenido de alcohol favorece la sedimentación.

Los fabricantes modernos de cerveza conceden menos atención al cuadro de la espuma, y además, es difícil observar la formación de la nata en los fermentadores cerrados que se emplean hoy para poder recuperar el dióxido de carbono. Por otro lado, la formación de la nata se reduce mucho por la filtración del mosto frío antes de la fermentación, porque se eliminan los flóculos finamente dispersados juntamente con una parte de las resinas del lúpulo. Esto es muy importante porque ayuda a mantener la levadura libre de esos sólidos.

Por el procedimiento usual de fermentación, era necesario trasladar la cerveza durante la fase inicial de fermentación para librarla de esos sólidos, pues de lo contrario se mezclarían los diversos coagulados con la levadura cuando se depositara al final de la fermentación. También se eliminaba una parte de los sólidos despumando el líquido.

La fermentación de la cerveza ale se realiza a mayor temperatura, con un máximo de 21°C. El tiempo de fermentación es, por consiguiente, más corto,

y dura aproximadamente cinco días. Se emplea la levadura alta, que reúne en la superficie del líquido después de la fermentación, a la propia levadura.

La recuperación de la levadura se lleva a cabo despumando el líquido antes de pasarlo a los tanques de almacenamiento. Observada al microscopio, la levadura de este tipo es diferente a la levadura de fondo o láger. Se distinguen poniendo una muestra de levadura sobre un bloque de yeso en una habitación húmeda. La levadura de superficie forma esporas grandes en dos días, mientras que la levadura de fondo no forma esporas o no las forma con la misma facilidad. A veces penetran en la fábrica de cerveza levaduras silvestres, que se distinguen por su aspecto, especialmente por sus esporas, que son brillantes o refráctiles.

d) Factores biológicos.

Los fabricantes de cerveza se esfuerzan por medio de una limpieza constante, en reducir al mínimo el número de microorganismos extraños en sus locales y en las operaciones de fabricación.

El aumento del número de microorganismos distintos de los de la levadura puede ser un desastre para la fábrica, aunque la infección se descubra antes de vender la cerveza, porque la cantidad de cerveza almacenada durante la producción suele ser grande. Por consiguiente, la infección es el 'coco' de los cerveceros, y es natural que las ideas sobre la infección hayan adquirido carácter mítico.

Al hablar de infección debe entenderse que los microorganismos de que se trata no son patógenos. La cerveza, por su bajo pH, no permite la proliferación de microbios patógenos para el hombre. Los microorganismos infectantes aumentan simplemente la acidez de la cerveza o afectan de alguna u otra manera a su sabor, haciendo que sea menos agradable al paladar, pero no tóxica.

Se ha concedido mucha atención a la infección transmitida por el aire, aunque pocos de los microorganismos encontrados en el aire son capaces de desarrollarse en la fábrica de cerveza; en todo caso, han sido debilitados por la desecación. El aire exterior normal contiene menos de 5 300 microorganismos por metro cúbico que pueden proliferar en el mosto o la cerveza. Y, la infección total procedente del aire puede calcularse en menos de un germen por mililitro capaz de crecer a la cerveza.

Mayores son las posibilidades de contaminación por las superficies de los aparatos y las tuberías de la instalación, porque permanecen húmedas y permiten la multiplicación de los microorganismos, de modo que cada germen que quede después de la limpieza puede proliferar y convertirse en millones.

Es interesante observar que la fuente más importante, con mucho de microorganismos extraños que pueden proliferar en la cerveza se debe a la contaminación de la levadura inoculante. Las infecciones bacterianas que producen ácido y sabores desagradables son realmente peligrosas, porque pueden presentarse con rapidez. Las bacterias se multiplican durante todas las fases del ciclo de fermentación, mientras que la levadura sólo prolifera con

vigor durante la fase inicial de la fermentación, y las bacterias a diferencia de la levadura extraña - (levadura silvestre), no está en competencia directa con la levadura de cervecería. Por consiguiente, la infección bacteriana puede aumentar rápidamente en la levadura durante unas cuantas generaciones y la infección aparece súbitamente si la levadura con taminada se ha utilizado para inocular otros caldos antes de que se descubra la infección (1).

El exámen de las condiciones biológicas depende, en gran parte del método de análisis empleado, y las cifras no son muy precisas, aunque su orden de magnitud ofrece mucho interés.

La infección bacteriana más tenida es la causada por *sarcina* sp, que comunica a la cerveza el sabor de diacetilo (parecido al de la mantequilla). El nombre de 'sarcina' alude erróneamente a los 'cubos' de ocho cocos, característicos de todas las bacterias que tienen un patrón tridimensional de división de células. Los trabajos de Hjelte Clausen en las fábricas de cerveza de Carlsberg indican claramente que la verdadera *sarcina* formadora de cubos no puede multiplicarse en el mosto ni en la cerveza, y que el sabor característico de diacetilo (2,3-butanodiona), es producido por el *Pediococcus damnosus*, que no forma los cubos característicos de ocho bacterias. El peligro del *Pediococcus damnosus* es que se desarrolla en un substrato ácido en todo el intervalo de pH encontrado en la fabricación de la cerveza y es más indiferente hacia el oxígeno o la falta de oxígeno y a la presencia del alcohol o de resinas del lúpulo (4).

e) Operaciones de bodega.

Al salir del tratamiento de fermentación la 'cerveza nueva' ha alcanzado la composición de la cerveza terminada en lo que respecta al alcohol y los carbohidratos. Sin embargo, tiene aspecto turbio sabor amargo astringente y poco gas carbónico. El tratamiento de esta cerveza comprende:

- 1) Clarificación.
- 2) Depuración del gusto y del aroma.
- 3) Saturación con gas carbónico.

En la figura 1 se ve un diagrama típico de las operaciones que se realizan en una bodega de cerveza.

f) Control de la fabricación. Análisis generales.

Ninguna serie de pruebas proporcionan un criterio para juzgar la calidad de la cerveza, salvo la degustación de las muestras. Es posible que los análisis de una cerveza buena y una cerveza mala sean idénticos.

La comparación de los análisis químicos de la tabla III de algunas cervezas muy acreditadas en los Estados Unidos ilustra el hecho de que la calidad no puede definirse por ninguna composición fija. Una parte de la calidad de la cerveza es su uniformidad, y el análisis químico desempeña un papel importante en el mantenimiento de la calidad normal. Las pruebas fundamentales son la destilación para el alcohol, y el análisis gravimétrico, para el extracto; que proporcionan información sobre el grado y la eficiencia de la fermentación.

La Sociedad Americana de Químicos de Cervecería ha hecho esfuerzos considerables y fructíferos para establecer un sistema de procedimientos analíticos para las materias primas, la levadura, el lúpulo, el gas carbónico, los elementos inorgánicos, los revestimientos, las botellas y los botes, etc. Estos procedimientos se han publicado en forma de libro con el título de 'Métodos de Análisis' (2).

La determinación de las proteínas en el mosto y en la cerveza por el método de Kjeldahl da resultado cuantitativos, pero no se dispone de pruebas cualitativas debido a la insuficiencia de los conocimientos sobre la naturaleza de las proteínas que intervienen.

Las tentativas de análisis cualitativos hechas por el fraccionamiento químico de las proteínas no han dado resultados importantes. Por eso se han ideado procedimientos para medir las propiedades de la cerveza relacionadas con las proteínas, como la estabilidad de la espuma, en donde intervienen en gran parte los elementos inorgánicos presentes en la cerveza (16), la turbiedad, etc., Una parte muy importante del control de la fabricación es el examen biológico de la levadura, ya que las infecciones indican un peligro para la calidad de la cerveza.

1.- Valor I.T.T.

El valor I.T.T. (Indicator Time Test) es una medida del estado de oxidación de la cerveza. Proporciona una idea general del grado en que ha estado expuesta la cerveza a la influencia oxidante y deletérea del aire.

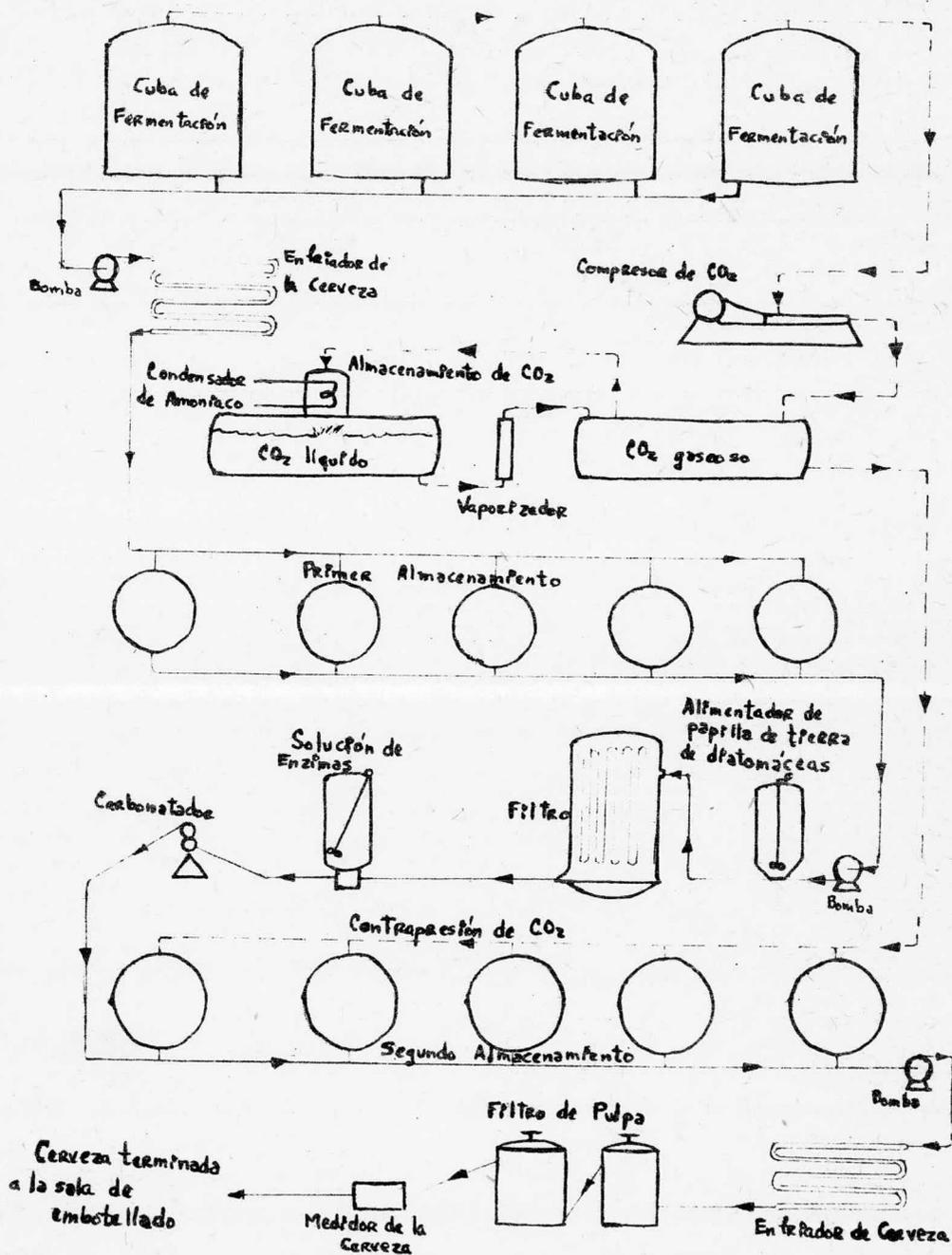


Figura 1.- Diagrama de las operaciones de Bodega.

Es una prueba sencilla, rápida y empírica, - que mide la rapidez con que se decolora un colorante de oxidación en condiciones determinadas. Esta - prueba se ideó para sustituir a los ensayos proli- - jos empleados para medir el potencial oxidación-re- - ducción o el llamado rH de la cerveza. Los valores - I.T.T. se expresan en segundos de tiempo. Por lo - general, las cifras bajas indican cervezas con mate- - rias reductoras y protectoras todavía presentes, - mientras que los valores elevados del orden de mi- - les indican una exposición prolongada al aire y un- - estado altamente oxidado.

El término 'extracto' se emplea para indicar 'sólidos totales'. En el análisis de la cerveza, - los sólidos totales se determinan rara vez por dese- - cación, como se acostumbra hacer en otros campos. - Suelen calcularse partiendo del peso específico de- - la solución mediante tablas que indican el tanto - por ciento de 'extracto' (sacarosa es el patrón de- - referencia usado en las tablas de extractos) para - diversos pesos específicos. Estos se determinan - por medio de un picnómetro o un densímetro.

La cantidad de extracto original es el conte- - nido total de sólidos del mosto. Puede obtenerse - partiendo del peso específico del mosto o se calcu- - la por medio de una fórmula partiendo del contenido de alcohol y del extracto real de la cerveza. La - cantidad de extracto aparente es la cifra obtenida - en las tablas utilizando el peso específico. Se lla- - ma extracto aparente porque no es una medida real - del total de sólidos. Esto se debe a la presencia - de alcohol en la cerveza, que es más ligero que el - agua y, por consiguiente, se opone al peso especifi-

co mayor que el del agua debido a los sólidos totales. En virtud del alcohol presente, la cifra de extracto aparente es siempre inferior a la cantidad real de sólidos.

Para obtener un índice real de los sólidos es necesario determinar el extracto real. Esto se hace averiguando el peso específico después que se ha expulsado de la cerveza el alcohol por destilación. El extracto real representa las materias no fermentadas que quedan en la cerveza. Si se resta el extracto real del extracto original, la diferencia es el extracto fermentado. Si se expresa el extracto fermentado en porcentaje del extracto original, se obtiene el grado real de fermentación.

De una manera análoga puede calcularse el grado aparente de fermentación utilizando el extracto aparente en lugar del extracto real. El grado aparente de fermentación es siempre mayor que el grado real de fermentación, en virtud del error introducido en la medida del peso específico por la presencia del alcohol. Además del análisis químico de la composición de la cerveza, es importante conocer el contenido de gas carbónico, el contenido de aire de un número representativo de envases y el valor I.T.T. de la cerveza. La cantidad del dióxido de carbono determina el desprendimiento de gas cuando se vacía la botella para llenar un vaso y producir espuma, e influye también en el sabor de la cerveza. El contenido de aire y el valor I.T.T. proporcionan indicios sobre la estabilidad relativa y la vida probable de la cerveza almacenada. Actualmente se procura reducir el contenido de aire de la cerveza terminada y envasada, pues mejora la estabilidad y aumenta la durabilidad.

TABLA III
Análisis comparativos de diversas marcas de cer
veza embotellada (2).

| Propiedad 4 marcas de cerveza de buena calidad. | | | | |
|---|-------|-------|-------|-------|
| Peso específico | 1.007 | 1.013 | 1.005 | 1.011 |
| Extracto aparente % | 1.81 | 3.36 | 1.48 | 2.89 |
| Extracto real % | 3.58 | 4.99 | 3.06 | 4.56 |
| Alcohol, % en peso | 4.00 | 3.65 | 3.50 | 3.74 |
| Extracto original % | 11.35 | 12.08 | 9.93 | 11.82 |
| Grado real de la fermentación % | 84.05 | 72.18 | 85.09 | 75.52 |
| Grado aparente de fermentación % | 68.45 | 58.69 | 69.18 | 61.42 |
| Total de ácidos (expresado en ácido láctico) % | 0.148 | 0.152 | 0.164 | 0.161 |
| Proteínas, % nitrógeno x 6.25 | 0.231 | 0.413 | 0.497 | 0.469 |
| Azúcares reductores (expresado en malto <u>sa</u>) % | 1.033 | 1.312 | 0.653 | 1.388 |
| Contenido de cenizas % | 0.102 | 0.138 | 0.123 | 0.149 |
| Color, Lovibond | 2.9 | 3.0 | 5.8 | 4.8 |
| Dióxido de carbono, expresado en volúme <u>nes</u> . | 2.67 | 2.77 | 2.42 | 2.41 |
| Aire, ml. por bote <u>lla</u> . | 2.1 | 1.8 | 2.4 | 1.0 |

2.- Degustación de la cerveza.

Uno de los mejores análisis que pueden hacerse de la calidad de la cerveza es la degustación de una muestra.

Son muchos los esfuerzos que se han hecho para poner esta prueba sobre una base científica. En su forma más sencilla, la degustación es realizada por un grupo de hombres que conocen bien la cerveza. Cada día se degustan muestras procedentes de las diversas fases de la fabricación, el fin perseguido es simplemente separar cualquier lote que manifieste una desviación apreciable en el sabor o el olor. La degustación comparativa para elegir la cerveza mejor de varias muestras es más difícil. La aptitud del catador y su estado de ánimo cuando prueba la cerveza son factores importantes, pero también lo son el estado de las muestras, su orden y el número total de las muestras.

Para interpretar los resultados de la degustación y, en particular el límite de la diferenciación, se emplean métodos estadísticos. La degustación diferencial se dificulta por la imposibilidad de tener un patrón permanente, porque la cerveza conserva su mejor sabor por corto tiempo. Se ha desarrollado un vocabulario numeroso y lleno de colorido para designar los matices del sabor.

3.- Determinación del contenido de Dióxido de Azufre por Destilación y Titulación.

Este método para determinar el contenido de SO_2 en las cervezas tiene a su vez dos alternativas; dependiendo éstas del tamaño del aparato de destila

ción, del tiempo de destilación y, del volumen de la muestra.

Procedimiento 1

Reactivos.

- a) Acido clorhídrico al 5% (v/v), o ácido fosfórico al 5% (v/v).
- b) Peróxido de hidrógeno de 10 volúmenes.
- c) Solución de hidróxido de sodio N/50.
- d) Azul de bromofenol, solución al 2% en etanol al 20%.
- e) Gas acarreador. Dióxido de carbono, nitrógeno o vapor.

Aparatos.

- a) Frasco de destilación. Un frasco redondo de capacidad de 250 ml., con tres bocas. El frasco adaptador debe llevar un pequeño grifo, un condensador de reflujo y un tubo adaptado al fondo para depositar el CO₂.
- b) Condensador de reflujo. A la parte superior del condensador se le adapta un rociador, conectado a un tubo de vidrio que va a la parte inferior del recipiente.
- c) Recibidor. Un frasco cónico de 100 ml. - conteniendo solución de peróxido de hidrógeno, dentro del cual la parte final del tubo de vidrio se - sumerge.

Técnica.

Se monta el aparato de destilación con el condensador y el receptor, 50 ml. de ácido clorhídrico se ponen en el frasco de destilación y se ponen a ebullición con una corriente de CO_2 puro hasta que todo el aire se extrae del aparato (2 a 3 minutos).

La muestra de cerveza (50 ml.) se añade por el grifo y la mezcla se pone a ebullición por 15 min. con una corriente pequeña de CO_2 .

El flujo de agua en el condensador se para y cualquier residuo de dióxido de azufre se pasa dentro del receptor donde es absorbido en el peróxido de hidrógeno (10 ml. de peróxido de 10 vol.), Tan pronto como el tubo vertical empieza a calentarse en su parte superior, se desconecta y se lava con agua destilada en el receptor. El ácido sulfúrico producido por la oxidación del dióxido de azufre es titulado a temperatura ambiente con solución de hidróxido de sodio N/50, utilizando azul de bromofenol como indicador. Se utiliza entonces la relación:

$$1 \text{ ml. N/50 NaOH} = 12.8 \text{ p.p.m. SO}_2$$

Si se requiere, el ácido sulfúrico puede ser determinado como sulfato de bario por precipitación en solución fría de cloruro de bario. En este paso se necesitará tomar una muestra de cerveza de 250 ml., para tener suficiente cantidad de precipitado a filtrar.

El precipitado es lavado cuidadosamente por-

decantación con agua caliente antes de la filtración, secado y pesado.

Procedimiento II.

Reactivos.

- a) Solución estándar de yodo 0.1.N.
- b) Acido clorhídrico, grado analítico.
- c) Solución indicadora de almidón. Haga una pasta de 5 g. de almidón soluble en un poco de agua fría, pase la pasta a un frasco que contenga 50 ml. de agua hirviendo y mantenga a ebullición por 1 min., entonces enfrie y diluya a 100 ml.

Aparatos.

- a) Frasco redondo de 1 l. Y, los demás utilizados en el procedimiento anterior.

Técnica.

Ponga 250 ml. de muestra de cerveza en el frasco redondo y añada 10 ml. de ácido clorhídrico. Lleve rápidamente a ebullición y pase al destilado a un vaso conteniendo 15 ml. de agua y una pequeña cantidad de solución indicadora de almidón.

Tan pronto la destilación proceda, pásela a titular con yodo 0.1.N. colocado en una bureta de 10 ml. Se debe entonces mantener un color azul por espacio de 1 min., se utiliza entonces la relación. (6):

$$\text{p.p.m. SO}_2 = \text{ml. Yodo} \times 12.8$$

4.- Determinación de Dimetil-sulfuro por Cromatografía de Gases.

El dimetil-sulfuro es uno de los compuestos-volátiles de azufre que se han podido detectar en las cervezas.

Los métodos comunes para la determinación de volátiles de azufre en cervezas comprenden generalmente:

- a) Destilación,
- b) Arrastre de la cerveza con corriente de gas inerte, envolviendo a los volátiles y midiéndolos por absorción.

Los resultados obtenidos por este procedimiento son puestos a duda, pues posibles fuentes de error pueden darse por:

1.- Conversión de no volátiles a volátiles durante la destilación o el aislamiento.

2.- Oxidación y reacciones de intercambio.

La identificación de volátiles de azufre por cromatografía de gases se basa en los tiempos de retención y, puede darnos una mayor garantía en los resultados si se usa el detector de fotometría de flama. Utilizando esta técnica podemos identificar y cuantificar a los compuestos volátiles de azufre.

Aparatos.

a) Detector. El detector de flama fotométrica de Melpar es utilizado, éste mide la emisión óptica

tica de compuestos de azufre en una flama rica en hidrógeno, usando un filtro de interferencia de 526 $m\mu$ y, un fotomultiplicador; se opera a 150°C.

b) Horno. Un horno Griffin y George de ionización de flama para cromatografía de gases es utilizado, con el detector de flama fotométrica montado. La temperatura será de 50°C.

c) Amplificador. Un microteck con canal electrotérmico es conectado al monitor simultáneamente para obtener las respuestas de la ionización de flama y fotometría de flama.

d) Columnas. Una columna capilar de acero inoxidable de 300 pies de longitud y 0.02 pulgadas de diámetro interno forrada con polietilenglicol en utilizada.

Suministro de Gas.- Gas nitrógeno (acarreador), hidrógeno y oxígeno son usados a velocidades de flujo de 8, 150 y 20 ml./min. respectivamente.

Una corriente auxiliar de nitrógeno es usada a 70 ml/min para el suministro de los instrumentos a través de una pieza T en la línea del acarreador al detector.

Técnica.

Muestras de 50 ml. de cerveza y 1 ml. de una solución alcohólica de 3 microgramos/mililitro de di-isopropil-sulfuro (como una referencia standard interna), son añadidas a un frasco cónico de 250 ml. conteniendo 30 g. de sulfato de amonio. La adición de sulfato de amonio causa un incremento en la pro-

porción de volátiles en la fase vapor. El frasco es sellado con un tapón de hule y puesto en equilibrio en baño maría por una hora. Una muestra de vapor de 0.5 ml. es succionada con una jeringa hipodérmica e inmediatamente inyectada al cromatografo de gases. La fig. No. 2 nos muestra un típico cromatograma obtenido por este procedimiento.

La determinación de los puntos fue llevada a cabo agregando cantidades conocidas de soluciones alcohólicas recién preparadas de dimetil-sulfuro, dietil y dimetil-disulfuro, a cervezas que luego fueron analizadas por el procedimiento descrito.

La fig. No. 3 muestra un cromatograma obtenido de una cerveza con adiciones de 0.03 p.p.m. de dimetil-sulfuro, 0.03 p.p.m. de dietil-sulfuro y 0.02 p.p.m. de dimetil-disulfuro.

Las figs. 4 y 5 muestran curvas de calibración no lineales obtenidas para el dimetil y el dietil-sulfuro en la cerveza. Los compuestos de azufre generalmente nos dan curvas de calibración no lineales con este tipo de detector.

Resultados.

El único volátil detectado en cantidades significantes en la cerveza es el dimetil-sulfuro ($C_2 H_6 S$). Este se identificó en todas las muestras de cerveza examinadas, las cantidades variaban de 0.002 a 0.006 p.p.m.

La identificación del pico A en las figs. 2- y 3 no es muy claro, pero parece ser un volátil de azufre; no aparecen picos en los cromatogramas co--

rrespondientes a la ionización de flama. El contenido de dietil-sulfuro de todas las cervezas examinadas fue menor que el límite de sensibilidad, - 0.005 p.p.m. La concentración de dimetil-disulfuro fue también menor que el límite de sensibilidad, - 0.01 p.p.m.

Los tioles y el sulfuro de hidrógeno no son detectables en los vapores de las muestras cuando se añaden a la cerveza o al agua en partes de 10^8 a 10^7 utilizando columnas de acero inoxidable.

Una columna capilar de nylon de 150 pies de longitud y 0.015 pulgadas de diámetro interno forrada con Span 80, fue utilizada para la determinación de sulfatos y dió resultados muy similares a los obtenidos en la columna de acero inoxidable. Pero, la cantidad de tiol recuperada fue muy pequeña. Columnas empacadas de vidrio tampoco recuperaron los tioles añadidos a la cerveza y agua en niveles de 10^8 a 10^7 . Esta pérdida de los tioles es debida a la interacción que existe entre el tubo capilar utilizado y el conectado a la salida de la columna del detector (7).

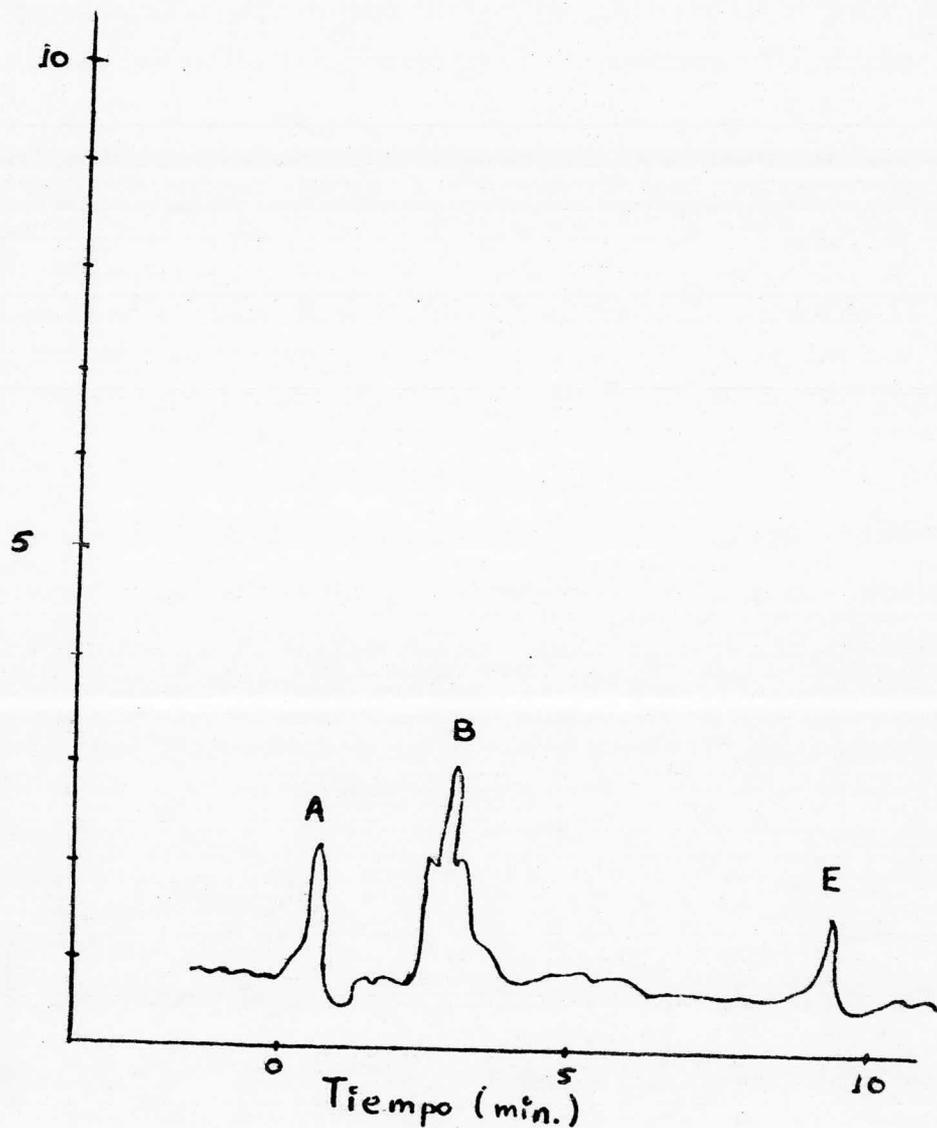


Figura No. 2.- Una muestra de vapor de 0.5 ml. de cerveza con adición estándar de 0.06 p.p.m. de di-isopropil-sulfuro (pico E). El pico B es con di-metil-sulfuro.

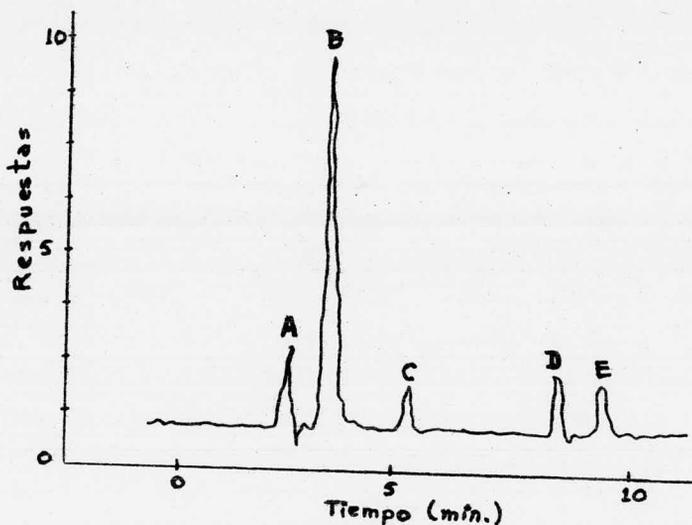


Figura No. 3.- Muestra de 0.5 ml. de vapor de cerveza con 0.03 p.p.m. de dimetil-sulfuro (pico B); 0.03 p.p.m. añadidos de dietil-sulfuro (pico C); 0.02 p.p.m. de dimetil-disulfuro (pico D); 0.06 p.p.m. añadidos de di-isopropil-sulfuro (pico E).

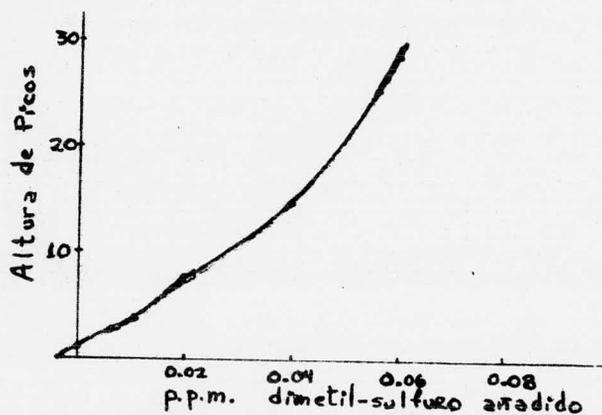


Figura No. 4.- Curva de calibración para el dimetil-sulfuro añadido a la cerveza. La intersección negativa en el eje de las X es debida al contenido implícito de dimetil-sulfuro en las cervezas.

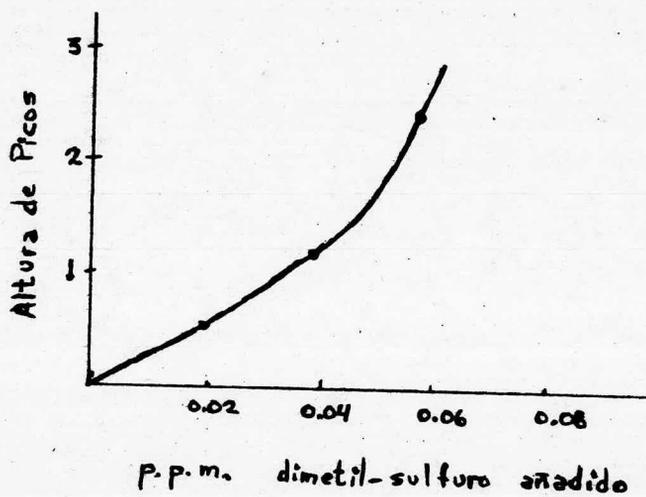


Figura No. 5.- Curva de calibración para el dietil-sulfuro añadido a la cerveza.

C A P I T U L O I I
A N A L I S I S D E C A T I O N E S

1.- Determinación de Aluminio por un método Colorimétrico.

La exposición de la cerveza a equipos y recipientes conteniendo aluminio, aumentando así el contenido natural de las cervezas en este elemento y, el envase mismo del producto terminado; hacen necesario el disponer de un método adecuado y rápido para la determinación del contenido del aluminio en la cerveza.

El reactivo utilizado en esta técnica es la piro-catecol-sulfon-ftaleína que reacciona con las iones de aluminio para darnos un color azul. Se requiere de un tratamiento previo para ajustar las muestras de cerveza a un pH de 7.0.

Se añade entonces la solución acuosa del reactivo y si el contenido de aluminio es mayor a una p.p.m. un color azul brillante se desarrollará. Abajo de una p.p.m. el color desarrollado es azul-verdoso de varias tonalidades.

Reactivos.

- a) Solución de Hidróxido de Sodio. Disuelva 5 g. y afore a 100 ml. con agua destilada.
- b) Piro-catecol-sulfon-ftaleína (PCSP). Al-0.10% en agua destilada. Esta solución debe ser preparada diariamente.
- c) Hidróxido de Sodio 0.01 N.
- d) Sulfato de Aluminio Potasio. Reactivo grado analítico. La fórmula es: $(\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O})$

Disuelva 4.3975 g. en agua destilada y afore a 1 l.
(1 ml. = 0.25 mg. Al).

Técnica.

Transfiera 50 ml. de cerveza decarbonatada a un vaso de precipitados y ajuste a pH de 7.0 utilizando un electrodo de vidrio de un potenciómetro para la medición. (Se utilizan aproximadamente 0.5 ml. de hidróxido de sodio, reactivo (a)).

Pipetee 10.0 ml. de la cerveza ajustada a pH 7.0 en un frasco volumétrico de 25 ml. Añada exactamente 0.5 ml. de solución PCSP y mezcle; afore al volúmen con agua destilada.

Deje que repose a temperatura ambiente por 30 minutos, para que se desarrolle el color. Páse-- los al tubo el fotómetro y obtenga la lectura (P.R.) a 600 m μ , utilizando agua para calibrar el cero del instrumento.

Lleve a cabo la corrección en el color para la cerveza (1) y, para el reactivo (2) como sigue:

(1) Transfiera una segunda muestra de 10.0 ml. de la cerveza ajustada a pH de 7 al frasco de 25 ml. Afore al volúmen con agua destilada, mezcle, deje que repose la solución a temp. ambiente por 30 min. y obtenga la lectura.

(2) Diluya 0.5 ml. de la solución PCSP a 25-ml. con agua destilada y ajuste a pH de 7.0 utilizando hidróxido de sodio 0.01 N, deje reposar a temp. ambiente por 30 min, y obtenga la lectura en el color.

Resultados.

Determine el contenido de aluminio en las -
muestras de cerveza utilizando la sgte. fórmula:

$$\text{p.p.m. Aluminio} = (\text{P.R.} = (a + b)) F$$

En donde:

P.R. = Lectura del fotómetro (lectura de la muestra + lectura del reactivo).

a = Lectura para la muestra de cerveza ajustada a pH 7.0.

b = Lectura para el color del reactivo.

F = Factor de conversión de lecturas del fotómetro a p.p.m. de Aluminio.

Preparación de las curvas estandar.- Con agitación, decarbonate 2 litros de cerveza de bajo contenido en aluminio y fierro. En 7 frascos volumétricos de 250 ml. ponga en cada uno 100 ml. de la cerveza. Pipetee en cada frasco 0.0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.25, y 1.50 ml., respectivamente, de la solución de aluminio (reactivo (d)). Afore a 250 ml. con la cerveza decarbonatada y agite vigorosamente. Estas soluciones corresponden respectivamente a contenidos de aluminio de 0.0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.25 y 1.50 p.p.m.

Ajuste estas soluciones a pH 7.0 y utilice -
alícuotas de 10.0 ml. para las lecturas. Prepare -
una curva de calibración graficando las lecturas -
del fotómetro (sin tomar en cuenta la muestra que -

no se le añadió solución de aluminio), contra las p.p.m. de aluminio añadido. Esto nos resulta en una curva de calibración lineal hasta los 1.5 p.p.m. de aluminio. Si una cerveza pudiera tener un contenido de aluminio mayor a los 1.5 p.p.m., se sugiere que se diluya con cerveza que tenga bajo contenido de aluminio, antes del análisis.

Las posibles interferencias en el desarrollo del color por otros metales han sido estudiadas. Para éste propósito, cervezas normales a las cuales se les añadió 1 p.p.m. de aluminio, se utilizaron. Además, se realizaron adiciones de varios metales (cobalto, cobre, fierro, níquel y zinc) en cantidades de 0.5 a 5 p.p.m., entonces se les determinó el contenido de aluminio. Como puede verse en la tabla IV sólo el fierro interfirió; mientras que el cobalto, cobre, níquel y zinc no muestran ningun efecto en la cantidad de aluminio recuperado en las muestras de cerveza. Se puede, sin embargo, establecer un factor de corrección para el fierro excesivo.

Los datos de recuperación están dados en la tabla V. Estos se basan en adiciones de 0.25, 0.5- y 1.0 p.p.m. de aluminio a muestras que originalmente contenían aproximadamente 0.2 p.p.m. de aluminio.

Como se puede observar, la recuperación es buena en todos los niveles de adición y, los resultados obtenidos por dos diferentes analista (A y B) son muy similares.

La tabla VI resume resultados del contenido de aluminio en cervezas provenientes de varios países (8).

TABLA IV

Influencia de otros metales en el desarrollo del color en aluminio en muestras de cerveza con 1 p.p.m. de aluminio añadido (8).

| Cantidad de metal añadido p.p.m. | Aluminio indicado, p.p.m. con adiciones de: | | | | |
|----------------------------------|---|-------|--------|--------|------|
| | Cobalto | Cobre | Fierro | Níquel | Zinc |
| 0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| 0.5 | 1.0 | 1.0 | 1.4 | 0.9 | 1.0 |
| 1.0 | 0.9 | 1.0 | 1.6 | 1.0 | 1.0 |
| 5.0 | 0.9 | 1.0 | 2.1 | 1.0 | 1.0 |

TABLA V

Recuperación del aluminio añadido (8).

| Aluminio añadido p.p.m. | Analista A | | | Analista B | | |
|-------------------------|---------------------|--------|---------------------|---------------------|--------|---------------------|
| | Aluminio encontrado | | Aluminio recuperado | Aluminio encontrado | | Aluminio recuperado |
| | p.p.m. | p.p.m. | % | p.p.m. | p.p.m. | % |
| 0.03 | 0.19 | 0.22 | -- | 0.18 | 0.18 | -- |
| 0.25 | 0.45 | 0.42 | 91 | 0.40 | 0.40 | 88 |
| 0.50 | 0.75 | 0.77 | 110 | 0.67 | 0.68 | 100 |
| 1.00 | 1.17 | 1.19 | 98 | 1.15 | 1.13 | 96 |

TABLA VI

Contenido de aluminio en cervezas de diferentes orígenes (8).

| País de origen | Aluminio p.p.m. | Fierro p.p.m. |
|-----------------------|-----------------|---------------|
| Noreste de E.U.A. | 0.2 | 0.15 |
| Oeste medio de E.U.A. | 0.2 | 0.05 |
| Canadá | 0.1 | 0.10 |
| México | 0.3 | 0.15 |
| Venezuela | 0.1 | 0.05 |
| Inglaterra | 1.6 | 0.15 |
| Alemania Oriental | 0.1 | 0.05 |
| Grecia | 1.9 | 0.30 |
| Austria | 0.2 | 0.10 |

2.- Determinación de calcio en mosto y cervezas con EDTA.

El ácido etilen-diamin-tetra-acético (EDTA)- se ésta utilizando ultimamente para la determina- - ción del calcio en las cervezas, puesto que supera- en rapidez y exactitud de resultados a los viejos - métodos gravimétricos.

En 1964 Owades y Stewart propusieron un méto- do utilizando púrpura de amoniaco como indicador. - Así, el EDTA se añadía a la cerveza en pequeños in- crementos y la densidad óptica es medida con un fo- tómetro después de cada adición. El punto final de la titulación se determinaba gráficamente.

La técnica presentada utiliza un indicador - recientemente desarrollado para la determinación - del calcio en cervezas, llamado calceína, que nos - da un punto final de la titulación en un intervalo- de pH de 12.5-13.5 al cual el magnesio y el hidróxi- do no nos interfieren.

Reactivos.

- a) Hidróxido de Sodio 5 N.
- b) Solución de EDTA 1 ml. = 1 mg. CaCO_3 .
- c) Calceína. Grado reactivo fluorométrico.- Disuel- va 0.2 g. en 100 ml de agua destilada a la cual- le han sido añadidos 1 ml. de solución de NaOH 5 N.

Aparatos.

- a) Bureta de 5 ml., graduada en escala de 0.01 ml.

Técnica.

Pipetee 5 ml. de cerveza o mosto que previamente se les haya extraído el gas, en un pequeño matraz erlenmeyer. Añada 1.5 ml. de NaOH, 50 ml. de agua destilada y, 5 gotas de indicador calceína.

Títule con la solución de EDTA hasta que la fluorescencia verde amarillosa desaparezca y la solución se torne de color naranja. Se puede utilizar un fondo blanco o negro para poder apreciar mejor el cambio de color. Entonces, las partes por millón de calcio son:

$$\text{p.p.m. calcio} = \text{ml. EDTA} \times 80.$$

Resultados.

Para determinar la linealidad de la curva de titulación y, al mismo tiempo checar la no interferencia del magnesio, se añaden varias cantidades de calcio a las muestras de cerveza. A dos de las muestras también se les añade magnesio. Estas muestras deben contener 79 p.p.m. de magnesio antes de la adición. Entonces, a las muestras se les determina el calcio por el método anteriormente descrito. Los resultados son mostrados en la tabla VII.

Se puede notar que la curva de titulación es lineal sobre un gran intervalo de niveles de calcio y, que los altos niveles de magnesio no tienen interferencia en los valores de la determinación.

En la tabla VIII se comparan los resultados obtenidos por varios métodos de análisis (9).

TABLA VII

Comparación de calcio determinado y añadido, y efecto del magnesio en la titulación EDTA (9).

| Magnesio añadido | Magnesio total | Calcio añadido | Calcio total | Calcio encontrado |
|------------------|----------------|----------------|--------------|-------------------|
| 0 | 79 | 0 | 40.8 | 40.8 |
| 0 | 79 | 20 | 60.8 | 58.4 |
| 100 | 179 | 40 | 80.8 | 79.2 |
| 0 | 79 | 60 | 100.8 | 100.0 |
| 200 | 279 | 80 | 120.8 | 124.0 |
| 0 | 79 | 100 | 140.8 | 144.0 |

TABLA VIII

Comparación de resultados; titulación con EDTA, -
Absorción Atómica y Fotometría de
flama (9).

| Muestra | Titulación EDTA | | Absorción Atómica | Fotometría de flama. |
|---------|-----------------|----|-------------------|----------------------|
| | 1 | 2 | | |
| A | 85 | 86 | 86 | 86 |
| B | 82 | 79 | 82 | 86 |
| C | 79 | 79 | 84 | 81 |
| D | 53 | 53 | 54 | 55 |

Nota: Todos estos resultados están dados en p.p.m.

3.- Determinación de fierro y cobre por Espectroscopía de Absorción Atómica.

Método para la determinación de fierro.

Reactivos.

- a) Solución al 1% peso/volumen de ditio-carbamato - pirolidina de amonio (DCPA). Disuelva 1.0 g. de DCPA en agua deionizada y diluya a 100 ml. Esta solución debe ser preparada diariamente.
- b) Metil isobutil cetona (MIC). Sature con agitación con agua deionizada.
- c) Solución standard de fierro para Espectroscopía de Absorción Atómica. (1.0 ml. = 1.0 mg. de Fe).
- d) Alcohol octílico.

Aparatos.

- a) Espectrofotómetro de Absorción Atómica. Con una lámpara adecuada para determinar la absorción a 248.3 nm en flama aire-acetileno.
- b) Centrifuga. Con tubos con capacidad de 50 ml.
- c) Frascos de 100 ml. con tapón de hule.
- d) Frascos de 100 ml. con tapón de hule, cubiertos exteriormente con papel aluminio para protegerlos de la luz.
- e) Baño de agua controlado a $20 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$.

Preparación de las soluciones estandar.- Prepare soluciones estandar de fierro conteniendo - 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 y 2.0 p.p.m. de fierro en agua-deionizada.

Preparación de las muestras de cerveza.- Todas las muestras deben ser rigurosamente decarbonatadas por agitación. En el caso de que se forme - demasiada espuma utilice de 1 a 2 gotas de alcohol-octílico para controlarla.

Técnica.

Se toman muestras de 50 ml. de cerveza y 25-ml. de cada solución estandar. Se colocan en los - frascos de 100 ml. y se ponen en baño maría a 20°C- por 30 minutos.

Las muestras de cerveza deben ser colocadas- en los frascos oscuros. Después de estar a 20°C - por 30 minutos, a cada frasco (soluciones estan- - dars y muestras de cerveza), se le añade 2.0 ml. de solución DCPA, se agitan y se añaden 10.0 ml. de - MIC. Se vuelven a agitar vigorosamente por 5 minu- tos y, se centrifugan a separar las capas. Se transfieren las capas de MIC, a frascos oscuros y se ponen a 20°C por 10 minutos. Se aspiran los extrac- - tos de MIC de las soluciones estandar al espectro- fotómetro seguido de las muestras de cerveza y, se les determina las absorbancias a 248.3 nm. Se debe asegurar que las lecturas de absorbancia se efec- - tuen dentro de los 30 minutos de realizada la ex- - tracción.

Determine el contenido de fierro en las muestras de cerveza por comparación en una curva de ca-

libración obtenida por medición de la absorbancia - de las soluciones estandar utilizadas (10).

Método para la determinación de cobre.

Reactivos.

a) Etanol.

b) Solución estandar de cobre (1.0 ml. = 1.0 mg. - de Cu).

c) Alcohol octílico.

Áparatos.

a) Espectrofotómetro de Absorción Atómica. Con - lámpara adecuada para determinar la absorbancia a - 324.8 nm en flama aire-propano.

b) Baño de agua controlado a $20 \pm 0.2^\circ\text{C}$.

Preparación de las soluciones estandar.- Prepare soluciones estandar de cobre conteniendo 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 p.p.m. de cobre en etanol al - 3% volúmen/volúmen en agua deionizada.

Preparación de las muestras de cerveza.- Tal como se describió anteriormente para el fierro.

Técnica.

Equilibre las alícuotas de los estandards y las muestras de cerveza decarbonatada en el baño de agua a 20°C por 30 minutos y aspire las soluciones-

directamente en el espectrofotómetro. Determine las absorbancias a 324.8 nm y, determine el contenido de cobre en las muestras de cerveza por comparación en una curva de calibración obtenida por medición de la absorbancia de las soluciones estandars utilizadas.

Resultados.

Los resultados para la determinación del hierro (tablas IX y X) nos indican que no hay un error sistemático en el método de Espectroscopía de Absorción Atómica, aunque este método podría dar una baja recuperación con un pequeño error de repetición, que el método colorimétrico con 2-2' dipiridil.

Los resultados para la determinación del cobre (tablas XI y XII) nos muestran que en ambos métodos, el espectroscópico y el colorimétrico con dibenzil-ditio-carbamato de zinc, existen errores sistemáticos; pero, el de espectroscopía tiene un bajo error de repetición.

El Comité de Análisis del Instituto de la Cerveza recomienda utilizar el método de Espectroscopía de Absorción Atómica (10).

TABLA IX
Determinación de fierro en cerveza (10).

| Determinación | Método | Cerveza A sin tratar | | Cerveza A +0.30 p.p.m. | | Cerveza B sin tratar | | Cerveza B +0.50 p.p.m. | |
|---------------|----------------------|-------------------------|---|---------------------------|------|-------------------------|------|---------------------------|------|
| | | 1 | Espectro. de Absorción Atómica | 0.22 | 0.19 | 0.57 | 0.45 | 0.16 | 0.13 |
| 2 | 0.10 | 0.11 | | 0.48 | 0.36 | 0.099 | 0.08 | 0.38 | 0.40 |
| 3 | 0.12 | 0.10 | | 0.46 | 0.33 | 0.07 | 0.09 | 0.50 | 0.38 |
| 4 | 0.13 | 0.20 | | 0.54 | 0.45 | 0.13 | 0.14 | 0.53 | 0.56 |
| 5 | 0.22 | | | 0.45 | | 0.11 | | 0.46 | |
| 6 | 2-2' dipi ridil | 0.10 | 0.16 | 0.58 | 0.67 | 0.06 | 0.04 | 0.50 | 0.51 |
| 7 | | 0.34 | 0.43 | 0.62 | 0.43 | 0.32 | 0.20 | 0.77 | 0.57 |
| 8 | | 0.10 | 0.10 | 0.35 | 0.35 | 0.09 | 0.10 | 0.50 | 0.53 |
| 9 | Espectro. Emisión | 0.21 | 0.27 | 0.51 | 0.56 | 0.26 | 0.27 | 0.68 | 0.65 |

Nota: Cada determinación fué hecha por duplicado.

TABLA X

Determinación de hierro en cervezas; análisis estadístico de la tabla IX (10).

| Determinación | Recuperación de hierro añadido a la cerveza A + 0.30 p.p.m. | | Recuperación de hierro añadido a la cerveza B + 0.50 p.p.m. | | Error de repeti- ción S_r basado en todos- los datos. |
|---------------|---|-----|---|----|--|
| | Valor medio p.p.m. | % | Valor medio p.p.m. | % | |
| 1 | 0.30 | 100 | 0.40 | 80 | |
| 2 | 0.28 | 93 | 0.30 | 60 | |
| 3 | 0.29 | 96 | 0.38 | 76 | |
| 4 | 0.33 | 105 | 0.39 | 78 | |
| 5 | 0.23 | 77 | 0.35 | 70 | |
| Media | 0.29 | 96 | 0.36 | 72 | 0.037 |
| 6 | 0.50 | 166 | 0.46 | 92 | |
| 7 | 0.13 | 43 | 0.41 | 82 | |
| 8 | 0.23 | 83 | 0.41 | 82 | |
| Media | 0.29 | 96 | 0.43 | 86 | 0.077 |
| 9 | 0.30 | 100 | 0.45 | 90 | 0.025 |

TABLA XI

Determinación de cobre en cerveza (10).

| Determinación | Método | Cobre p.p.m. | | | | | | | |
|---------------|---|-------------------------|------|--------------------------|------|-------------------------|------|--------------------------|------|
| | | Cerveza A sin tratar | | Cerveza A +0.2 ppm Cu | | Cerveza B sin tratar | | Cerveza B +0.4 ppm Cu | |
| 1 | Espectro. de Absorción Atómica | 0.15 | 0.15 | 0.35 | 0.36 | 0.57 | 0.57 | 0.86 | 0.87 |
| 2 | | 0.11 | 0.12 | 0.29 | 0.31 | 0.50 | 0.50 | 0.86 | 0.84 |
| 3 | | 0.08 | 0.09 | 0.22 | 0.22 | 0.39 | 0.50 | 0.72 | 0.92 |
| 4 | | 0.11 | 0.08 | 0.3 | 0.27 | 0.42 | 0.49 | 0.77 | 0.80 |
| 5 | | 0.13 | 0.14 | 0.36 | 0.31 | 0.45 | 0.53 | 0.72 | 0.73 |
| 6 | Dibencil | 0.17 | 0.18 | 0.33 | 0.33 | 0.59 | 0.56 | 0.95 | 0.97 |
| 7 | Ditiocar- bamato | 0.24 | 0.32 | 0.36 | 0.65 | 0.58 | 0.79 | 0.88 | 1.10 |
| 8 | | 0.13 | 0.10 | 0.29 | 0.29 | 0.55 | 0.56 | 0.90 | 0.92 |
| 9 | | Espectro. Emisión | 0.11 | 0.12 | 0.31 | 0.32 | 0.52 | 0.56 | 0.81 |

Nota: Cada determinación fué hecha por duplicado.

TABLA XII

Determinación de cobre en cerveza; análisis estadístico de la tabla XI (10).

| Determinación | Recuperación del cobre añadido a la cerveza A + 0.20 p.p.m. | | Recuperación del cobre añadido a la cerveza B + 0.40 p.p.m. | | Error de repetición Sr basado en todos los datos |
|---------------|---|-----|---|----|--|
| | Valor medio p.p.m. | % | Valor medio p.p.m. | % | |
| 1 | 0.20 | 100 | 0.30 | 75 | |
| 2 | 0.18 | 90 | 0.34 | 85 | |
| 3 | 0.20 | 100 | 0.33 | 83 | |
| 4 | 0.30 | 85 | 0.37 | 93 | |
| 5 | 0.20 | 100 | 0.24 | 60 | |
| Media | 0.19 | 95 | 0.32 | 80 | 0.046 |
| 6 | 0.15 | 75 | 0.38 | 96 | |
| 7 | 0.23 | 115 | 0.31 | 78 | |
| 8 | 0.17 | 85 | 0.26 | 65 | |
| Media | 0.18 | 90 | 0.32 | 80 | 0.101 |
| 9 | 0.20 | 100 | 0.35 | 88 | 0.067 |

4.- Determinación de plomo y magnesio por Espectrofotometría de Absorción Atómica.

La importancia de las trazas de metal en las cervezas es ahora reconocida y sujeta a legislación en el caso de alguno de estos materiales, como lo son el plomo y el magnesio.

Reactivos.

- a) Solución al 1% de ditio-carbamato-pirrolidin de amonio (DCPA). Disuelva 1.0 g. de DCPA en agua deionizada y diluya a 100 ml. Esta solución debe ser preparada diariamente.
- b) Metil isobutil cetona (MIC). Sature agitando con agua deionizada.
- c) Acido acético. Grado analítico.
- d) Solución estándar de plomo. Disuelva 1.60 g. de $Pb(NO_3)_2$ grado analítico en agua deionizada, agregue 10 ml. de ácido nítrico, grado analítico y diluya a 1 l. (1 ml. = 1 mg. Pb).
- e) Solución estándar de magnesio. Disuelva 0.10 g. de una tira de magnesio libre de óxido en la mínima cantidad de ácido clorhídrico y afore a 100 ml. con agua destilada (1 ml. = 1 mg. Mg).

Aparatos.

- a) Espectrofotómetro de Absorción Atómica.

Método para la determinación de plomo.

Técnica.

Prepare standards en agua destilada conteniendo 0, 0.2 y 0.5 p.p.m. de plomo. Tome 50 ml. de cada solución, añada 5 ml. de ácido acético seguido de 2 ml. de solución DCPA, mezcle y añada con pipeta 10 ml. de MIC. Agite vigorosamente por varios minutos y después centrifugue a separación.

Por otro lado, separe muestras de cerveza decarbonatada de 50 ml. añada 5 ml. de ácido acético. Ponga a ebullición y mantenga por aproximadamente 2 minutos. Enfríe, añada 2 ml. de solución DCPA, mezcle y ponga 10 ml. de MIC. Agite vigorosamente y centrifugue a separación de las capas.

Utilizando una escala de expansión de dos tiempos, aspire la capa de solvente del blanco y las soluciones standards al espectrofotómetro; siguiendo con las muestras de cerveza en solución.

Utilice solvente puro de metil-isobutil-cetona como referencia, ajustando mientras se aspira para obtener una flama estable no-luminosa o ligeramente luminosa. Grafique una curva de calibración de concentraciones de plomo contra las alturas de picos encontradas y, lea las concentraciones de plomo en las muestras de cerveza.

Método para la determinación de magnesio.

Técnica.

Prepare soluciones estandards conteniendo 0, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 p.p.m. de magnesio en agua destilada. Aspire el blanco y las soluciones estandards siguiendo las muestras de cerveza diluidas en agua destilada. Normalmente diluciones 1 en 50 o 1 en 100 son adecuadas. Grafique la curva de calibración y lea las concentraciones de magnesio en las muestras de cerveza.

Resultados.

La determinación clásica de plomo por el método colorimétrico, que incluye secado, reducción a cenizas por medios complicados de preparación para aislar el plomo en solución; se ve drásticamente reducida en tiempo de trabajo y exactitud de resultados junto a la técnica de absorción atómica.

Las recuperaciones obtenidas de plomo y magnesio añadido a la cerveza se dan en la tabla XIII.

Las investigaciones indican que una simple ebullición con ácido acético es suficiente para romper los posibles complejos de plomo en la cerveza, resultando en la completa recuperación de pequeñas cantidades de plomo. El complejo de plomo extraído no es muy estable y se tiene que determinar el plomo con el mínimo de tiempo de retraso después de la extracción.

La figura No. 6 nos muestra las recuperaciones de cantidades de plomo añadidas a la cerveza.

De todos los metales el magnesio es el más -
 sensible a la detección por absorción atómica y -
 una considerable dilución de la cerveza es neces-
 aria. La curva de calibración obtenida es, algunas-
 veces, no lineal. La tabla XIV nos muestra valores
 prácticos. Se utiliza una flama aire-acetileno. -
 Los cambios ocurridos en el contenido de magnesio -
 del mosto durante la fermentación se investigaron -
 con los resultados obtenidos en la tabla XV. La de-
 terminación del contenido de magnesio de la levadu-
 ra después de la oxidación húmeda de la materia or-
 gánica con ácido nítrico y sulfúrico nos da un con-
 tenido de 0.33 a 0.41% de magnesio en levadura seca
 y pesada (11).

TABLA XIII

Determinación espectrofotométrica de metales
 añadidos a la cerveza (11).

| Metal | Metal añadido p.p.m. | % Detectado |
|----------|-------------------------|----------------|
| Plomo | 0.2 | 95 |
| | 0.4 | 100 |
| | 0.6 | 93 |
| | 0.8 | 90 |
| | 1.0 | 91 |
| Magnesio | 50 | 90 |
| | 100 | 95 |

TABLA XIV

Contenido de magnesio en diferentes materiales (11).

| Material analizado | magnesio p.p.m. |
|---|------------------------|
| Maceración líquida Maltá- extracto soluble | 5.4 - 7.8 620 - 850 |
| | Valores promedio |
| Pale ale embotellada (O.G. 1032) | 79 |
| Cerveza de barril pale ale (O.G. 1040) | 86 |
| Pale ale embotellada (O.G. 1050) | 105 |
| Pale ale embotellada (O.G. 1068) | 158 |
| Strong ale (O.G. 1085) | 190 |
| Cerveza pilsner (O.G. 1032) | 69 |

TABLA XV

Cambios ocurridos en el contenido de magnesio del mosto durante la fermentación con diferentes levaduras (11).

| Levadura tamizada | Magnesio p.p.m. | | | |
|---------------------------|-----------------|-----|-----|-----|
| | (a) | (b) | (c) | (d) |
| Mosto inicial (O.G. 1040) | 82 | 82 | 82 | 82 |
| Después de 1 día | 70 | 72 | 76 | 74 |
| Después de 2 días | 69 | 70 | 68 | 65 |
| Después de 3 días | 66 | 68 | 73 | 71 |
| Después de 4 días | 67 | 69 | 75 | 70 |
| Después de 7 días | 72 | 75 | 78 | 75 |

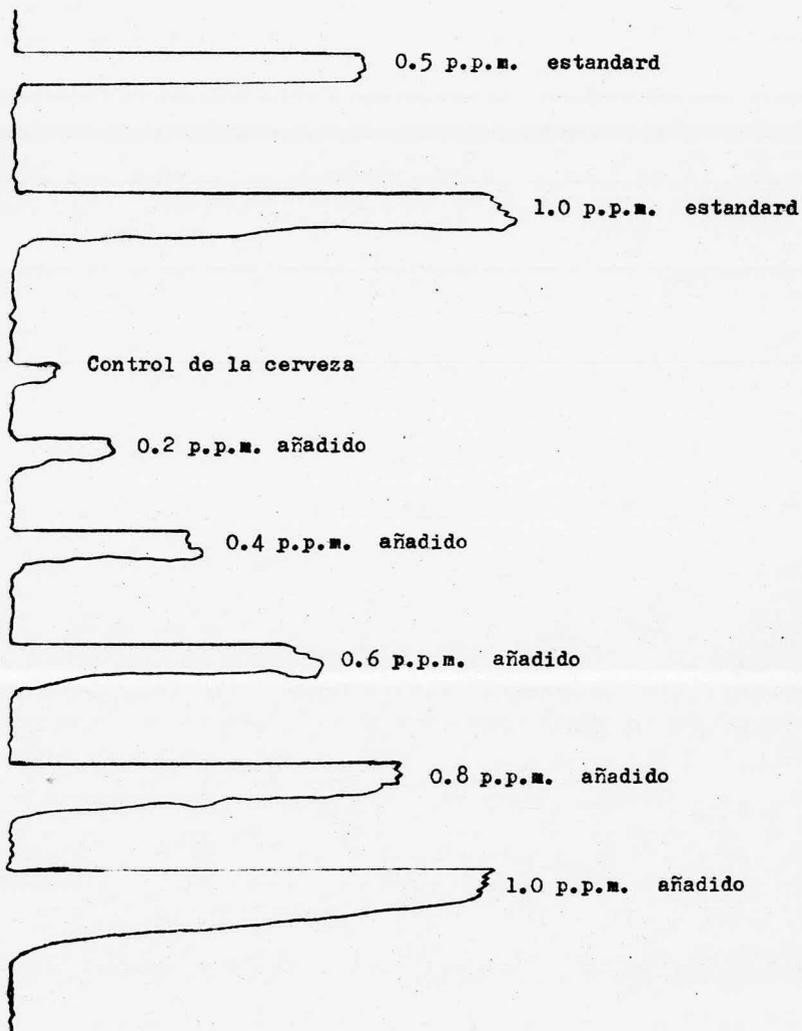


Figura No. 6.- Recuperación de cantidades añadidas de plomo.

5.- Determinación de zinc por colorimetría.

Esta determinación analítica nos proporciona una ayuda muy valiosa para poder analizar el importante papel que juega el zinc dentro de la fermentación y en los procesos de la cervecera.

En 1960, Dean, en un artículo titulado 'Algunos aspectos de la nutrición de la levadura' comenta en detalle la importancia del zinc dentro de los procesos de la fermentación. El apunta que el mosto puede ser deficiente en algunos aspectos de nutrientes importantes, que darían una fermentación lenta y una pobre cosecha de levadura. En pruebas realizadas en mosto Australiano, Dean encontró que la adición de 0.5 p.p.m. de zinc acelera la fermentación y aumenta en un 24% la cosecha de levadura. El comentó que la deficiencia de zinc en el mosto puede ser un indicio de que la cebada había crecido en un suelo deficiente en zinc.

La difenil-ditio-carbazona (ditizona) es el reactivo utilizado, es una solución verde que reacciona con varios metales para formar quelatos coloreados del tipo 'ditizonatos'. Estos quelatos son altamente sensitivos a trazas de metales y, específicamente para aquellos que pueden ser mantenidos por control de pH. Utilizando la ditizona es necesario formar un sistema de 2 fases a causa de la insolubilidad en agua de los ditizonatos.

Reactivos. (ver nota 1 para prevenir contaminación).

a) Mono-metil-eter del etilen-glicol. Debe ser redestilado en un equipo de vidrio escrupulosamente limpio, descartando el primer y último 10%. Se -

añaden 10 ml. de ácido acético glacial a cada litro de solvente redestilado.

b) Reactivo ditizona. (A). 100 mg. de ditizona se disuelven en 170 ml. del solvente redestilado y acidificado, permitiendo que repose por 1/2 hora y a ore entonces a 200 ml.

(B). Antes de su uso, prepare una solución diluída de reactivo, tomando 10 ml. (u otro volumen deseado) de la solución anterior y diluyendo a 100 ml. con el solvente redestilado y acidificado. (ver nota 2).

c) Solución de EDTA. Solución acuosa al 0.1% de la doble sal de calcio de EDTA (etilen-diamin-tetra-acético).

d) Solución standard de zinc. Prepare una solución conteniendo 1000 p.p.m. de zinc, disolviendo 4.398-g. de $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ grado analítico en agua y aforando con agua destilada a 1 l.

Técnica.

10 ml. de mosto o cerveza se colocan en un tubo de ensaye, se añade 1.0 ml. de agua destilada y 10 ml. de solución (B) diluída de reactivo ditizona, para utilizarse en la calibración, mezcle girando el tubo. Después de 1 minuto lea la absorción de luz en un fotómetro utilizando un filtro rojo bajo las mismas condiciones que las utilizadas para la calibración. Si se requiere corra un blanco (nota 2), por adición de 1 ml. de solución de EDTA en lugar del mililitro añadido de agua destilada. Lea en el fotómetro, calcule el contenido de zinc -

en las muestras utilizando la siguiente relación:

$$\text{p.p.m. de Zn} = (\text{lectura del blanco} - \text{lectura de la muestra}) \times \text{Factor de tiempo de calibración.}$$

Calibración.

Lea las notas 2 y 3 antes de empezar. Prepare el reactivo ditizona diluido (B), utilizando la concentración óptima para dar la sensibilidad deseada y el rango de los niveles de zinc.

A una serie de muestras de la misma cerveza, se le añaden cantidades conocidas de zinc. En adición corra un blanco de EDTA en una muestra que no contenga zinc añadido. Para la calibración de la curva en la figura No. 7 las siguientes p.p.m. de zinc se añadieron: 0.0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0., 4.0 y 5.0.

Para la calibración deben ser obtenidas líneas rectas. Calcule el factor, o los factores requeridos en la forma habitual para convertir las lecturas del fotómetro en p.p.m. de zinc.

Nota 1.

Este método solamente es confiable si se previene la contaminación en los recipientes utilizados. Todos los recipientes de vidrio, antes de su uso, deben ser lavados con agua destilada y enjuagados con el solvente redestilado y acidificado y, secados perfectamente.

Nota 2.

La concentración final del reactivo (B) puede ser variada, dependiendo de la precisión y el rango deseado, además de las características físicas del fotómetro utilizado. La dilución empleada en este método es buena para un rango de 0 a 5 p.p.m. El cambio de color es de un verdoso a un rojo brillante del ditizonato de zinc. La pendiente de la curva de calibración cubriendo un rango pequeño se encuentra a partir de la recta en la curva # 2. Para mayores rangos las curvas de calibración no son líneas rectas, pero las diferentes pendientes pueden ser sacadas de dos tramos de líneas rectas, tal como se hizo en la curva # 1.

Nota 3.

Para una mejor precisión y evitar errores experimentales, debido a las variaciones en color en el reactivo ditizona (B) preparado en días diferentes, el color de un blanco de EDTA con cerveza puede ser checado diariamente para cada reactivo preparado periódicamente.

Esta determinación nos provee de una útil herramienta para conocer el papel del zinc en los procesos en la fabrica. Generalmente todos los tipos de mosto contienen bajos niveles de zinc y esto puede ser debido a que en la malta puede existir poco nivel de zinc 'per se' o, que este presente en forma insoluble o no-ionizada; alternativamente, los materiales insolubles de la maceración pueden adsorber los iones de zinc y evitar que pasen al mosto.

Para determinar que ocurre a los iones solubles de zinc en la maceración, se prepararon algunas maceraciones con agua conteniendo varios niveles de zinc. Las muestras limpias del mosto proveniente de estas maceraciones fueron examinadas en su contenido de zinc, los resultados están dados en la tabla XVI. Evidentemente, cualquier cantidad de iones de zinc en la maceración está casi completamente retenida y no aparece en el mosto. Los niveles básicos de zinc de estos mostos de laboratorio son mayores a los niveles de mosto de las cervecerías, debido quizá a que el mosto de laboratorio está más diluido (8°P).

En pruebas efectuadas en cervecería piloto - la agitación de la levadura rápidamente 'removía' - trazas de iones de zinc añadidos al mosto, aparentemente la levadura fallecería por la falta de este nutriente. Se ha observado que el zinc es un constituyente de los sistemas enzimáticos conectados con la fermentación. En estas pruebas se realizaron fermentaciones piloto a 10°C con mosto proveniente de varias cervecerías. Se fermentó mosto con adiciones y, sin adiciones de zinc (como sulfato de zinc). Los resultados se resumen en la tabla XVII.

Después de fermentar toda la noche a 10°C, - el mosto fermentado está esencialmente libre de iones de zinc. Aún cuando cantidades hasta de 5 p.p.m. de zinc hayan sido añadidas. Con una adición de 75 p.p.m. el 75% del zinc añadido desaparece del mosto durante la noche.

Con pequeñas adiciones de zinc al mosto en niveles de 1 p.p.m. se observa un ligero aumento en la velocidad de fermentación, en adiciones de 5 a 10 p.p.m. hay una pequeña disminución en la velocidad de fermentación. Sin embargo, todas las cervezas llegaron a un mismo nivel de fermentación. Se observó que niveles altos de zinc tienen un ligero efecto inhibitor sobre la velocidad de fermentación. Los resultados de determinaciones de zinc en distintas cervezas están dadas en las tablas XVIII y XIX.

Resumen.

El contenido de zinc en las cervezas terminadas es extremadamente bajo, generalmente de 0.1 p.p.m. o menos en cervezas embotelladas y, ligeramente más alto y más variable en cerveza en latas debido a la ligera extracción de los metales de las latas. Pruebas preliminares nos indican que la presencia de unas cuantas partes por millón de zinc en la cerveza no tiene efectos nocivos (12).

TABLA XVI

iones de zinc en maceraciones de laboratorio(12).

| Zinc añadido* | | Zinc encontrado en el mosto fil- trado en el la- boratorio. p.p.m. | Reten- ción. % |
|--|-----------------------|--|----------------------|
| Al agua de maceración miligramos | Equivalente p.p.m. | | |
| --- | --- | 0.53 | --- |
| 0.2 | 0.5 | 0.53 | 100 |
| 0.4 | 1.0 | 0.53 | 100 |
| 0.8 | 2.0 | 0.67 | 93 |
| 2.0 | 5.0 | 0.86 | 93 |

* Como sulfato de zinc.

TABLA XVII

Extracción de zinc a partir de mosto fermentado a 10°C (12).

| Suministro de mosto. | Zinc añadido al mosto. | Zinc determinado después de tratamiento p.p.m. | |
|----------------------|------------------------|--|--------|
| | | después de la noche. | 2 días |
| Cervecería A | * | 0.1 | 0.1 |
| Cervecería A | 1.0 | 0.1 | 0.1 |
| Cervecería A | 10.0 | 2.7 | 1.6 |
| Cervecería B | * | 0.1 | 0.1 |
| Cervecería B | 5.0 | 0.2 | 0.2 |
| Cervecería A | | | |
| Levadura viva | 5.0 | 0.1 | --- |
| Levadura muerta | 5.0 | 4.6 | --- |

* Niveles de zinc en el mosto de: Cervecería A = 0.18 p.p.m.
Cervecería B = 0.4 p.p.m.

TABLA XVIII

Contenido de zinc de diferentes mostos (12).

| Fuente | zinc p.p.m. |
|--------------------|-------------|
| Cervecerfa A* | 0.2 |
| Cervecerfa A* | 0.2 |
| Cervecerfa B | 0.35 |
| Cervecerfa C | 0.1 |
| Cervecerfa D | 0.2 |
| Maceración de lab. | 0.8 |
| Cervecerfa piloto* | 0.5 |
| Cervecerfa piloto* | 0.35 |

*Muestras tomadas semanalmente.

TABLA XIX

Contenido de zinc en cervezas embotelladas (12).

| Lugar de origen | Recipiente | zinc p.p.m. |
|-----------------|------------|-------------|
| Michigan | botella | 0.05 |
| Florida | botella | 0.05 |
| Minnesota | botella | 0.10 |
| New York | botella | 0.10 |
| Washington | botella | 0.05 |
| México | botella | 0.10 |
| Venezuela | botella | 0.10 |
| Florida | lata | 1.80 |
| Maryland | lata | 0.10 |
| New York | lata | 1.10 |
| Ohio | lata | 1.80 |
| Washington | lata | 0.30 |
| Wisconsin | lata | 0.10 |
| México | lata | 2.10 |

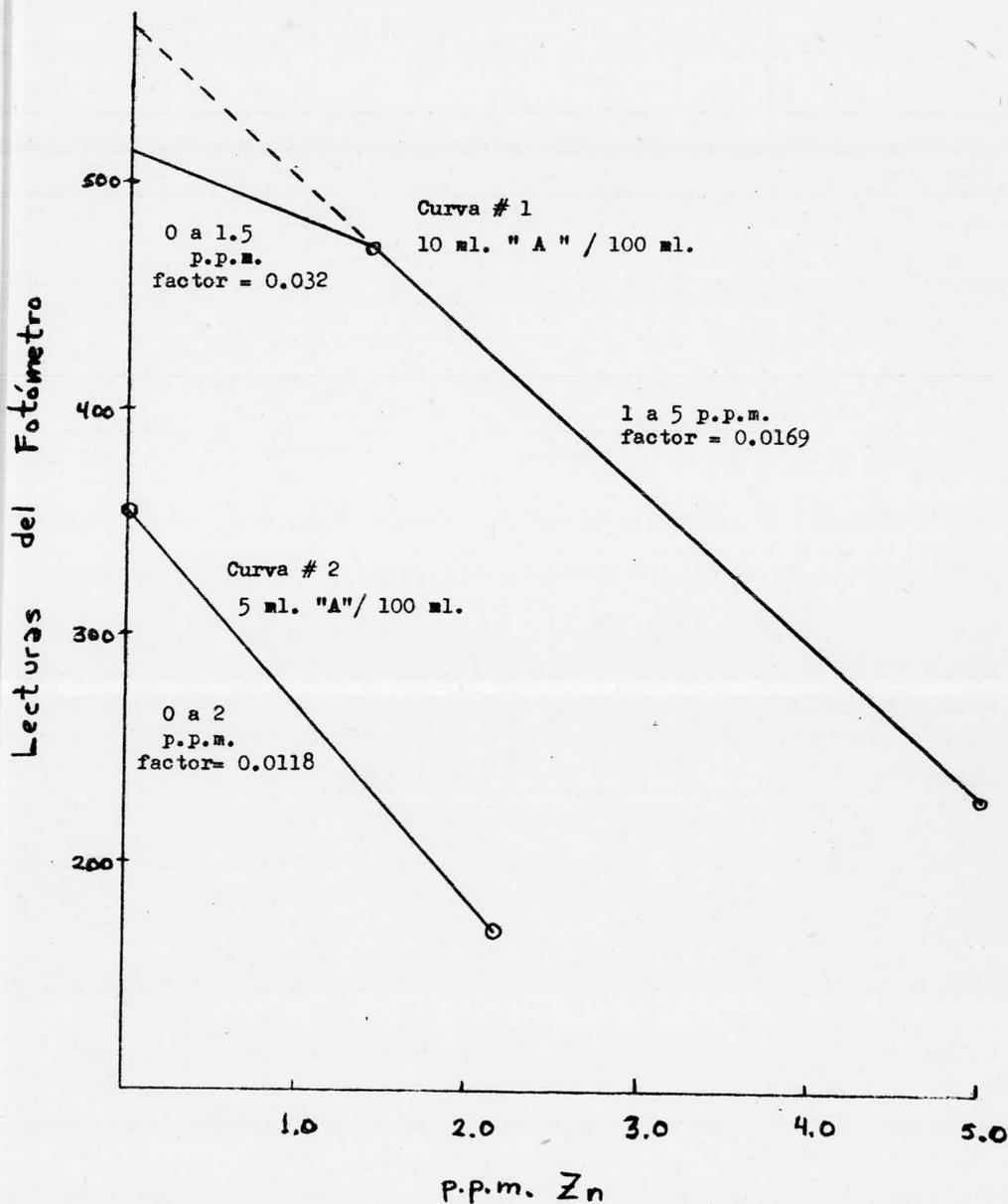


Figura No. 7.- Curvas de calibración para el colorímetro fotoeléctrico de Klett-Summerson.

6.- Determinación de zinc por Espectroscopía de Absorción Atómica.

El método de espectroscopía es una técnica adecuada para la determinación de zinc en cervezas. Trabajos preliminares indican, que mientras, el uso de una flama aire-propano nos da una gran sensibilidad; también, el uso de una flama aire-acetileno es preferido por la mayoría de laboratorios en las cervecerías, por la gran estabilidad resultante en la flama.

Reactivos.

- a) Solución estandard de zinc para espectroscopía.- (1.0 ml. = 1.0 mg. de Zn).
- b) Alcohol octílico.
- c) Etanol.

Aparatos.

- a) Espectrofotómetro de Absorción Atómica. Con lámpara de zinc de cátodo hueco para determinar la absorción a 213.9 nm en flama de aire-acetileno.

Preparación de soluciones estandard para calibración.- Prepare soluciones estandard de zinc - conteniendo 0.25, 0.50, 0.75, 1.0 y 1.25 p.p.m. de zinc en etanol al 3% v/v en agua deionizada.

Preparación de las muestras de cerveza.- Todas las cervezas deben ser rigurosamente decarbonatadas por agitación o transfiriendo rápidamente de-

un recipiente a otro. En el caso de cervezas en bote, el contenido total de la cerveza debe ser utilizado, poniendo de 1 a 2 gotas de alcohol octílico para controlar la espuma, si fuera necesario.

Técnica.

Aspire las soluciones directamente al espectrofotómetro. Las soluciones deben ser aspiradas en el siguiente orden: Estandards, muestras de cervezas, standards. Determine las absorbancias a 213.9 nm y encuentre el contenido de zinc en las muestras de cerveza por referencia con una cerveza de calibración obtenida a partir de las soluciones standards utilizadas.

En este ensayo, diez laboratorios trabajaron conjuntamente y, se utilizaron para su análisis 8 muestras de cerveza distribuidas en cuatro pares de muestras (A_1 A_2 , B_1 B_2 , C_1 C_2 y D_1 D_2), conteniendo cada par, niveles añadidos de zinc de 0.0, 0.20, 0.50 y 1.0 p.p.m. respectivamente. Las adiciones de zinc fueron realizadas poniendo cantidades conocidas de soluciones standard de sulfato de zinc. Los laboratorios participantes utilizaron el equipo enlistado en la tabla XX.

Resultados.

Los resultados obtenidos en estos ensayos se resumen en la tabla XXI y las recuperaciones del zinc añadido se dan en la tabla XXII. El sumario de resultados se dan en la tabla XXIII.

El Comité de Análisis del Instituto de la Cerveza recomienda, para la determinación de zinc en cervezas, utilizar la Espectroscopía de Absorción Atómica (13).

TABLA XX

Lista del equipo utilizado por los diferentes laboratorios (13).

| Equipo | Laboratorios |
|-----------------------|----------------|
| Unicam SP90 | 5 laboratorios |
| Perkin Elmer 303 | 2 laboratorios |
| Eel 240 | 1 laboratorio |
| Hilger Atomspek H1170 | 1 laboratorio |
| Varien Techtron 1000 | 1 laboratorio |

TABLA XXI

Determinación de zinc en cervezas; resultados de colaboración (13).

| Laboratorio, No. | Zinc p.p.m. | | | | | | | |
|---------------------|-------------|------|---------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|
| | A1 | A2 | B1 (+ 0.2) | B2 (+ 0.2) | C1 (+0.5) | C2 (+ 0.5) | D1 (+ 1.0) | D2 (+ 1.0) |
| 1 | 0.09 | 0.07 | 0.35 | 0.34 | 0.68 | 0.69 | 1.20 | 1.22 |
| 2 | 0.08 | 0.06 | 0.33 | 0.28 | 0.59 | 0.59 | 1.02 | 1.02 |
| 3 | 0.01 | 0.01 | 0.21 | 0.21 | 0.47 | 0.48 | 0.97 | 0.97 |
| 4 | 0.02 | | 0.03 | 0.03 | 0.15 | 0.14 | 0.75 | 0.85 |
| 5 | | | 0.19 | 0.18 | 0.43 | 0.43 | 0.83 | 0.83 |
| 6 | 0.01 | 0.01 | 0.21 | 0.13 | 0.39 | 0.45 | 0.87 | 0.94 |
| 7 | 0.04 | 0.03 | 0.26 | 0.25 | 0.56 | 0.57 | 1.05 | 1.06 |
| 8 | | | 0.20 | 0.23 | 0.48 | 0.53 | 0.98 | 0.98 |
| 9 | 0.06 | 0.02 | 0.14 | 0.13 | 0.42 | 0.40 | 0.87 | 0.84 |
| 10 | 0.07 | 0.08 | 0.36 | 0.30 | 0.60 | 0.60 | 1.10 | 1.10 |
| Promedio | 0.03 | 0.02 | 0.25 | 0.22 | 0.51 | 0.52 | 0.96 | 0.98 |

TABLA XXII

Resultados de recuperación de zinc añadido (13).

| Laboratorio No. | % Recuperación | | | | | |
|--------------------|----------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | B1 | B2 | C1 | C2 | D1 | D2 |
| 1 | 130 | 135 | 118 | 124 | 111 | 115 |
| 2 | 125 | 110 | 102 | 106 | 94 | 96 |
| 3 | 100 | 100 | 92 | 94 | 94 | 96 |
| 4 | 5 | 15 | 26 | 28 | 73 | 85 |
| 5 | 95 | 90 | 86 | 86 | 83 | 83 |
| 6 | 100 | 60 | 76 | 88 | 86 | 93 |
| 7 | 110 | 110 | 104 | 108 | 101 | 103 |
| 8 | 100 | 115 | 96 | 106 | 98 | 98 |
| 9 | 40 | 55 | 72 | 76 | 81 | 82 |
| 10 | 145 | 110 | 106 | 104 | 103 | 102 |
| Promedio | 105 | 98 | 95 | 99 | 93 | 95 |

TABLA XXIII

Sumario de resultados (13).

| Par de Muestras | Promedio $\frac{(X + Y)}{2}$ | Precisión Sr | Error sistemá tico, Sb | No. de lab. |
|-----------------|---------------------------------|-----------------|------------------------------|----------------|
| A | 0.033 | 0.011 | 0.031 | 10 |
| B | 0.239 | 0.024 | 0.072 | 9 |
| C | 0.520 | 0.018 | 0.095 | 9 |
| D | 0.973 | 0.027 | 0.128 | 10 |

CAPITULO III

ANALISIS DE ANIONES

1.- Determinación de cloro potenciométricamente.

Un electrodo de plata utilizado con un electrodo de referencia, conectado a un medidor pH/mV, puede ser usado como un indicador potenciométrico para encontrar el punto de equivalencia en la titulación de cloro con nitrato de plata. Este método, aplicado a la cerveza y mosto, es sensitivo y reproducible dandonos una buena recuperación del cloro añadido.

El cloro es uno de los principales iones presentes en la cerveza y su concentración tiene un significativo efecto en su sabor. Esta determinación se basa en el principio de que el electrodo de plata adquiere un potencial con respecto a la solución en la cual está sumergido y es dependiente de la actividad de los iones Ag^+ en la solución. En presencia de iones cloruro la actividad de los iones Ag^+ en la solución esta determinada por la actividad de los iones Cl^- , como una consecuencia de la relación del producto de solubilidad. Si el electrodo de plata es utilizado con un electrodo de referencia, cuyo potencial con respecto a la solución sea independiente de los iones Ag^+ , la diferencia de potencial entre los dos electrodos puede ser medida con un potenciómetro con escala en milivolts. Este principio se utiliza también para la determinación de cloro en leche, queso y productos de carne.

Reactivos.

a) Solución de nitrato de plata. Disuelva 4.79 g. de nitrato de plata, grado analítico, en agua desionizada y afore a 1 l. (1 ml. = 1 mg. Cl).

Aparatos.

- a) Medidor, potenciómetro, utilizado en escala de milivolts.
- b) Electrodo de plata.
- c) Electrodo de referencia de calomel o, de sulfato de mercurio.

Los dos electrodos se conectan al potenciómetro de igual manera que con las mediciones con electrodos de vidrio y electrodo de calomel para lecturas de pH.

Técnica.

Se pasan 25 ml. de mosto o de cerveza decarbonatada en un frasco de 50 ml., los electrodos se sumergen en la muestra y se agrega muy lentamente solución de nitrato de plata de una bureta de 25 ml. se toma la lectura al más cercano mV después de cada adición.

Se agregan inicialmente incrementos de 1 ml. y, se reducen a 0.2 ml. cuando el punto final se aproxima y la velocidad de cambio del potencial también se aproxima a su máximo valor. Se grafican las lecturas contra la cantidad añadida de nitrato de plata. La figura No. 8 nos muestra una típica curva de titulación obtenida de este modo. El punto final, o punto de equivalencia es mostrado por la inflexión en la curva.

La concentración del ión cloruro está dada - por la relación:

$$\text{p.p.m. Cl}^- = T/S \times 1000$$

En donde:

T = Volúmen de titulante en el punto final.

S = Volúmen de la muestra en ml.



Resultados.

La tabla XXIV nos muestra los resultados obtenidos cuando cantidades conocidas de cloro son - añadidas a la cerveza que previamente se le ha de--terminado el contenido de cloro. La recuperación - de cloro es buena a todos los niveles, donde el más alto representa el doble de la concentración inicial en la cerveza.

El cloro fué determinado en varias muestras- de cerveza y mosto, con y sin cloro añadido en cada caso, tal como se muestra en la tabla XXV. La recu- peración de cloro es muy buena (14).

TABLA XXIV

Titulación potenciométrica de cloro en cervezas; recuperación del cloro añadido (14).

| Cloro añadido p.p.m. | Volúmen titulante ml. AgNO ₃ | Cloro encontrado. p.p.m. | Recuperación. % |
|-------------------------|--|-----------------------------|--------------------|
| 0 | 8.2 | 327 | ----- |
| 61.7 | 9.75 | 390 | 102.2 |
| 123.4 | 11.30 | 452 | 101.1 |
| 185.1 | 12.75 | 510 | 98.8 |
| 246.8 | 14.30 | 572 | 99.3 |
| 308.5 | 15.90 | 636 | 100.2 |

TABLA XXV

Contenido de cloro en cervezas y mosto; recuperación del Cl⁻ añadido (14).

| Tipos de cervezas | Cloro p.p.m. | | | recuperación % |
|----------------------|--------------|---|--------------|-------------------|
| | Muestra | muestra + 308 p.p.m. Cl ⁻ | recuperación | |
| Lager | 382 | 694 | 312 | 101.2 |
| Bitter | 328 | 636 | 308 | 99.2 |
| Cerveza obscura | 476 | 778 | 302 | 97.8 |
| Stout | 654 | 964 | 310 | 100.5 |
| Cerveza 'fuerte' | 984 | 1284 | 300 | 97.2 |
| Mosto 1038° | 320 | 630 | 310 | 100.5 |
| Mosto 1075° | 474 | 780 | 306 | 99.2 |

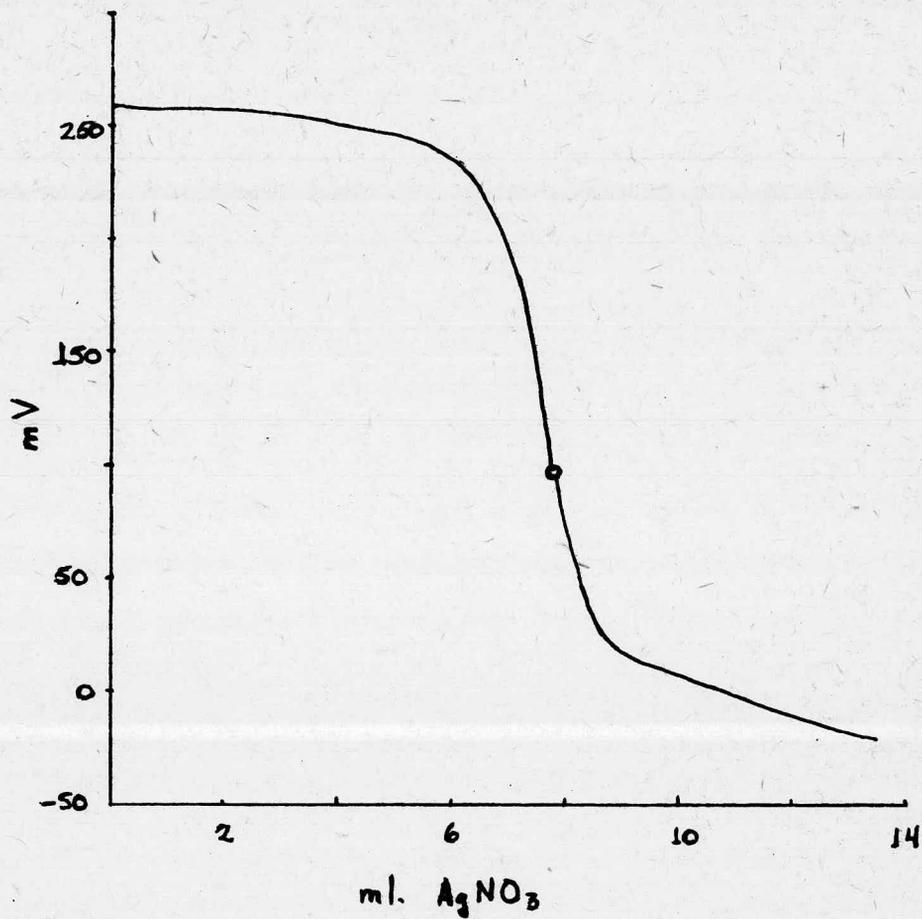


Figura No. 8.- Titulación potenciométrica de cloro en cerveza; el punto de inflexión esta en 7.9 ml.

2.- Determinación de cloro por gravimetría.

La técnica del análisis gravimétrico se basa en la precipitación del elemento a determinar.

Reactivos.

- a) Acido nítrico diluido (1 ml. de ácido 1:10).
- b) Acido nítrico diluido (1:3).
- c) Nitrato de plata, solución al 10%.
- d) Acido clorhídrico diluido (1:10).

Aparatos.

- a) Horno a 130°C.
- b) Desecador con cloruro de calcio anhidro.
- c) Papel filtro. Whatman No. 40.
- d) Densímetro.
- e) Crisol de porcelana.

Técnica.

A una muestra de 100 ml. de cerveza decarbo-
natada, se le mide la densidad en g/ml y, se pasa a
un frasco volúmetrico de 1000 ml. aforándose al vo-
lúmen con agua deionizada.

Se toma una alícuota de 50 ml. y se acidula-
con unas gotas de HNO_3 (1:10). Se calienta sin que-

se llegue a la ebullición y se precipita agregando gota a gota solución al 10% de AgNO_3 ; durante la precipitación deberá agitarse la solución continuamente con una varilla de vidrio hasta que el precipitado se conglomerare y el líquido se aclare.

Después de asegurarse que la precipitación es completa (una gota de reactivo por las paredes del vaso no debe dar enturbiamiento), se deja reposar el precipitado en la oscuridad durante una hora, al cabo de la cual, se filtra y se lava hasta que desaparezca en el agua de lavado la reacción de iones plata. El lavado deberá hacerse con agua caliente que contenga algunas gotas del HNO_3 (1:10). Inmediatamente se procede a secar el precipitado en la estufa por 1/2 hora a 130°C .

Después de la filtración en papel filtro de peso de cenizas conocido, y del secado a 130°C , se separa el precipitado lo más completamente que sea posible del papel filtro y, éste se incinera en un crisol de porcelana tarado; todas las cenizas del papel contienen pequeñas cantidades de plata, producto de la reducción del cloruro adherido al filtro por el carbón de éste al ser quemado. Las cenizas se tratan con unas cuantas gotas de HNO_3 (1:3), con objeto de disolver la plata y, una o dos gotas más de HCl (1:10) para precipitar nuevamente el cloruro.

El exceso de ambos ácidos es evaporado sucesivamente adicionando al final una o dos gotas más de HCl (1:10), para la completa formación del cloruro. Evaporado nuevamente el exceso de ácido, se coloca dentro del crisol el precipitado de AgCl que fué separado del papel filtro, procediéndose a se--

car nuevamente el precipitado colocando el crisol - dentro de la estufa durante una hora a 130°C.

Posterior a este secado, el crisol se pasa a enfriar en desecador. Finalmente, por diferencia, - obtenemos el peso del precipitado.

Resultados.

Para el cálculo del contenido de cloro se - utiliza la fórmula:

$$\% \text{ cloro} = \frac{\text{peso precipitado} \times \text{F.G.} \times \text{aforo} \times 100}{(\text{densidad} \times \text{volúmen muestra}) \times \text{parte alícuota.}}$$

En donde:

peso precipitado = peso obtenido en gramos.

$$\text{F.G.} = \text{Factor gravimétrico} = \frac{\text{Cl}}{\text{AgCl}} = 0.2474$$

Aforo = 1 000 ml.

Densidad = lectura en g/ml. (tomada a temperatura - ambiente).

Volúmen muestra = 100 ml.

Parte alícuota = 50 ml.

En la tabla XXVI se dan algunos resultados - para la determinación de cloro por este método (5).

TABLA XXVI

Análisis de las muestras de cerveza en el contenido de cloro por el método gravimétrico (5).

| Tipo de cerveza | cloro p.p.m. |
|------------------------|--------------|
| Cerveza griega (330 g) | 160 |
| Cerveza griega (500 g) | 300 |
| Tipo lager (griega) | 263 |
| Tipo pilsner (griega) | 250 |
| Tipo pilsner (noruega) | 170 |
| Cerveza noruega | 150 |
| Cerveza noruega | 178 |
| Cerveza Alemana | 178 |
| Cerveza Alemana | 265 |
| Cerveza de dinamarca | 280 |
| Cerveza de dinamarca | 198 |
| Cerveza italiana | 265 |

3.- Determinación de sulfatos por turbidimetría.

Dentro del método turbidimétrico para la determinación de sulfatos, el ión sulfato es precipitado en ácido clorhídrico con cloruro de bario de tal manera que pasa a formar cristales de sulfato de bario de tamaño uniforme. La absorbancia de la suspensión del sulfato de bario puede ser medida con un nefelómetro, un espectrofotómetro o un fotómetro con filtro y, la concentración del ión sulfato es determinada por comparación de la lectura con una curva standard.

Reactivos.

- a) Preparación del reactivo condicionado. 50 ml. de glicerol se mezclan con una solución conteniendo 30 ml. de ácido clorhídrico concentrado, 300 ml. de agua destilada, 100 ml. de alcohol etílico o isopropílico al 95% y 75 g. de cloruro de sodio. Puede ser necesario precipitar cualquier sulfato presente en el reactivo condicionado, agregando solución al 20% de cloruro de bario y filtrando la solución a través de un papel filtro Whatman No. 42.
- b) Solución de cloruro de bario. Se prepara al 20% en agua deionizada.
- c) Solución standard de sulfato. Una solución conteniendo 1 000 p.p.m. de sulfato es preparada por dilución de 20.83 ml. de ácido sulfúrico 1 N aforando a 1000 ml. con agua destilada. (1 ml. = 1 mg. $\text{SO}_4^{=}$).
- d) Hexa-metilen-tetra-amina.

e) Sulfato de hidrazina. Grado analítico.

Aparatos.

a) Turbidímetro. Con cubos de medición de vidrio con diámetro interno de 55 mm.

b) Agitador magnético. Es conveniente equipar el agitador con un reloj medidor para permitir operar el agitador por un tiempo exacto de 2 1/2 minutos. - La velocidad del agitador magnético no debe variar apreciablemente y debe ser constante evitando que agite muy violento.

c) Cronómetro. Si el agitador magnético no está equipado con reloj.

d) Pipetas.

e) Frascos volumétricos.

Preparación de los standards:

1.- Prepare una solución al 10% de hexametilentetraamina en agua deionizada.

2.- Prepare una solución de sulfato de hidrazina al 1% en agua deionizada. Permita que la solución repose por lo menos 4 horas, para asegurar la completa disolución.

3.- Medidos con pipeta, mezcle volúmenes iguales de las 2 soluciones anteriores y, deje entonces reposar por 24 horas hasta la completa precipitación de la formazina. Este concentrado es estable por un tiempo de dos a tres meses.

4.- Diluya un volúmen del concentrado anterior a - 10 volúmenes con agua deionizada en un frasco volumétrico. Esta suspensión estandar es equivalente a una lectura de 100 unidades y, es estable por un tiempo de 4 a 5 días.

5.- Prepare standards de trabajo (0.5 a 5 unidades) por más diluciones de la suspensión '100 unitaria' con agua deionizada. Estos standards deben ser - preparados diariamente.

Calibración del turbidímetro.

1.- Cheque el centro del aparato, midiendo la celda y con todas las ventanas limpias.

2.- Llene la celda con agua deionizada justo al centro del aparato.

3.- Cheque que la lectura del galvanómetro sea de - cero en posición de disparo. Si no, ajuste el aparato.

4.- Llene el cubo con formazina estandar de 1.0. - Coloque en el centro del aparato. Baje la tapa y, oprima la llave del interruptor de la lámpara. Ponga la escala a 1.0 lectura unitaria. La aguja debe estar en la marca de cero. Si la aguja no esta en el cero, ajústelo por medio de un tornillo localizado atrás de una pequeña tapa en el centro del ins--trumento.

5.- Cheque el resto de la escala entre 0 y 5.0 lecturas unitarias con las otras soluciones standards.

6.- Esta calibración debe ser llevada a cabo por lo menos una vez al mes.

Calibración para la gráfica de la curva estandard.- La curva estandard es preparada por la medición de la turbiedad en lecturas unitarias de soluciones de sulfato, conteniendo cantidades conocidas del ión sulfato.

Técnica.

Soluciones conteniendo 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mg. del ión sulfato por 200 ml. son preparadas pipeteando 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 ml. de una solución estandard que contenga 1000 p.p.m. de ión sulfato y aforando respectivamente a 200 ml. con agua deionizada. A estas soluciones se les efectúa el siguiente procedimiento:

La solución de sulfato es cuidadosamente pasada al cubo de vidrio de 55 mm. en el cual un agitador magnético ha sido colocado. El cubo es colocado en el magneto y se le agregan 10 ml. de reactivo condicionado y se empieza agitar la solución por medio del agitador magnético. La velocidad de agitación es ajustada a un máximo tal que no salpique la solución. Mientras se empieza a agitar, se agregan 5 ml. de cloruro de bario al 20% y se para la agitación. Entonces, la solución es agitada nuevamente por un tiempo exacto de 2 1/2 minutos a velocidad constante.

Inmediatamente de terminado este período de agitación, el cubo es colocado dentro de la celda de medición del turbidímetro. La turbiedad de la suspensión de sulfato de bario es leída exactamente

5 minutos después de que la solución de cloruro de bario fué añadida. Las lecturas obtenidas para soluciones estandar de sulfato estan dadas en la figura No. 9.

Se toman muestras de 5 ml. de cerveza decarbonatada y, son filtradas a través de papel filtro-Whatman No. 1. Cada muestra es pasada a un frasco volumétrico y aforada a 200 ml. con agua deionizada.

Cada muestra diluída es tratada exactamente de la misma manera como se describió anteriormente para la solución estandar de sulfato.

La concentración del ión sulfato en cada muestra es estimada por comparación de la lectura de turbiedad con la curva estandar y, utilizando la siguiente relación:

$$\text{p.p.m. SO}_4 = \frac{\text{mg. de sulfato (de la curva estandar)} \times 1000}{\text{ml. de muestra utilizada.}}$$

La concentración del ión sulfato en p.p.m. puede también ser calculada multiplicando la lectura del medidor por un factor derivado de la gráfica estandar.

Notas:

- 1.- El cubo de vidrio debe ser perfectamente lavado después de cada lectura y enjuagado con agua deionizada.
- 2.- El cubo debe ser colocado en la misma forma dentro de la celda de medición, tanto para los estandards como para las muestras.

3.- Si son necesarias, correcciones pueden ser hechas para la aparente turbiedad de las muestras, - corriendo blancos en los cuales solución de cloruro de bario no haya sido añadido.

4.- Si la lectura para la muestra es menor que 1.0-unidades EBC, el volúmen de la muestra debe ser incrementado.

Resultados.

Algunos resultados para la concentración del ión sulfato en cervezas fueron obtenidos por el método gravimétrico y el método turbidimétrico. Estos resultados están contenidos en la tabla XXVII. Como se puede observar el método turbidimétrico es más rápido y más exacto que el método gravimétrico tradicional (15).

TABLA XXVII

Contenido de sulfatos de varios tipos de cerveza (15).

| Muestra | Sulfatos p.p.m. | |
|-----------------|-----------------|----------------|
| | Gravimétrico | Turbidimétrico |
| Pilsner lager | 133 | 139 |
| Pilsner lager | 158 | 148 |
| White cap lager | 125 | 124 |
| Tusker lager | 221 | 230 |
| Tusker lager | 260 | 251 |
| Tusker lager | 198 | 195 |

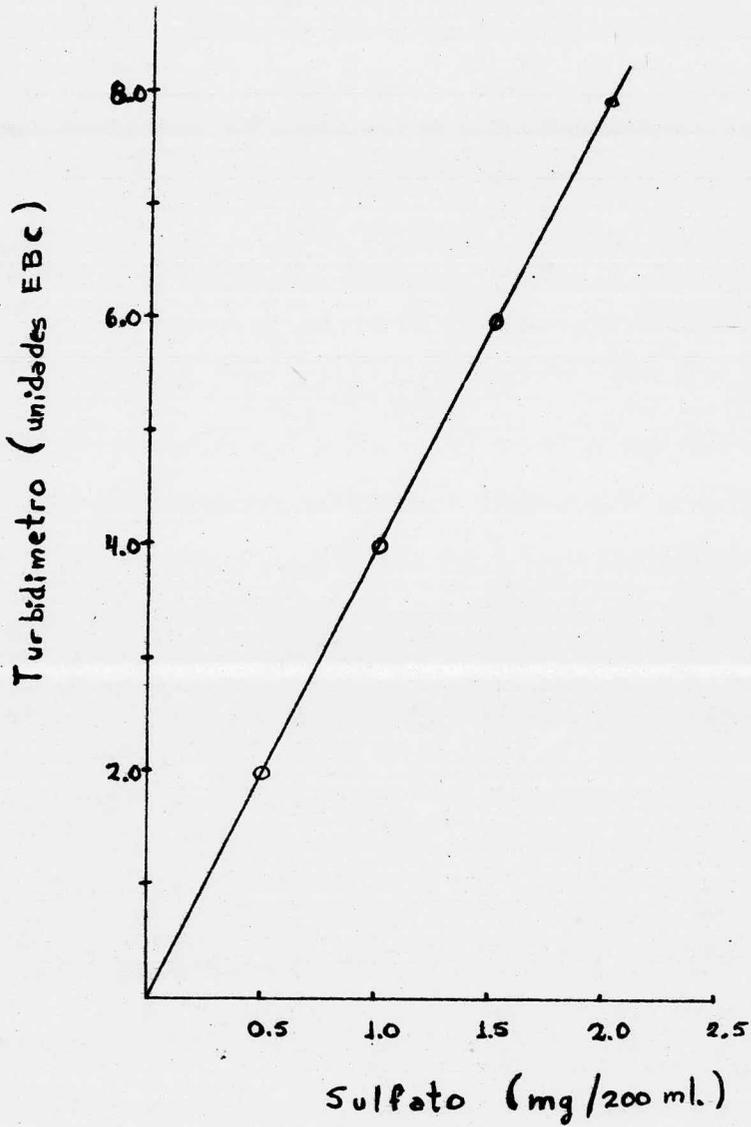


Figura No. 9.- Curva de calibración.

CAPITULO IV

I M P O R T A N C I A Y C O N C L U S I O N E S

1.- Importancia y efecto de cada elemento en la cerveza.

A continuación se resume el efecto que presenta en la cerveza (durante su fabricación, o al producto terminado), cada compuesto o elemento inorgánico.

Dióxido de azufre.

El SO_2 afecta ligeramente en el sabor de la cerveza. Además, como un requerimiento legal en la Gran Bretaña, las cervezas no deben contener más de 70 p.p.m. de SO_2 .

Dimetil-sulfuro.

Este compuesto volátil de azufre es el único detectado en cantidades significantes en la cerveza y, su producción durante la fermentación puede afectar marcadamente el sabor de la cerveza por las p.p.m. que contenga.

Aluminio.

En general el aluminio tiene poco efecto en las características de la cerveza. Se demuestra que tiene poca influencia en la marcha de fermentación del mosto, y a bajos niveles de aluminio, hay solamente menores influencias sobre la estabilidad coloidal, el sabor y la espuma del producto.

La cerveza tiende a disolver al aluminio en las superficies desnudas del metal (cuando se trata de cerveza en lata), se probó que el ataque del aluminio sólo da 2 p.p.m. en la cerveza; aún después -

de un contacto prolongado.

Calcio.

La presencia y efecto de este catión en las cervezas, aún no se ha estudiado detalladamente y, su efecto predomina en la espuma de la cerveza, tal como se observará más adelante.

Fierro y cobre.

Estos cationes son los más importantes en la cerveza, pues se les relaciona con la estabilidad de la misma. Ambos están presentes inicialmente en las cervezas como complejos. Los complejos de cobre no tienen actividad catalítica en relación con la oxidación del ácido ascórbico pero, con agitación, el cobre es removido del complejo y aumenta su actividad catalítica. Los complejos de fierro son más activos catalíticamente que los iones de fierro. A estos metales se les concede mayor importancia en relación a la espuma, puesto que su actividad catalítica propicia la oxidación de la cerveza.

Para el cobre hay un límite máximo de 7.0 p.p.m. en los E.U.A. y, adiciones pequeñas de sales de este metal, se utilizan para mejorar la calidad de la espuma en la cerveza.

Plomo y magnesio.

Como un requerimiento del Comité de Regulación de Alimentos en los E.U.A. el contenido máximo de plomo en las cervezas, debido a su toxicidad, puede ser de 0.5 p.p.m.

El magnesio presente en el mosto proviene de la malta. Los resultados encontrados sugieren que el magnesio contenido en el mosto satisface los requerimientos necesarios para el crecimiento de la levadura y, que rara vez llega a existir la deficiencia de este metal en la levadura.

Zinc.

Los resultados experimentales indican que el zinc es fuertemente retenido por los constituyentes insolubles de la maceración, por esta razón o debido al bajo contenido de zinc en el malta, el mosto contiene solamente bajos niveles de este metal. El zinc es un elemento esencial en la nutrición de la levadura y cuando ésta crece o fermenta rápidamente remueve el zinc presente o adicionado al mosto.

Añadir iones de zinc al mosto es un medio de estimular la fermentación y aumentar la estabilidad de la cerveza en almacenamiento. Existe el límite de 5.0 p.p.m. para este metal en las cervezas en los E.U.A.

Cloro.

El cloro representa uno de los factores predominantes en la calidad de la cerveza, afectando principalmente en la degustación de la misma. Altas concentraciones de cloro en la cerveza le imparten un mal sabor y olor.

2.- Efecto de los elementos metálicos en la espuma de la cerveza.

Cobre, fierro, calcio, magnesio, níquel, cobalto, cromo, plomo, aluminio y estaño, se han detectado en la cerveza comprobándose que tienden a concentrarse en la espuma.

La presencia de un metal (o sus derivados) en la espuma, puede ser considerada como:

- a) Un fenómeno primario en el cual el metal inicia la condensación de las sustancias similares de la espuma o,
- b) Un fenómeno secundario en el cual la presencia de los iones metálicos es el resultado de su adsorción en el material insoluble de la espuma después de que el material ha sido separado del líquido; esta adsorción puede, sin embargo, ayudar a estabilizar la espuma o,
- c) Un fenómeno que no tiene particular relación con la formación de la espuma, los cationes han estado presentes en el material similar antes que la condensación ocurra. Los cationes pueden ser asociados con grupos ionizados de proteínas o polifenoles (ejem., con COOH , SO_3H , PO_3H_2 , $-\text{SH}$ o como quelatos) (16).

3.- Comparación de los métodos de análisis empleados.

Podemos notar que para la determinación de cationes se recomienda utilizar la Espectrofotometría de Absorción Atómica, puesto que los métodos -

tradicionales (como los gravimétricos), consumen - generalmente mucho tiempo y presentan dificultad - para aplicarse en procedimientos rutinarios de control de calidad.

La Espectrofotometría de Absorción Atómica - nos provee de un método rápido y sencillo para examinar un gran número de muestras. A manera general, el elemento es pasado a través de una flama - para producir un vapor atómico del elemento en particular que se encuentra excitado. Entonces es capaz de absorber radiación, generalmente proveniente de una lámpara de cátodo hueco, resultando en la - excitación del átomo. La cantidad de radiación absorbida es proporcional a la concentración del átomo en la flama.

En la tabla XXVIII se resumen las condiciones de operación que deben prevalecer para la determinación del cobre, fierro, zinc, plomo y el magnesio.

Para el zinc y el cloro se anotaron diferentes métodos de análisis para poder hacer una comparación.

Así, el zinc se determina por colorimetría y por espectrofotometría y, se recomienda utilizar - éste último, puesto que el método colorimétrico depende de un color desarrollado en el punto final, y esto puede dar lugar a disparidad en los resultados.

El cloro se determina potenciométricamente y gravimétricamente; por rapidez, sencillez y exactitud, se recomienda utilizar el método potenciométrico.

TABLA XXVIII

Condiciones de operación para la determinación de metales.

| Metal | Cobre | Fierro | Zinc | Plomo | magnesio |
|----------------------|--------------|---------------------|-----------------|---------------------|-----------------|
| Tratamiento. | Ninguno | D CPA y extracción. | Ninguno | D CPA y extracción. | Ninguno. |
| Combustible. | aire propano | aire acetileno. | aire acetileno. | aire acetileno. | aire acetileno. |
| Longitud de onda nm. | 324.8 | 248.3 | 213.9 | 283.3 | 285.2 |

Como una última anotación se anexa la tabla XXIX en donde, a manera general, se apunta el contenido aproximado en p.p.m. de cada compuesto y elemento estudiado. Esta tabla está basada en los datos obtenidos en las determinaciones apuntadas en este trabajo.

TABLA XXIX

Concentración aproximada en partes por millón de -
 los diferentes compuestos y elementos inorgánicos -
 en la cerveza.

| Elemento | Rango en p.p.m. |
|-------------------|-----------------|
| Dióxido de azufre | 10 - 60 |
| Dimetil-sulfuro | 0.002 - 0.006 |
| Aluminio | 0.10 - 0.40 |
| Calcio | 35 - 95 |
| Fierro | 0.05 - 0.40 |
| Cobre | 0.07 - 0.80 |
| Plomo | 0.10 - 0.35 |
| Magnesio | 40 - 240 |
| Zinc | 0.30 - 2.00 |
| Cloro | 150 - 650 |
| Sulfato | 100 - 300 |

CAPITULO V

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

Bibliografía.

- 1.- Jergensen, A., Hansen, A. Lund. A., "Microorganisms and Fermentation"., 6a. Ed., Griffin, London, 1939.
- 2.- American Society of Brewing Chemists, "Methods of Analysis", Sawyer, Wis., 1944.
- 3.- Gray, P.P., Stone, I.J. Inst. Brewing, 45, -
253-1939.
- 4.- Hind, H.L., "Brewing Science and Practice", -
Wiley, N.Y., Vol. I, 1942.
- 5.- Orozco D. Fernando., "Análisis Químico Cuantitativo", 4a. Ed., Porrúa Hnos., México, 140-141,-
1962.
- 6.- Standing Committee of Analysis., J. Inst. Brew.,
75, 429-430, 1969.
- 7.- G.A.F. Harrison and C.M. Coyne., J. Gas Chromatog., 453-455, 1969.
- 8.- I. Stone, C.S. Gantz and L.T. Saletan., Proc. -
Am. Soc. Brewing Chemists, Cleveland, 1963; -
Wallerstein Lab. Comm. 26, No. 91, 169-179. -
1963.
- 9.- S.W. Frey, The Brewers Digest, 78, March 1968.
- 10.- The Institute of Brewing, Recommended Methods -
of Analysis, Journal of the Institute of Bre- -
wing, 79, 289-293, 1973.

- 11.- J.P. Weiner, F.R.I.C., and L. Taylor, B. Sc., -
F.R.I.C., J. Inst. Brew., 75, 195-199. 1969.
- 12.- I. Stone., Proc. Am. Soc. Brewing Chemists, -
Milwaukee, 1962; Wallerstein Lab. Comm. 25, -
88, 329-335, 1962.
- 13.- The Institute of Brewing, Recommended Methods-
of Analysis, Journal of the Institute of Bre- -
wing, 80, 486-488, 1974.
- 14.- M.A. Preen and J.D. Woodward., J. Inst. Brew.,
81, 307-308, 1975.
- 15.- S.K. Shah., J. Inst. Brew., 81, 293-295, 1975.
- 16.- L. Chapon., Journal of the Institute of Bre- -
wing, 71, 299-304, 1965.



Impresiones Lupita

MEDICINA No. 25

FRACC. COPILCO UNIVERSIDAD
CIUDAD UNIVERSITARIA, D. F.

TEL. 548-49-79