

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



PROPUESTA DE MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS  
ORGÁNICOS VOLÁTILES EN CERVEZA

TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD DIPLOMADO DE ESPECIALIZACIÓN

PRESENTADO POR  
CARLOS FRANCISCO RODRÍGUEZ MENDOZA  
MÓNICA BEATRIZ ROMERO SALINAS

PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIADO(A) EN QUÍMICA Y FARMACIA

ABRIL 2025

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO JUAN ROSA QUINTANILLA

SECRETARIO GENERAL

LICENCIADO PEDRO ROSALÍO ESCOBAR CASTANEDA

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANA

MAESTRA NANCY ZULEYMA GONZÁLEZ SOSA

SECRETARIA

LICENCIADA EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCIÓN GENERAL DE PROCESOS DE GRADO

DIRECTORA GENERAL (AD-HONOREM)

MAESTRA KATIA LISSETTE MARTÍNEZ DE PALACIOS

TRIBUNAL EVALUADOR

LICENCIADA SANDRA GUADALUPE PERAZA DE RAMÍREZ

LICENCIADA AIDA ESTELA ROSALES RIVAS

TUTORA

LICENCIADA MARLENE EMPERATRIZ ACOSTA MARTÍNEZ

## DEDICATORIA

Quiero agradecer a Dios, por darme el don de la fortaleza y el entendimiento para poder finalizar esta etapa de mi vida. Por estar siempre junto a mí en los momentos cuando más lo necesitaba. Estoy segura de que Él saca de nuestra nada lo mejor y su amor e infinita misericordia nos acompaña siempre.

A la Virgen de Guadalupe, por interceder siempre y escuchar mis plegarias a lo largo de estos años, por guardarme bajo su manto celestial.

A mi familia, especialmente a mi madre, por nunca dejar de creer en mí, por darme ánimos y siempre mostrar su apoyo constante, estoy muy agradecida con ella por no dejarme caer ante las presiones durante mis años de estudio y por todo el sacrificio que hizo para poder darme siempre lo mejor.

A mi amado hijo, por darme fuerzas para este último esfuerzo y por brindarme un nuevo comienzo en esta vida.

A mi esposo, por darme ánimos todos los días, por no dejarme caer y siempre tratar de hacer mis cargas más ligeras.

Finalmente, a todas aquellas personas que conocí a lo largo de esta carrera que me brindaron su apoyo y palabras de valor. Muchas gracias.

Mónica Romero

## DEDICATORIA

Primero, agradezco profundamente a Dios, quien ha sido mi guía y mi fortaleza en todo momento. Gracias a Él, he podido cumplir este sueño y cerrar un ciclo importante en mi vida académica, logrando mi meta de graduarme como profesional químico farmacéutico.

A mis padres y hermanos, por su amor incondicional, su esfuerzo y por siempre estar a mi lado. Gracias por su ejemplo, por apoyarme en cada paso de este camino y por enseñarme lo que realmente importa en la vida.

A mi esposa Ana María, quien ha sido mi mayor fuente de inspiración y mi apoyo constante. Gracias por estar a mi lado en este recorrido que llamamos vida, por darme fuerzas todos los días y por ser mi motor, mi compañera y mi amiga.

A mis hijos, Matías y Juan Pablo, por alegrarme la vida con su ternura, su energía y sus sonrisas. Este logro es tan mío como de ustedes, porque sin su amor y apoyo, nada de esto sería posible.

A mis suegros, por siempre confiar en mí y brindarme su apoyo, cariño y sabiduría. Estoy muy agradecido por todo lo que me han dado y por el lugar que me han permitido ocupar en su familia.

Finalmente, a todos mis amigos, que de una u otra manera han sido parte de este proceso. Gracias por su apoyo, por estar siempre ahí para celebrar mis logros y darme palabras de aliento en los momentos difíciles.

Este logro es el resultado de todo el amor y apoyo que he recibido de ustedes. ¡Gracias de todo corazón!

Carlos Rodríguez

## ÍNDICE GENERAL

Pág. N°

### ABREVIATURAS

### GLOSARIO

### RESUMEN

### CAPÍTULO I

#### 1.0 INTRODUCCIÓN 12

### CAPÍTULO II

#### 2.0 OBJETIVOS 14

### CAPÍTULO III

#### 3.0. MARCO TEÓRICO 16

##### 3.1 Generalidades de la cerveza 173.2 Compuestos Volátiles (COV) 17

##### 3.2.1 Clasificación de los Compuestos Orgánicos Volátiles 18

##### 3.2.2 Funciones de los Compuestos Orgánicos Volátiles en la industria alimentaria 19

##### 3.2.3 Efectos de los Compuestos Orgánicos Volátiles 20

##### 3.3 Métodos instrumentales 21

##### 3.3.1 Cromatografía de Gases en el Análisis de Compuestos Orgánicos Volátiles 21

##### 3.3.2 Importancia del análisis de Compuestos Orgánicos Volátiles en cerveza 22

##### 3.3.3 Aplicaciones de la marcha analítica en la Industria Cervecera 22

### CAPÍTULO IV

#### 4.0 PRODUCTO FINAL 25

### CAPÍTULO V

#### 5.0 CONCLUSIONES 52

### CAPÍTULO VI

#### 6.0 RECOMENDACIONES 54

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla N°</b>		<b>Pág. N°</b>
1	Principales proveedores de cerveza en América	17
2	Clasificación de los compuestos volátiles	19

## ABREVIATURAS

- **aw:** Agua
- **API:** Ingredientes Farmacéutico Activo
- **CONACYT:** Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
- **COV:** Compuestos Orgánicos Volátiles
- **ECD:** Detector de captura de electrones
- **FID:** Detector de ionización de llama
- **GC:** Cromatografía de gases
- **LLE:** Extracción líquido-líquido
- **MS:** Espectrometría de masas
- **OMS:** Organización Mundial de la Salud
- **SPE:** Extracción en fase sólida

## GLOSARIO

- Coeficiente de reparto: Relación entre las concentraciones de un compuesto en dos fases inmiscibles en equilibrio.
- Compuestos volátiles: Sustancias químicas que se evaporan fácilmente a temperatura ambiente y contribuyen al aroma y sabor de la cerveza.
- Cromatografía de gases: Técnica analítica utilizada para separar y analizar compuestos volátiles en una muestra.
- Descarbonatación: Proceso de eliminación del dióxido de carbono disuelto en la cerveza.
- Detector de captura de electrones (ECD): Detector utilizado en cromatografía de gases, especialmente sensible a compuestos halogenados.
- Detector de ionización de llama (FID): Tipo de detector utilizado en cromatografía de gases para analizar compuestos orgánicos.
- Espacio de cabeza: Área gaseosa sobre una muestra líquida en un contenedor cerrado.
- Fase estacionaria: Material en una columna cromatográfica que interactúa con los compuestos de la muestra para separarlos.
- Fase móvil: Gas que transporta los compuestos a través de la columna cromatográfica.
- Límite de cuantificación: Concentración más baja de un analito que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables.
- Límite de detección: Concentración más baja de un analito que puede ser detectada confiablemente por un método analítico.
- Maestro Cervecerero: Es quien supervisa todas las etapas de la producción de cerveza en cervecerías y microcervecerías y para que todo salga a la perfección, desde la elección de la malta hasta la etiqueta que se coloca en la botella, cumple una serie de funciones.
- Microextracción en fase sólida (SPME): Técnica de preparación de muestras que utiliza una fibra recubierta para extraer compuestos volátiles del espacio de cabeza de una muestra.
- Mosto: Líquido azucarado obtenido de la malta y otros cereales que se utiliza para hacer cerveza.
- Trub: Sedimento formado durante el proceso de elaboración de la cerveza.
- Validación del método: Proceso de verificación de la precisión, exactitud y confiabilidad de un método analítico.

## RESUMEN

Este proyecto aborda la necesidad de desarrollar un método analítico eficiente para la determinación de compuestos volátiles en cerveza. El problema principal radica en la complejidad de la matriz cervecera y la importancia de estos compuestos para la calidad sensorial del producto.

El objetivo general de la metodología fue establecer una marcha analítica basada en cromatografía de gases para identificar y cuantificar los compuestos volátiles presentes en la cerveza. Se partió de un método estándar y se buscó optimizar las condiciones de separación, temperatura, flujos, y seleccionar fases estacionarias adecuadas y validar el método para garantizar resultados precisos y confiables.

Como resultado principal, se logró desarrollar un procedimiento analítico que utiliza la técnica de micro extracción fase sólida en el espacio de cabeza (HS-SPME) con inyección con divisor de flujo combinada con cromatografía de gases y uso de dos detectores (FID y ECD). Este método permite la extracción eficiente de los compuestos volátiles y su análisis detallado, proporcionando información valiosa sobre el perfil aromático de la cerveza.

En conclusión, la marcha analítica desarrollada ofrece una herramienta adecuada para el control de calidad y la optimización de procesos en la industria cervecera, permitiendo una caracterización precisa de los compuestos volátiles, la cual contribuye a la mejora de la calidad sensorial y la consistencia del producto.

Por otra parte, se recomienda implementar este método en laboratorios de control de calidad de cervecerías y realizar estudios adicionales para correlacionar los perfiles de compuestos volátiles con las características sensoriales percibidas por los consumidores. Además, se sugiere explorar la aplicación de esta metodología para la elaboración de cerveza y la evaluación de materias primas.

## **CAPÍTULO I**

## 1.0 INTRODUCCIÓN

La cerveza, una de las bebidas alcohólicas más antiguas y populares del mundo, cuyo impacto en la sociedad abarca aspectos históricos, económicos, culturales y sociales.

Su impacto se extiende desde la generación de empleo y el impulso económico hasta su influencia en el turismo y la cultura. Sin embargo, este impacto no está exento de desafíos, particularmente en el ámbito de la salud pública, lo que subraya la importancia de un enfoque equilibrado en su producción, consumo y regulación. En el contexto de la industria cervecera, la calidad del producto final es de suma importancia, y uno de los aspectos clave que determina esta calidad es su perfil aromático. Los compuestos orgánicos volátiles presentes en la cerveza juegan un papel crucial en la definición de su aroma y, por ende, en la percepción general de su sabor.

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo principal desarrollar una propuesta metodológica para la determinación de compuestos volátiles en cerveza mediante cromatografía de gases. Esta propuesta busca ofrecer una herramienta analítica confiable para evaluar la calidad de cervezas comerciales, al tiempo que pretende generar conciencia sobre la naturaleza de los compuestos volátiles presentes en una de las bebidas más consumidas en el siglo XXI.

En este sentido, la cromatografía de gases se utiliza para determinar los compuestos volátiles, demostrando su eficacia y fiabilidad como herramienta analítica. Además, gracias a este método, es posible controlar la calidad de los alimentos y garantizar que el aroma no ha sido afectado por dichos compuestos haciendo que esta tenga un valor mayor de calidad garantizada.

## **CAPÍTULO II**

## 2.0 OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GENERAL

- 2.1.1. Elaborar una marcha analítica para la determinación de compuestos volátiles presentes en la cerveza.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.2.1. Investigar los efectos en la salud humana que conlleva la ingesta de concentraciones elevadas de compuestos orgánicos volátiles presentes en la cerveza
- 2.2.2. Investigar los efectos de los compuestos orgánicos volátiles en la calidad de la cerveza.
- 2.2.3. Proponer un procedimiento analítico basado en cromatografía de gases para la determinación y cuantificación de compuestos orgánicos volátiles presentes en la cerveza.

## **CAPÍTULO III**

### 3.0. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 Generalidades de las cervezas

La cerveza es la bebida alcohólica más consumida en el mundo. En su acepción básica, la cerveza es una bebida alcohólica producida por la fermentación de azúcares de levadura derivados de la cebada malteada en alcohol y aromatizada con lúpulo.

Se presenta a continuación un listado de los principales ingredientes que componen las cervezas <sup>1</sup>

- Agua: El 95% de la cerveza es agua y debe estar libre de cualquier tipo de contaminación que pudiera dañar el sabor o la apariencia de la cerveza de las personas que la van a beber.
- Malta: La malta utilizada para la elaboración de la cerveza proviene fundamentalmente de la cebada, aunque es posible “maltear” otros cereales como el trigo, la avena, el maíz y el arroz. La malta aporta los azúcares que la levadura convierte en alcohol. También aporta color, sabor y aroma al producto final.
- Lúpulos: El lúpulo se añade a la cerveza para darle un toque de amargor, estabilidad y aroma. El lúpulo es una planta que desarrolla resinas amargas llamadas alfa-ácidos y aceites que se disuelven cuando se añade el lúpulo en varias etapas del proceso de elaboración de la cerveza.
- Levadura: Se debe añadir levadura al mosto para que los azúcares fermentan y se conviertan en alcohol y dióxido de carbono. La levadura es un microorganismo unicelular. El número de células añadidas es enorme, entre 7 y 20 millones de células de levadura por mililitro de mosto. Está disponible en forma seca en paquetes o como levadura líquida.

El mercado salvadoreño de bebidas alcohólicas consume principalmente cerveza. Este fenómeno comenzó a mostrarse en la década de los 80, cuando una serie de factores (el conflicto armado, impuestos, etc.) cambiaron los hábitos de consumo de los salvadoreños. Existe en el mercado una amplia oferta de cervezas, tanto nacionales como importadas y, durante los últimos 5 años, se observa una marcada tendencia hacia el consumo de las cervezas artesanales. <sup>1</sup>

**Tabla N° 1 Principales proveedores de cerveza en América**

	<b>SEPTIEMBRE US\$ 2014</b>	<b>SEPTIEMBRE US\$ 2015</b>	<b>CRECIMIENTO 2014/2015</b>
ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	846,556.38	1,084,768.88	28%
GUATEMALA	2,484,043.34	2,896,955.99	17%
MÉXICO	2,946,122.42	3,503,323.75	19%

Fuente: Secretaría de integración Centroamericana- Datos importación cervezas industriales.

### 3.2 Compuestos Volátiles (COV)<sup>2</sup>

Los compuestos orgánicos volátiles son todos aquellos hidrocarburos que se presentan en estado gaseoso a la temperatura ambiente normal o que son muy volátiles a dicha temperatura. Se puede considerar como COV, aquel compuesto orgánico que a 20 °C tiene una presión de vapor de 0.01 kPa o más, o una volatilidad equivalente en las condiciones particulares de uso.

Los COV suelen presentar una cadena con un número de carbonos inferior a doce y contienen otros elementos como oxígeno, flúor, cloro, bromo, azufre o nitrógeno. Su número supera el millar, pero los más abundantes en el aire son metano, tolueno, n-butano, i-pentano, etano, benceno, n-pentano, propano y etileno. Tienen un origen tanto natural (COV biogénicos) como antropogénico (debido a la evaporación de disolventes orgánicos, a la quema de combustibles, al transporte, etc.).

La presencia de COV está fundamentalmente influenciada por actividades en las que se empleen disolventes orgánicos, algunas de las actividades donde es posible que se den emisiones son:

- Pinturas y barnices (e industrias donde se usen éstos)
- Industria siderúrgica
- Industria de la madera
- Industria cosmética
- Industria farmacéutica

Los COV afectan tanto de manera medioambiental como directamente sobre la salud del ser humano. En primer lugar, algunos COV son destructores del ozono, como el tetracloruro de carbono, por tanto son compuestos que afectan al fenómeno de disminución de la capa de ozono. Además, los COV en conjunto con los óxidos de nitrógeno y la luz solar, son precursores del ozono a nivel de suelo (ozono troposférico) que es perjudicial para la salud provocando daños respiratorios. Por otra parte, se puede producir el llamado smog fotoquímico que es una niebla de color marrón-rojizo.

Con respecto a daños directos sobre la salud, estos se producen principalmente por vía respiratoria aunque también pueden entrar a través de la piel. Además estos compuestos son liposolubles por lo que se bioacumulan en las grasas de los organismos vivos. Como efectos que pueden producir están problemas respiratorios, irritación de ojos y garganta, mareos, entre otros. También se pueden dar efectos psiquiátricos (irritabilidad, dificultad de concentración, etc.). Además, a largo plazo pueden causar daños renales, al hígado o al sistema nervioso central y, algunos COV tienen efecto cancerígeno, como por ejemplo el benceno.

### **3.2.1 Clasificación de los Compuestos Orgánicos Volátiles**

Con respecto a su peligrosidad, los COV pueden clasificarse en 3 grupos:

- Compuestos extremadamente peligrosos para la salud: Benceno, cloruro de vinilo y 1,2 dicloroetano.
- Compuestos clase A: los que pueden causar daños significativos al medio ambiente, como por ejemplo: acetaldehído, anilina, tricloroetileno, etc.
- Compuestos clase B: tienen menor impacto en el medio ambiente. Pertenecen a este grupo, entre otros, acetona y etanol.

Los COV se producen por la quema de combustibles, como gasolina, madera, carbón o gas natural, así como el uso de disolventes, pinturas, pegamentos y otros productos empleados y almacenados en casa y en el lugar de trabajo. Los COV más frecuentes son el metano, etano, propano, acetileno, alcanos, bencenos, tolueno y butano. El principal problema medioambiental de los COV es que al mezclarse con otros contaminantes atmosféricos (NOX) y reaccionar con la luz solar, pueden formar ozono al nivel del suelo, el cual contribuye al smog fotoquímico y son también precursores del ozono. Por otra parte, todo compuesto orgánico volátil que se utilice sólo

o en combinación con otros agentes, sin sufrir ningún cambio químico, para disolver materias primas, productos o materiales residuales, o se utilice como agente de limpieza para disolver la suciedad, o como disolvente, o como medio de dispersión, o como modificador de la viscosidad, o como agente tensoactivo, plastificante o protector. Siendo así que, los disolventes orgánicos se pueden clasificar por su estructura química en los siguientes grupos principales:

**Tabla N° 2** Clasificación de los compuestos volátiles.

TIPOS DE DISOLVENTES		EJEMPLOS DE USOS
OXIGENADOS	ALCOHOLES	ISOPROPANOL: Componente de tintas
	CETONAS	ACETONA: Limpieza de superficies
	ÉSTERES	ACETATO DE ETILO: Disolvente de pinturas
	ÉTERES DE GLICOL	BUTILGLICOL: Disolvente de pinturas
HIDROCARBUROS	ALIFÁTICOS	HEXANO: Disolvente en la extracción de los aceites vegetales de cosechas
	AROMÁTICOS	TOLUENO: Limpieza de superficies
HALÓGENOS (CLORADOS)		PERCLOROETILENO: Limpieza en seco

Fuente: Elaboración propia con base en<sup>3</sup>

### 3.2.2 Funciones de los compuestos volátiles en la industria alimentaria<sup>4</sup>

En la industria alimentaria, los compuestos volátiles son responsables de los aromas y sabores que determinan la aceptación y preferencia de los consumidores por ciertos productos; algunos ejemplos habituales, son los terpenos en los cítricos y los aldehídos en frutas frescas. El sabor es una cualidad importante de cualquier cerveza y la composición química de la cerveza es, obviamente, la responsable de ese sabor. El aroma es una parte muy importante del sabor y existe un gran interés en el conocimiento de los compuestos orgánicos volátiles en la cerveza, que afectan su aroma, para poner en valor una mayor calidad diferenciada.

Los compuestos volátiles pueden causar diversos problemas en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética, principalmente relacionados con la estabilidad, la calidad y la seguridad de los productos. Adicionalmente, el contenido de humedad y la actividad de agua (aw)

de los productos son dos parámetros cruciales para controlar estos problemas; pero a su vez, los compuestos volátiles generan diversos problemas en las técnicas analíticas utilizadas para determinar tanto el contenido de humedad y como la aw en estos productos.

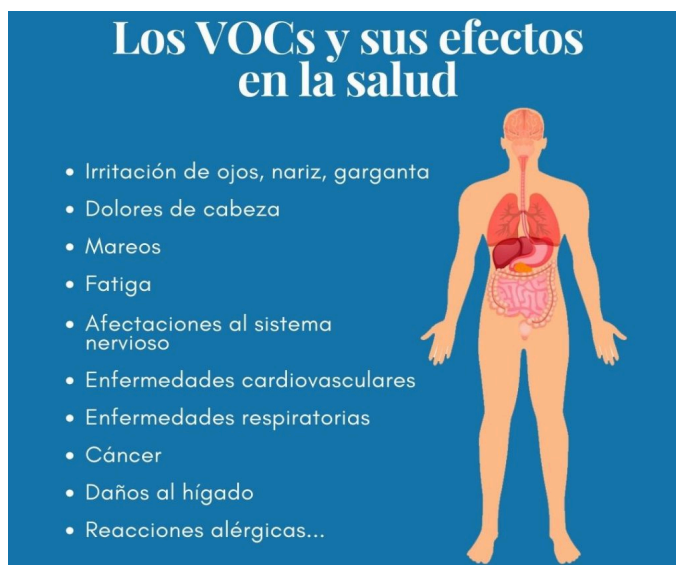
Uno de los problemas más significativos es la volatilización no deseada ya que los compuestos volátiles responsables del aroma y el sabor pueden evaporarse durante el procesamiento, almacenamiento y manipulación de los alimentos. Esto lleva a una pérdida significativa de calidad sensorial, afectando la aceptación del producto por los consumidores.

Por otra parte, puede presentarse también una interacción con la matriz alimentaria debido a que la volatilización puede ser influenciada por la matriz del alimento, la presencia de otros ingredientes y las condiciones de almacenamiento (temperatura, humedad, luz).

### **3.2.3 Efectos de los Compuestos Orgánicos Volátiles<sup>5</sup>**

Los COV afectan tanto de manera medioambiental como directamente sobre la salud del ser humano. Con respecto a daños directos sobre la salud, estos se producen principalmente por vía respiratoria aunque también pueden entrar a través de la piel. Asimismo, estos compuestos son liposolubles por lo que se bioacumulan en las grasas de los organismos vivos.

Entre otros efectos que pueden producir están los problemas respiratorios, la irritación de ojos y garganta, mareos, etc. También se pueden dar efectos psiquiátricos (irritabilidad, dificultad de concentración, etc.). Además, a largo plazo pueden causar daños renales, al hígado o al sistema nervioso central o algunos COV tienen efecto cancerígeno como por ejemplo el benceno.



**Figura 1.** Efectos de los compuestos orgánicos volátiles en la salud.

Fuente: Secretaría de integración Centroamericana- Datos importación cervezas industriales.

En el caso de los efectos medioambiental, algunos COV son destructores del ozono, como el tetracloruro de carbono; por tanto, son compuestos que afectan al fenómeno de disminución de la capa de ozono. Además, los COV en conjunto con los óxidos de nitrógeno y la luz solar, son precursores del ozono a nivel de suelo (ozono troposférico) que es perjudicial para la salud, provocando daños respiratorios. Por otra parte, también se puede producir el llamado smog fotoquímico que es una niebla de color marrón-rojizo.

### 3.3 Métodos instrumentales<sup>6</sup>

#### 3.3.1 Cromatografía de Gases en el Análisis de Compuestos Volátiles

La cromatografía de gases en el análisis de compuestos volátiles es un punto de partida imprescindible para comprender las técnicas analíticas utilizadas en la determinación de compuestos volátiles en la cerveza. Además, la cromatografía de gases es un método ampliamente utilizado para separar y analizar compuestos volátiles, lo que la hace especialmente adecuada para el análisis de cerveza que contiene una amplia gama de compuestos volátiles que contribuyen a su aroma y sabor. (Wampler, 2020)

La cromatografía de gases funciona según el principio de separar mezclas de compuestos en componentes individuales según su afinidad relativa por una fase estacionaria y una fase

móvil. En el contexto del análisis de la cerveza, la cromatografía de gases permite la identificación y cuantificación de compuestos volátiles como alcoholes, ésteres y compuestos derivados del lúpulo en una matriz compleja. Comprender los principios y aplicaciones de la cromatografía de gases es crucial para el desarrollo de un método analítico para la determinación de compuestos volátiles en la cerveza, ya que sienta las bases para las secciones posteriores de este trabajo. (Blumberg, 2021)

Los compuestos volátiles en la cerveza son aquellos que tienen la capacidad de pasar del estado líquido al estado gaseoso a temperatura ambiente, lo que les confiere características específicas de aroma y sabor. Estos compuestos se generan durante el proceso de elaboración de la cerveza, principalmente a partir de la fermentación de los ingredientes, como la malta y el lúpulo. La clasificación de los compuestos volátiles en la cerveza se puede realizar en función de su origen, dividiéndolos en compuestos procedentes de la malta, el lúpulo, la levadura o de reacciones de Maillard, entre otros.

Asimismo, también se pueden clasificar en función de su estructura química, lo que permite una mejor comprensión de su comportamiento durante el proceso de cromatografía de gases y su posterior identificación y cuantificación.

### **3.3.2. Importancia del análisis de Compuestos Orgánicos Volátiles en cerveza<sup>6</sup>**

El análisis de compuestos volátiles en la cerveza es crucial para comprender su aroma, sabor y calidad general. Estos compuestos contribuyen a la experiencia sensorial de la cerveza y son responsables de su aroma y sabor característicos. Al analizar los compuestos volátiles presentes en la cerveza, podemos obtener información valiosa sobre su composición, identificar posibles defectos y mejorar el proceso de elaboración.

Además, los compuestos volátiles de la cerveza son indicadores de las materias primas utilizadas, el proceso de fermentación y cualquier posible contaminación. Comprender y controlar los niveles de estos compuestos es esencial para garantizar la consistencia y la calidad en la producción de cerveza. Además, el análisis de compuestos volátiles en la cerveza es importante para cumplir las expectativas de los consumidores, ya que ciertos compuestos pueden tener límites legales o afectar la experiencia general del consumidor.

Al desarrollar un método analítico para la determinación de compuestos volátiles en la cerveza, podemos proporcionar a los maestros cerveceros una poderosa herramienta para el control de calidad, la optimización de procesos y el desarrollo de productos. Adicionalmente, este método contribuye al avance de la producción de cerveza y ayuda a satisfacer la creciente demanda de opciones de cerveza diversas y de alta calidad. Es así que, no se puede subestimar la importancia de analizar los compuestos volátiles en la cerveza, ya que afecta directamente la experiencia sensorial, la calidad y el éxito en el mercado de esta popular bebida.

### **3.3.3 Aplicaciones de la marcha analítica en la Industria Cervecera<sup>7</sup>**

La marcha analítica desarrollada para la determinación de compuestos orgánicos volátiles en cerveza mediante cromatografía de gases tiene una amplia gama de aplicaciones dentro de la industria cervecera. Una de las aplicaciones más importantes es el control de calidad del proceso de producción de cerveza.

Este método analítico permite la identificación y cuantificación de compuestos volátiles como alcoholes, ésteres y otros compuestos aromatizantes, que son cruciales para determinar las características sensoriales de la cerveza. Al monitorear los niveles de estos compuestos, los maestros cerveceros pueden garantizar la consistencia y calidad de sus productos y, en última instancia, mejorar la satisfacción del consumidor.

Asimismo, la marcha analítica también puede ser utilizada para el desarrollo de nuevas recetas de cerveza y la optimización de los procesos de elaboración de esta. Por tanto, comprender los perfiles de compuestos volátiles de diferentes muestras de cerveza permite a los maestros cerveceros, experimentar con combinaciones de sabores, ajustar los parámetros de procesamiento y, en última instancia, crear productos únicos y atractivos. Además, este método se puede emplear para investigar el impacto de las materias primas, las condiciones de fermentación y los procesos de envejecimiento en el producto final, proporcionando información valiosa para la optimización de procesos y el desarrollo de productos.

Es así que, en general, la marcha analítica para la determinación de compuestos volátiles en la cerveza juega un papel crucial para garantizar la calidad, la consistencia y la innovación dentro de la industria cervecera.

## **CAPÍTULO IV**

## 4.0 PRODUCTO FINAL

El producto final está enfocado en la elaboración de una marca analítica para la determinación de Compuestos Orgánicos Volátiles (COV) en cerveza, conteniendo las siguientes partes:

- A. Título
- B. Introducción
- C. Objetivos
- D. Tipo de Método de Análisis y Fundamento
- E. Información general de la muestra
- F. Reactivos
- G. Materiales y Equipos
- H. Procedimiento de Práctica de Determinación
- I. Cálculos involucrados
- J. Normativas nacionales e internacionales a utilizar para la interpretación de resultados

### 1. TÍTULO

Determinación de Compuestos Orgánicos Volátiles en cerveza.

### 2. INTRODUCCIÓN

El Salvador es el país donde se consume más cerveza que el promedio del continente americano, donde la proporción de consumidores de cerveza es de 56.3%, según la Organización Mundial de la Salud (OMS).

De un total de 2.1 millones de personas censadas por la Superintendencia de Competencia de El Salvador en 2014, el 69.2% consume cerveza y el 30.8% prefiere otras bebidas alcohólicas.

El 51.6% de la población mayor de 18 años declara ser consumidora de alcohol; este porcentaje, representa los 2.1 millones mencionados, de los cuales, el 34.9% son consumidores actuales, es decir, más de medio millón de personas que compran al menos una bebida alcohólica mensual.

La cerveza es una mezcla compleja, no sólo por los compuestos que aportan las materias primas utilizadas para su elaboración (agua, malta, lúpulo y levadura), sino porque durante las diferentes etapas del proceso se producen entre ellos numerosas reacciones e interacciones que definen las características organolépticas (o el «flavor») de la cerveza.

Durante la fermentación, una serie de productos de metabolismo es pasada, por la levadura, a la cerveza. Algunos de estos productos reaccionan entre sí o se modifican en cantidad y composición. Estos productos secundarios de fermentación tienen una influencia decisiva sobre la calidad de la cerveza en formación. Por esto, el metabolismo de la levadura y la formación y degradación de los productos secundarios de fermentación deben de ser considerados de forma conjunta. Si aún los productos secundarios de fermentación son tratados separadamente, ello debe ser visto especialmente bajo el aspecto de que el maestro cervecero debe tratar de mantener su contenido dentro de un límite óptimo, a través de medidas tecnológicas apropiadas.

Para ello, se consideran de forma separada la formación y la degradación de los siguientes subproductos de fermentación: diacetilo, alcoholes superiores, ésteres, aldehídos y compuestos de azufre.

Los compuestos volátiles en la cerveza son responsables de los aromas y sabores de la cerveza, y se encuentran en concentraciones muy variables. Por tanto, la medición de la composición de compuestos volátiles en la cerveza es importante para el maestro cervecero pues, es esencial su medición para garantizar la calidad y consistencia del producto final. Además, la medición de los compuestos volátiles puede ayudar al maestro cervecero a identificar problemas en el proceso de elaboración de la cerveza, como la contaminación o la oxidación.

La medición de estos compuestos volátiles se realiza por medio de la técnica de cromatografía de gases. Esta técnica permite identificar y cuantificar los diferentes compuestos volátiles presentes en la cerveza.

Sin embargo, es importante tener en cuenta que es una técnica costosa y requiere de una preparación adecuada de la muestra para obtener resultados precisos y confiables. Es por ello que, con la presente investigación, se pretende desarrollar una técnica que permita medir todos los compuestos de manera eficiente y económica, lo cual reducirá los costos,

garantizará resultados más precisos y dará información útil al maestro cervecero para mejorar la calidad de la cerveza.

### 3. OBJETIVOS

- Describir el fundamento y los componentes básicos de un cromatógrafo de gases.
- Establecer las ventajas y desventajas de la cromatografía de gases.
- Investigar qué causa la ausencia de compuestos orgánicos volátiles en la cerveza y verificar el etiquetado de la matriz de estudio.
- Recopilar normas nacionales e internacionales que regulen este tipo de compuestos orgánicos volátiles.

### 4. TIPO DE MÉTODO DE ANÁLISIS Y FUNDAMENTO: Desarrollo de una marcha analítica para la Determinación de Compuestos Orgánicos Volátiles en cerveza

#### 1) Selección de Fases Estacionarias para el Análisis de Compuestos Orgánicos Volátiles<sup>6</sup>

En la selección de fases estacionarias para el análisis de compuestos orgánicos volátiles, se deben tener en cuenta varios factores para garantizar una separación e identificación óptimas de los compuestos objetivos. La elección de la fase estacionaria es crucial en la cromatografía de gases, ya que afecta directamente la retención y separación de compuestos orgánicos volátiles. Las diferentes fases estacionarias, como la polar, la no polar y la polaridad intermedia, ofrecen diferentes características de selectividad y retención para compuestos volátiles.

Al seleccionar una fase estacionaria, se deben evaluar cuidadosamente factores como la volatilidad del compuesto, la polaridad y las propiedades químicas para lograr la separación y resolución deseadas de los compuestos objetivos.

Además, en el proceso de selección se deben considerar las interacciones específicas entre el analito y la fase estacionaria. Por ejemplo, las fases estacionarias polares son adecuadas para compuestos polares, mientras que las fases no polares son ideales para compuestos no polares.

En el análisis de compuestos orgánicos volátiles en la cerveza, es esencial una fase estacionaria que sea capaz de proporcionar buena resolución y forma de pico para una amplia gama de compuestos volátiles. Por tanto, la selección de una fase estacionaria

adecuada influirá en gran medida en el éxito del método analítico para la determinación de compuestos volátiles en cerveza mediante cromatografía de gases.

Asimismo, es imperativo evaluar minuciosamente las propiedades y características de las diferentes fases estacionarias para identificar la más adecuada para el análisis preciso y eficiente de compuestos volátiles en la cerveza.

## **2) Técnicas de preparación de muestras en el análisis de Compuestos Orgánicos Volátiles<sup>7</sup>**

En el análisis de compuestos orgánicos volátiles en la cerveza, las técnicas de preparación de muestras desempeñan un papel crucial para garantizar la precisión y fiabilidad de los resultados. Una técnica común es la microextracción en fase sólida en el espacio de cabeza (HS-SPME), que implica extraer compuestos volátiles del espacio de cabeza de una muestra en un recubrimiento absorbente en fase sólida sobre una fibra. Esta técnica es ventajosa debido a su simplicidad, alta sensibilidad y capacidad para minimizar la interferencia de la matriz. Otra técnica ampliamente utilizada es la extracción dinámica del espacio de cabeza, que implica purgar la muestra con un gas inerte para eliminar los compuestos volátiles antes de atraparlos en un adsorbente. Este método es adecuado para muestras con compuestos de mayor volatilidad y puede combinarse con diferentes técnicas analíticas, como la cromatografía de gases.

Además, la extracción líquido-líquido (LLE) y la extracción en fase sólida (SPE) son técnicas convencionales de preparación de muestras que se pueden utilizar para extraer compuestos volátiles de la cerveza. LLE implica la partición de compuestos volátiles entre dos fases líquidas inmiscibles, mientras que SPE utiliza un sorbente sólido para retener y eluir selectivamente los compuestos objetivo. Además, el uso de técnicas de derivatización puede resultar beneficioso para mejorar la detectabilidad de ciertos compuestos volátiles en la cerveza, especialmente aquellos con baja volatilidad y mal comportamiento cromatográfico. En general, la selección de una técnica de preparación de muestras adecuada es esencial en el desarrollo de un método analítico para la determinación de compuestos volátiles en la cerveza, ya que influye directamente en la sensibilidad, selectividad y precisión del análisis. En el desarrollo de un método analítico para la determinación de compuestos volátiles en la cerveza, es necesario considerar

varios factores clave. Un paso crucial es la selección de una técnica de extracción adecuada para capturar los compuestos volátiles presentes en la muestra de cerveza.

La microextracción en fase sólida (SPME) se ha utilizado ampliamente para este fin debido a su simplicidad y eficiencia. Esta técnica implica el uso de una fibra recubierta para extraer los compuestos volátiles del espacio de cabeza de la muestra, lo que da como resultado un analito concentrado que puede introducirse directamente en el cromatógrafo de gases para su análisis.

Otro aspecto importante en el desarrollo del método analítico es la elección de las condiciones de la cromatografía de gases, incluida la selección de la columna adecuada y la optimización de los parámetros de temperatura y flujo. Además, el uso de espectrometría de masas como detector puede mejorar la especificidad y sensibilidad del análisis, permitiendo la identificación de compuestos volátiles individuales presentes en la cerveza.

Por tanto, el desarrollo de un método analítico para la determinación de compuestos orgánicos volátiles en la cerveza requiere una cuidadosa consideración de varios factores, incluida la técnica de extracción, las condiciones de cromatografía y los métodos de detección.

Al abordar estos aspectos clave, es posible establecer un procedimiento analítico confiable y robusto para la caracterización de compuestos volátiles en la cerveza, contribuyendo al control de calidad y la evaluación sensorial de esta popular bebida. Este método analítico se puede utilizar para evaluar el perfil de aroma y sabor de diferentes muestras de cerveza, proporcionando información valiosa tanto para la industria cervecera como para los consumidores.

### **3) Optimización de condiciones de separación en Cromatografía de Gases<sup>7</sup>**

En la optimización de las condiciones de separación en cromatografía de gases, varios parámetros clave desempeñan un papel crucial para lograr una separación de compuestos eficiente y precisa. Estos parámetros incluyen la elección de la fase estacionaria, la longitud y el diámetro de la columna, la temperatura y el caudal del gas portador. La selección de la fase estacionaria adecuada es esencial para lograr una separación óptima,

ya que afecta directamente las interacciones entre los compuestos y la fase estacionaria. Además, la longitud y el diámetro de la columna afectan la resolución y el tiempo de retención de los compuestos.

La temperatura es otro factor crítico en la cromatografía de gases, ya que influye en la volatilidad y las interacciones de los compuestos con la fase estacionaria. Además, el caudal del gas portador afecta la eficiencia de la separación y el tiempo de retención de los compuestos. La optimización de estas condiciones implica ajustar sistemáticamente cada parámetro para lograr la mejor separación y resolución de los compuestos objetivo. Este proceso a menudo implica el uso de técnicas de diseño experimental, como el diseño factorial o la metodología de superficie de respuesta, para evaluar sistemáticamente los efectos de los diferentes parámetros y sus interacciones en el rendimiento de la separación. Al optimizar estas condiciones de separación, el método de cromatografía de gases puede determinar eficazmente los compuestos orgánicos volátiles en la cerveza, proporcionando resultados confiables y precisos para fines de análisis y control de calidad.

#### **4) Validación de la marcha analítica para la Determinación de Compuestos Volátiles en cerveza<sup>7</sup>**

En el proceso de desarrollo de un método analítico para la determinación de compuestos orgánicos volátiles en la cerveza, es crucial validar el método para garantizar su exactitud, precisión y confiabilidad. La validación del método analítico involucra varios parámetros como especificidad, linealidad, exactitud, precisión, límite de detección y límite de cuantificación.

La especificidad es esencial para demostrar que el método puede identificar y cuantificar con precisión los compuestos orgánicos volátiles objetivo en presencia de otros componentes de la matriz. La linealidad confirma la relación entre la concentración del analito y la respuesta del detector, mientras que la exactitud y la precisión evalúan la cercanía del valor medido al valor real y la repetibilidad de los resultados, respectivamente. El límite de detección y el límite de cuantificación indican la

concentración más baja a la que el analito puede detectarse y cuantificarse de forma fiable.

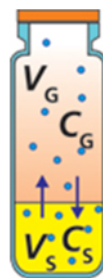
Además, el proceso de validación incluye la evaluación de la robustez, que evalúa la capacidad del método para no verse afectado por pequeñas variaciones en los parámetros analíticos. Además, se debe evaluar la estabilidad de la solución analítica y la matriz de la muestra para garantizar que el método sea adecuado para la aplicación práctica.

Al validar sistemáticamente el método analítico para la determinación de compuestos volátiles en la cerveza, es posible establecer su idoneidad para el propósito y garantizar la generación de resultados confiables y precisos para fines de investigación y control de calidad. Este proceso de validación es esencial para garantizar la credibilidad y reproducibilidad del método analítico y, en última instancia, contribuye a la integridad general del análisis de compuestos volátiles en la cerveza.

La medición se realiza mediante técnicas de cromatografía de gases por Headspace. La muestra se sella en un vial de CG y se calienta para volatilizar los analitos en el espacio de cabeza desde el cual se inyecta una porción en una columna de cromatografía que separa los compuestos que se miden con dos detectores (FID y ECD) en paralelo. La metodología de estándar interno se utiliza para compensar los efectos de la matriz.

Headspace (HS) Estático:

- En este caso la muestra se mantiene sellada en un vial hermético (de 20 mL) cerrado mediante cápsula o tapón y una membrana adecuada que, generalmente, es de silicona con una lámina de PTFE. El vial y la muestra se mantienen en condiciones de temperatura controlada para permitir que los compuestos volátiles pasen de la fase líquida a la fase gas del vial. La zona gas del vial que, obviamente, no se llena del todo con la muestra, es lo que se denomina espacio de cabeza. Una vez que una parte de la fracción volátil pasa a la fase gas, se transfiere una parte de esta a la columna cromatográfica.
- En el HS Estático hay que permitir una combinación de tiempo de incubación y temperatura para que la concentración de los analitos volátiles se mantenga estable y alcance un equilibrio antes de la extracción y transferencia.



**Figura N° 1.** Vial en el que se crea un equilibrio estático.

Fuente: Elaboración propia con base en<sup>8</sup>

La Figura N° 1 muestra un sistema típico con sus características fisicoquímicas más importantes como el Volumen de la Fase Líquida VS y de la fase gaseosa VG.

- Concentración de los analitos tanto en Fase Líquida CS como en Fase GAS CG, y la migración de las moléculas de soluto entre las dos fases. La concentración en la fase gas de cada analito es la cantidad medida en el análisis por GC, no sus concentraciones en la fase líquida. Para determinar las concentraciones originales del analito C0, hay que considerar el coeficiente de reparto K en condiciones de equilibrio. K es la relación de las concentraciones de un compuesto en la fase líquida y en la gaseosa:

$$K = \frac{C_S}{C_G}$$

El coeficiente de distribución depende de la temperatura y de la naturaleza química de la fase líquida en relación con los solutos. Normalmente K disminuye al aumentar la temperatura, es decir un aumento de las concentraciones en la fase de gas, y aumenta con composiciones de la fase líquida en la que los analitos son más solubles.<sup>8</sup>

## 5. INFORMACIÓN GENERAL DE LA MUESTRA

Este método es aplicable para mosto frío, cerveza en proceso (cerveza en fermentación, cerveza madura) y producto terminado.

### Equipo para toma de muestras

- \_\_\_ Botellas con tapa
- \_\_\_ Espiral o Serpentin (para las cervezas en proceso)
- Refrigerador a  $0 - 5 \text{ } ^\circ\text{C} \pm 0.5 \text{ } ^\circ\text{C}$

- Gas inerte comprimido (nitrógeno)
- Viales (20 mL)
- Un sifón de metal con dos tubos, uno largo y otro corto. El más corto de los tubos está conectado a un gas inerte (es decir, nitrógeno gas portador). El tubo más largo está equipado con una manguera que está conectada a un contenedor de desechos o fregadero. El tubo largo se sumerge en la cerveza hasta una cierta profundidad para que el exceso de cerveza sea expulsado por el gas que entra por el tubo corto y el volumen deseado de 5 mL permanezca en el vial.



**Figura N° 2.** Sifón de metal con dos tubos, uno largo y otro corto.

Fuente: Elaboración propia con base en<sup>8</sup>

### Muestreo

- El muestreo debe realizarse lo más frío posible evitando cualquier contacto con el aire.
  - Para muestras en proceso se debe usar espiral o serpentín.
  - Las botellas de muestreo se llenan completamente para evitar la oxidación.
  - Las muestras se deben enfriar hasta máximo 5°C.
- a) Muestras de Mosto Frío para DMS. Muestrear el mosto frío a la mitad del enfriamiento utilizando un serpentín y depositar la muestra en un frasco de vidrio con tapa con cierre hermético e inmediatamente después del muestreo colocar la muestra en un baño con hielo. Dejar la muestra en el baño con hielo durante 12 horas antes de analizarse con el objetivo de que sedimente el trub; una vez sedimentado tomar 5 mL de la parte superior de la muestra y proceder a preparar los viales para su análisis.
- b) Muestras de cerveza en proceso. Todas las cervezas en proceso se deben centrifugar, preferiblemente en una centrífuga refrigerada. Centrifugar durante 5 minutos a 2000 rpm, en tubos de 50 mL se deben llenar completamente y cerrar.

Después de la centrifugación, preparar inmediatamente los viales y guardar en frío hasta la inyección. <sup>8</sup>

- c) Muestras de cerveza terminada. Enfriar la cerveza en un baño de hielo por 15 minutos. Colocar 100 mL de la muestra en un vaso de precipitados de 400 mL y sonicar por 2 minutos (es importante mantener fría el agua del baño ultrasónico para evitar que la muestra se caliente) <sup>8</sup>

#### Preparación de los viales para análisis<sup>8</sup>

- Llene los viales fríos de headspace completamente con muestra de cerveza, luego vacíe los viales hasta que queden 5 mL, utilizando un gas inerte y la herramienta de sifón (consulte la descripción en la sección de muestras anterior).
- En caso de no contar con el sifón, mida 5 mL de cerveza descarbonatada con una pipeta volumétrica de vidrio de 5 mL.
- Coloque una tapa en el vial, pero evite cerrar.
- Añada 100 µL de la solución de trabajo del estándar interno que se describe en la sección sobre preparación de las soluciones de calibración.
- Inmediatamente selle los viales con la tapa de aluminio y la septa usando la engargoladora. Luego colócalos en la bandeja del automuestreador. Es necesaria una operación rápida para evitar la presencia de aire en los viales.
- El tiempo entre la preparación de la muestra y los análisis no puede exceder las 20 horas.

## 6. REACTIVOS

- Alcohol Etilico p.a. (ejemplo Merck 100983 producto recomendado ya que no contiene acetaldehído.
- Acetaldehído p.a. (Por ejemplo Acros 149510100)
- Dimetil Sulfuro (DMS) (Por ejemplo Sigma Aldrich 471577-25)
- Acetato de Etilo p.a. (Por ejemplo Sigma Aldrich 45767-1L-F)
- n-Propanol p.a. (Por ejemplo Sigma Aldrich 34871-100 mL)
- Isobutanol p.a. (Por ejemplo Sigma Aldrich 270466-1L)
- Acetato de Isoamilo p.a. (Por ejemplo Acros 150662500)
- Alcohol Isoamílico p.a. (Por ejemplo Sigma Aldrich 59090-250 mL)

- Diacetilo (2,3-Butanodiona) p.a. (Por ejemplo Acros 107650050)
- 2,3-Pentanediona p.a. (Por ejemplo Merck 8.18555.0025)
- 2,3 Hexanedione (Merck 818732) o 3,4-Hexanediona (Por ejemplo Alfa Aesar L06655) p.a. (ISTD)<sup>8</sup>
- Etil metil sulfuro (EMS) p.a. (ISTD) (Por ejemplo Alfa Aesar L02859.14)
- 1-Butanol p.a. (ISTD) (Por ejemplo Acros 423495000)
- 1-Propil propionato p.a. (ISTD) (Por ejemplo Alfa Aesar 8.21048.0250)
- Cerveza control analítico: puede ser aquella que se utiliza como referencia para evaluar otras cervezas. Esto puede incluir cervezas que son representativas de un estilo específico, como una lager, una IPA o una stout, que establecen un estándar en términos de sabor, aroma y características generales.

## 7. MATERIALES Y EQUIPOS

- CG + Automuestreador headspace: Equipo y proveedor recomendados: Perkin-Elmer Autosystem XL / Clarus con un muestreador automático turbomatrix 40 o un CG comparable y un muestreador automático con soporte técnico aceptable del fabricante local.
- Columna: columna cromatográfica capilar y / o empacada configurada en el CG como dos columnas en paralelo (una columna dedicada al FID y una columna dedicada al ECD) o una columna con efluente dividido para los detectores FID y ECD.
- Columna capilar Chrompack 7773 (o comparable)
- Longitud - 50 m
- Diámetro interno: 0,32 mm
- Diámetro externo - 0,45 mm
- Fase líquida - CP WAX 52 C.B. (o similar)
- Espesor de la película: 1,28  $\mu\text{m}$
- Columna empacada (o comparable): 10% carbowax, 20M Chromosorb W, 10 "x 1/8"
- Detectores: FID y ECD configurados para operación en paralelo.
- Software: el software recomendado para el instrumento PE es Turbochrom o Totalchrom.

- Gases: Todos los gases deben tener una pureza mínima del 99,995%. Los cilindros de gas deben ubicarse fuera del laboratorio siempre que sea posible y deben almacenarse y operar en posición vertical. Se recomienda utilizar tubos de cobre sin grasa, aceite ni material orgánico para todos los gases enviados al CG. <sup>8</sup>

**Tabla N° 1.** Gases para utilizar en el análisis cromatográfico de alcoholes superiores.

<b>Carrier (gas de acarreo)</b>	Nitrógeno o Helio	Se puede utilizar un cilindro de gas o un generador para el nitrógeno. Filtrar el gas a través de un filtro de humedad y / o un filtro de hidrocarburos y de-oxo.
<b>FID – combustión</b>	Hidrógeno	Se puede utilizar un cilindro de gas o un generador. Todo el hidrógeno debe filtrarse a través de un filtro de humedad.
	Aire comprimido	Se puede utilizar un cilindro de gas o un generador. Todo el aire debe filtrarse a través de un filtro de humedad. No use "aire respirable".
<b>ECD - make up</b>	Nitrógeno	Filtrar el gas a través de un filtro de humedad y / o un filtro de hidrocarburos y de-oxo.

Fuente: Elaboración propia con base en<sup>8</sup>

- Viales con capacidad de 20 mL, apropiados para usar en el automuestreador headspace, preferiblemente de marca Perkin Elmer. Almacenar los viales en refrigeración.
- Septa PTFE/Silicon Nota: No utilice septas de goma, ya que las pequeñas partículas de caucho podrían desmoronarse y obstruir la aguja o contaminar la muestra, provocando picos de interferencia en el cromatógrafo.

- Tapas de Aluminio – Si es posible, se recomienda usar tapas y sellos pre-ensamblados. Esto reduce la contaminación cuando se toca la septa por el lado del vial cuando se está ensamblando.
- Engargoladora - manual o automática (No. de parte Agilent 5190-3189 o No. de parte PE 9302594).
- Herramienta para quitar la tapa (desengargoladora)
- Balanza Analítica (con escala 0.0001 g)
- Micropipetas (5 a 100  $\mu\text{L}$  - 5 a 300  $\mu\text{L}$  - 1000  $\mu\text{L}$  a 5000  $\mu\text{L}$ )
- Puntas (volúmenes apropiados)
- Pipetas Volumétricas (varios tamaños)
- Matraz Volumétrico de 100 mL

## 8. PROCEDIMIENTO DE PRÁCTICA DE DETERMINACIÓN

### 1) Inicio del Análisis

Todos los ajustes del instrumento se pueden optimizar de acuerdo con los requisitos del equipo local, EXCEPTO LA TEMPERATURA DE LA MUESTRA Y EL TIEMPO DE INCUBACIÓN.

#### Configuración del Automuestreador Headspace

- Presión del gas acarreador (gas carrier) – 32 psi
- Temperatura de la muestra – 62 °C
- Temperatura de la aguja – 80 °C
- Tiempo de incubación – 30 min
- Tiempo de presurización – 0.5 min
- Tiempo de espera (Withdrawal time) – 0.5 min
- Tiempo de inyección – 0.1 min

#### Configuración del Cromatógrafo

- Presión del gas acarreador (gas carrier) – 27 psi
- Temperatura del horno – 75 °C
- Isoterma inicial a 75 °C – 9 min

- Rampa de temperatura (velocidad de incremento de temperatura) – 25.0 °C/min
- Temperatura máxima del horno – 110 °C
- Temperatura del detector – FID 200 °C, ECD 150 °C
- Temperatura del inyector – 130 °C
- Flujo de gas de combustión del FID – hidrógeno@40 mL/min, aire@400 mL/min
- Flujo de make up del ECD – 20 mL/min (si es necesario se puede ajustar para mejorar el cromatograma, es decir la resolución del pico y la estabilidad de la línea base)

## 2) Calibración

Preparación de las soluciones de calibración: Utilizar micropipetas calibradas y puntas nuevas para evitar el arrastre y la contaminación de los otros compuestos.

### SOLUCIÓN A

Alcoholes, ésteres y acetaldehído (orden de magnitud ppm)

Nota: Se sugiere adicionar los compuestos en el orden contrario de volatilidad, es decir agregar primero los menos volátiles y al final los más volátiles.

- Por medio de la micropipeta, introduzca los siguientes compuestos en un matraz aforado de 100 mL que contenga 10 mL de agua y  $\pm$  10 mL de etanol a temperatura ambiente:
  - 30 mg de acetato de isoamilo
  - 100 mg de acetaldehído: es volátil y debe introducirse frío. Coloque el acetaldehído en el refrigerador y las puntas en el congelador.
  - 200 mg de isobutanol
  - 200 mg de propanol
  - 400 mg de acetato de etilo
  - 1000 mg de alcohol isoamílico
- Afore a 100 mL con etanol.

### SOLUCIÓN B

Diacetilo, pentanodiona y dimetilsulfuro (orden de magnitud ppb)

- a. Por medio de la micropipeta, introduzca los siguientes productos químicos en un matraz aforado de 100 mL que contenga 10 mL de agua y  $\pm$  10 mL de etanol a temperatura ambiente:
- 50 mg de diacetilo
  - 50 mg de pentanediona
  - 50 mg de DMS - debe introducirse frío. Coloque DMS en el refrigerador y las puntas en el congelador.
- b. Aforar a 100 mL con etanol.

#### SOLUCIÓN DE TRABAJO 1 - todos los compuestos

Pipetear 50 mL de la solución A y 1 mL de la solución B en un matraz aforado de 100 mL. Completar hasta 100 mL con etanol.

#### SOLUCIÓN DE TRABAJO 2 - todos los compuestos

Pipetear 25 mL de la Solución de trabajo 1 en un matraz aforado de 100 mL. Completar hasta 100 mL con etanol.

#### SOLUCIÓN DE STOCK 1 - estándar interno

- a. Con una balanza analítica y una micropipeta (utilizando puntas nuevas cada vez para evitar el arrastre y la contaminación), introduzca los siguientes compuestos (peso) en un matraz aforado de 100 mL que contenga 10 mL de etanol + 10 mL de agua a temperatura ambiente: 125 mg de Propil propionato y 600 mg de 1-butanol.
- b. Completar hasta 100 mL con etanol; esta es la solución madre (stock) del estándar interno, será estable durante 3 semanas a la temperatura del refrigerador (2 - 4 °C).

#### SOLUCION DE STOCK 2 - estándar interno

- a. Con una balanza analítica y una micropipeta (utilizando puntas nuevas cada vez para evitar el arrastre y la contaminación), introduzca los siguientes compuestos (peso) en un matraz aforado de 100 mL que contenga 10 mL de etanol + 10 mL de agua a temperatura ambiente:

- 100 mg de Etil metil Sulfuro
  - 30 mg de 3,4-hexanodiona
- b. Completar hasta 100 mL con etanol; esta es la solución madre (stock) del estándar interno, será estable durante 3 semanas a la temperatura del refrigerador (2 - 4 °C).

### SOLUCIÓN DE TRABAJO DE ESTÁNDAR INTERNO

- a. Pipetear 20 mL de la Solución Stock 1 y 1 mL de la Solución Stock 2 en un matraz aforado de 100 mL.
- b. Completar hasta 100 mL con etanol. Esta es la solución de trabajo de estándar interno y será estable durante 1 semana a la temperatura del refrigerador (2 - 4 °C).
- c. Agregar 100 µL de esta solución de trabajo estándar interno a todas las muestras de calibración y medición, dando las siguientes concentraciones en la muestra:

**Tabla N° 2.** Ejemplo de resultados obtenidos para las concentraciones de estándares internos, considerando su pureza y peso.

Estándar Interno	Pureza (%)	Peso (mg)	Concentración final en la muestra de 5 MI	Unidades	Usado como estándar interno para:
1-Butanol	99.5	596.2	23.73	ppm	Propanol, Isobutanol, Alcohol de Isoamilo
Propionato de propilo	99.0	119.4	4.73	ppm	Acetato de Isoamilo, Acetaldehído, Acetato Etilo
Etil metil sulfuro	97.0	92.7	179.84	ppb	DMS
Hexanodiona	95.0	27.2	51.68	ppb	Diacetilo, Pentanodiona

Fuente: Elaboración propia con base en<sup>9</sup>

### PREPARACIÓN DE PUNTOS DE CALIBRACIÓN

- a. Preparar 28 viales del headspace (4 viales por cada concentración y para 7 diferentes concentraciones) cada vial contiene 5 mL de cerveza. La cerveza se puede llenar en los viales usando el procedimiento de muestreo que se detalla en la sección E.

INFORMACION GENERAL DE LA MUESTRA, correspondiente a la “Preparación de los viales para análisis”.

b. Adicionar para cada diferente punto las siguientes cantidades:

**Tabla N° 3.** Preparación de viales en soluciones para curva de calibración.

VIAL #	0 (blanco)	1	2	3	4	5	6
Solución de trabajo de Estándar Interno	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Solución de trabajo 1 – todos los compuestos					50 µL	100 µL	150 µL
Solución de trabajo 2 – todos los compuestos		50 µL	100 µL	150 µL			
Etanol Absoluto	150 µL	100 µL	50 µL		100 µL	50 µL	

Fuente: Elaboración propia con base en<sup>9</sup>

**Tabla N° 4.** Concentraciones calculadas de los compuestos en cada punto de calibración.

	Pureza (%)	Peso (mg)	1	2	3	4	5	6	Unidades
Acetaldehído	99.0	97.9	1.21	2.42	3.63	4.85	9.69	14.54	ppm
DMS	98.0	50.0	12.25	24.50	36.75	49.00	98.00	147.00	ppb
Acetato de Etilo	99.8	398.4	4.97	9.94	14.91	19.88	39.76	59.64	ppm
Diacetilo	95.0	51.7	12.28	24.56	36.84	49.12	98.23	147.35	ppb
Propanol	99.5	215.2	2.68	5.35	8.03	10.71	21.41	32.12	ppm
Pentanodiona	97.0	50.4	12.22	24.44	36.67	48.89	97.78	146.66	ppb
Isobutanol	98.0	215.3	2.64	5.27	7.91	10.55	21.10	31.65	ppm
Acetato de Isoamilo	98.0	35.3	0.43	0.86	1.30	1.73	3.46	5.19	ppm
Alcohol de Isoamilo	99.0	1002.4	12.40	24.81	37.21	49.62	99.24	148.86	ppm

Fuente: Elaboración propia con base en<sup>9</sup>

Esta tabla presenta los resultados del cálculo de las concentraciones para cada compuesto y punto de calibración, utilizando los valores corregidos de pureza y peso. Los datos reflejan una mayor precisión al incorporar los ajustes necesarios en los parámetros de pureza y peso de los compuestos analizados.

- c. Colocar aproximadamente 4 muestras en viales con agua desionizada en el automuestreador para acondicionar seguidos de los viales de calibración en el siguiente orden: 0, 0, 1, 1, 2, 2, 3, 3, 4, 4, 5, 5, 6, 6, 0, 0, 1, 1, 2, 2, 3, 3, 4, 4, 5, 5, 6, 6 (+ Cerveza referencia).

## 9. CÁLCULOS INVOLUCRADOS

### 1) Medición

Analizar las muestras de calibración en la misma corrida de las muestras de operación.

### 2) Cálculos

Determinar los factores de respuesta mediante el cálculo de regresión lineal.

La siguiente tabla presenta la determinación precisa de los factores de respuesta utilizando el método de regresión lineal. El análisis estadístico proporciona una evaluación cuantitativa de la relación entre las variables estudiadas, permitiendo una interpretación más robusta de los resultados experimentales.

**Tabla N° 5.** Análisis de factores de respuesta por regresión lineal.

Compuesto	R <sup>2</sup>	Desviación Estándar	Límite Mínimo de Detección (LMD)	Límite Mínimo de Cuantificación (LMC)	Rango de Linealidad	Unidad
Acetaldehído	0.999304518	0.035	0.11	0.17	0.1 - 14.0	ppm
DMS	0.997638933	0.786	2.60	3.93	2 - 160	ppb

Acetato de Etilo	0.998878027	0.199	0.66	0.99	0.9 – 60.0	ppm
Diacetilo	0.996016063	0.945	3.12	4.72	2 – 150	ppb
n-Propanol	0.99634388	0.190	0.63	0.95	0.8 – 30.0	ppm
Pentanodiona	0.996832305	0.790	2.61	3.95	2 – 140	ppb
Isobutanol	0.998503287	0.115	0.38	0.57	0.2 – 30.0	ppm
Acetato de Isoamilo	0.999584604	0.012	0.04	0.06	0.05 – 6.0	ppm
Alcohol de Isoamilo	0.99504368	1.037	3.42	4.93	2.0 – 140.0	ppm

Fuente: Elaboración propia con base en<sup>9</sup>

**Tabla N° 6.** Factores de respuesta y tiempos de retención para analitos de interés, los valores presentados son ejemplos y pueden variar según la calibración del instrumento y el equipo utilizado.

Compuesto	Factor de respuesta	Tiempos de retención	Estándar interno	Detector
Acetaldehído	0.248	3.01	Propionato de propilo	FID
DMS	0.924	3.28	Sulfuro de etilmetilo	FID
Acetato de Etilo	0.435	4.33	Propionato de propilo	FID
Diacetilo	0.606	4.78	3,4-Hexanedione	ECD
n-Propanol	0.686	7.02	1-Butanol	FID
Pentanodiona	0.900	7.84	3,4-Hexanedione	ECD
Isobutanol	1.547	8.65	1-Butanol	FID

Acetato de Isoamilo	1.169	9.40	Propionato de propilo	FID
Alcohol de Isoamilo	1.477	11.14	1-Butanol	FID

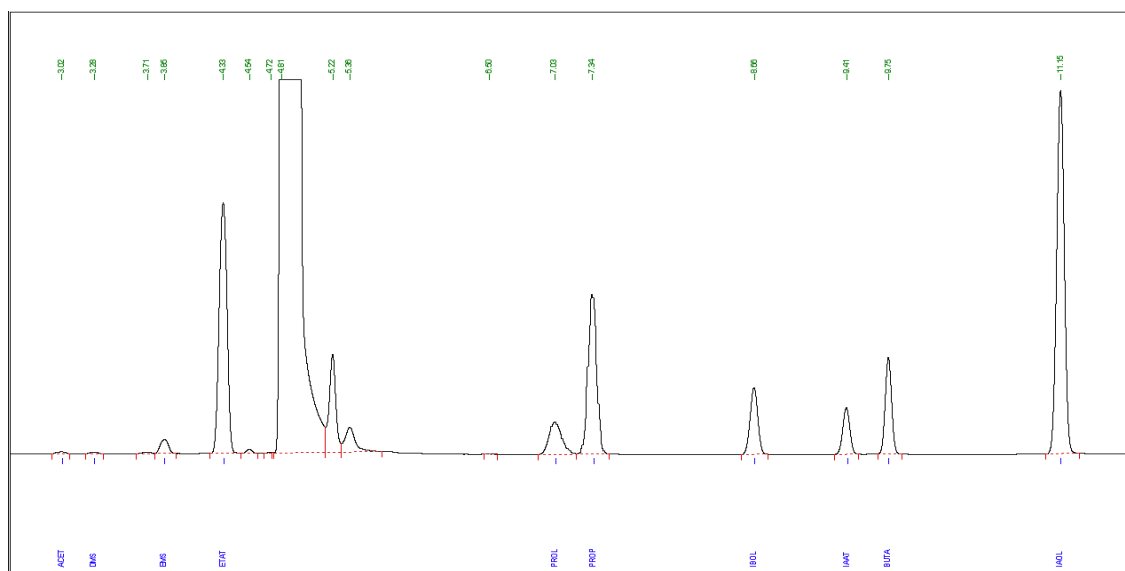
Fuente: Elaboración propia con base en<sup>9</sup>

**Tabla N° 7.** Tiempos de retención para estándares internos, los valores presentados son ejemplos y pueden variar según la calibración del instrumento y el equipo utilizado.

Estándar Interno	Tiempo de Retención	Unidad	Detector
Propionato de propilo	7.34	ppm	FID
Etil metil sulfuro	3.85	ppb	FID
1-Butanol	9.75	ppm	FID
3,4-Hexanodiona	9.75	ppb	ECD

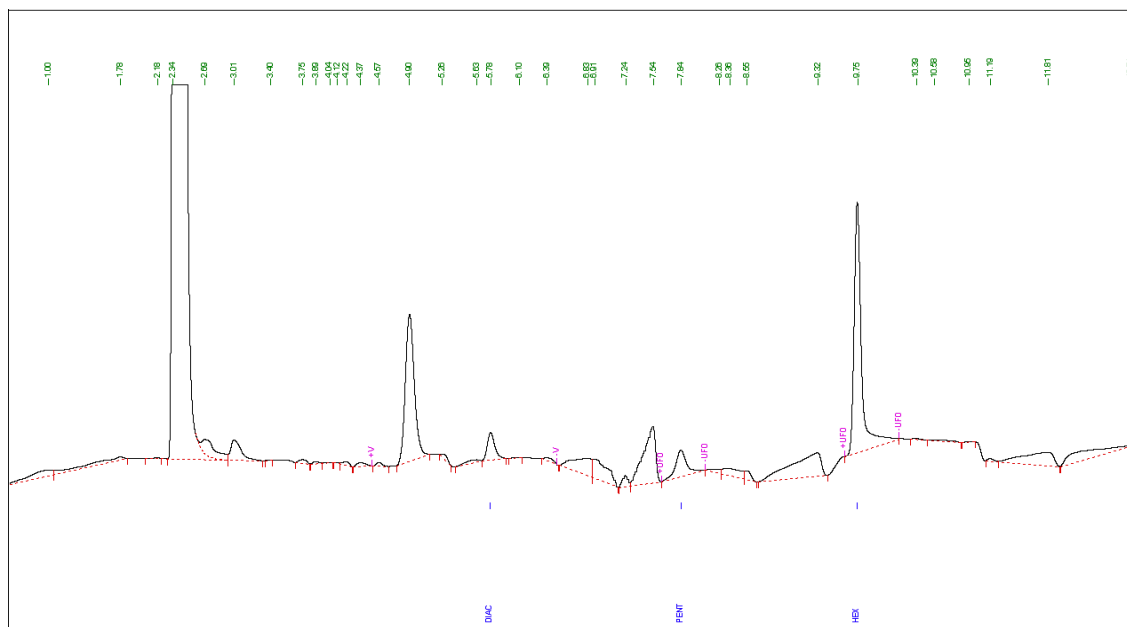
Fuente: Elaboración propia con base en<sup>9</sup>

### 3) Cromatogramas



**Figura N° 3.** Cromatograma generado mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID).

Fuente: Industrias La Constancia.



**Figura N° 4.** Cromatograma generado mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-ECD).

Fuente: Industrias La Constancia.

#### 4) Análisis

Cerveza control o de referencia.

#### 5) Preparación de la cerveza control

Preparar la cerveza control como se indica para una muestra de cerveza en PT. La cerveza se debe almacenar a máximo 4°C.

Preparar una muestra fresca todos los días, es decir una muestra control o de referencia debe usarse dentro de las 24 horas siguientes al ser destapada, o de lo contrario, se debe usar una nueva muestra.

Carga en el Automuestreador

- 2-4 muestras para acondicionar con agua desionizada
- 1 muestra control o referencia
- 10 muestras desconocidas
- 1 muestra control o referencia

- 10 muestras desconocidas

### 6) Expresión de resultados

Analizar las soluciones estándar y la muestra por cromatografía, obteniendo las áreas de los picos del analito y del estándar interno.

### 7) Cálculo de la relación de áreas para cada solución estándar

$$\text{Relación de áreas} = \frac{\text{Área del analito}}{\text{Área del estándar interno}}$$

### 8) Cálculo de la relación de concentraciones para cada solución estándar

$$\text{Relación de concentraciones} = \frac{\text{Concentración del analito}}{\text{Concentración del estándar interno}}$$

- Construir una curva de calibración graficando “Relación de áreas vs. Relación de concentraciones”.
- Obtener la ecuación de la recta de calibración:  $y = mx + b$

Donde:

y = Relación de áreas

x = Relación de concentraciones

m = Pendiente

b = Intercepto

- Para la muestra desconocida, calcular la relación de áreas:

$$\text{Relación de áreas muestra} = \frac{\text{Área del analito en muestra}}{\text{Área del estándar interno en muestra}}$$

- Usar la ecuación de la recta para calcular la relación de concentraciones en la muestra:

$$\text{Relación de concentraciones muestra} = \frac{(\text{Relación de áreas muestra} - b)}{m}$$

- e. Finalmente, calcular la concentración del analito en la muestra:

Concentración del analito = Relación de concentraciones muestra  $\times$  Concentración del estándar interno

Los resultados de los diferentes compuestos se deducen de la relación del área de los picos con el estándar interno correspondiente. El diacetilo y la pentanodiona se expresan en ppb ( $\mu\text{g/L}$ ) sin ningún decimal; todos los demás compuestos se expresan en ppm ( $\text{mg/L}$ ) con un solo decimal.

## **10. NORMATIVAS NACIONALES E INTERNACIONALES A UTILIZAR PARA LA INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

Estos compuestos no son regulados específicamente en muchas normativas nacionales o internacionales debido a varios factores, los cuales pueden entenderse al considerar la complejidad y la variabilidad inherente en la producción de cerveza:

- Variedad en las concentraciones según estilo de cerveza.

La cerveza es una bebida extremadamente diversa en términos de estilos, sabores y métodos de producción.

Los compuestos volátiles como el diacetilo (butanodiona), acetaldehído, acetato de isoamilo, y los alcoholes isoamílicos tienen un impacto sensorial que depende en gran medida del estilo de cerveza.

Por ejemplo, en las cervezas lager, el diacetilo se considera un defecto cuando está presente en concentraciones elevadas, pero en cervezas de estilo ale o stouts, una pequeña cantidad de estos compuestos puede ser aceptable o incluso deseada.

La flexibilidad en cuanto a la presencia de estos compuestos en distintos estilos de cerveza hace que sea difícil establecer límites universales que se apliquen a todos los tipos de cerveza.

- Impacto sensorial y preferencias del consumidor.

Muchos de estos compuestos son responsables de aromas y sabores que son percibidos subjetivamente por los consumidores.

Por ejemplo, el acetato de etilo aporta una nota frutal agradable a muchas cervezas, mientras que el DMS genera un aroma a maíz o vegetales cocidos que en algunas

cervezas puede ser considerado un defecto, pero en otras (como en cervezas tipo Pilsener) es tolerado.

Esto indica que la percepción de estos compuestos varía según las preferencias del consumidor y el contexto cultural, lo que complica la posibilidad de establecer umbrales de concentración que sean universales y aceptables para todos.

- Naturaleza de la producción de cerveza.

Los compuestos como los alcoholes, esteroides y cetonas en la cerveza son subproductos naturales de la fermentación. Como resultado, su presencia en la cerveza no es necesariamente el resultado de una contaminación o de un proceso de elaboración defectuoso, sino que son características inherentes a la actividad de la levadura durante la fermentación.

Aunque ciertas concentraciones elevadas pueden ser indeseables y percibidas negativamente, en general, no se consideran peligrosos para la salud en las concentraciones encontradas en las cervezas comerciales. Esto reduce la necesidad de una regulación estricta en muchas jurisdicciones, ya que no representan un riesgo inmediato para la seguridad del consumidor.

- Falta de evidencia toxicológica clara.

Aunque algunos de estos compuestos pueden tener efectos adversos en la salud si se consumen en cantidades excesivas, no existe una base sólida de evidencia científica que sugiera que los niveles típicos de estos compuestos en las cervezas comerciales sean peligrosos para la salud pública. Por ejemplo, el acetaldehído y los alcoholes superiores como el 1-propanol pueden ser tóxicos a niveles muy elevados, pero en las concentraciones encontradas en la mayoría de las cervezas, los efectos negativos para la salud son mínimos o nulos.

Dado que la cerveza es una bebida consumida mundialmente, y estos compuestos están presentes en concentraciones que generalmente no superan los umbrales de seguridad establecidos para alimentos y bebidas, las agencias reguladoras no consideran necesario establecer límites estrictos para su presencia en la bebida.

- Autorregulación por la industria.

La industria cervecera en muchos países tiene sistemas de control de calidad internos muy estrictos para garantizar que los niveles de estos compuestos estén dentro de los límites deseados para la calidad sensorial de la cerveza.

Por ejemplo, los cerveceros ajustan las condiciones de fermentación y el manejo de la levadura para minimizar la producción de compuestos indeseados como el diacetilo. Esto hace que la regulación externa no sea tan necesaria, ya que la industria es capaz de auto controlarse en cuanto a la producción de cerveza de calidad.

- Enfoque regulatorio centrado en la seguridad alimentaria general.

Las normativas internacionales, como las de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA), tienden a enfocarse en aspectos más generales de la seguridad alimentaria, como la higiene y la inocuidad de los ingredientes.

Las concentraciones de compuestos volátiles que afectan la calidad sensorial de la cerveza rara vez se consideran un problema de salud pública en los niveles típicos encontrados en las cervezas comerciales. En cambio, las regulaciones tienden a enfocarse en peligros más inmediatos, como la presencia de contaminantes microbiológicos, metales pesados, o aditivos no permitidos.<sup>10</sup>

**Tabla N° 8.** Concentraciones de compuestos orgánicos volátiles que afectan la calidad sensorial de la cerveza.

Componente	Descripción	Concentración Sensorial Detectable	Concentración Típica en Cervezas Lager	Concentración Típica en Cervezas Ales	Concentración Mínima Efectiva Tóxica
<b>Butanodiona (Diacetilo)</b>	Producto secundario de la fermentación, responsable de sabor a mantequilla o caramelo.	> 0.1 mg/L	0.01 - 0.1 mg/L	0.2 - 0.5 mg/L	No se reporta generalmente toxicológico

<b>Pentanodiona (VDK)</b>	Similar a la butanodiona, contribuye a sabores indeseados de mantequilla.	> 0.1 mg/L	0.005 - 0.1 mg/L	0.1 - 0.3 mg/L	No se reporta generalmente toxicológico
<b>Acetaldehído</b>	Intermediario de la fermentación con sabor a manzana verde o astringente.	> 10 mg/L	3 - 15 mg/L	15 - 30 mg/L	> 300 mg/L
<b>Dimetilsulfuro (DMS)</b>	Aroma a maíz o vegetales cocidos, relacionado con el proceso de cocción.	> 50 µg/L	20 - 50 µg/L	50 - 100 µg/L	No se reporta generalmente toxicológico

**Tabla N° 8.** Concentraciones de compuestos orgánicos volátiles que afectan la calidad sensorial de la cerveza. (Continuación)

<b>Componente</b>	<b>Descripción</b>	<b>Concentración Sensorial Detectable</b>	<b>Concentración Típica en Cervezas Lager</b>	<b>Concentración Típica en Cervezas Ales</b>	<b>Concentración Mínima Efectiva Tóxica</b>
<b>Acetato de etilo</b>	Éster que contribuye a aromas frutales y florales.	> 100 mg/L	25 - 50 mg/L	40 - 80 mg/L	> 500 mg/L
<b>1-Propanol</b>	Alcohol superior que puede impartir un aroma a	> 100 mg/L	20 - 50 mg/L	30 - 70 mg/L	> 500 mg/L

	solvente o astringente.				
<b>2-Metil-1-propanol</b>	Alcohol superior con aroma a solvente o astringente.	> 100 mg/L	5 - 20 mg/L	10 - 25 mg/L	> 500 mg/L
<b>Acetato de isoamilo</b>	Éster con aroma frutal, especialmente a plátano.	> 100 mg/L	5 - 20 mg/L	10 - 30 mg/L	No se reporta generalmente toxicológico
<b>Alcoholes isoamílicos</b>	Grupo de alcoholes superiores que pueden impartir un aroma a solvente o astringente.	> 100 mg/L	20 - 50 mg/L	30 - 60 mg/L	> 500 mg/L

Fuente: Elaboración propia con base en<sup>11</sup>

## **CAPÍTULO V**

## 5.0 CONCLUSIONES

1. El desarrollo de un método analítico para la determinación de compuestos volátiles en cerveza mediante cromatografía de gases, ha demostrado ser una herramienta valiosa para el análisis de la calidad y el sabor de la cerveza. El método ha identificado y cuantificado con éxito compuestos volátiles clave, como alcoholes, ésteres y aldehídos, proporcionando información valiosa sobre el perfil de sabor de diferentes muestras de cerveza.
2. El método ha demostrado buena sensibilidad, precisión y reproducibilidad, lo que lo convierte en una herramienta confiable para el control de calidad y con fines de investigación en la industria cervecera.
3. De cara al futuro, existen varias vías potenciales para el desarrollo futuro en el campo de los métodos analíticos para el análisis de compuestos volátiles en la cerveza. Una posible dirección es la optimización del método para aumentar la cantidad de compuestos que se pueden analizar simultáneamente, proporcionando así una evaluación más completa del sabor de la cerveza.
4. El uso de técnicas analíticas avanzadas, como la cromatografía de gases con espectrometría de masas, podría mejorar aún más las capacidades y la sensibilidad del análisis de compuestos volátiles en la cerveza.
5. Las investigaciones futuras podrían centrarse en perfeccionar el método para capturar y analizar mejor compuestos volátiles específicos que se sabe que tienen un impacto significativo en el sabor de la cerveza, proporcionando una visión aún mayor de las características sensoriales de los diferentes estilos de cerveza.
6. Los compuestos que afectan la calidad sensorial de la cerveza, como los alcoholes y ésteres mencionados, no están regulados de manera estricta en la mayoría de las normativas nacionales o internacionales debido a la variabilidad en las concentraciones, la percepción subjetiva de su impacto sensorial, la falta de evidencia de toxicidad a niveles típicos y el hecho de que la industria cervecera cuenta con un control de calidad eficaz. Sin embargo, esto no significa que los cerveceros no deban controlar estos compuestos; por el contrario, una producción de cerveza de calidad sigue siendo clave para la satisfacción del consumidor.

## **CAPÍTULO VI**

## 6.0 RECOMENDACIONES

1. A la Industria Alimenticia, hacer conciencia de todos los riesgos que conlleva ingerir una desmedida proporción de bebidas alcohólicas en el cuerpo humano, ya que esto puede provocar muchas afecciones en las personas que consumen dichos productos, es necesario llevar un estricto control de calidad tanto al producto terminado como las materias primas que darán origen a dicho producto. Para así garantizar la calidad de los productos, pero sobre todo la calidad de la salud de las personas.
2. A los consumidores y población en general hacer conciencia en reducir el consumo excesivo de bebidas con altos niveles de alcohol, y que pueda tomarse como alternativas otros tipos de bebidas, siendo estos más saludables y que a su vez protejan nuestro cuerpo de diferentes enfermedades relacionadas con el consumo de dichas bebidas alcohólicas.
3. Basarse siempre en metodologías oficiales que nos puedan brindar resultados verídicos y claros a la hora de determinar compuestos volátiles en una matriz alimentaria, en este caso el método de cromatografía de gases el cual nos permite identificar la presencia de compuestos volátiles en alimentos.
4. A las autoridades competentes siempre estar monitoreando y siempre verificar el debido cumplimiento del etiquetado de los alimentos, asegurando que la información declarada refleje con precisión la composición real de la bebida. Esto es clave para mantener la transparencia con los consumidores y garantizar la calidad del producto final.
5. Contar con todos los insumos necesarios mínimos para un adecuado desarrollo de la cerveza y con base en todo lo investigado en este documento, para poder ejecutar de manera efectiva el desarrollo de la parte experimental, desde un muestreo realizado adecuadamente y así poder determinar compuestos volátiles en la muestra de nuestro interés.
6. Utilizar siempre métodos oficiales adecuándose de la mejor manera posible a las condiciones que más se apeguen a la realidad en el desarrollo experimental como tal, en un laboratorio de investigación. Cuidado siempre de todos los detalles para poder obtener resultados certeros los cuales sustentan nuestra investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. European Commission. Principios básicos de la industria cervecera y la producción de cerveza [Internet]. [citado 4 Feb 2025]. Disponible en: [https://ec.europa.eu/programmes/erasmus-plus/project-result-content/f83dc09a-0cda-4a3d-b724-76115a75960a/UNIT%201%20-%20BREWING%20\(ES\).pdf](https://ec.europa.eu/programmes/erasmus-plus/project-result-content/f83dc09a-0cda-4a3d-b724-76115a75960a/UNIT%201%20-%20BREWING%20(ES).pdf)
2. Gobierno de Aragón. Compuestos Orgánicos Volátiles. Normativa aplicable, actividades y obligaciones [Internet]. [citado 4 Feb 2025]. Disponible en: <https://www.aragon.es/-/compuestos-organicos-volatiles>
3. Vaclavik VA, Christian EW. Essentials of Food Science. New York: Springer Science+Business; 2014.
4. Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. De Compuestos Orgánicos Volátiles [Internet]. [citado 4 Feb 2025]. Disponible en: [https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/emisiones/act-emis/compuestos\\_organicos\\_volatiles.html](https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/emisiones/act-emis/compuestos_organicos_volatiles.html)
5. Blumberg LM. Teoría de la cromatografía de gases. Cromatografía de gases [Internet]. 2021 [citado 4 Feb 2025]. Disponible en: researchgate.net
6. Wampler TP. Análisis de volátiles alimentarios mediante técnicas de cromatografía de gases en el espacio de cabeza. Técnicas de análisis del aroma de los alimentos. 2020.
7. Badawy MEI, Rabea EI, Taktak NEM, El-Nouby MAM. Una revisión de los principios y aplicaciones modernos de las técnicas de extracción en fase sólida en el análisis cromatográfico. Ciencias Analíticas. 2022;38(12):1457-1487.
8. Vieira AC, Pereira AC, Marques JC, Reis MS. Optimización de múltiples objetivos de microextracción en fase sólida para analizar compuestos de sabor clave en mosto y cerveza. Química de los alimentos [Internet]. 2020 [citado 4 Feb 2025]. Disponible en: core.ac.uk
9. Cucu T, David F, Devos C, Sandra P. Perfiles de sabor no específicos de cervezas tipo lager mediante extracción por extracción con barra agitadora, cromatografía de gases capilar, espectrometría de masas de tiempo de vuelo: alto rendimiento analítico. Revista de cromatografía A. 2021.
10. Boulton, C. A., & Quain, D. (2001). Brewing Science and Practice. CRC Press.

11. R. J. McKenzie, J. J. D. O'Hara, and J. G. L. Williams. The impact of volatile compounds on the sensory quality of beer. *J. Inst. Brew.* 2021;127(4):357-369.