

EVALUACIÓN DE COMPUESTOS AROMÁTICOS EN CERVEZAS DE PRODUCCIÓN ECOLÓGICA Y CONVENCIONAL.

T. Zambrano, M. D. Raigón¹

RESUMEN

Los compuestos aromáticos son de mucha importancia en la cerveza, ya que contribuyen de manera importante a la calidad del producto final. Un gran número de compuestos volátiles, que pertenecen a familias muy heterogéneas tales como alcoholes, ésteres, ácidos orgánicos, aldehídos, cetonas, terpenos, aminas, etc., se han identificado en la cerveza, y las diferentes sustancias puede influir en la cerveza, aroma y sabor, en un grado muy diferente. Algunas sustancias volátiles son importantes sólo en la construcción del sabor de fondo del producto. El principal objetivo de este trabajo fue evaluar los componentes aromáticos de 12 tipos de cerveza y compararlos con la valoración sensorial en olor y sabor. Los tipos de cerveza evaluados fueron de tipo "Weizen", "Stout", "Pilsner" y "Sin alcohol", cada uno de estos tipos de cerveza fueron adquiridos en tres categorías comerciales: ecológicas, convencionales de alta gama y convencionales de baja gama, expeditas en el mercado mayorista. La técnica empleada en la determinación de compuestos aromáticos fue la cromatografía de gases, espacio de cabeza y microextracción en fase sólida (SPME), obteniendo como resultado algunas familias de compuestos antes mencionadas, de los cuales basándonos en un criterio cuantitativo, se obtuvieron 5 componentes aromáticos más relevantes, como son el Etil octanoato, Etil decanoato, Fenil-etil alcohol, 1-pentanol y 4-vinylguayacol. El análisis de las características organolépticas de los diferentes tipos de cerveza se realizó mediante el test de Weiss (1981), encontrando que las cervezas ecológicas fueron las mejor valoradas en cuanto al olor, y el sabor varía en función del tipo de cerveza.

PALABRAS CLAVES: cerveza, compuestos aromáticos, cromatografía de gases, microextracción de fase sólida, ecológico y convencional.

RESUM

Els compostos aromàtics són de molta importància en la cervesa, ja que contribuïxen de manera important a la qualitat del producte final. Un gran nombre de compostos volàtils, que pertanyen a famílies molt heterogènies com ara alcohols, esters, àcids orgànics, aldehids, zètasses, terpens, amines, etc., s'han identificat en la cervesa, i les diferents substàncies pot influir en la cervesa, aroma i sabor, en un grau molt diferent. Algunes substàncies volàtils són importants només en la construcció del sabor de

¹ Departamento de Química. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, s/n. Valencia.

fons del producte. El principal objectiu d'este treball és avaluar els components aromàtics de 12 tipus de cervesa i comparar-los amb la valoració sensorial en olor i sabor. Els tipus de cervesa avaluats van ser de tipus "Weizen", "Stout", "Pilsner" i "Sin alcohol", cada un d'estos tipus de cervesa van ser adquirits en tres categories comercials: ecològiques, convencionals d'alta gamma i convencionals de baixa gamma, expedides en el mercat majorista. La tècnica empleada en la determinació de compostos aromàtica és la cromatografia de gasos, espai de cap i microextracció en fase sòlida (SPME), obtenint com resultat algunes famílies de compostos abans mencionades, dels quals basant-nos en un criteri quantitatiu es van obtenir 5 components aromàtics mes rellevants com és l'Etil octanoato, Etil decanoato, Fenil-etil alcohol, 1-pentanol i 4-vinylguayacol. L'anàlisi de les característiques organolèptiques dels diferents tipus de cervesa es va realitzar per mitjà del test de Weiss (1981), trobant que les cerveses ecològiques van ser les millor valorades quant a l'olor, i el sabor varia en funció del tipus de cervesa.

PARAULES CLAU: cervesa, compostos aromàtics, cromatografia de gasos, microextracció de fase sòlida, ecològic i convencional.

ABSTRACT

The aromatic compounds are of great importance in beer, as they contribute significantly to the final product quality. A large number of volatile compounds belonging to very heterogeneous families such as alcohols, esters, organic acids, aldehydes, ketones, terpenes, amines, etc., have been identified in beer, and different substances may influence the beer, aroma and flavor, in a very different degree. Some volatiles are important only in the construction of background flavor of the product. The main objective of this study is to evaluate the aromatic components of 12 kinds of beer and compare the sensory evaluation in aroma and taste. Types of assessed beer were "Weizen", "Stout", "Pilsner" and "Free alcohol", each of these types of beer were acquired in three business categories: ecological, conventional and high-end conventional low range, acquired in the wholesale market. The technique used in the determination of aromatic compounds was gas chromatography, headspace and solid phase microextraction (SPME), resulting in some families of compounds mentioned above, which based on a quantitative criterion 5 aromatic components obtained more relevant as ethyl octanoate, ethyl decanoate, phenyl ethyl alcohol, 1-pentanol and 4-vinylguayacol. The analysis of the organoleptic characteristics of the different types of beer was carried out using the test Weiss (1981), where green beers were the best rated in terms of aroma, and taste varies depending on the type of beer.

KEYWORDS: beer, aromatic compounds, gas chromatography, microextraction solid, organic and conventional phase

INTRODUCCIÓN

Cerveza, una mezcla muy compleja de componentes que varían ampliamente en los niveles de naturaleza y concentración se elabora a partir de materias primas, incluyendo agua, levadura, malta y lúpulo, y contiene una amplia gama de diferentes componentes químicos que pueden reaccionar e interactuar en todas las etapas del proceso de elaboración de la cerveza (Da Silva et al., 2008). 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 (Torres, 2007).

Se distinguen diferentes tipos de cerveza, entre los cuales destacan por su implicación en este trabajo:

Pilsner: Se conocen como Pilsner aquellas cervezas elaboradas con levaduras de fermentación baja o lagers. Este tipo de levaduras pertenece a la especie de *Saccharomyces calbergensis* que se caracterizan por su capacidad de fermentar a bajas temperaturas (7-12°C). Posteriormente estas cervezas se dejan madurar en frío, a una temperatura cercana a los 0°C; de hecho la palabra lager significa “guarda” en alemán. Este tipo de cerveza es alta en la amargura, el carácter a lúpulo, sulfuro de dimetilo (DMS) y bajo en dulzura y sabor afrutado (Meilgaard, 1982).

Sin alcohol: La cerveza sin alcohol (también llamada cerveza sin, cerveza baja en alcohol) es una cerveza con un contenido muy bajo o nulo de alcohol. La mayoría de las cervezas sin alcohol son *lager*, pero también hay algunas variedades *ale*. En la Unión Europea, la cerveza no puede contener más del 0,5% de alcohol por volumen para ser etiquetada como “sin alcohol”.

Weizen: Cervezas de trigo con cultivos puros de levadura, son cervezas de fermentación alta con una mezcla de trigo y cebada en las que se emplean únicamente levaduras. El trigo, que puede ser crudo o malteado, proporciona a la cerveza un sabor a grano, sobre todo cuando se emplea crudo. Se elaboran a partir de un 40 a un 70% de trigo que, de acuerdo con la Ley de la Pureza Alemana o Reinheitsgebot de 1516, se maltea al igual que la cebada. Normalmente tienen una segunda fermentación en la botella y se suelen embotellar sin filtrar.

Stout Seca: Son cervezas muy oscuras, casi negras con un fuerte sabor a tostado o torrefacto. Esto es debido a que una gran proporción de las maltas que suelen emplear en su elaboración se tuestan hasta un grado semejante al de los granos de café. En su proceso de fabricación se utilizan levaduras propias de las cervezas tipo ale, que proporcionan un toque afrutado al sabor tostado de las maltas, es más alto en sabor a caramelo, pero también es alta en carácter a lúpulo, amargura y acidez, (Meilgaard, 1982).

Varios métodos de concentración-extracción se han empleado para el análisis de compuestos volátiles en cervezas, tales como la extracción líquido-líquido (Wei et al. 2001), la extracción simultánea (Guido et al. 2004), extracción en fase sólida de destilación (Goiris et al. 2002), extracción

supercrítica de fluidos, etc. La mayoría de estos métodos producen extractos con una composición de sabor que es representativa de la matriz líquida y no de la cámara de aire.

Para minimizar los impactos analíticos en la determinación de componentes aromáticos, se emplea una instrumentación especial acoplada al cromatógrafo de gases para atrapar los volátiles (técnica de espacio de cabeza y la microextracción en fase sólida, HS-SPME) (Scarlata y Ebele, 1999), que es una técnica simple, rápida, sensible y libre de disolvente de extracción que permite realizar la extracción y los pasos de concentración simultáneamente.

El principal objetivo de este trabajo es la determinación de compuestos volátiles en distintos tipos de cerveza según el método HS-SPME, y tipificar las cervezas atendiendo a la composición de sustancias aromáticas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los tipos de cerveza evaluados son:

- Cerveza A tipo “Weizen”,
- Cerveza B tipo “Stout”,
- Cerveza C tipo “Pilsner” y
- Cerveza D tipo “Sin Alcohol”.

Cada uno de estos tipos de cervezas fueron adquiridos en tres categorías comerciales: ecológicas, convencionales de alta gama, y convencionales de baja gama, expandidas en el mercado mayorista, obteniendo en total 12 muestras de cerveza (Tabla 1).

TABLA 1. Tipos de cerveza estudiadas.

Tipo de cerveza	Tipo de producción		
	Ecológicas	Convencionales alta gama	Convencionales mercado mayorista
Weizen	A1	A2	A3
Stout	B1	B2	B3
Pilsner	C1	C2	C3
Sin Alcohol	D1	D2	D3

Preparación de la muestra

Se determinó según la metodología descrita por Liu *et al.* (2005), con algunas modificaciones. Las muestras de cerveza se enfriaron a 4°C para minimizar la pérdida de compuestos muy volátiles. En un vaso de precipitados se pesaron 5 g de la muestra homogeneizada y se añadieron 2 g de NaCl (para mantener los compuestos volátiles, evitando su pérdida y favoreciendo su detección), manteniendo en agitación mecánica y suave durante 2 minutos (la agitación manual de la muestra acelera el proceso de extracción).

A continuación se vertió la muestra homogénea en un vial de vidrio de 5 mL con tapón rosca y septum para su inmediata inyección en el cromatógrafo de gases-masas. El análisis de las muestras se realizó por triplicado.

Espacio de cabeza y SPME

Se utilizó un conjunto de fibras de 65 μm PDMS/DVB, satbleflex, 23Ga (Supelco, Bellefonte, PA, USA). Los viales de muestra se equilibraron durante 20 min a 20°C en un baño ultrasónico, seguido por la exposición de fibra para el espacio de cabeza de 30 min. Después, la mezcla se mezcló a fondo por agitación ultrasónica (30 min) a 20°C (análisis controlado por termostato). Posteriormente, la aguja de acero inoxidable en el que se aloja la fibra se empuja a través del septo del vial, permitiendo que la fibra sea expuesta al espacio de cabeza de la muestra durante 20 min.

La fibra se detuvo en la funda de la aguja y el dispositivo de SPME se retiró del vial y se insertó en el puerto de inyección del sistema de GC para la desorción térmica. Durante el proceso de inyección de la fibra se mantuvo durante 10 min, en el modo sin división.

Cromatografía

Los análisis se realizaron utilizando un equipo de GC Agilent technologies 6890N Network, compuesto por un inyector splitless adecuado para el análisis de SPME y un detector de espectrofotometría de masas Agilent technologies 5973 inert mass selective detector.

Se utilizó helio como gas portador a un flujo constante de 1 $\mu\text{L}/\text{min}$. Los componentes se separaron en una columna J&W (HP-5MS) de Agilent de 30m \times 0,251mm \times 0,25 μm y composición (5%-fenil)-metilpolisiloxano. El programa de temperatura del horno fue de 40°C con un hold time de 1 minuto, rampa 1: hasta 200°C con un ratio de 5°C/min con un hold time de 1 minuto, rampa 2: hasta 250°C con un ratio de 15°C/min con un hold time de 3 minutos. La temperatura del inyector se fijó de acuerdo con la naturaleza de la fibra utilizada, cercana a la temperatura máxima recomendada por el fabricante, esto permite evitar un acarreo significativo en efecto.

La detección se realizó mediante espectrometría de masas en la corriente iónica total obtenida por impacto electrónico a 70 eV. Los constituyentes se identificaron mediante la comparación de los espectros experimentales con los del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST, 2008), con base en la resolución de los picos, sus áreas se calcularon ya sea desde la corriente total de iones o estimados a partir de las integraciones realizadas en iones seleccionados. Las áreas de los picos resultantes se expresaron en unidades arbitrarias de área.

Análisis Sensorial

El análisis de las características organolépticas de los diferentes tipos de cerveza se realizó mediante el test de Weiss (1981). Consiste en una cata a ciegas, que analiza parámetros o características organolépticas como el olor y sabor, de una forma global y directa.

Para la cata se ubicaron los diferentes tipos de cerveza en recipientes transparentes, debidamente identificados por códigos, donde los evaluadores procedieron a su valoración. El panel de evaluadores no entrenados estuvo formado por personas de ambos sexos que se eligieron según edades comprendidas entre 18 y 55 años. Los evaluadores calificaron

las dos características sobre la diagonal de una cuadrícula, desde desagradable hasta agradable. Posteriormente, los datos obtenidos sobre la cuadrícula se extrapolaron a un rango de 0 a 10, donde 0 corresponde a totalmente desagradable y 10 corresponde a totalmente agradable para el catador. Los resultados finales se obtuvieron a partir del promedio de las valoraciones para cada parámetro.

Datos y análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a análisis de la varianza, utilizando el software estadístico Statgraphics® (V16.2.04). Los datos están expresados como media \pm error estándar. La bondad del ajuste respecto a los valores experimentales fue evaluada con ANOVA multifactorial, error estándar de estimación y la menor diferencia significativa del test de Fisher (F-test) y el p-valor derivado como se describe por Ott (1977). Los resultados se consideran significativos cuando $p \leq 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 2 muestra los valores porcentuales de los componentes encontrados en las cervezas clasificados por familias químicas, encontrando que el mayor grupo de sustancias químicas se deben a otros compuestos (20%), esterés saturados (18,95%) y alcoholes (12,63%).

TABLA 2. Porcentajes (%) de las familias químicas.

Familias químicas	Presencia (%)
Otros compuestos	20,00
Esterés saturados	18,95
Alcoholes	12,63
Sequiterpenos oxigenados	6,32
Monoterpenos	5,26
Ácidos carboxílicos	5,26
Alcanos	4,21
Otros ésteres	4,21
Sequiterpenos no oxigenados	4,21
Compuestos nitrogenados y de azufre	4,21
Compuestos No carotenoides	4,21
Aldehídos	4,21
Hidrocarburos aromáticos tipo ftalida	3,16
Cetonas y metilcetonas	2,11
Furanos	1,05

En la tabla 3 se observa la relación detallada de los componentes aromáticos de las cervezas que están dentro de la categoría de otros compuestos. Se aprecia que los componentes que aparecen en todas las cervezas, con el mayor porcentaje son el fenil-etil alcohol (pA) (70-97%), metoxifenil-oxima (0,47-6,95%) y benzaldehído (0,16-17,16%). De estos compuestos el pA fue analizado.

TABLA 3. Valores medios de los compuestos categoría “otros compuestos” analizados por tipo de cerveza.

COMPUESTOS	TIPO DE CERVEZA											
	A1	B1	C1	D1	A2	B2	C2	D2	A3	B3	C3	D3
2-furanmenthol	-	-	-	-	-	1,1E+07	-	-	-	1,7E+06	1,8E+06	-
Metoxifenil-oxima	4,4E+06	4,3E+06	4,8E+06	6,6E+06	8,2E+06	5,8E+06	4,2E+06	3,3E+06	6,4E+06	4,1E+06	7,1E+06	6,6E+06
Benzaldehído	1,3E+06	2,7E+06	5,5E+05	1,6E+07	2,3E+06	4,9E+06	1,2E+06	2,6E+06	1,8E+06	1,6E+06	3,8E+06	2,8E+06
Guayacol	-	-	-	-	-	3,0E+06	-	-	-	6,9E+06	-	-
Fenil-etil alcohol	7,3E+08	8,2E+08	6,9E+08	1,5E+07	8,0E+08	6,7E+08	6,4E+08	2,0E+08	7,6E+08	8,1E+08	1,2E+09	5,0E+08
Citronelilo acetato o citronelol acetato	-	1,8E+06	-	-	1,3E+06	-	2,7E+06	-	-	-	3,9E+06	-
γ -nonalactona	4,5E+06	4,9E+06	6,1E+06	1,2E+06	5,1E+06	4,8E+06	3,2E+06	2,3E+06	5,2E+06	6,5E+06	7,3E+06	4,1E+06
Fenol,2,5-di-tert-butil-	-	1,1E+06	-	7,8E+05	7,3E+05	4,7E+05	8,1E+05	-	1,9E+05	-	-	-
Hidroxitolueno butilado	4,5E+07	7,1E+07	3,8E+07	3,5E+07	5,5E+05	2,6E+07	1,6E+07	4,4E+07	9,3E+06	-	-	-
Globulol	5,7E+05	-	-	1,7E+06	5,7E+05	2,5E+06	3,9E+06	3,3E+06	2,6E+06	2,8E+06	1,8E+06	3,3E+06
Alfa-ionol	-	-	-	4,7E+05	-	-	-	-	-	-	-	-
γ -eudesmol	4,5E+06	1,2E+07	4,0E+06	4,4 E+06	-	-	-	-	-	-	-	-
Hinesol	-	-	1,6E+06	9,9 E+05	-	-	-	-	-	-	-	-
Éter bencílico	3,5E+06	3,5 E+06	3,8E+06	3,2 E+06	-	-	-	-	-	-	-	-
Dihidrojasmonato de metilo	-	-	-	-	4,4E+05	3,0E+05	5,5E+05	1,9E+06	4,3E+05	1,2E+06	1,1E+06	1,1E+06
β -eudesmol	2,3E+06	1,7 E+06	4,1E+06	2,6 E+06	-	-	-	-	-	-	-	-
α -eudesmol	3,7E+06	3,5 E+06	4,8 E+06	4,8 E+06	-	-	-	1,5E+06	-	-	-	-
Enebro alcanfor	9,6E+05	5,6E+05	1,1E+06	4,9 E+05	-	-	-	-	-	-	-	-
Farnesol acetato	-	5,8E+05	-	6,1 E+05	3,8E+05	-	-	-	4,4E+05	-	-	-

En la tabla 4 se observa la relación detallada de los componentes aromáticos de las cervezas que están dentro de la categoría de ésteres saturados. Los componentes que aparecen en todas las cervezas con el mayor porcentaje son el etil octanoato (eO) (30-92%) y etil decaonato (5,18-35%). Estos compuestos fueron los analizados.

TABLA 4. Valores medios de los compuestos categoría ésteres saturados analizados por tipo de cerveza.

COMPUESTOS	TIPO DE CERVEZA											
	A1	B1	C1	D1	A2	B2	C2	D2	A3	B3	C3	D3
Etil hexanoato	3,1E+07	1,8E+07	-	-	-	-	4,3E+07	1,1E+07	-	-	1,3E+07	1,4E+07
Etil octanoato	5,3E+08	2,0E+08	7,6E+08	9,8E+06	1,8E+08	6,2E+07	1,8E+08	2,8E+07	8,93+07	2,6E+08	1,7E+08	7,9E+06
Etil 3-piridincarboxilato	1,3E+06	2,2E+06	2,0E+06	-	1,1E+06	8,2E+06	5,0E+05	-	-	2,4E+06	4,4E+06	-
Etil 2- feniletanoato	1,4E+06	9,8E+05	-	-	-	2,5E+06	1,0E+06	-	-	-	1,5E+06	-
Isopentilo hexanoato	1,0E+06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Etil nonanoato	7,5E+06	8,7E+05	2,0E+06	-	7,9E+05	6,3E+05	1,5E+06	-	7,7E+05	1,4E+06	8,4E+05	-
Etil 3-fenilpropanoato	1,3E+06	2,8E+06	1,6E+06	-	5,2E+05	7,7E+05	2,8E+06	-	-	1,3E+06	8,3E+05	-
Etil trans-4-decanoato	1,2E+06	8,1E+05	7,0E+05	4,5E+06	9,9E+06	1,4E+06	4,7E+05	-	1,4E+06	1,3E+06	-	-
Etil decanoato	2,2E+08	1,1E+08	4,2E+07	1,9E+06	1,1E+08	2,8E+07	4,3E+07	5,9E+06	5,0E+07	7,7E+07	2,6E+07	3,7E+06
2-feniletil-2-metilpropanoato	-	3,2E+06	2,1E+06	-	-	-	4,7E+06	4,8E+05	-	1,7E+06	7,7E+05	4,7E+05
Isopentilo octanoato	9,1E+06	1,0E+06	7,6E+05	-	1,1E+06	2,8E+05	6,5E+05	-	9,6E+05	4,3E+05	-	-
Etil 3-fenilpropenoato	-	8,4E+05	6,1E+05	-	-	2,4E+05	6,9E+05	-	-	1,3E+06	5,5E+05	-
Etil undecanoato	2,2E+06	-	-	-	-	-	-	-	-	1,8E+06	-	-
Etil dodecanoato	3,5E+07	1,0E+08	7,4E+06	1,3E+06	6,9E+06	1,1E+07	9,1E+06	1,9E+06	1,4E+06	7,7E+06	5,0E+05	-
Isopentil decanoato	3,4E+06	4,8E+06	-	-	5,7E+05	-	5,1E+06	-	-	-	-	-
Etil tetradecanoato	1,4E+07	1,2E+06	7,6E+05	8,7E+05	-	2,3E+05	2,0E+05	-	-	-	-	-
Etil 9-hexadecanoato	6,8E+06	-	-	4,7E+05	6,2E+05	-	-	-	1,1E+06	-	-	-
Etil hexadecanoato	7,1E+06	4,7E+05	-	9,3E+05	5,1E+05	8,6E+05	-	-	2,8E+05	1,1E+06	-	-

En la tabla 5 se observa la relación detallada de los componentes aromáticos de las cervezas que están dentro de la categoría de alcoholes. Los componentes que aparecen en todas las cervezas con el mayor porcentaje son el 1-pentanol (1-p) (9,93-86,04%) y 4-vinilguayacol (2,72-69,58%). Estos compuestos fueron los analizados.

TABLA 5. Valores medios de los compuestos categoría alcoholes analizados por tipo de cerveza.

COMPUESTOS	TIPO DE CERVEZA											
	A1	B1	C1	D1	A2	B2	C2	D2	A3	B3	C3	D3
1-pentanol	1,3E+08	1,2E+08	4,9E+07	1,9E+06	4,7E+07	6,4E+07	1,9E+08	3,5E+07	3,8E+07	1,1E+08	9,1E+07	4,1E+07
1-heptanol	3,5E+06			-					1,1E+06			
1-Hexanol, 2-etil	1,1E+06	2,8E+06	-	1,1E+07	5,1E+05	9,8E+05	7,7E+06	4,7E+06	-	3,3E+06	2,1E+06	4,3E+06
1-octanol	2,0E+06	2,3E+06	1,2E+06	8,4E+05	7,3E+05	1,8E+06	1,4E+07	8,2E+05	-	4,3E+06	3,4E+06	1,7E+06
2-nonanol	-	-	1,9E+06	-	-	-	-	-	-	-	1,3E+06	2,2E+06
6-metil-1-octanol	1,4E+06	1,4E+06	2,0E+06	2,1E+06	1,4E+06	1,4E+06	1,4E+06	2,0E+06	9,9E+05	-	1,5E+06	2,4E+06
1-nonanol	-	-	1,3E+06	-	-	-	-	-	-	-	2,7E+06	3,8E+06
9-decen-1-ol	1,8E+06	-	7,6E+05	-	-	-	-	-	-	-	8,8E+05	-
1-decanol	5,8E+06	4,8E+06	4,2E+06	-	4,3E+06	-	1,6E+07	1,3E+06	4,7E+06	7,9E+06	1,0E+07	7,0E+06
2-undecanol	1,2E+06	5,2E+05	8,9E+05	-	-	-	-	-	2,6E+05	8,5E+05		6,5E+05
4-vinylguayacol	8,8E+07	7,1E+06	1,9E+07	2,6E+06	1,2E+08	4,5E+06	6,4E+06	1,1E+07	8,3E+07	5,5E+06	2,2E+07	8,5E+06
Cariofileno alcohol	-	4,6E+05	-	6,3E+05	-	1,6E+06	1,1E+06	1,6E+06	7,9E+05	2,3E+06	5,6E+05	7,8E+05

En la tabla 6 se observa la relación detallada de los componentes aromáticos de las cervezas que están dentro de la categoría de sesquiterpenos no oxigenados/oxigenados.

TABLA 6. Valores medios de los compuestos categoría de sesquiterpenos (no) oxigenados analizados por tipo de cerveza.

COMPUESTOS	TIPO DE CERVEZA											
	A1	B1	C1	D1	A2	B2	C2	D2	A3	B3	C3	D3
β -cariofileno	-	-	-	-	-	6,6E+05	-	-	1,8E+06	6,2E+05	-	-
α -humuleno	-	-	-	-	8,3E+05	-	7,2E+05	-	7,6E+06	2,2E+06	9,2E+05	1,2E+06
γ -cadineno	-	-	-	-	-	3,6E+05	-	-	-	-	-	-
β -cadineno	-	-	-	-	-	6,2E+05	-	-	9,5E+05	9,7E+05	-	-
Nerolidol	3,5E+06	3,0E+06	2,8E+06	-	2,6E+06	9,1E+05	2,6E+06	5,6E+05	3,6E+06	2,3E+06	9,3E+05	6,2E+05
Cubenol	-	-	-	-			7,3E+05	1,3E+06	4,2E+05	3,1E+06	6,1E+05	7,5E+05

Longiborneol	-	-	-	-	1,4E+05	6,3E+05	2,3E+06	-	1,8E+06	1,8E+06	-	-
Tau-cadinol	-	-	-	-	-	5,7E+05	-	-	1,2E+06	1,6E+06	-	-
α-cadinol	-	-	-	-	-	-	1,7E+06	-	6,4E+05	1,5E+06	-	4,6E+05
Farnesol	4,7E+05	-	-	-	-	-	-	-	5,3E+05	-	-	-

En la tabla 7 se observa la relación detallada de los componentes aromáticos de las cervezas que están dentro de la categoría de monoterpenos.

TABLA 7. Valores medios de los compuestos categoría de monoterpenos analizados por tipo de cerveza.

COMPUESTOS	TIPO DE CERVEZA											
	A1	B1	C1	D1	A2	B2	C2	D2	A3	B3	C3	D3
β-pinene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,9E+06
Linalol	1,2E+07	9,5E+06	1,6E+07	1,1E+07	-	2,1E+06	7,9E+06	2,1E+06	6,2E+05	8,2E+06	1,5E+06	2,1E+06
α-terpineol	-	-	-	3,7E+06	-	-	-	1,1E+06	-	-	-	1,5E+06
β-citronelol	1,5E+06	8,1E+05	1,2E+06	-	1,8E+06	-	2,4E+06	7,3E+05	5,9E+05	2,7E+06	1,7E+06	6,0E+05
Nerol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1E+08	-	-

En la tabla 8 se observa la relación detallada de los componentes aromáticos de las cervezas que están dentro de la categoría de ácidos carboxílicos.

TABLA 8. Valores medios de los compuestos categoría de ácidos carboxílicos analizados por tipo de cerveza.

COMPUESTOS	TIPO DE CERVEZA											
	A1	B1	C1	D1	A2	B2	C2	D2	A3	B3	C3	D3
Ácido hexanoico	2,8E+07	3,0E+07	3,6E+07	6,4E+06	2,8E+07	3,1E+07	1,7E+07	1,1E+07	2,8E+07	3,4E+07	2,4E+07	1,4E+07
Ácido heptanoico	-	9,8E+05	2,5E+05	1,3E+06	1,2E+06	1,0E+06	4,9E+05	7,2E+05	9,4E+05	1,7E+06	4,7E+05	6,0E+05
Ácido octanoico	9,1E+07	9,6E+07	1,0E+08	3,4E+06	-	7,6E+07	9,5E+07	6,5E+07	1,1E+08	1,2E+08	1,0E+08	3,5E+07
Ácido nonanoico	-	1,2E+06	-	-	-	-	-	-	-	1,0E+07	5,0E+06	-
Ácido decanoico	9,8E+05	5,3E+06	3,5E+06	-	2,4E+07	3,2E+06	-	8,2E+06	-	1,6E+07	7,0E+06	-

En la tabla 9 se observa la relación detallada de los componentes aromáticos de las cervezas que están dentro de la categoría de otros ésteres.

TABLA 9. Valores medios de los compuestos categoría de otros ésteres analizados por tipo de cerveza.

COMPUESTOS	TIPO DE CERVEZA											
	A1	B1	C1	D1	A2	B2	C2	D2	A3	B3	C3	D3
1-butanol,3-metil-acetato	2,3E+07	1,3E+07	6,9E+06	-	2,4E+05	5,6E+05	7,2E+07	1,3E+07	-	2,3E+07	5,4E+06	4,1E+06
Acetato de octilo	1,1E+06	2,0E+06	1,5E+06	-	1,5E+06	-	7,3E+06	7,9E+05	8,0E+05	3,0E+06	2,4E+06	9,6E+05
β -feniletil acetato	3,5E+08	2,7E+08	2,0E+08	5,6E+06	2,5E+08	3,1E+07	3,5E+08	6,8E+07	1,6E+08	-	1,5E+08	4,5E+07
Metil geranato	6,9E+05	-	3,3E+05	-	-	-	1,3E+06	-	4,5E+05	-	-	9,7E+05

En la tabla 10 se observa la relación detallada de los componentes aromáticos de las cervezas que están dentro de la categoría de compuestos nitrogenados y de azufre.

TABLA 10. Valores medios de los compuestos categoría de compuestos nitrogenados y de azufre analizados por tipo de cerveza.

COMPUESTOS	TIPO DE CERVEZA											
	A1	B1	C1	D1	A2	B2	C2	D2	A3	B3	C3	D3
1-propanol,3-(metiltio)	3,7E+06	-	-	-	3,9E+06	9,9E+06	-	-	3,9E+06	4,3E+06	6,4E+06	-
2-acetilpirrol	1,1E+06	6,1E+06	-	1,0E+06	2,3E+06	2,0E+06	-	-	-	1,5E+06	-	-
Ácido Propanoico 3-(1-metiletiltio)-	-	-	-	-	-	-	-	6,7E+05	5,4E+06	-	2,9E+06	-
Alilo(bencil)sulfuro	9,7E+05	9,4E+05	7,4E+05	-	-	7,5E+05	7,7E+05	-	8,3E+05	9,5E+05	7,3E+05	-

En la tabla 11 se observa la relación detallada de los componentes aromáticos de las cervezas que están dentro de la categoría de “no carotenoides”.

TABLA 11. Valores medios de los compuestos categoría de “no carotenoides” analizados por tipo de cerveza.

COMPUESTOS	TIPO DE CERVEZA											
	A1	B1	C1	D1	A2	B2	C2	D2	A3	B3	C3	D3
α -ioneno	-	-	-	-	-	6,2E+05	-	3,2E+05	1,3E+06	1,0E+06	-	-

Geranilacetona	2,1E+06	2,1E+06	2,3E+06	4,1E+06	-	7,3E+05	1,2E+06	6,3E+05	3,0E+06	1,4E+06	2,5E+06	1,8E+06
α-ioneno, isometil	-	-	-	-	6,5E+05	-	1,0E+06	-	-	9,0E+05	-	-
β-ionono,metil-	1,1E+06	4,9E+05	1,5E+06	7,1E+05	1,4E+06	4,7E+05	1,3E+06	1,1E+06	1,0E+06	1,1E+06	1,3E+06	6,5E+05

En la tabla 12 se observa la relación detallada de los componentes aromáticos de las cervezas que están dentro de la categoría de aldehídos.

TABLA 12. Valores medios de los compuestos categoría de aldehídos analizados por tipo de cerveza.

COMPUESTOS	TIPO DE CERVEZA											
	A1	B1	C1	D1	A2	B2	C2	D2	A3	B3	C3	D3
Nonanal	3,1E+06	-	7,8E+06	6,8E+06	2,0E+06	2,6E+06	4,6E+06	2,3E+06	1,7E+06	7,1E+06	3,3E+06	3,9E+06
Trans-2-nonenal	-	-	-	-	-	-	-	8,0E+05	-	8,0E+05	7,1E+05	-
Decanal	6,0E+06	2,9E+07	3,2E+07	7,7E+06	4,8E+06	3,4E+06	8,8E+06	3,0E+06	3,2E+06	1,1E+07	6,7E+06	5,4E+06
Undecanal	9,0E+05	1,4E+05	1,0E+06	7,3E+05	6,9E+05	3,8E+05	9,6E+05	3,6E+05	5,0E+05	2,6E+06	7,9E+05	5,4E+05

En la tabla 13 se observa la relación detallada de los componentes aromáticos de las cervezas que están dentro de la categoría de alcanos.

TABLA 13. Valores medios de los compuestos categoría de alcanos analizados por tipo de cerveza.

COMPUESTOS	TIPO DE CERVEZA											
	A1	B1	C1	D1	A2	B2	C2	D2	A3	B3	C3	D3
Tetradecano	1,9E+06	1,1E+06	9,9E+05	6,6E+05	1,2E+06	9,6E+05	1,3E+06	5,1E+05	1,3E+06	1,6E+06	-	-
Pentadecano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,4E+05	-
Hexadecano	3,1E+06	9,3E+05	-	5,0E+05	8,5E+05	9,3E+05	1,2E+06	-	-	9,6E+05	8,5E+05	7,6E+05
Heptadecano	-	-	-	-	-	1,8E+05	-	-	-	4,9E+05	5,6E+05	5,4E+05

En la tabla 14 se observa la relación detallada de los componentes aromáticos de las cervezas que están dentro de la categoría de hidrocarburos aromáticos, tipo ftalida.

TABLA14. Valores medios de los compuestos categoría de hidrocarburos aromáticos, tipo ftalida analizados por tipo de cerveza.

COMPUESTOS	TIPO DE CERVEZA											
	A1	B1	C1	D1	A2	B2	C2	D2	A3	B3	C3	D3
Ftalato dietílico	-	-	1,0E+06	1,1E+06	5,2E+05	4,5E+05	1,5E+06	9,1E+05	3,2E+06	7,8E+05	1,0E+06	1,2E+06
Ácido ftálico, disobutilester	5,3E+06	3,1E+06	4,2E+06	3,8E+06	4,5E+06	2,2E+06	3,7E+06	1,0E+07	3,6E+06	6,5E+06	7,3E+06	7,4E+06
Ftalato de dibutilo	5,9E+05	3,4E+05	4,7E+05	3,6E+05	4,5E+05	-	3,8E+05	9,1E+05	-	1,3E+06	9,5E+05	8,3E+05

En la tabla 15 se observa la relación detallada de los componentes aromáticos de las cervezas que están dentro de la categoría de cetonas y metilcetonas.

TABLA15. Valores medios de los compuestos categoría de Cetonas y metilcetonas analizados por tipo de cerveza.

COMPUESTOS	TIPO DE CERVEZA											
	A1	B1	C1	D1	A2	B2	C2	D2	A3	B3	C3	D3
2-undecanono	-	-	-	1,6E+06	-	-	-	5,3E+05	-	-	-	8,3E+05
β-damascenone	-	-	-	3,6E+06	-	3,2E+06	1,1E+07	-	-	2,2E+07	1,3E+07	3,7E+06

En la tabla 16 se observa la relación detallada de los componentes aromáticos de las cervezas que están dentro de la categoría de furanos.

TABLA 16. Valores medios de los compuestos categoría de furanos analizados por tipo de cerveza.

COMPUESTOS	TIPO DE CERVEZA											
	A1	B1	C1	D1	A2	B2	C2	D2	A3	B3	C3	D3
Benzofurano,2,3-dihydro-	9,3E+06	1,0E+06	2,2E+06	-	1,6E+07	-	4,8E+05	1,0E+06	1,2E+07	-	1,1E+06	9,4E+05

De las tres familias con mayor porcentaje, se obtuvieron los componentes aromáticos más representativos detallados en la tabla 17, como son el etil octanoato (eO) que se caracteriza por ser un aroma con descripción frutal (piña, manzana) y a brandi, el etil decanoato (eD) que es un aroma con descripción afrutado y a cognac, estos ésteres se forman durante la síntesis de los ácidos grasos y por la pérdida de células de levadura; el fenil-etil alcohol (pA) un aroma con descripción floral y rosas, el 1-pentanol (1-p) que en combinación con ácidos (butanoico o acético) forman olores a albaricoque y a plátano, estos alcoholes son el principal producto de la fermentación por levaduras, y el 4-vinylguayacol (1-v) con aromas a clavo de olor, fenol, este último, específico de la cerveza de trigo, formada durante la fermentación por el ácido ferúlico (también precursor de la vainillina).

TABLA 17. Valores medios y desviaciones estándar de los compuestos analizados por tipo de cerveza.

COMPUESTO	TIPO DE CERVEZA	TIPO DE PRODUCCIÓN		
		Ecológica	Convencionales alta gama	Convencionales mercado mayorista
Etil octanoato (eO)	Trigo	5,36E+08 (7,38E+07) ^b	1,83E+08 (1,39E+08) ^a	8,9E+07 (1,65E+07) ^a
	Negra	2,03E+08 (3,92E+08) ^{ab}	6,22E+07 (5,87E+07) ^a	2,6E+08 (1,13E+08) ^b
	Pilsen	7,66E+08 (8,79E+08) ^a	1,9E+08 (2,2E+07) ^a	1,7E+08 (1,33E+08) ^a
	Sin Alcohol	1E+07 (3E+06) ^a	2,9E+07 (9,65E+06) ^b	8,0E+06 (3,15E+06) ^a
Etil decanoato (eD)	Trigo	2,26E+08 (2,13E+07) ^c	1,17E+08 (1,899E+07) ^b	5,09E+07 (5,71E+06) ^a
	Negra	1,15E+08 (1,45E+07) ^c	2,85E+07 (6,32E+06) ^a	7,79E+07 (2,07E+07) ^b
	Pilsen	4,29E+07 (9,11E+06) ^b	4,34E+07 (5,51E+06) ^b	2,64E+07 (7,73E+06) ^a
	Sin Alcohol	1,97E+06 (3,49E+05) ^a	5,95E+06 (1,18E+06) ^c	3,78E+06 (6,31E+05) ^b
Fenil etil alcohol (pA)	Trigo	7,36E+08 (5,48E+07) ^a	8,08E+08 (7,15E+07) ^a	7,68E+08 (3,28E+06) ^a
	Negra	8,21E+08 (1,12E+07) ^a	6,75E+08 (1,02E+08) ^a	8,12E+08 (1,34E+08) ^a
	Pilsen	6,9 E+08 (1,1E+08) ^a	6,43E+08 (6,64E+07) ^a	8,13E+08 (1,95E+08) ^a
	Sin Alcohol	1,53E+07 (9,82E+05) ^a	2,07E+08 (7,78E+08) ^b	3,34E+08 (8,73E+07) ^c
1-Pentanol	Trigo	1,39E+08 (5,99E+07) ^b	4,79E+07 (3,57E+07) ^a	3,89E+07 (1,86E+07) ^a
	Negra	1,28E+08 (2,33E+07) ^a	6,49E+07 (7,23E+07) ^a	1,195E+08 (7,217E+07) ^a
	Pilsen	4,95E+07 (3,88E+07) ^a	1,91E+08 (1,21E+07) ^b	9,07E+07 (5,94E+07) ^a
	Sin Alcohol	1,97E+06 (1,32E+06) ^a	3,5E+07 (1,9E+07) ^b	4,124E+07 (1,398E+07) ^b
4-vinylguayacol	Trigo	8,89E+07 (5,17E+06) ^a	1,25E+08 (1,89E+06) ^b	8,32E+07 (4,98E+06) ^a
	Negra	7,14E+06 (2,72E+06) ^a	4,54E+06 (4,94E+05) ^a	5,57E+06 (9,46E+05) ^a
	Pilsen	1,95E+07 (3,51E+06) ^b	6,48E+06 (8,59E+05) ^a	2,29E+07 (5,25E+06) ^b
	Sin Alcohol	2,66E+06 (1,95E+06) ^a	1,14E+07 (9,82E+05) ^b	8,59E+06 (1,21E+06) ^b

a-c: superíndices diferentes dentro de la misma fila indican diferencias significativas entre los distintos tipos de producción ($p < 0.05$).

En la figura 1 se muestran los valores de la comparación de las medias obtenidas usando la prueba de Fisher LSD con un intervalo de confianza correspondiente al 5% ($p < 0,05$). Para el compuesto etil octanoato (eO), la mayor concentración se obtiene para las cervezas de producción ecológica, con diferencias estadísticamente significativas frente a las cervezas de producción convencional, tanto de gama alta, como baja; resultados similares se observan para el etil decanoato (eD), que muestra la mayor concentración en las cervezas ecológicas, con diferencias estadísticamente significativas respecto a las concentraciones encontradas en las cervezas convencionales de gama alta y baja. El fenil-etil alcohol (pA) presenta una mayor concentración en las cervezas de baja gama con diferencias

estadísticamente significativas respecto a los valores de este compuesto en las cervezas de producción ecológicas y las convencionales de gama alta. Las concentraciones del 1-pentanol (1-p) no difieren estadísticamente en los contenidos encontrados para los grupos de cervezas, siendo éste uno de los compuestos perteneciente a la familia de alcoholes más comunmente detectado en el ensayo de cromatografía de gases. El componente 4-vinylguayacol (4-v), componente característico de aroma representativo de las cervezas de trigo, presenta las mayores concentraciones en las cervezas convencionales de gama alta, siendo sus contenidos estadísticamente significativos frente a los encontrados para el total de las cervezas ecológicas y de las convencionales de gama baja.

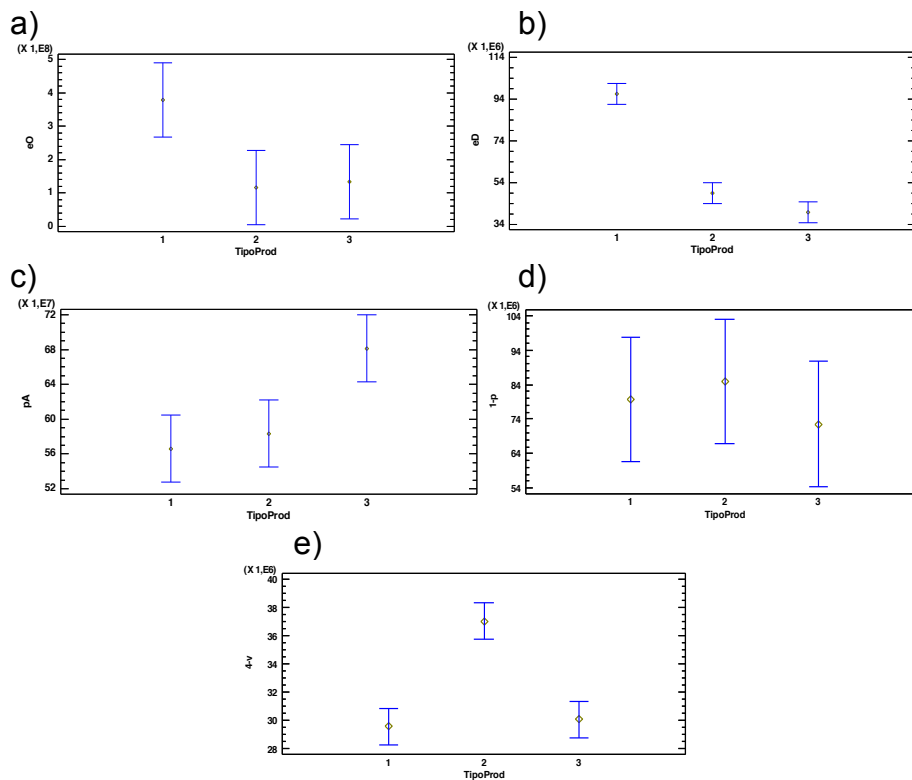


FIGURA 1. Valores medios e intervalos Fisher LSD según el tipo de producción y el contenido de los compuestos a) etil octaonato (eO), b) etil decaonato (eD), c) fenil etil alcohol (pA), d) 1-pentanol (1-p) y e) del contenido de 4-vinylguayacol (4-v).

La figura 2 muestra los resultados de la valoración organoléptica del atributo “sabor”, en función de los tipos de producción y tipo de cerveza evaluados en este ensayo. La figura 3 muestra los resultados estadísticos de este parámetro al aplicar la prueba estadística de Fisher LSD con un intervalo de confianza menor o igual al 5% ($p < 0,05$).

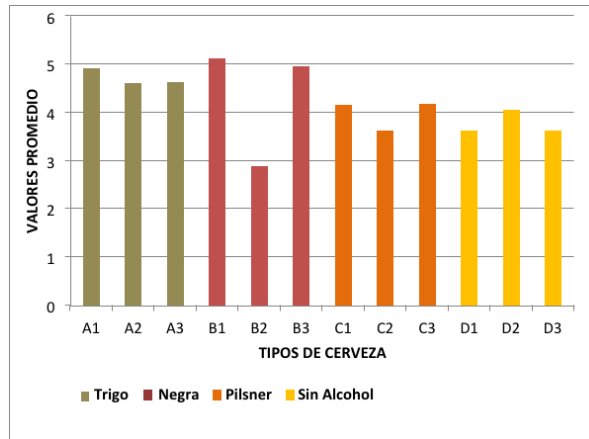


FIGURA 2. Resultados de la valoración organoléptica del sabor de los diferentes tipos de cerveza y tipo de producción.

Existen diferencias estadísticamente significativas para los valores promedio del sabor, para el caso de la cerveza Stout, donde las cervezas de alta gama fueron peor valoradas que las ecológicas y convencionales de baja gama. En el resto de tipos de cervezas, las valoraciones del sabor fueron similares para todos los grupos de producción.

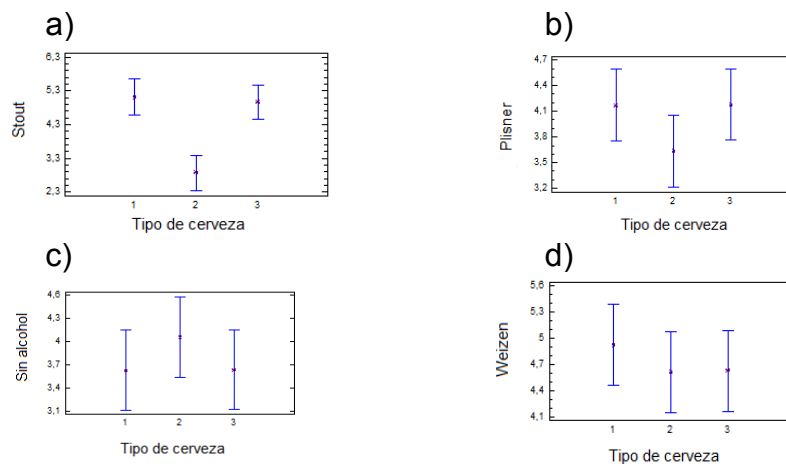


FIGURA 3. Valores medios e intervalos Fisher LSD para la valoración del sabor. a) Cerveza Stout, b) Cerveza Pilsner, c) Cerveza sin alcohol y d) Cerveza Weizen.

La figura 4 muestra los resultados de la valoración organoléptica del atributo “olor”, en función de los tipos de producción y tipo de cerveza evaluados en este ensayo. La figura 5 muestra los resultados estadísticos de este parámetro al aplicar la prueba estadística de Fisher LSD con un intervalo de confianza menor o igual al 5% ($p < 0,05$).

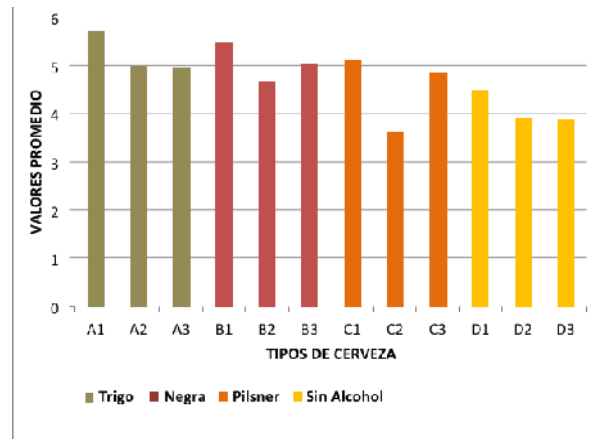


FIGURA 4. Resultados de la valoración organoléptica del olor de los diferentes tipos de cerveza y tipo de producción.

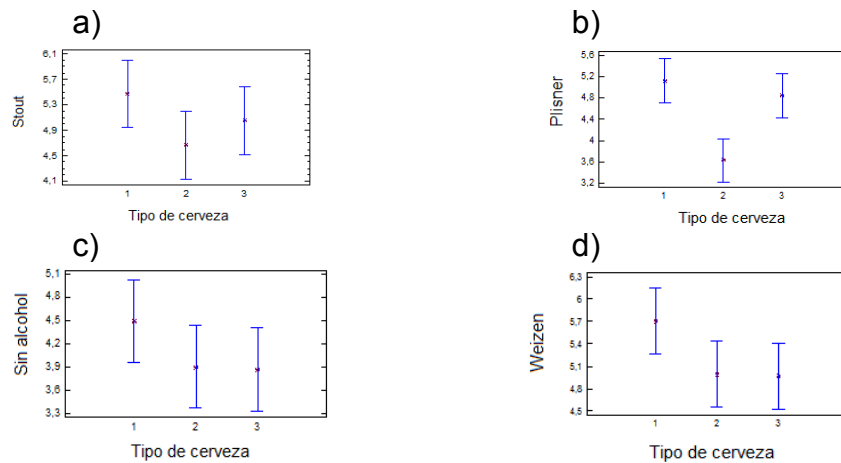


FIGURA 5. Valores medios e intervalos Fisher LSD para la valoración organoléptica (olor). a) Cerveza Stout, b) Cerveza Pilsner, c) Cerveza sin alcohol y d) Cerveza Weizen.

En la figura 6 se muestran los resultados de las correlaciones entre los parámetros cromatográficos (compuestos aromáticos) y características organolépticas (olor y sabor) de las 12 muestras de cerveza analizadas. Observamos que la cerveza A1 tiene una relación positiva y significativa con el compuesto etil decanoato además del olor y sabor, la cerveza A3 a diferencia de la cerveza A2, tiene una relación menos positiva con el compuesto 4-vinylguayacol. Por otro lado la cerveza B1 tiene una relación más baja con el compuesto etil octanato y fenil etil alcohol, a diferencia de la B3 que está ligada sólo al compuesto fenil etil alcohol. Las cervezas que tienen relaciones más bajas con todos los compuestos aromáticos y características organolépticas son las de tipo D (sin alcohol).

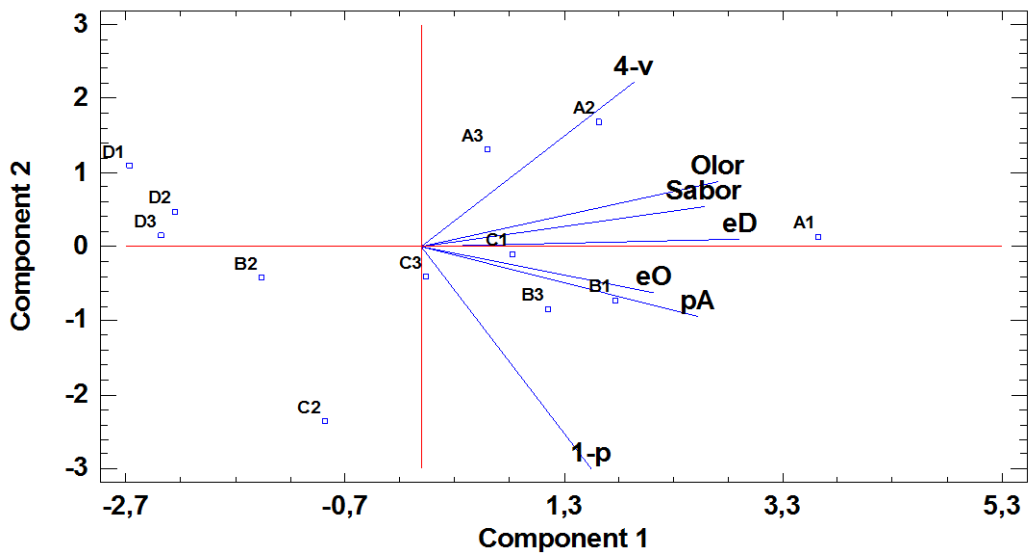


FIGURA 6. Correlación entre los parámetros cromatográficos y las características organolépticas con los 12 tipos de cerveza, mediante análisis de componentes principales.

En general se observa que los catadores valoran mejor los olores procedentes de las cervezas ecológicas, ya que en los cuatro grupos se aprecian mayores valores. Existen diferencias estadísticamente significativas para el valor promedio del olor, en el caso de la cerveza Pilsner, donde las valoraciones significativamente más bajas las obtiene las cervezas de producción convencional de alta gama, frente a las mejor valoradas (ecológicas y convencionales de baja gama). Para el resto de cervezas no se encuentran diferencias significativas, si bien, las valoraciones son mejores para las de producción ecológica.

En la tabla 18 se muestran los resultados del cálculo del coeficiente de correlación de Pearson donde se observa que las características organolépticas de color y sabor están correlacionadas con el compuesto aromático etil decanoato. Otro compuesto que se correlaciona es el fenil etil alcohol con el olor. Para los demás compuestos no hay evidencia de correlación con el olor y sabor.

TABLA 18. Correlación entre las características organolépticas y compuestos aromáticos

CARACTERÍSTICA ORGANOLÉPTICA		COMPUESTOS				
		eO	eD	pA	1-p	4-v
Olor	Coefficiente de correlación de Pearson (r)	0,5611	0,7311	0,6035	0,1139	0,446
	Número de datos	12	12	12	12	12
	p-valor	0,0577	0,0069	0,0377	0,7245	0,1462
Sabor	Coefficiente de correlación de Pearson (r)	0,386	0,6834	0,511	0,2852	0,4583
	Número de datos	12	12	12	12	12
	p-valor	0,2153	0,0143	0,0896	0,369	0,134

CONCLUSIONES

Según el Método HS-SPME se ha determinado que las familias de los componentes mayoritarios identificados en las muestras evaluadas fueron: Otros compuestos (20%) dentro de los cuales se destacan el fenil-etil alcohol (pA) (70-97%), ésteres saturados (18,95%) y alcoholes (12,63%).

Según criterio cuantitativo de las tres familias con mayor porcentaje los componentes aromáticos más relevantes encontrados en los distintos tipos de cerveza y según sus tipos de producción son:

*Etil octanoato (eO) mayormente identificado en la cerveza ecológica tipo Pilsner, sin embargo, según la desviación estándar esta diferencia no es significativa frente a los tipos de producción convencional alta gama y de mercado mayorista.

*Etil decanoato (eD), mayormente identificado en la cerveza ecológica tipo trigo.

*Fenil-etil alcohol (pA), mayormente identificado en la cerveza ecológica tipo Stout, sin embargo, según la desviación estándar esta diferencia no es significativa frente a los tipos de producción convencional alta gama y de mercado mayorista.

*1-pentanol (1-p), mayormente identificado en la cerveza convencional alta gama tipo Pilsner.

4-vinylguayacol (1-v), mayormente identificado en la cerveza convencional alta gama tipo trigo.

Los resultados del panel sensorial que valoró el sabor y el olor de las 12 muestras, determinan que no existe una diferencia significativa detectada según los valores de desviación estándar obtenidos a partir de los valores registrados por los panelistas. Las cervezas ecológicas fueron las mejor valoradas en cuanto al olor, y el sabor varía en función del tipo de cerveza.

REFERENCIAS

Da Silva, G.; Augusto, F.; Poppi, R. 2008. Exploratory analysis of the volatile profile of beers by HS-SPME-GC. *Institute of Chemistry*, 130: 83-97.

El club de las grandes cervezas del mundo, Tipos de cerveza, [en línea], Madrid, 2014. Dirección URL: < <http://www.cervezasdelmundo.com/pages/index/tipos-de-cerveza>>. [Consulta: 14 Sep. 2015].

Goiris, K.; Ridder, M.; Rouck, G.; Boeykens, A.; Opstaele, F. Aerts, G.; Cooman, L.; Keukeleire, D. 2002. The Oxygenated Sesquiterpenoid Fraction of Hops in Relation to the Spicy Hop Character of Beer. *Journal of The Institute Of Brewing*. 108(1): 86-93.

Guido, L.; Carneiro, J.; Santos, J.; Almeida, Rodrigues, J.; Brros, A. 2003. *Journal of Chromatography A*. 1034: 17-22.

Jelen^o, H.; Wlazly, K.; Wlazly, E.; Kaminski, E. 1998. Solid-Phase Microextraction for the Analysis of Some Alcohols and Esters in Beer: Comparison with Static Headspace Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 1469-1473.

Liu, M.; Zeng, Z.; Xiong, B. 2005. Preparation of novel solid-phase microextraction fibers by sol-gel technology for headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic analysis of aroma compounds in beer. Department of Chemistry, Wuhan University, Wuhan 430072, China.

Li, H.; Li, H.; Liu, X.; Chen, B. 2012. Analysis of volatile flavor compounds in top fermented wheat beer by headspace sampling-gas chromatography. Tesis Doctoral. Shandong University of Technology.

- Meilgaard, M.; 1982. Prediction of Flavor Differences between Beers from their Chemical Composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 30: 1009-1017.
- NIST Mass Spectral Search Program. NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, Version 2.0. 2008. Standard Reference Data Program. National Institute of Standards and Technology. USA.
- Ott, L. 1977. An introduction to statistical methods and data analysis. Duxbury Press, a Division of Wadsworth Publishing. Belmont, CA, 1-208.
- Pinho, O.; Ferreira, I.; Santos L. 2006. Method optimization by solid-phase microextraction in combination with gas chromatography with mass spectrometry for analysis of beer volatile fraction. Tesis Doctoral. Universidade do Porto.
- Programa de Datos de Referencia Estándar. National Institute of Standards and Technology, [en línea]. Madrid, 2014. Dirección URL:<<http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C60128&Mask=200>>. [Consulta: 5 Sep. 2015]
- Reinheitsgebot, la ley de pureza alemana, The beer daily [en línea]. 2012 URL:<<http://thebeerdaily.com/2013/05/30/reinheitsgebot-la-ley-de-pureza-alemana/>> [Consulta: 10 Oct. 2015]
- Scarlata, C.; Ebele, S. 1999. Headspace Solid-Phase Microextraction for the Analysis of Dimethyl Sulfide in Beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47: 2505-2508.
- Torres, M. 2007. Efecto de la cerveza frente al estrés oxidativo inducido por la adriamicina. Tesis Doctoral. Universitat de Valencia.
- Vesely, P.; Lusk, L.; Basarova, G.; Seabrooks, J.; Ryder, D. 2003. Analysis of Aldehydes in Beer Using Solid-Phase Microextraction with On-Fiber Derivatization and Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 6941-6944.
- Yu, Z.; Zhao, M.; Li, H.; Zhao, H.; Zhang, Q.; Wan, C.; Li, H. 2012. A comparative study on physiological activities of lager and ale brewing yeasts under different gravity conditions. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 17: 818-826.
- Wei, A.; Mura, K.; Shibamoto, T. 2001. Antioxidative Activity of Volatile Chemicals Extracted from Beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 4097-4101.
- Weiss, D.S. 1981. The impossible dream of Fechner and Stevens. *Perception*, 10: 431-434.