

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN FENÓLICA,
COLOR Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE CERVEZAS
COMERCIALIZADAS EN EL MERCADO NACIONAL**

CRISTIÁN GONZALO PIMENTEL RODRÍGUEZ

SANTIAGO - CHILE
2012

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN FENÓLICA,
COLOR Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE CERVEZAS
COMERCIALIZADAS EN EL MERCADO NACIONAL**

**CHARACTERIZATION OF PHENOLIC COMPOSITION, COLOR
AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF BEERS MARKETED IN
THE DOMESTIC MARKET**

CRISTIÁN GONZALO PIMENTEL RODRÍGUEZ

SANTIAGO - CHILE

2012

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN FENÓLICA, COLOR Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE CERVEZAS COMERCIALIZADAS EN EL MERCADO NACIONAL

Memoria para optar al Título Profesional de:
Ingeniero Agrónomo

CRISTIÁN GONZALO PIMENTEL RODRÍGUEZ

Profesor Guía	Calificaciones
Sr. Álvaro Peña N. Ingeniero Agrónomo, Dr.	6,8
Profesores Evaluadores	
Sr. Eduardo Loyola M. Ingeniero Agrónomo, Dr.	5,8
Sr. Roberto González R. Ingeniero Agrónomo, Dr.	6,8

SANTIAGO - CHILE
2012

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer en primer lugar a mis padres y hermanos, por su apoyo incondicional, amor y afecto durante esta importante etapa y durante todas las etapas de mi vida.

A mi profesor guía, Álvaro Peña, por su apoyo y orientación en el desarrollo de este estudio.

A mis profesores evaluadores, Eduardo Loyola y Roberto González, por sus críticas constructivas.

Al profesor Elías Obreque por la ayuda y orientación durante la etapa inicial de este estudio.

A Hector Morales, Laura Cabello y Rosita por su gran ayuda, buena disposición y paciencia durante el trabajo en el laboratorio.

Finalmente a mis amigos de la universidad y a mis amigos de la vida, pilar fundamental durante todos estos años.

INDICE

RESUMEN	3
ABSTRACT	4
ABREVIATURAS	5
INTRODUCCIÓN	6
MATERIALES Y METODOS	8
Lugar de trabajo	8
Materiales	8
Materia prima	8
Equipamiento	8
Reactivos	8
Metodología	8
Tratamientos y diseño experimental	8
Procedimiento	9
Variables a medir	9
Análisis estadístico.....	9
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
Fenoles totales	13
Taninos totales	13
Capacidad antioxidante ORAC	14
Intensidad Colorante (IC).....	16
CIELab	17
BIBLIOGRAFIA	20
CONCLUSIÓN	21
ANEXO	25
ANEXO 1. Marcas comerciales utilizadas en el estudio.....	26

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Cuadro 1. Tratamientos empleados en el estudio.....	9
Cuadro 2. Resultados del análisis de las muestras.....	10
Cuadro 3. Correlación de Pearson entre las variables analizadas.....	10
Figura 1. Concentración de fenoles totales.....	12
Figura 2. Concentración de taninos.....	13
Figura 3. Capacidad antioxidante ORAC.....	15

Figura 4. Intensidad Colorante a 420 nm.....	16
Figura 5. L*, C* y h*.....	18
Figura 6. a* y b*.....	19

RESUMEN

En el presente estudio se caracterizaron 20 cervezas, comercializadas en el mercado nacional, en cuanto a composición fenólica, color y capacidad antioxidante ORAC.

En cuanto a fenoles totales, el promedio fue de 553,62 mg EAG/L, observándose valores más altos en cervezas del tipo Ale (650,93 mg EAG/L), en comparación a cervezas del tipo Lager (529,23 mg EAG/L). En cervezas Ale también se observaron valores más altos en cuanto al contenido de taninos, observándose un promedio de 249,83 mg EC/L, mientras que en cervezas Lager se observó un promedio de 179,37 mg EC/L. El promedio de taninos totales para las muestras fue de 193,38 EC/L.

En relación a capacidad antioxidante, determinada a través del método ORAC, se observó un promedio de 7843,74 $\mu\text{mol TE/L}$. Las cervezas Ale presentaron el promedio más alto (13361,34 $\mu\text{mol TE/L}$), en comparación con cervezas Lager (6464,32 $\mu\text{mol TE/L}$). La capacidad antioxidante se correlaciona bien con la concentración de fenoles totales ($r = 0,623$; $p < 0,05$) y moderadamente con la concentración de taninos ($r = 0,559$; $p < 0,05$).

En cervezas Ale se observó una mayor intensidad colorante, la cual fue determinada a 420 nm. La intensidad colorante se correlaciona bien con el contenido de fenoles totales ($r = 0,791$; $p < 0,05$) y con el contenido de taninos ($r = 0,789$; $p < 0,05$). Además, se pudo apreciar una moderada correlación entre la capacidad antioxidante ORAC ($r = 0,564$; $p < 0,05$) y el color.

Las cervezas Ale presentaron una menor luminosidad (L^*), mayores valores de croma (C^*) y valores positivos de a^* , en comparación a cervezas Lager. Ambas cervezas presentaron valores positivos de b^* .

PALABRAS CLAVES

- Cerveza
- Fenoles
- Capacidad antioxidante
- ORAC

ABSTRACT

In the present study 20 beers, sold in the domestic market, were characterized in terms of phenolic composition, color and ORAC antioxidant capacity.

As for total phenolic composition, the average was 553.62 mg EAG/L, with higher values in Ale type beers (650.93 mg EAG / L) compared to Lager beers (529.23 mg EAG / L). In Ale beers also higher values for the content of tannins were observed, showing an average of 249.83 mg EC / L, while in Lager beers was observed an average of 179.37 mg EC / L. The average of total tannins for the samples was 193.38 EC/L.

With regard to antioxidant capacity, determined by ORAC method, an average of 7843.74 $\mu\text{mol TE/L}$ was observed. Ale beers had the highest average (13361.34 $\mu\text{mol TE/L}$) compared to Lager beers (6464.32 $\mu\text{mol TE/L}$). The antioxidant capacity correlates well with the concentration of total phenols ($r = 0.623$, $p < 0.05$) and moderately with the concentration of tannins ($r = 0.559$, $p < 0.05$).

Ale beers had higher color intensity, which was determined at 420 nm. The color intensity is well correlated with total phenol content ($r = 0.791$, $p < 0.05$) and tannin content ($r = 0.789$, $p < 0.05$). Furthermore, it was observed a moderate correlation between the ORAC antioxidant capacity ($r = 0.564$, $p < 0.05$) and the color.

Ale beers had a lower luminosity (L^*), higher values of chroma (C^*) and positive values of a^* , compared to lager beers. Both types of beers had positive values of b^* .

KEY WORDS

- Beer
- Phenols
- Antioxidant capacity
- ORAC

ABREVIATURAS

ABTS: 2,2' azino bis-3-etil- benzotiazolina-6-acido sulfonico

DPPH: 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo

EAG: Equivalente de ácido gálico

EC: Equivalente de (+)- catequina

IC: Intensidad Colorante

L: Litro

mg: Miligramo

nm: Nanómetro

ORAC: Oxigen Radical Antioxidant Capacity

TE: Trólox Equivalente

v: Volumen

°C: Grado Celsius

µm: Micras

µmol: Micromol

INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la ley 18.455 (normas sobre producción, elaboración y comercialización de alcoholes etílicos, bebidas alcohólicas y vinagres) se puede definir cerveza como aquella bebida fermentada obtenida a partir de cebada malteada, lúpulo, levadura y agua. La ley solo acepta las materias primas anteriormente mencionadas, aunque se permite la adición de extractos fermentables, tales como arroz, maíz y azúcar, debiendo contener como mínimo un 65% de cebada malteada, y en el caso de utilizarse azúcar como extracto fermentable, esta no debe exceder un 20% del extracto total (SAG, 2010).

El mercado nacional está representado principalmente por la Compañía de Cervecerías Unidas (CCU) y por Cervecerías Chile, con un 83% y 15% de participación, respectivamente (Marambio, 2009). Dentro de las marcas comercializadas por CCU, destacan las nacionales Cristal, Escudo, Royal, Dorada y Kunstman, y las internacionales Budweiser y Heineken (CCU, 2011). Cervecerías Chile comercializa las marcas nacionales Becker y Baltica, y las internacionales Paceaña, Stella Artois y Brahma (Cervecerías Chile, 2011). También, dentro de este mercado, se pueden encontrar 14 marcas importantes de cervezas provenientes de micro cervecerías o de elaboración artesanal. Algunas de estas marcas son Szot, Kross, Del Puerto, Capital, entre otras (García *et al.*, 2009).

Existen tres principales tipos de cervezas. Las cervezas Ale que fermentan a temperaturas de 20 – 25 ° C, en las cuales *Sacharomyces cerevisiae* es la levadura que se utiliza, la que tiende a ubicarse en la parte alta del estanque al final de la fermentación. Las cervezas Lager fermentan a 8 – 15 ° C, y ésta fermentación es realizada por *Sacharomyces pastorianus*, la cual sedimenta en el fondo del estanque de fermentación, al término del proceso (Blake, 2009). También se encuentran las denominadas Lambic, en las cuales se realiza una fermentación espontánea (ACECHI, 2008).

La cerveza contiene compuestos fenólicos, los cuales le otorgan propiedades antioxidantes, siendo el tipo y concentración dependiente de la forma de elaboración de la cerveza, ya que dichos compuestos provienen mayoritariamente de la malta de cebada, y en menor medida del lúpulo, incidiendo en las características sensoriales (astringencia y amargor) y funcionales del producto (capacidad antioxidante) (Carbonell y Sendra, 1999).

La cerveza presenta compuestos fenólicos no flavonoides derivados del ácido benzóico, entre ellos el ácido gálico, ácido vainílico y ácido siríngico, y derivados del ácido cinámico, entre ellos el ácido cafeico, *p*-cumárico y ferúlico. Estos provienen principalmente de la cebada y en menor grado del lúpulo. También se encuentran flavonoles, como por ejemplo kaempferol, miricetina y quercetina. En cuanto a flavanoles, la cerveza presenta monómeros, como (+)-catequina y (-)-epicatequina, y taninos, los cuales provienen de la cebada y del lúpulo (Dostaálek *et al.*, 2007). García (2009), al analizar cervezas Ale y Lager comercializadas en el mercado nacional, observó valores de fenoles totales entre 389,3 y 1362,4 mg EAG/L, siendo los valores más altos los de cervezas Ale y los más bajos los de cervezas Lager.

Los antioxidantes, son un grupo de moléculas reconocidas por su capacidad de neutralizar la acción oxidativa de los radicales libres (Echeverri y López, 2007), entregando un electrón a un radical libre, para que este pueda estabilizarse (Avello y Suwalsky, 2006).

Un radical libre es aquel átomo o molécula que presenta un electrón desapareado, lo cual lo hace muy inestable y tiende a captar un electrón de aquellas moléculas estables, con el fin de alcanzar su estabilidad (Avello y Suwalsky, 2006). Los radicales libres se encuentran generalmente como especies reactivas al oxígeno (ERO's). Dentro de estas especies se encuentran los radicales superóxido, hidroxilo y hidropéroxilo, entre otras, y los no radicales o pro radicales (especies no radicales que tienen la posibilidad de convertirse en radical o generarlos), dentro de los cuales se encuentran el peróxido de hidrógeno y ozono, entre otras (Ugartondo, 2009).

El término de estrés oxidativo se refiere a aquella condición de la célula en donde existe un desbalance entre los sistemas oxidantes y antioxidantes de la misma, lo cual afecta sus procesos metabólicos. Este puede ser el resultado de una disminución en las defensas antioxidantes que posee la célula o como consecuencia de una excesiva producción de radicales libres (Gutiérrez, 2006).

La capacidad antioxidante se asocia a la capacidad que tiene un compuesto para capturar radicales libres (González *et al.*, 2001).

Los métodos de determinación de capacidad antioxidante permiten analizar el daño que genera un agente oxidante sobre un sustrato oxidable, y de qué manera este daño disminuye al adicionar un antioxidante. Algunos de estos métodos son el DPPH, ABTS y ORAC (Fernández *et al.*, 2006). Este último método se basa en la capacidad que tiene un compuesto antioxidante de disminuir la pérdida de fluorescencia de una proteína, la cual es sometida a la acción oxidativa de un radical libre (Cronin, 2004). En cuanto a capacidad antioxidante en cervezas, en un estudio realizado por Favalli *et al.* (2010) observaron que esta varía entre 424,8 y 10508,5 $\mu\text{mol TE/L}$, siendo los valores más altos observados en cervezas Ale.

Actualmente el consumo de cerveza en Chile va en alza, lo cual le ha permitido al país posicionarse en el lugar número 10, dentro de los países latinoamericanos, con un consumo *per cápita* que duplica al del vino con 34,5 litros (ACECHI, 2008). Si bien el consumo de cerveza va en aumento, a la fecha no existen estudios en Chile que hayan determinado la actividad antioxidante de esta bebida, la cual podría plantearse como una fuente alternativa de antioxidantes dietarios, al igual que otras bebidas como el té y el vino. Los antecedentes antes expuestos han motivado la presentación del presente estudio.

Objetivo

Caracterizar cervezas comercializadas en el mercado nacional, en cuanto a su concentración de fenoles totales, taninos totales, color y capacidad antioxidante ORAC.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de trabajo

El presente trabajo se realizó en los laboratorios de Química Enológica y de Análisis Cromatográfico del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Materiales

Materia prima

Para el presente estudio se emplearon 20 cervezas de marcas comercializadas en el mercado nacional, dentro de las cuales se incluyeron tanto cervezas nacionales como internacionales. En cuanto a cervezas nacionales, se incluyeron cervezas del tipo industrial y de micro cerveceras o artesanales. En relación a los criterios de selección de la muestra, uno de estos fue el precio, para lo cual se adquirieron cervezas con un precio máximo de \$1.500 (para botellas o latas de 355 mL como máximo). Otro criterio de selección fue el color. No se consideraron cervezas negras, y solo se incluyeron cervezas rubias. En cuanto a graduación alcohólica, se adquirieron cervezas con un grado alcohólico máximo de 6% v/v. El material de trabajo fue adquirido directamente en un supermercado en la Región Metropolitana.

Equipamiento

Para la determinación de la capacidad antioxidante ORAC se empleó un Fluorómetro modelo Victor X2 Multilabel Plate Reader (Perkin Elmer, USA). Para las mediciones de color, fenoles y taninos totales se utilizó un Espectrofotómetro Jasco V-530 UVS/VIS (Tokio, Japón).

Reactivos

Fluoresceína, Estándar Trólox y AAPH (2,2'-Azobis(-amidinopropane) dihydrochloride) (Sigma- Aldrich, St. Louis, USA). Reactivos grado pro análisis (Merck, Santiago, Chile).

Metodología

Tratamientos y diseño experimental

Las muestras utilizadas fueron 20 cervezas de distintas marcas comerciales (Anexo 1), presentes en el mercado nacional. Cada cerveza correspondió a un tratamiento, y se realizaron 3 repeticiones por tratamiento.

Cuadro 1. Tratamientos empleados en el estudio.

Muestra	Tipo	Elaboración	Origen	%v/v
A	Pale ale	Artesanal	Nacional	5,0
B	Pale ale	Artesanal	Nacional	4,5
C	Pale ale	Artesanal	Nacional	5,2
D	Golden Ale	Artesanal	Nacional	5,0
E	Pilsner	Artesanal	Nacional	4,9
F	Helles Lager	Artesanal	Nacional	4,5
G	Light Lager	Industrial	Nacional	4,0
H	Light Lager	Industrial	Nacional	4,6
I	Light Lager	Industrial	Nacional	6,0
J	Light Lager	Industrial	Nacional	5,8
K	Light Lager	Industrial	Nacional	5,5
L	Light Lager	Industrial	Nacional	5,2
M	Light Lager	Industrial	Internacional	5,0
N	Light Lager	Industrial	Internacional	5,2
O	Light Lager	Industrial	Internacional	5,0
P	Light Lager	Industrial	Internacional	5,0
Q	Light Lager	Industrial	Internacional	4,7
R	Light Lager	Industrial	Internacional	4,6
S	Light Lager	Industrial	Nacional	0,3
T	Light Lager	Industrial	Nacional	0,0

Procedimiento

Las cervezas fueron desgasificadas mediante vacío y se filtraron utilizando una membrana de 0,45 μm , para luego refrigerarlas a 4° C. Posteriormente estas muestras se sometieron a análisis de forma inmediata.

VARIABLES A MEDIR

Los fenoles totales se determinaron mediante análisis espectrofotométrico a absorbancia de 280 nm (recopilado por García-Barceló, 1990), los taninos totales mediante la reacción de Bate-Smith (Bate-Smith, 1981), la intensidad colorante mediante análisis espectrofotométrico a absorbancia de 420 nm (Glories, 1978) y mediciones a través del método CIELab (Zamora, 2003). La capacidad antioxidante se analizó utilizando el método ORAC (Cao *et al.*, 1993).

Análisis estadístico

Este trabajo contempló 20 tratamientos, cada tratamiento correspondiente a una cerveza, con 3 repeticiones por tratamiento. El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante el programa Minitab. El diseño experimental utilizado fue el Diseño Completamente Aleatorio (DCA). Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) entre los distintos tratamientos, además de una prueba de Tukey para analizar las diferencias significativas entre tratamientos. Todas las variables determinadas fueron analizadas mediante una Correlación Lineal de Pearson, con un nivel de significancia de 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación en el Cuadro 2 se presentan los resultados obtenidos al analizar las 20 cervezas, de distintas marcas comerciales, de origen nacional e internacional, y de elaboración artesanal e industrial.

Cuadro 2. Resultados del análisis de las muestras.

Muestra	Fenoles Totales (mg EAG/ L)	Taninos (mg EC/ L)	ORAC ($\mu\text{mol TE/L}$)	IC 420	L*	C*	h*	a*	b*
A	774,52	357,22	15501,52	0,75	84,53	39,40	87,00	2,06	39,35
B	612,61	241,75	11668,91	0,64	87,40	34,58	88,69	0,79	34,57
C	479,03	150,77	10952,32	0,28	90,80	17,25	89,43	0,17	17,25
D	737,59	249,49	15324,23	0,73	87,77	41,31	89,31	0,50	41,31
E	656,20	234,54	18345,83	0,47	91,13	21,80	90,55	-0,25	21,80
F	643,40	243,82	12650,64	0,79	84,97	40,01	88,12	1,27	39,98
G	519,03	168,04	13040,21	0,47	91,27	26,82	91,31	-0,61	26,81
H	442,09	149,23	3665,42	0,32	93,97	20,96	92,61	-0,95	20,94
I	566,99	193,82	5213,23	0,63	88,83	36,76	89,08	0,59	36,76
J	650,19	271,14	6871,43	0,47	92,97	31,44	93,34	-1,83	31,39
K	555,66	185,05	5057,56	0,50	91,77	30,23	91,80	-0,95	30,22
L	521,54	163,15	4284,38	0,35	94,93	23,54	94,33	-1,77	23,47
M	533,34	155,16	3403,26	0,30	95,63	18,33	95,61	-1,79	18,24
N	544,28	110,18	5246,13	0,30	94,97	19,21	94,99	-1,67	19,14
O	574,73	189,18	6054,24	0,32	95,03	21,03	95,05	-1,85	20,95
P	489,28	132,22	3841,46	0,32	95,30	21,78	95,10	-1,93	21,70
Q	427,43	122,04	3077,67	0,32	95,13	20,67	94,70	-1,70	20,60
R	521,49	135,31	3727,88	0,25	96,53	16,43	97,18	-2,05	16,30
S	329,79	135,05	8142,33	0,18	96,17	11,97	94,03	-0,84	11,93
T	492,26	280,54	813,42	0,50	91,10	29,57	91,51	-0,78	29,55

Cuadro 3. Correlación de Pearson entre las variables analizadas.

Parámetro	Fenoles	Taninos	ORAC	420	C*	a*	b*	L*	h*
Fenoles	1,000								
Taninos	0,769	1,000							
ORAC	0,623	0,559	1,000						
420	0,791	0,789	0,564	1,000					
C*	0,763	0,774	0,423	0,971	1,000				
a*	0,553	0,663	0,769	0,812	0,712	1,000			
b*	0,764	0,774	0,422	0,969	1,000	0,712	1,000		
L*	-0,712	-0,773	-0,674	-0,942	-0,872	-0,94	-0,869	1,000	
h*	-0,559	-0,692	-0,689	-0,831	-0,761	-0,96	-0,761	0,964	1,000

Para efectos de discusión de datos, las cervezas del tipo Lager fueron clasificadas como Light Lager. Éstas cervezas pueden presentar colores pálidos y dorados, y durante su elaboración pueden utilizarse adjuntos como por ejemplo arroz o maíz (BJCP, 2008). La muestra E no se clasificó como Light Lager, debido a que si bien corresponde a una cerveza Lager, se comercializa como Pilsner. La muestra F, también correspondiente a una cerveza Lager, se comercializa como Helles Lager. Las cervezas Ale se clasificaron como Pale Ale y Golden Ale, debido a que se comercializan como tales. Tanto en cervezas Lager como Ale no se utilizaron cervezas negras.

Fenoles totales

El contenido promedio de fenoles totales fue de 553,62 mg EAG/L, observándose el mayor contenido en la muestra A, correspondiente a una cerveza del tipo Ale, y el menor contenido en la muestra B, correspondiente a una cerveza del tipo Lager, sin alcohol. El promedio para cervezas del tipo Ale fue de 650,93 mg EAG/L y para cervezas Lager 529,23 mg EAG/L.

Los resultados obtenidos fueron mayores a los obtenidos por Favalli *et al.* (2010), al estudiar cervezas del mercado brasileño, ya que en dicho estudio se observó un rango entre 119,9 y 523,9 mg EAG/L. Valores superiores fueron observados por García (2009), al estudiar cervezas del mercado chileno. En este último estudio, el contenido de fenoles varió entre 389,3 y 1362,0 mg EAG/L. Si bien hubo diferencias entre los distintos estudios, en cuanto a concentración de fenoles totales, en todos se concluye que las cervezas del tipo Ale presentan los mayores valores.

Dostaálek *et al.* (2007), al analizar cervezas del tipo Lager, con y sin alcohol, observaron valores más bajos de fenoles totales en aquellas sin alcohol, lo cual concuerda con lo obtenido en este estudio, en relación a la muestra S. Existen diferentes métodos para la obtención de cervezas sin alcohol, los cuales se basan tanto en la remoción de etanol, como en la limitación de producción de etanol (Ameida e Silva *et al.*, 2012). En cervezas sin alcohol, se puede trabajar con un mosto menos concentrado, lo cual trae consigo una disminución en la concentración de compuestos fenólicos (Gorjanovic *et al.*, 2010). La muestra T también corresponde a una cerveza sin alcohol, y su concentración de fenoles totales se encuentra por debajo del promedio, para cervezas Lager.

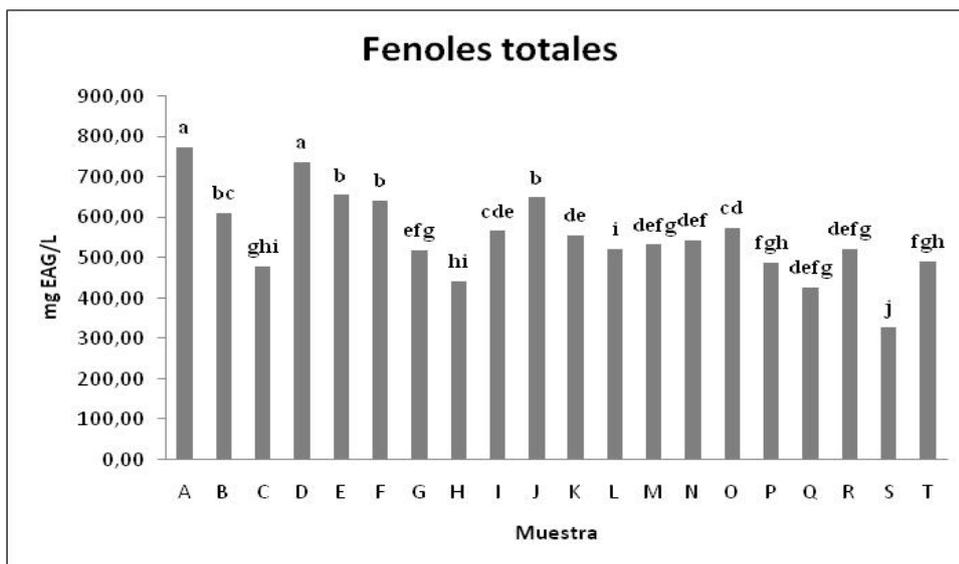


Figura 1. Concentración de fenoles totales (mg EAG/L). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras, a un nivel de significancia del 5%, de acuerdo a la prueba de Tukey.

En cervezas del tipo Lager se utilizan comúnmente otros cereales como por ejemplo maíz y arroz, como adjuntos (BJCP, 2008). La diferencia en cuanto a granos utilizados para la elaboración puede generar diferencias en la concentración de fenoles totales. En cuanto a composición fenólica, los granos de cebada presentan un mayor contenido de ácidos fenólicos, en relación a otros cereales (Dykes y Rooney, 2007). Otro factor a considerar es la variedad de cebada. Dostálek *et al.* (2008) al analizar 10 variedades de cebada, encontraron diferencias significativas en cuanto a fenoles totales entre las distintas variedades.

El malteado corresponde a aquella etapa en la cual los granos se hacen germinar, con el objetivo de activar y sintetizar enzimas para la degradación del almidón y otras macromoléculas. Posterior a la germinación, se aplican temperaturas entre 50 - 220° C, para frenar este proceso, como también para tostar los granos (Bamforth, 2009). Durante la última etapa del malteado, el secado, hay un aumento en la concentración de compuestos del tipo no flavonoide, como por ejemplo ácido gálico, ácido vainillínico y ácido siríngico, los cuales son derivados del ácido benzoico. Además existe un aumento en la concentración de ácido caféico, *p*-cumárico y ácido ferúlico, compuestos derivados del ácido cinámico. Esto puede asociarse a una mejor extracción, debido a que el tejido es más friable. A mayor temperatura, existe una mayor concentración de compuestos fenólicos (Cai *et al.*, 2007). En cervezas del tipo Ale, se tienden a utilizar mayores temperaturas durante la etapa del secado (Bamforth, 2009). En el caso de las Pale Ale, durante la etapa del malteado se utilizan mayores temperaturas que en cervezas Lager (Palmer, 2006).

El proceso de maceración, permite la degradación de azúcares y proteínas, por acción enzimática, a sustratos fermentables. También durante el proceso de maceración hay una liberación de compuestos fenólicos provenientes de la malta. En relación a ácidos fenólicos, la extracción de estos estará determinada tanto por solubilización en agua como por procesos enzimáticos. En cuanto a procesos enzimáticos, la actividad de las

enzimas estará definida por factores como temperatura y pH. A pH inferior a 4,6 la actividad de enzimática puede verse limitada, y a temperaturas de 65° - 70° C, puede ocurrir una inactivación enzimática (Delvaux *et al.*, 2008). Existen diferencias en cuanto a maceración en cervezas del tipo Ale y Lager. En cervezas Ale la maceración permite una degradación de azúcares y proteínas de manera enzimática, mientras que en cervezas Lager la degradación es enzimática y térmica. Durante la maceración de cervezas Lager, parte del mostos es hervido, mientras que en cervezas Ale la temperatura se mantiene a 65-70°C (Preedy, 2009). Las diferencias en cuanto a temperaturas tendrán efecto en la actividad de enzimas, en relación a la extracción de compuestos fenólicos.

Un 80% de los compuestos fenólicos de cervezas provienen de la cebada y un 20% del lúpulo (Zhao y Zhao, 2012). Cervezas artesanales, tienden a utilizar más lúpulo durante su elaboración (García, 2009), lo cual puede explicar diferencias en cuanto a fenoles totales.

Gil y Rebelo (2010), al analizar vinos portugueses, observaron valores de fenoles totales entre 2160 – 2727 mg EAG/L para vinos tintos, 624-657 mg EAG/L para vinos rosé y 239-240 mg EAG/L para vinos blancos. Si se compara el contenido de fenoles totales de las muestras con el de vinos blancos, todas presentaron valores superiores. En el caso de vinos rosé, solo las muestras A y G presentaron valores superiores a éstos vinos.

Taninos totales

El valor promedio para este parámetro fue de 193,38 mg EC/L. Los valores más altos se observaron en cervezas del tipo Ale, con un promedio de 249,83 mg EC/L, y los menores en cervezas del tipo Lager, con un promedio de 179,37 mg EC/L.

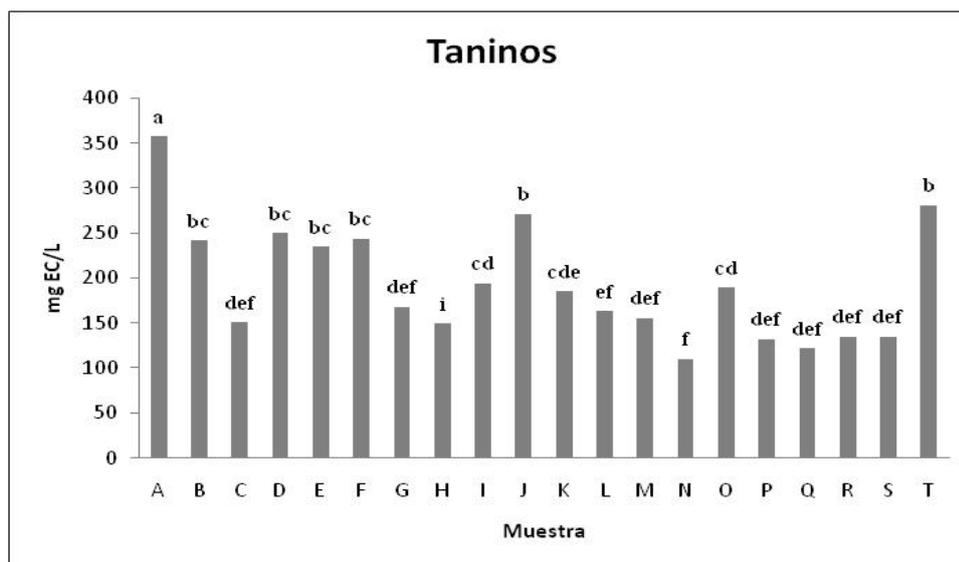


Figura 2. Concentración de taninos (mg EC/L). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras, a un nivel de significancia del 5%, de acuerdo a la prueba de Tukey.

Las cervezas del tipo Ale, comercializadas en el mercado nacional, tienden a ser del tipo artesanal. A diferencia de aquellas de elaboración industrial, en las artesanales se tiende a utilizar un mayor contenido de lúpulo (García, 2009). La variedad de lúpulo utilizada influirá en el contenido de fenoles totales y flavonoides (Hasková *et al.*, 2008).

La variedad de cebada utilizada para la elaboración de cerveza, influye en la concentración de flavanoles de ésta (Cai *et al.*, 2007).

De acuerdo a Cai *et al.* (2007) el malteado puede influir en la concentración de los flavanoles (+)-catequina y (-)-epicatequina. Durante la etapa del secado, hay un aumento en la concentración de estos flavanoles, lo cual dependerá de la temperatura y tiempo de secado.

Algunos procesos de desalcoholización pueden no afectar o incluso aumentar el contenido de compuestos fenólicos, por efecto de concentración. Compuestos como (+)-catequina y (-)-epicatequina pueden aumentar su concentración durante procesos de desalcoholización (Belisario *et al.*, 2009). El alto contenido de taninos de la muestra T, en relación a otras muestras, puede ser explicada por un efecto de concentración durante la desalcoholización.

Compuestos del tipo flavonoide, como por ejemplo (+)-catequina y (-)-epicatequina, interactúan con proteínas presentes en la cerveza. Esta interacción puede generar problemas de turbidez en cervezas, lo cual se denomina quiebra proteica. Una forma de estabilización de cervezas es el tratamiento con PVPP, el cual permite eliminar aquellos compuestos fenólicos responsables de la quiebra proteica (Aron y Shellhammer, 2008). De acuerdo a De Faveri *et al.* (2011) el tratamiento con PVPP, durante el proceso productivo, disminuye la concentración de taninos en cervezas.

Capacidad antioxidante ORAC

El valor promedio obtenido fue de 7843,74 $\mu\text{mol TE/L}$. El valor más alto se observó en la muestra F, correspondiente a una cerveza del tipo Ale, y el más bajo en la muestra L, correspondiente a una cerveza Lager, sin alcohol. Si bien el valor más alto se observó en una cerveza Lager, el promedio de cervezas Ale (13361,34 $\mu\text{mol TE/L}$) fue superior al de cervezas Lager (6464,32 $\mu\text{mol TE/L}$). Los resultados observados son mayores a los obtenidos por Favalli *et al.* (2010). En dicho estudio se observaron valores entre 424,8 y 10508,8 $\mu\text{mol TE/L}$, observándose los mayores valores en cervezas del tipo Ale y los menores en cervezas Lager.

Barbosa *et al.* (2010) al estudiar cervezas Ale y Lager, provenientes de diferentes mercados y de distintos color (rojas, rubias, negras), observaron valores entre 3697,3 y 29105,6 $\mu\text{mol TE/L}$. Las cervezas Ale presentaron valores mayores (29105,6 – 10648,4 $\mu\text{mol TE/L}$), en comparación a cervezas Lager (3697,3 - 10702,2 $\mu\text{mol TE/L}$). En dicho estudio se incluyeron cervezas sin alcohol, las cuales presentaron un valores promedio de 8862,5 $\mu\text{mol TE/L}$.

Si bien durante los análisis realizados en cervezas del mercado chileno, la muestra T (sin alcohol) presentó el valor más bajo de capacidad antioxidante ORAC, la muestra S

(sin alcohol) presentó un valor superior al promedio. La cerveza presenta compuestos con propiedades antioxidantes, dentro de los cuales se encuentran azúcares reductores, productos de la reacción de Maillard, dióxido de azufre, vitaminas y compuestos fenólicos (Preedy, 2009). La presencia de antioxidantes, del tipo no fenólicos, podría explicar por qué la muestra S, la cual presentó los menores valores de fenoles totales, presentó valores de capacidad antioxidante ORAC superiores al promedio de cervezas Lager. En relación a azúcares reductores, las cervezas sin alcohol pueden presentar un alto contenido, debido a restricciones durante la fermentación (Ameida e Silva *et al.*, 2012). Otros compuestos con actividad antioxidante, presentes en el lúpulo corresponden a fenoles, α -ácidos (humulonas) y β -ácidos (lupulonas) (Kunz *et al.*, 2010).

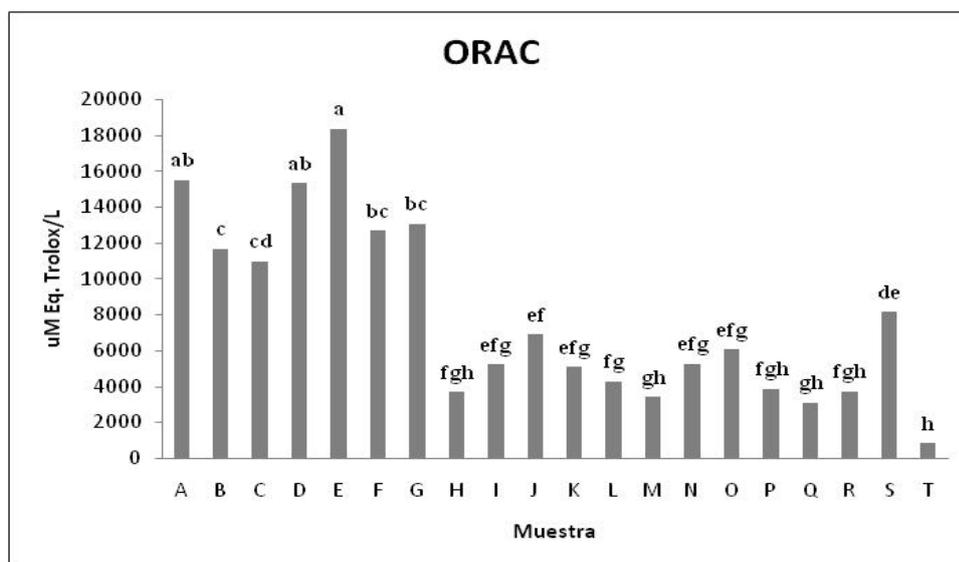


Figura 3. Capacidad antioxidante ORAC (uM Eq. Trolox/L). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras, a un nivel de significancia del 5%, de acuerdo a la prueba de Tukey.

La capacidad antioxidante ORAC se correlaciona bien con la concentración de fenoles totales ($r = 0,624$; $p < 0,05$) y moderadamente con la concentración de taninos ($r = 0,501$; $p < 0,05$), lo cual concuerda con los resultados observados por Favalli *et al.* (2010).

Durante la etapa de maceración hay un incremento de la capacidad antioxidante, lo cual está dado tanto por la extracción de compuestos fenólicos provenientes de la cebada como por la formación de compuestos de Maillard (Zhao y Zhao, 2012). Estos compuestos de Maillard pueden ser producidos también durante el proceso de malteado, lo cual dependerá de la temperatura (Bamfoth, 2009).

Alves *et al.* (2011), al caracterizar vinos tintos sudamericanos, observaron valores de capacidad antioxidante ORAC entre 23777 y 35114 $\mu\text{mol TE/L}$ para vinos chilenos, lo cual dependerá de la variedad. Li *et al.* (2009), al analizar vinos presentes en el mercado chino, observaron un promedio de 3135 $\mu\text{mol TE/L}$ para vinos blancos y 11293 $\mu\text{mol TE/L}$ para vinos rosé. Las cervezas comercializadas en el mercado nacional presentan una capacidad antioxidante ORAC menor a la de vinos tintos, pero en la mayoría de las

muestras se aprecian valores superiores a los de vinos blancos, y en el caso de las muestras A, C, E, F, G y H los valores son superiores a los de vinos rosé.

Intensidad Colorante (IC)

Las cervezas del tipo Ale (0,60) presentaron una mayor intensidad colorante que aquellas del tipo Lager (0,41).

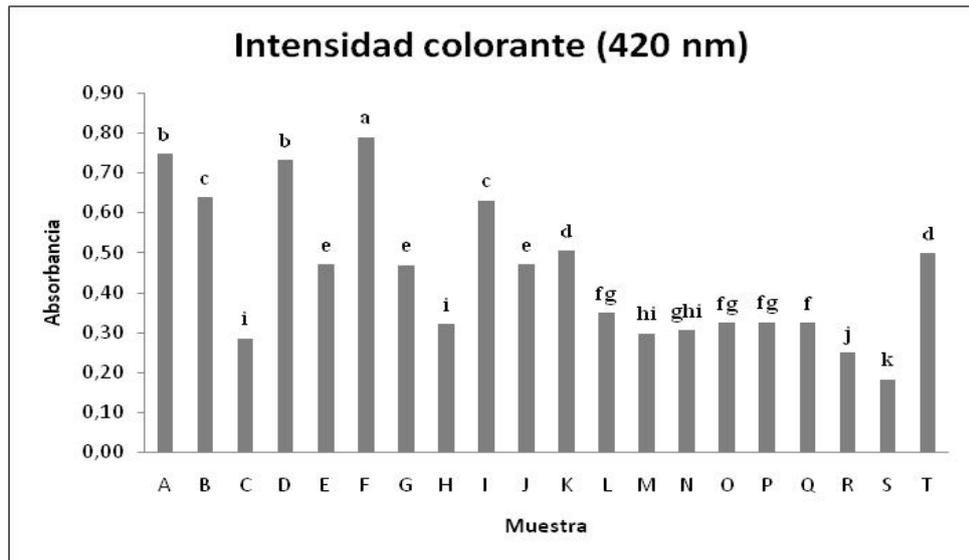


Figura 4. Intensidad Colorante a 420 nm (absorbancia). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras, a un nivel de significancia del 5%, de acuerdo a la prueba de Tukey.

El tipo de malta utilizada para la elaboración de cerveza tendrá efecto en el color final de ésta (Bamforth *et al.*, 2008). En el caso de cervezas del tipo Lager se tiende a utilizar como base una malta con menor intensidad colorante en relación a cervezas Ale, como por ejemplo Pale Ale. Otro tipo de malta que se puede utilizar durante el proceso es la malta caramelo, la cual aporta dulzor, cuerpo y color. Este tipo de malta se utiliza en cervezas Pale Ale (Palmer, 2006).

Las temperaturas utilizadas en el malteado influirán en el color de la cerveza. Esto se relaciona con una mayor liberación de aminoácidos y azúcares desde los granos, los cuales darán lugar a melanoidinas, las cuales corresponden a compuestos colorantes. En la elaboración de cervezas Ale se aplican temperaturas mayores que en aquellas del tipo Lager, lo cual permite explicar diferencias en cuanto a intensidad colorante (Bamforth, 2009).

Se observó una alta correlación entre la intensidad colorante y el contenido de fenoles totales ($r = 0,791$; $p < 0,05$). Un comportamiento similar se observó entre la intensidad colorante y el contenido de taninos ($r = 0,789$; $p < 0,05$). Los compuestos flavonoides influyen en el color de la cerveza, y la evolución de este se relacionará con procesos de oxidación, pudiendo aumentar la intensidad colorante de cervezas al estar en contacto con el oxígeno (Callemien y Collin, 2007). Además se observó una moderada

correlación entre la capacidad antioxidante ORAC y la intensidad colorante ($r = 0,564$; $p < 0,05$).

CIELab

En relación a luminosidad (L^*), en cervezas Lager se observó un promedio de 93,13, mientras que en cervezas Ale el promedio fue de 88,62. De acuerdo a Favalli *et al.* (2010) las cervezas Lager presentan un mayor luminosidad que aquellas del tipo Ale, y esta propiedad refleja la equivalencia de un color dentro de una escala de grises, donde 100 es blanco y 0 negro.

En cuanto a posición entre rojo y verde (a^*), se observó que las cervezas Ale presentan valores positivos, mientras que en Lager la mayoría de las muestras presentaron valores negativos, excepto las muestras E y J, las cuales corresponden a cervezas de elaboración artesanal. En relación a posición entre azul y amarillo (b^*), no se observaron valores negativos, y en cervezas Ale se observó un mayor promedio (33,12) para este parámetro, en relación a cervezas Lager (24,43). Un comportamiento similar fue observado por Favalli *et al.* (2010). De acuerdo a Coghe *et al.* (2006) el tostado de granos, durante el malteado, puede generar cromóforos y melanoidinas, los cuales son compuestos de Maillard y que influyen en el color de la cerveza. La producción de estos compuestos está determinada por la temperatura. Los cromóforos, compuestos amarillos, se producen a menor temperatura que las melanoidinas. Los productos de Maillard pueden formarse durante la etapa de maceración (Zhao y Zhao, 2012). En relación al ángulo hue (h^*), cervezas del tipo Lager (93,11) presentan mayores valores que cervezas Ale (88,64).

En cervezas Ale (33,16) se observaron mayores valores de croma (C^*), en comparación a aquellas del tipo Lager (24,47). Mayores valores de croma, reflejan una mayor intensidad colorante (Favalli *et al.*, 2010). Cervezas del tipo Ale pueden presentar una mayor contenido de melanoidinas, debido a ciertas condiciones durante la elaboración de este tipo de cervezas, como por ejemplo altas temperaturas (Preedy, 2009). La presencia de oxígeno provocará la oxidación de compuestos fenólicos, del tipo flavonoides, lo cual dará lugar a colores más pardos (Callemien y Collin, 2007). El tipo de malta utilizado para la elaboración de cervezas influirá en el color final de éstas (Bamforth *et al.*, 2008).

Se observó una alta correlación entre a^* y la capacidad antioxidante ORAC ($r = 0,769$; $p < 0,05$). Esta alta correlación puede deberse al contenido de melanoidinas en cervezas, las cuales son compuestos colorantes, que pueden influir en la capacidad antioxidante (Coghe *et al.*, 2006). No se observó una correlación significativa entre C^* ($r = 0,423$; $p > 0,05$) y b^* ($r = 0,422$; $p > 0,05$) con la capacidad antioxidante ORAC. En relación a h^* ($r = -0,689$; $p < 0,05$) y L^* ($r = -0,674$; $p < 0,05$), se observó una correlación inversa con la capacidad antioxidante ORAC.

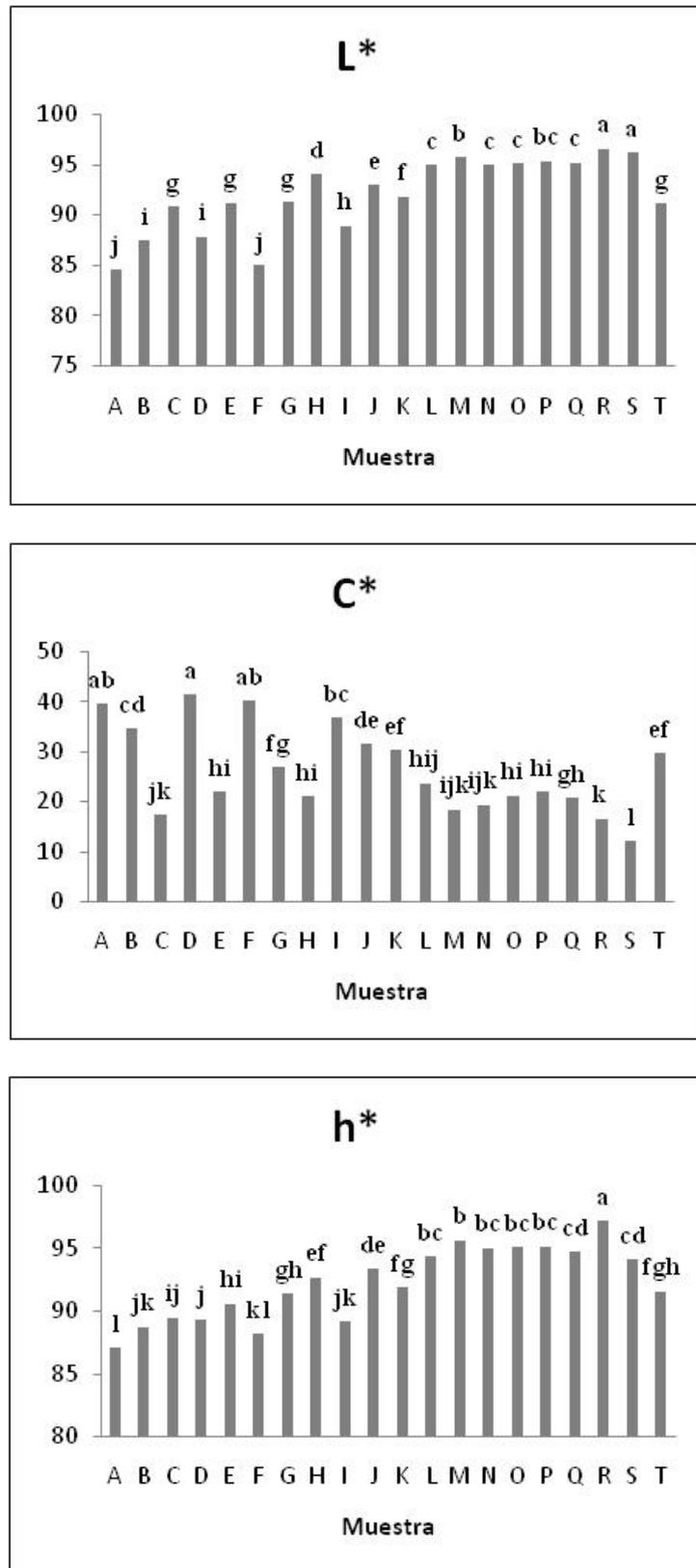


Figura 5. L*, C* y h*. Letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras, a un nivel de significancia del 5%, de acuerdo a la prueba de Tukey.

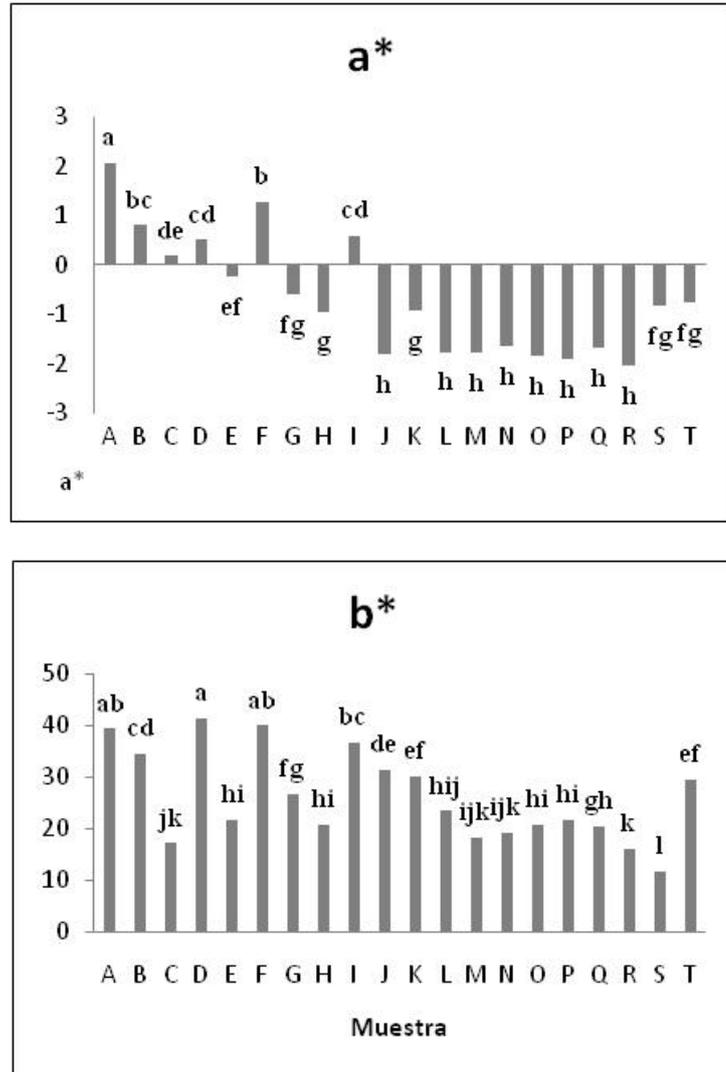


Figura 6. a* y b*. Letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras, a un nivel de significancia del 5%, de acuerdo a la prueba de Tukey.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, se puede concluir que existen diferencias entre cervezas, comercializadas en el mercado chileno, en cuanto a fenoles y taninos totales, capacidad antioxidante ORAC y color. Las cervezas Ale analizadas se caracterizaron por una mayor concentración de compuestos fenólicos y taninos totales, y una mayor capacidad antioxidante ORAC, en relación a cervezas del tipo Lager. En términos de color, las cervezas Ale analizadas presentaron una mayor intensidad colorante, además de caracterizarse por presentar colores más pardos y una menor luminosidad, en relación a cervezas del tipo Lager.

Durante el estudio se pudo apreciar una alta correlación entre la capacidad antioxidante con la concentración de fenoles y taninos totales, lo cual sugiere que todas aquellas prácticas que favorezcan la extracción de compuestos fenólicos, influirán de forma positiva en la capacidad antioxidante. También se pudo apreciar una buena correlación entre el color con la concentración de fenoles y taninos totales.

En el caso de cervezas sin alcohol, la capacidad antioxidante de estas cervezas puede ser comparable a la de cervezas con alcohol, lo cual fue observado en la muestra S.

BIBLIOGRAFIA

- Ameida e Silva, J., M. Baszczynsky, T. Brányik, R., Lenhart and D. Silva. 2012. A review of methods of a low alcohol-free beer production. *Journal of Food Engineering*. 108: 493-506.
- Aron, P. and T. Shellhammer. 2008. A Discussion of Polyphenols in Beer Physical and Flavour Stability. *Journal of the Institute of Brewing*. 116(4): 369–380.
- Asociación de Productores de Cervezas Chile (ACECHI). 2008. Información Estadística de la Industria Cervecera [en línea] <http://www.acechi.cl/nuestra_industria.html> [consulta: 27 agosto 2010].
- Alves, I., D. Granato and F. Uchida. 2011. Phenolic composition of South American red wines classified according to their antioxidant activity, retail price and sensory quality. *Food Chemistry* 129 (2): 366-373.
- Avello, M. y M. Suwalsky. 2006. Radicales libres, estrés oxidativo y defensa antioxidante celular. *Revista Ciencia Ahora* 9 (17): 9-15.
- Blake, J. 2009. Characterization of Hybrid Strains of *Saccharomyces Pastorianus* for Desiccation Tolerance and Fermentation Performance. North Carolina State University, United States. 101 p.
- Bamforth, C, I. Russell and G. Stewart. 2008. Beer: A quality perspective. Elsevier California, USA. 287 p.
- Bamforth, C. 2009. Beer: tap into the art and science of brewing. 2ª ed. Oxford University. New York, USA. 246 p
- Barbosa, R., C. Delerue, M. Ferreira and P. Riberiro. 2010. Control and comparison of the antioxidant capacity in beers. *Food Research International* 43: 1702-1709
- Bate - Smith, E. 1981. Astringent tannins of leaves of geranium species. *Phytochemistry* 20: 211-216.
- Beer Judge Certification Program (BJCP). 2008. Style Guidelines for Beer, Mead & Cider [en línea] < http://www.bjcp.org/docs/2008_stylebook.pdf > [consulta: 15 agosto 2012].
- Belisario, Y., A. López, F. Marín and A. Toboda. 2009. Dealcoholized Wines by Spinning Cone Column Distillation: Phenolic Compounds and Antioxidant Activity Measured by the 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57: 6770-6778.
- Cai, G., Y. Cao, J. Chen, J. Dong, W. Fan, W. Kong, J. Lu, J. Sun and H. Zhao. 2007. Evolution of phenolic compounds and antioxidant activity during malting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 10994-11001.

Cao, G., H. Alessio and R. Cutler. 1993. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radicals Biology & Medicine* 14(3): 303-311.

Callemien, D and S. Collin. 2007. Involvement of flavanoids in beer color instability during storage. *Agricultural and Food Chemistry* 55: 9066-9073.

Carbonell, J. y M. Sendra. 1999. Evaluación de las propiedades nutritivas, funcionales y sanitarias de la cerveza, en comparación con otras bebidas. Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos-Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Valencia, España. 65 p.

Cervecerías Chile. 2011. Nuestras marcas [en línea] <http://www.cerveceriachile.cl/?page_id=21> [consulta: 26 diciembre 2011].

Coghe, S., F. Delvaux, B. Gheeraert and A. Michiels. 2006. Development of Maillard reaction related characteristics during malt roasting. *Journal of the Institute of Brewing*. 112 (2): 148-156.

Compañía de Cervecerías Unidas (CCU). 2011. Cervezas en Chile [en línea] <<http://www.ccu.cl/nuestras-marcas/cervezas-en-chile/>> [consulta: 26 diciembre 2011].

Cronin, J. 2004. The Biochemistry of Alternative Medicine: Comparing antioxidant values with the ORAC method. *Alternative and Complementary Therapies* 10 (3): 167-170.

De Faveri, D., G. Donadini, R. Galli, M. Fumi and M. Lambri. 2011. Effect of full-scale brewing process on polyphenols in Italian all-malt and maize adjunct lager beers. *Journal of Food Composition and Analysis* 24: 568-573.

Delvaux, F., F.R. Delvaux, N. Vanbeneden, T. Van Roey and F. Willems . 2008. Release of phenolic flavour precursors during wort production: influence of process parameters and grist composition on ferulic acid release during brewing. *Food Chemistry* 111: 83-91.

Dostaálek, P., M. Dvůráková, P. Hulín and M. Karabín. 2007. Determination of polyphenols in beer by effective method based on solid – phase extraction and high performance liquid chromatography with diode – array detection. *Czech Journal of Food Science* 25 (4): 182 – 188.

Dostálek, P., M. Douanier, M. Dvůráková, M. Jurková and V. Kellner .2008. Comparison of Antioxidant Activity of Barley (*Hordeum vulgare L.*) and Malt Extracts with the Content of Free Phenolic Compounds Measured by High Performance Liquid Chromatography Coupled with CoulArray Detector. *Journal of the Institute of Brewing* 114(2): 150-159.

Dykes, L. and W. Rooney. 2007. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. *Cereal Food World* 52(3): 105-111.

- Echeverri, F. y R. López. 2007. ¿Son seguros y efectivos los antioxidantes?. *Scientia et Technica* 13(033): 41-44.
- Fernández, S., D. Villano, A. Troncoso y C. García. 2006. Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* del vino y valoración de sus efectos *in vivo*. *Revista Alan* 56 (2):1-13.
- Favalli, G., J. Fonseca, A. Gomes and D. Granato. 2010. Characterization of Brazilian Lager and Brown Ale beers based on color, phenolic compounds, and antioxidant activity using chemometrics. *Science of Food and Agriculture* 91 (3): 563 – 571.
- García-Barceló, J. 1990. Técnicas analíticas para vinos. Ediciones FAB. Barcelona, España. 1713 p.
- García, M., M. Herrera y H. Roshna. 2009. Factibilidad económica de una cervecería artesanal en la región de Coquimbo. Tesis. Universidad Católica del Norte, Facultad de Ingeniería Comercial. Coquimbo, Chile. 22 p.
- García, S. 2009. Caracterización química y sensorial de cervezas comercializadas en el mercado chileno. Tesis. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 58 p.
- Gil, D and M. Rebelo. 2010. Evaluating the antioxidant capacity of wines: a laccase - based biosensor approach. *European Food Research and Technology* 231: 303-308.
- Glories, Y. 1978. Recherches sur la matière colorante des vins rouges. Thèse de doctorat d'état, Université de Bordeaux, Francia. 364p.
- González, M. L., P. Muñoz y V. Valls. 2001. Actividad antioxidante de la cerveza: estudios *in vitro* e *in vivo*. Departamento de Biotecnología y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Burgos. Burgos, España. Departamento de Pediatría, Ginecología y Obstetricia. Universidad de Valencia. Valencia, España. 57p.
- Gorjanovic, S., M. Novakovic, N. Potkonjak, I. Leskosek-Cukalovic and D. Suznjevic. 2010. Application of a novel antioxidative assay in beer analysis and brewing process monitoring. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58: 744–751.
- Gutiérrez, J. 2006. ¿Qué sabe usted acerca de radicales libres?. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 37(004): 69-73.
- Hasková, D., K. Krofta and A. Mikyska. 2008. Antioxidant characteristics of hops and hop products. *Journal of the Institute of Brewing* 114(2):160-166.
- Kunz, T., F. Methner, T. Schön, T. Shellhammer and P. Wietstock. 2010. Behaviour of antioxidants derived from hops during wort boiling. *Journal of the Institute of Brewing*. 116(2): 157-166.

Li, H., P. Li, H. Li, X. Wang and H. Wang. 2009. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food Chemistry* 112: 454-460.

Marambio, M. 2009. La osadía de los microcerveceros [en línea] <http://szot.cl/cerveceros_poderynegocios.pdf> [consulta: 26 diciembre 2011].

Palmer, J. 2006. *How to Brew: Everything You Need to Know to Brew Beer Right the First Time*. 3ª ed. Brewers Publications, Colorado, USA. 347 p.

Preedy, V. 2009. *Beer in health and disease prevention*. Elsevier. California, USA. 1128 p.

SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO (SAG). 2010. Ley 18.445 [en línea] <http://www.vinosdechile.cl/media/archivos/Decreto_n78.pdf> [consulta: 28 agosto 2010].

Ugartondo, V. 2009. Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales. Citotoxicidad y capacidad antioxidante frente a estrés oxidativo en modelos celulares. Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia. Valencia, España. 216 p.

Zhao, H and M. Zhao. 2012. Effects of mashing on total phenolic contents and antioxidant activities of malts and worts. *International Journal of Food Science & Technology* 47 (2): 240-247.

Zamora, F. 2003. *Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 224 p.

ANEXOS

ANEXO 1. Marcas comerciales utilizadas en el estudio

Muestra	Marca	Tipo
A	Szot	Pale ale
B	Del Puerto	Pale ale
C	Capital	Pale ale
D	Kross	Golden Ale
E	Kross	Pilsner
F	Salzburg	Helles Lager
G	Kunstman	Light Lager
H	Cristal	Light Lager
I	Dorada	Light Lager
J	Baltica	Light Lager
K	Escudo	Light Lager
L	Becker	Light Lager
M	Budweiser	Light Lager
N	Stella Artois	Light Lager
O	Heineken	Light Lager
P	Corona	Light Lager
Q	Miller	Light Lager
R	Paceña	Light Lager
S	Kunstman s/a	Light Lager
T	Cristal s/a	Light Lager