



**UNIVERSIDAD DEL AZUAY**

**FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA**

**ESCUELA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

**“Determinación de metales en cervezas”**

**Trabajo de graduación previo a la obtención del título de:**

**INGENIERO EN ALIMENTOS**

**JOSÉ MARCELO BECERRA DELGADO**

**Autor**

**PIERCÓSIMO TRIPALDI CAPPELLETTI**

**Director**

**CUENCA - ECUADOR**

**2014**

***DEDICATORIA***

El presente trabajo de graduación lo dedico a todas las personas que me han enseñado que cualquier noche puede salir el sol, a mis padres, a mis hermanos de sangre y de vida y de manera especial a la memoria de Delia, Isabel, José y Teresa.

José

## ***AGRADECIMIENTOS***

Agradezco a mis Padres, Eloy y Carmela, a mis hermanos, Paúl y Andrés, por el interés que han mostrado en todo mi crecimiento académico y además por ser pilares e inspiración de mi vida.

Agradezco la colaboración y paciencia a mi director de tesis Dr. Piercosimo Tripaldi, y al Ing. Andrés Pérez que desinteresadamente me apoyaron en todo el desarrollo del presente trabajo de investigación.

De la misma manera, quiero agradecer a todos los profesores que aportaron con mi educación profesional; a todos mis compañeros y amigos: Vale, Diego, Cristian, Juan, Silvia, Lenin, Elisa, Pablo y Andre ya que día a día, dentro y fuera de las aulas me ayudaron no solo en mi crecimiento académico sino también en el personal.

## DETERMINACIÓN DE METALES EN CERVEZA.

### RESUMEN

En el presente trabajo se determinó el contenido de Zn, Cd, Pb y Cu en 25 variedades distintas de cerveza. Para cumplir este objetivo se analizaron mediante Anodic Stripping en el polarógrafo 4 muestras de cada una de las 25 marcas encontradas con mayor frecuencia en los centros comerciales y cervecerías artesanales de la ciudad de Cuenca. El contenido de metales se obtuvo por medio de programas computarizados y los resultados fueron sometidos a un análisis estadístico para la creación de 8 cluster disociativos, en los que al analizar sus centroides se determinó si están dentro o fuera de las normas establecidas por el país. Además se analizó la similitud de los datos obtenidos de cada una de las cervezas.

**PALABRAS CLAVE:** Cerveza, Metales Pesados, Anodic Stripping, Cluster.



Ing. Fausto Tobías Parra Parra  
**Director de Escuela.**



Dr. Piercósimo Tripaldi Cappelletti  
**Director de Tesis**




José Marcelo Becerra Delgado  
**Autor**

## DETERMINATION OF METALS IN BEER

### ABSTRACT

By means of this work, we determined the content of Zn, Cd, Pb and Cu in 25 different varieties of beer. In order to meet this objective, 4 samples of each of the 25 most common beer brands found in malls and craft breweries in the city of Cuenca were analyzed by the application of Polarography with Anodic Stripping. The metal content was obtained by means of computer programs and the results were subjected to statistical analysis to create 8 dissociative cluster. When their centroids were analyzed, we were able to determine if they were within or outside the norms established by the country. Furthermore, the similarity of data obtained from each of the beers was analyzed.

**KEYWORDS:** Beer, Heavy Metal, Anodic Stripping, Cluster.

  
Ing. Fausto Tobías Parra Parra

**School Director**

  
Dr. Piercósimo Tripaldi Cappelletti

**Thesis Director**

José Marcelo Becerra Delgado

**Author**



  
Translated by,  
Lic. Lourdes Crespo

**ABREVIATURAS (Orden Alfabético)**

American Iron and Steel Institute	AISI
Association of Official Analytical Chemists	AOAC
Cadmio	Cd
Cobre	Cu
Food and Agriculture Organization	FAO
Gramo sobre litro	g/l
Herzio	Hz
Instituto Ecuatoriano de Normalización	INEN
Masa sobre masa	m/m
Microgramo sobre Kilogramo	$\mu\text{g}/\text{kg}$
Mili voltio	mV
Miligramos	Mg
Miligramos sobre decímetro cúbico	$\text{mg}/\text{dm}^3$
Nitrato de potasio	$\text{KNO}_3$
Norma Técnica	NTE
Óxido reducción	Redox
Partes por billón	ppb
Partes por millón	ppm
Plomo	Pb
Volumen sobre volumen	V/V
Zinc	Zn

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>Contenido</b>	<b>Páginas</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	ii
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	iii
<b>RESUMEN</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>ABREVIATURAS</b> .....	vi
<b>ÍNDICE DE CONTENIDOS</b> .....	vii
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	x
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	xi
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b> .....	xiv
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>OBJETIVOS</b> .....	2

### **CAPÍTULO 1: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA**

1.1 La Cerveza .....	3
1.1.1 Definición.....	3
1.1.2 Tipos y Variedades.....	3
1.1.3 Condiciones de fabricación.....	4
1.1.4 Equipos.....	6
1.2 Metales Pesados .....	7
1.2.1 Toxicidad de Metales Pesados .....	7
1.2.2 Zinc .....	7

1.2.3 Cadmio .....	8
1.2.4 Plomo .....	9
1.2.5 Cobre .....	11
1.3 Polarografía .....	12
1.3.1 Fundamentos .....	12
1.3.2 Aplicación .....	12
1.3.3 Métodos.....	13
1.3.4 Anodic Stripping Voltametri.....	14
1.3.5 Análisis Cuantitativo.....	17
1.4. Método de adición estándar .....	17
1.5 Métodos jerárquicos de análisis cluster.....	18

## **CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS**

2.1 Diagrama de proceso.....	20
2.2 Equipos utilizados .....	21
2.3 Recolección de muestras .....	23
2.4 Pretratamiento de las muestras.....	23
2.5 Análisis en Polarógrafo de las muestras.....	24
2.6 Cuantificación de Metales.....	26

## **CAPÍTULO 3: RESULTADOS**

3.1 Primer muestreo .....	28
3.2 Segundo muestreo .....	30



3.3 Tercer muestreo.....	31
3.4 Cuarto muestreo .....	32
3.5 Promedio de Blancos.....	33
3.6 Análisis Cluster .....	33
3.7 Análisis por cerveza .....	43

**CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN**

4.1 Discusión.....	56
--------------------	----

<b>CONCLUSIONES</b> .....	58
---------------------------	----

<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	59
---	----

<b>ANEXOS</b> .....	63
---------------------	----

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Requisitos Físico Químicos de la cerveza.....	5
Tabla 2. Contenido de metales del primer muestreo.....	28
Tabla 3. Contenido de metales del segundo muestreo .....	30
Tabla 4. Contenido de metales del tercer muestreo .....	31
Tabla 5. Contenido de metales del cuarto muestreo .....	32
Tabla 6. Promedio de blancos .....	33
Tabla 7. Cervezas pertenecientes al clúster 1.....	36
Tabla 8. Cervezas pertenecientes al clúster 2.....	37
Tabla 9. Cervezas pertenecientes al clúster 3.....	38
Tabla 10 Cervezas pertenecientes al clúster 4.....	38
Tabla 11 Cervezas pertenecientes al clúster 5.....	39
Tabla 12 Cervezas pertenecientes al clúster 6.....	39
Tabla 13 Cervezas pertenecientes al clúster 7.....	40
Tabla 14 Cervezas pertenecientes al clúster 8.....	40
Tabla 15 Contenido medio de metales de cada clúster .....	41
Tabla 16 Logaritmos del contenido medio de metales de cada clúster.....	41

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Potencial de Exploración .....	15
Figura 2. Exploración anódica de potencial.....	15
Figura 3. Creación de un pico de un Voltamperograma .....	16
Figura 4. Voltamperograma .....	16
Figura 5. Ultrasonido Branson 2510 .....	21
Figura 6. Estufa Continental Equipment DAS 140020.....	21
Figura 7. Mufla Nabertherm N61HK.....	22
Figura 8. Polarógrafo AMEL 433 .....	22
Figura 9. Toma de muestras .....	23
Figura 10. Método de análisis establecido en el programa AMEL 433 TRACE ANALICER .....	25
Figura 11. Parámetros del programa para la creación del voltamperograma.....	25
Figura 12. Respuesta automática del equipo con el contenido de Cd.....	26
Figura 13. Determinación de altura de las curvas .....	27
Figura 14. Dendograma de clasificación de las cervezas.....	34
Figura 15. Porcentajes de distribución de cervezas en cada clúster.....	40
Figura 16. Logaritmos del contenido medio de metales de cada clúster .....	42
Figura 17. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Pilsener en los clúster .....	43

Figura 18. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Club Negra en los clúster .....	44
Figura 19. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Miller en los clúster	44
Figura 20. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Brahma en los clúster	45
Figura 21. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Club Verde en los clúster .....	45
Figura 22. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Club Roja en los clúster .....	46
Figura 23. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Pilsener Light en los clúster .....	46
Figura 24. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Stella Artois en los clúster .....	47
Figura 25. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Shandy en los clúster .....	47
Figura 26. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Estrella Galicia en los clúster .....	48
Figura 27. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Heineken en los clúster .....	48
Figura 28. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Corona en los clúster	49
Figura 29. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Pilsener en lata en los clúster .....	49
Figura 30. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Negra Modelo en los clúster .....	50
Figura 31. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Rubia Beer House en los clúster .....	50

Figura 32. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Negra Beer House en los clúster .....	51
Figura 33. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Roja Beer House en los clúster .....	51
Figura 34. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Rubia Beer Factory en los clúster .....	52
Figura 35. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Roja Beer Factory en los clúster .....	52
Figura 36. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Negra Beer Factory en los clúster .....	53
Figura 37. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Erdinger Negra en los clúster .....	53
Figura 38. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Erdinger Rubia en los clúster .....	54
Figura 39. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Águila en los clúster	54
Figura 40. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Poker en los clúster..	55
Figura 41. Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Budweiser en los clúster .....	55

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Norma ecuatoriana para cervezas .....	64
Anexo 2. Legislación brasileña de metales pesados .....	69
Anexo 3. Norma nicaragüense para cervezas .....	77
Anexo 4. Norma española para cerveza .....	92
Anexo 5. Contenidos máximos en Suiza para metales .....	103
Anexo 6. Estudio preliminar sobre la determinación de elementos traza en cervezas venezolanas por ICP- OES.....	120

Becerra Delgado José Marcelo

Trabajo de Graduación

Dr. Tripaldi Cappelletti Piercósimo

Noviembre de 2014

## **“DETERMINACIÓN DE METALES EN CERVEZA”**

### **INTRODUCCIÓN**

Según el INEC en su encuesta Nacional de ingresos y gastos en hogares urbanos y rurales 2011-2012 se estima que en el país un aproximado de 900000 personas consume alcohol y de este número el 79,2% prefiere beber cerveza lo que se ve reflejado en el consumo de la misma que sobrepasa los 50 millones de litros por año. Las productoras de este tipo de bebidas son Cervecería Nacional con marcas como Club, Pilsener y Club roja; Ambev presente en el mercado con Brahma y envasadora de Budweiser, el resto de marcas ofertadas son importadas como Corona, Heineken, Miller, Negra Modelo, Stella Artois, etcétera y también están presentes las fabricadas artesanalmente que son expandidas en negocios propios como Beer House y Beer Factory, éstas últimas propias de la ciudad de Cuenca.

En el segundo semestre del año 2012 el segmento experimentó la venta de 156 mil hectolitros y \$27,5 millones. Los principales consumidores son jóvenes de entre 26 y 35 años, con ingresos medios, según el artículo del diario Hoy, La venta de marcas de cerveza Premium se multiplican en el país, publicado el 2 de octubre del año 2012. Los precios que van desde los \$1, 20 a los \$5, dependiendo del lugar de consumo.

Como se puede apreciar en los datos anteriormente expuestos, la cerveza es una bebida de consumo masivo dentro del país, por lo cual los resultados de esta investigación son importantes para la salud pública ya que el presente trabajo hace un análisis del contenido de metales (Zn, Cd, Pb, Cu) presentes en este derivado de la cebada, pues a lo largo de la cadena productiva puede presentar una contaminación ya sea en los lugares de almacenamiento o por las materias primas utilizadas en las mismas.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL:**

- Determinar los metales pesados (Zn, Cd, Pb, Cu) presentes en cervezas expandidas en la ciudad para la creación de un clúster de agregación de las mismas.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Determinar el contenido de Cadmio, Cobre, Zinc y Plomo en cervezas comerciales.
- Crear un clúster asociativo a partir de los datos obtenidos en los análisis de laboratorio.



## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO

#### Introducción

En el presente capítulo se muestra información referente a la cerveza, su definición, los tipos y variedades, las condiciones de fabricación y los equipos que se utilizan en su proceso productivo. También contiene datos referentes a la toxicología de los metales que se van a determinar e información sobre la polarografía y la técnica utilizada en el desarrollo del mismo.

#### 1.1.La Cerveza

##### 1.1.1. Definición:

La norma INEN 2 262:2003 define a la cerveza como:

“Bebida de moderado contenido alcohólico, resultante de un proceso de fermentación controlado, por medio de levadura cervecera proveniente de un cultivo puro, en un mosto elaborado con agua de características fisicoquímicas y bacteriológicas apropiadas, cebada malteada sola o mezclada con adjuntos, con adición de lúpulo y/o los derivados de lúpulo.”

##### 1.1.2. Tipos y Variedades

Las cervezas varían de acuerdo al color, sabor y fuerza ya que cada fase de producción es susceptible a cambios y modificaciones creativas.

Simonazzi (2009) hace una distinción basada en el tipo de levadura que se utiliza existiendo cervezas de fermentación alta, cervezas de fermentación baja y cervezas de fermentación espontánea.

-Cervezas de fermentación alta: las cepas de *Saccharomyces uvarum* bzw. y la *Saccharomyces carlsbergensis*, responsables de esta fermentación flotan sobre la superficie del mosto y reciben el nombre de tipo Ale, su temperatura óptima para fermentar oscila entre los 15 y 25° C. y puede servirse a los pocos días de terminar su fermentación.

Entre las cervezas de alta fermentación podemos señalar las de estilo alemán, como la de Colonia, la ahumada o la de trigo, estilo belga como las de abadía, la trapense o la cerveza roja,

la de estilo escocés como la scotch o la afrutada y las cervezas de estilo británico, como la Brown Ale, Irisch Ale, Scottish Ale.

-Cervezas de fermentación baja: fermentan a temperaturas entre 5 y 9 °C y deben almacenarse a 0°C entre periodos de tres semanas a tres meses por lo que deben su nombre Lager que significa almacén, la cepa que produce esta fermentación es la *saccharomyces cerevisiae*.

Entre las cervezas de baja fermentación están las del tipo Pilsen, Bockbier, la Doppelbock, la Export, Zwickel, Zoigl.

-Cervezas de fermentación espontánea: en este grupo son las mismas levaduras en suspensión las que se introducen en el mosto, dando como resultado un producto mucho más ácido que suele reducirse posteriormente para el consumo.

### **1.1.3. Condiciones de fabricación**

En la norma INEN 2 262:2003 vigente en el país encontramos que la cerveza debe cumplir las siguientes características para ser apta para el consumo humano:

La cerveza no debe ser turbia, ni contener sedimentos apreciables a simple vista, aunque ciertas variedades de cervezas provenientes de trigo o de procesos artesanales presentan cierto grado de turbiedad que le da una característica propia a la misma.

La levadura empleada en la elaboración de la cerveza debe provenir de un cultivo puro de levadura cervecera, libre de cualquier otro tipo de microorganismo patógeno.

Las Prácticas permitidas por la misma norma son:

El agua debe ser potable (según NTE INEN 1 108). La misma se puede depurar con ácidos, sales de calcio y zinc para favorecer la acción enzimática de la cebada malteada.

Se puede utilizar enzimas amilasas, glucanasas, celulasas y proteasas de origen natural.

Se puede utilizar colorantes provenientes de la caramelización de azúcares o de cebadas malteadas oscuras y sus concentrados o extractos.

Se puede usar agentes antioxidantes de uso permitidos, tales como el ácido ascórbico, sus sales o bisulfitos de sodio o potasio.

Se puede utilizar materiales filtrantes y clarificantes tales como celulosa, carbón activado, tierras de infusorios o diatomeas, tanino, albúmina, gelatina alimenticia, bentonitas, alginatos, dióxido

de silicio amorfo, caseína, queratina, poliamidas y polivinilpolipirrolidona insoluble y otros de uso permitido que no hagan parte del producto final.

Las prácticas no permitidas por las mismas normas (INEN 2 262:2003) para la elaboración de cerveza es la adición o uso de:

Alcoholes.

Agentes edulcorantes artificiales

Sustitutos del lúpulo u otros principios amargos

Adjuntos que proporcionen sabores o aromas diferentes a la naturaleza propia de la cerveza.

Esencias o saborizantes naturales o artificiales.

Saponinas.

Materias colorantes diferentes al caramelo de azúcar o a las cebadas malteadas oscuras o a sus concentrados o extractos.

Sustancias conservantes, ya que el lúpulo y su bajo pH la vuelven estable.

Cualquier ingrediente que sea nocivo para la salud.

Medios filtrantes constituidos por asbesto.

Además la norma INEN 2 262:2003 sugiere que se cumplan con los requisitos físico-químicos presentados a continuación:

**Tabla1.** Requisitos Físico-Químicos de la cerveza

REQUISITOS	UNIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO	MÉTODO DE ENSAYO
Contenido alcohólico a 20°C	% (v/v)	2,0	5,0	NTE INEN 2 322
Acidez total, expresado como ácido láctico	% (m/m)	-	0,3	NTE INEN 2 323
Carbonatación	Volúmenes de CO <sub>2</sub>	2,2	3,5	NTE INEN 2 324
pH	-	3,5	5,0	NTE INEN 2 325
Contenido de hierro	mg/dm <sup>3</sup>	-	0,2	NTE INEN 2 326
Contenido de cobre	mg/dm <sup>3</sup>	-	1,0	NTE INEN 2 327
Contenido de zinc	mg/dm <sup>3</sup>	-	1,0	NTE INEN 2 328
Contenido de arsénico	mg/dm <sup>3</sup>	-	0,1	NTE INEN 2 329
Contenido de plomo	mg/dm <sup>3</sup>	-	0,1	NTE INEN 2 330

**Fuente:** Norma INEN 2 262:2003

#### 1.1.4. Equipos

El proceso productivo de la cerveza en la mayoría de los casos, incluyendo las cervezas artesanales, están automatizados para aumentar la eficiencia y disminuir los riesgos ocasionados por la manipulación.

El material con el que se fabrican la mayoría de equipos utilizados dentro de la industria cervecera es el acero inoxidable austenítico AISI 304, compuesto por aproximadamente 0.05% de carbono, 18% de cromo y un mínimo de 8% de níquel; puesto que ofrece valiosas ventajas de fabricación como mejor formabilidad y soldabilidad también tienen una excelente resistencia a la corrosión y facilidad para su higiene y limpieza; son de fácil transformación y son funcionales en temperaturas extremas (Torres, 2004).

Los equipos comúnmente utilizados en este proceso de fabricación de la cerveza son:

-Bandas transportadoras: útiles en el transporte de la malta desde su recepción realizada por camiones hasta los elevadores y transportadores de canguilones y hacia las tolvas de dosificación o canalones, son bandas deslizadoras en pasantes de lámina de metal y bandas de protección contra el polvo.

-Molino de Rodillos: Utilizados para reducir el endospermo a partículas más pequeñas tratando de mantener la cáscara intacta.

-Transportadores Oscilantes: Constan con un tamiz que por medio de un sistema vibratorio selecciona las partículas antes de pasar a la tova de harinas.

-Silo de Malta: se utilizan para el almacenamiento de la malta para evitar su contaminación.

-Bombas dosificadoras: utilizadas en la fermentación pues inyectan las levaduras en esta etapa.

-Olla de Masas: Lugar donde se adiciona agua a los granos de malta y los almidones de dichos granos se convierten en azúcares.

-Tanques de Fermentación del Mosto: en los mismos se da la transformación de los azúcares en alcohol y gas carbónico, este proceso dura aproximadamente 7 días.

-Tanques de Maduración de la Cerveza: En estos tanques reposa la cerveza durante 15 días para su estabilización química y refinamiento de sabor a temperaturas de aproximadamente 0°C.

-Intercambiadores de calor: Necesarios para el enfriamiento del mosto antes de llegar a los tanques de fermentación.

-Envasadora: Su objetivo es el llenado uniforme de las botellas en condiciones asépticas con la menor agitación posible para evitar la pérdida de gas carbónico a temperatura constante y sin inyección de aire.

-Horno de túnel (Pasteurizador): cuyo fin principal es la pasteurización del producto para garantizar su conservación durante largos periodos, en este proceso se eliminan los residuos de levadura que pueden haber pasado la filtración.

-Filtros: Utilizados para la eliminación de levadura o proteínas y la clarificación de cerveza.

-Centrífugas: se utilizan en un paso previo a la clarificación para eliminar hasta en un 99% la levadura presente en la cerveza.

## **1.2. Metales Pesados**

### **1.2.1. Toxicidad de metales pesados**

Los elementos metálicos están presentes en todos los organismos vivos y desempeñan diferentes papeles; pueden ser elementos estructurales, estabilizadores de estructuras biológicas, activadores enzimáticos, etc., por esta razón algunos de ellos son esenciales para las funciones biológicas pero si los mismos se presentan en exceso se convierten en elementos tóxicos (Florez, 2003).

Los metales no sufren procesos de metabolización así que se quedan en el organismo hasta ser excretados, por ello muchos de ellos tienen una semivida biológica muy larga y tienden a acumularse en el organismo a lo largo de la vida.

Las vías de exposición principales a los metales son la respiratoria y la digestiva y en menor grado la dérmica.

El primer efecto biológico de un metal se da en un órgano determinado y con circunstancias específicas como es su concentración en las células de ese órgano que sea capaz de afectar el correcto funcionamiento del mismo, la misma varía entre los individuos en función de sus diferencias biológicas.

A continuación se detalla la toxicidad de los metales que se determinaron en el presente trabajo:

### **1.2.2. Zinc**

El zinc es un nutriente esencial, no se acumula en el organismo y se recomienda una ingesta diaria mínima de 12 a 15 mg (Moreno, 2003). Se absorbe más fácil de proteínas animales que de productos vegetales. (OMS, 1973)

Constituye el 0,02% de la corteza terrestre distribuido ampliamente en la naturaleza. Dada su resistencia a la corrosión atmosférica es utilizado principalmente para la galvanización de otros metales ya que los agentes corrosivos atacan al zinc y se protegen los demás metales, inhibiendo

la corrosión principalmente en el tratamiento del agua y manipulación de bebidas (Nordberg, 2001).

#### -Metabolismo y acumulación

El Zinc se absorbe por vía gastrointestinal en procesos regulados por transportadores específicos, en la sangre se encuentra ligado a la albúmina y otras proteínas plasmáticas, su principal ruta de excreción es la biliar, seguida por la urinaria y en menor grado, el sudor. Su concentración en distintos tejidos es muy desigual y su vida media es de 162 a 500 días. (Moreno, 2003).

#### -Toxicidad aguda

Las sales de zinc son irritantes para el tracto gastrointestinal pudiendo provocar fiebre, náuseas, vómitos, dolor de estómago y diarrea, comúnmente ocasionadas por el consumo de bebidas almacenadas en latas galvanizadas. (Nordberg, 2001).

### **1.2.3. Cadmio**

En la naturaleza se encuentra asociado al zinc en proporciones que oscilan entre 1:100 o 1:1000 (Nordberg, 2001), se utiliza comúnmente en la galvanización de tuberías y electro chapeado, endurecimiento del cobre y aumento de su resistencia frente a cambios mecánicos y térmicos, además en la fabricación de pilas y electrodos.

El cadmio puede estar presente en diferentes alimentos animales o vegetales, en el agua y el aire del ambiente, siendo el humo del tabaco una de las fuentes más importantes de este metal en la vida cotidiana.

Los alimentos pueden contaminarse con este metal por utensilios recubiertos con esmalte a base de cadmio o soldaduras realizadas con cadmio comúnmente utilizadas en las máquinas expendedoras de bebidas calientes y frías (Nordberg, 2001).

Según la FAO en su documento de Ensayo sobre el Cadmio (1999), la ingestión semanal tolerable provisional es de 7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corporal.

#### -Metabolismo y acumulación

Pese a que la vía de entrada más peligrosa del cadmio es la respiratoria, la absorción gastrointestinal de este metal varía entre el 2 y 6 % en condiciones normales aumentando su asimilación hasta en un 20% si la persona presenta deficiencia de hierro en su organismo.

Luego de su absorción este metal se acumula en el hígado y el riñón donde de un 80 a un 90 % de la dosis total de cadmio que entra en el organismo se une a la metalotioneína, una proteína de bajo peso molecular, lo que evita que los iones libres de cadmio ejerzan su efecto tóxico (Nordberg, 2001).

La excreción vía renal del cadmio es lenta por lo que su semivida es muy alta y puede alcanzar aproximadamente 30 años en los compartimientos profundos de riñones e hígado (Moreno 2003), la concentración de este metal aumenta a lo largo de la vida desde 1µg hasta 10-30 mg en un adulto, dependiendo del grado de exposición ambiental (Nordberg, 2001).

#### -Toxicidad aguda

Las intoxicaciones agudas por vía respiratoria consisten en una neumonitis química, con disnea, debilidad, fiebre e insuficiencia respiratoria que puede convertirse en un edema pulmonar. En el caso del mismo grado de intoxicación pero por vía digestiva produce náuseas, vómitos, dolor abdominal y diarrea (Moreno 2003).

#### -Toxicidad Crónica

Las alteraciones provocadas por este metal en casos de intoxicaciones crónicas se deben más que a contaminación de alimentos a exposiciones prolongadas de humos o polvos de óxido de cadmio y a esteratos de cadmio. Los cambios pueden ser locales en cuyo caso se afectan las vías respiratorias o sistémicos que incluyen lesiones renales con proteinuria y anemia (Florez, 2003).

### **1.2.4. Plomo**

Muy distribuido en la naturaleza utilizado desde tiempos del antiguo Egipto en pigmentos y cosméticos así como en estatuillas (Moreno, 2003).

Dentro de los usos industriales al plomo se lo utiliza en planchas o tubos, cuando se requiere materiales resistentes a la corrosión y con gran maleabilidad, también se utiliza como componente de soldadura y empaste especialmente en la industria automovilística, es un excelente protector de radiaciones ionizantes y es también utilizado como base de muchas pinturas y pigmentos.

Se utiliza dentro del área alimentaria para depósitos y contenedores de bebidas y alimentos; si éstos se encuentran mal recubiertos, pueden ser origen de intoxicaciones como lo menciona Nordberg (2001).

No existe un nivel de exposición al plomo que pueda considerarse seguro, según la OMS.

#### -Metabolismo y acumulación

El plomo ingresa principalmente por el aparato respiratorio al organismo y está en relación con el tamaño de las partículas presente en el aire contaminado; por absorción intestinal se asimila el 10% de la cantidad ingerida, aunque los niños y mujeres embarazadas pueden absorber un 50% del mismo, también se incrementa la asimilación en casos de ayuno y déficit de hierro o calcio.

Una vez en el organismo el plomo no se metaboliza sino que se absorbe, distribuye y excreta directamente; la velocidad de absorción depende de su forma química, física y de las características del individuo. Una vez en la sangre se concentra en los hematíes y se distribuye por todo el organismo localizándose también en tejidos blandos y tejidos mineralizados donde está el 95% del contenido total de plomo en los adultos.

La excreción del mismo es principalmente por la orina y la semivida depende de su lugar de alojamiento siendo de unos días para el plasma y tejido blando y de varios años para el tejido mineralizado (Florez, 2003).

#### -Toxicidad Aguda

Este tipo de casos es poco frecuente y se debe a la ingestión de compuestos acidosolubles de plomo o inhalación de vapores. Provoca daños intestinales como vómito en abundancia, dolor abdominal, heces negras, diarrea o estreñimiento.

En los niños si la concentración es de 100 a 300  $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ . puede provocar encefalopatía aguda con vómitos, ataxia, estupor, somnolencia e irritabilidad (Nordberg, 2001).

#### -Toxicidad Crónica

Mantienen los mismos síntomas que una intoxicación aguda con la aparición de cólicos difusos muchas veces de gran intensidad, otras veces solo existe anorexia, estreñimiento malestar y sabor metálico (Nordberg, 2001).

#### -Efectos fisiológicos:

Los efectos del plomo son los mismos si su ingreso es por inhalación o ingestión pudiendo provocar:



Efectos neurológicos: puede provocar encefalopatía subaguda o aguda con signos de hipertensión craneal, en niños puede provocar deterioro mental, conducta hipercinética o agresiva, pérdida de apetito, insomnio y dolores abdominales.

Puede también causar una neuropatía periférica cuya principal característica es la caída de la muñeca, parálisis radial y parálisis de músculos oculares externos.

Efectos hematológicos: El plomo inhibe la capacidad del organismo para producir hemoglobina al interferir con varios pasos enzimáticos en la vía metabólica del grupo hemo, razón por la cual puede producir anemia.

Efectos endocrinos: impide el crecimiento y maduración celular además el desarrollo de huesos y dientes y existe una correlación inversa entre los niveles de plomo en sangre y los de vitamina D.

Efectos renales: produce nefropatía y tiene asociación con la hipertensión (Florez, 2003).

### **1.2.5. Cobre**

Este metal es un elemento esencial en el metabolismo humano, utilizado mayoritariamente en la industria eléctrica, aunque es utilizado también en la fabricación de cañerías para líquidos, material para techumbres, baterías de cocina, equipos químicos y farmacéuticos y producción de aleaciones de cobre.

Dado el desgaste de las tuberías el agua y bebidas son una fuente de contaminación de este metal (Nordberg, 2001).

Según la OMS cuando la ingestión cotidiana es menor a 0,5 mg/kg de peso corporal no existe la aparición de efectos nocivos en los humanos.

#### **-Metabolismo y acumulación**

Los alimentos de consumo diario de los humanos contiene de 2 a 5 mg de cobre, que no es retenido en el organismo y el contenido corporal de una persona adulta es de 100 a 150 mg que permanece la mayoría de las veces constante salvo excepciones en personas que padecen una rara anomalía llamada enfermedad de Wilson (Nordberg, 2001).

El cobre se absorbe principalmente en el estómago y se distribuye por todo el organismo almacenándose en hígado, corazón, cerebro, riñón y músculo; en el hígado es transportado por la proteína ceruloplasmina y otras proteínas plasmáticas o tisulares enzimáticas.

Se elimina por la bilis y su semivida puede durar varias semanas (Moreno, 2003).

-Toxicidad aguda

La ingestión de sus sales produce molestias gastrointestinales con abundante vómito, diarrea, sudoración, hemólisis intravascular y un posible fallo renal.

No se conocen datos sobre intoxicación crónica de este metal (Florez, 2003).

### **1.3. Polarografía**

#### **1.3.1. Fundamentos**

La polarografía es el método voltamperométrico de mayor utilización, aquí el electrodo de trabajo toma forma de una serie de gotas de mercurio expulsada por un delgado capilar de vidrio, llamado electrodo de gota de mercurio. (Vassos, Ewing, 1987).

Se fundamenta en la voltimetría, que es una técnica analítica basada en la medida de la corriente que circula a través del electrodo sumergido en una solución que contiene componentes electroactivos mientras impone un escáner de potencia sobre la solución. Este electrodo es llamado electrodo de trabajo y puede ser hecho con varios materiales. Usualmente tiene una superficie muy pequeña para poder asumir rápido y con precisión el potencial impuesto por el circuito eléctrico. El electrodo puede ser sólido (oro, platino, carbón vítreo) o formado por una gota de mercurio que cuelga de la punta de un capilar. Si el electrodo está formado por una gota de mercurio cayendo uniformemente del capilar la técnica es la polarografía. (Protti, 2001).

#### **1.3.2. Aplicación**

Cruz y asociados (2001) señala que la polarografía es una técnica analítica sencilla de la física y la química, que permite el análisis de trazas de elementos metálicos en el orden de 1 a 0.1 ppm e incluso menores (ppb o ppt posibles de detectar con Anodic Stripping) que tiene especial interés en la determinación de constantes de equilibrio, coeficientes de difusión, la cinética de las reacciones químicas y electroquímicas; entre otros y dentro de la química analítica se utiliza para hacer distinciones cualitativas y cuantitativas de sustancias, tanto inorgánicas como orgánicas, de gran exactitud.

Este tipo de análisis es aplicable a muchas sustancias que deben cumplir estos dos requisitos: que la sustancia sea soluble en un solvente ionizante y que sea oxidable o reducible a un potencial dentro del campo accesible al electrodo de gota de mercurio; la sustancia electroactiva puede ser un ion de carga positiva o negativa o de especie neutra (Vassos, Ewing, 1987).

### 1.3.3. Métodos

Settle (1997) hace la distinción de las siguientes técnicas voltamétricas:

-Voltamperometría normal del pulso (VAN): Esta técnica utiliza una serie de pulsos potenciales de amplitud creciente. La medición de la corriente se hace cerca del final de cada impulso, lo que permite tiempo para decaer a la corriente de carga. Se lleva a cabo generalmente en una solución sin agitar, ya sea en electrodo de gota de mercurio o electrodos sólidos.

-Voltametría de pulso diferencial (DPV): Esta técnica es comparable a la voltametría de pulso normal en que el potencial también se escanea con una serie de pulsos. Se diferencia de VAN porque cada pulso de potencial se fija, de pequeña amplitud (10 a 100 mV), y se superpone sobre una base potencial que cambia lentamente. La corriente se mide en dos puntos para cada impulso, antes de la aplicación del impulso y al final del pulso. Estos puntos de muestreo se seleccionan para permitir la desintegración de la corriente no faradaica. La diferencia entre las mediciones de corriente en estos puntos para cada pulso se determina y se representa frente a la base potencial.

-Voltamperometría de onda cuadrada (SWV): Esta técnica representa un desarrollo adicional de la anterior basado en un paso rápido de barrido de potencial que se aplica al electrodo y, por otra parte en cada paso es superpuesta una onda cuadrada de alta frecuencia (20-100 Hz). La corriente se muestrea dos veces al final de las dos ondas medias. Si la amplitud de la onda es muy poca y el sistema redox es reversible, durante la primera mitad de la onda del compuesto electro activo puede ser reducida (u oxidada), mientras que, en la segunda onda media, en lo contrario, puede ser oxidado (o reducido). Los dos corrientes se suman por lo que aumentan la sensibilidad.

-Voltametría cíclica (CV): es una técnica electroanalítica utilizada en muchas áreas de la química para el estudio de los procesos redox, para la comprensión de intermedios de reacción, y para la obtención de la estabilidad de productos de reacción.

Esta técnica se basa en la variación del potencial aplicado a un electrodo de trabajo, tanto en direcciones directa e inversa mientras se monitoriza la corriente. Dependiendo del análisis se pueden realizar un ciclo completo, un ciclo parcial, o una serie de ciclos.

#### **1.3.4. Anodic Stripping Voltametría.**

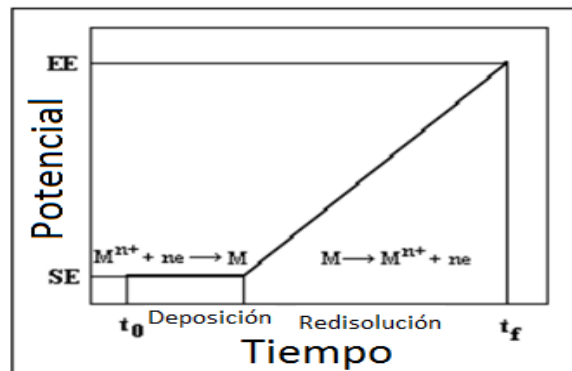
El método utilizado para la determinación de metales en el presente trabajo fue Anodic Stripping.

La técnica sigue dos pasos principales:

Una pre-concentración del analito sobre el electrodo, lo que significa que un potencial negativo es aplicado al electrodo y los cationes se descargan como átomos metálicos en el mercurio formando una amalgama.

Se deja que continúe la electrólisis durante un tiempo determinado con una buena agitación y con un despojado sucesivo del compuesto acumulado sobre el electrodo hacia la solución en la que los átomos de metal se oxidan de nuevo, se realiza una exploración anódica del potencial; en dicha exploración la corriente es medida y se representa en un voltamperograma resultante (Figura 4), que es un gráfico en forma de pico. La posición y la altura de este pico se relacionan, respectivamente, para el tipo y la concentración del analito (Protti, 2001).

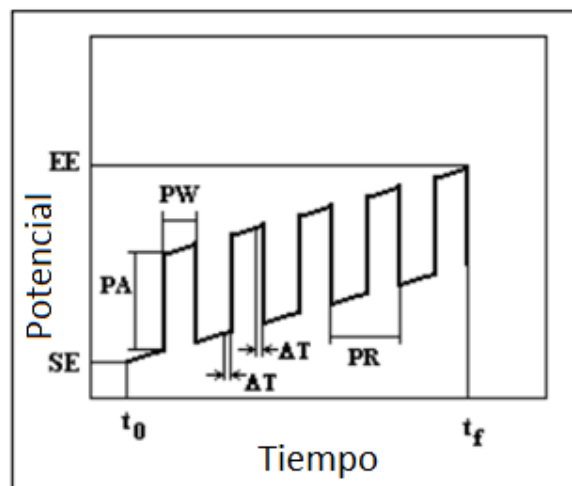
La figura 1 muestra los cambios que experimenta el potencial al momento de la deposición de la gota de mercurio dentro de la muestra, en el cual no existe variación y al momento de la redisolución en el que se realiza la medida del potencial para representarlo posteriormente en el voltamperograma.

**Figura 1.** Potencial de exploración

SE: Potencial de inicio; EE: Potencial final;  $t_0$ : Tiempo inicial de escaneo;  $t_f$ : Tiempo final de escaneo

**Fuente:** Protti 2001.

La Figura 2 hace referencia a las variaciones del potencial en la redisolución u oxidación de los átomos, cuando la muestra es sometida a pulsos en lapsos de tiempo muy pequeños; como resultado de estas variaciones obtenemos el voltamperograma.

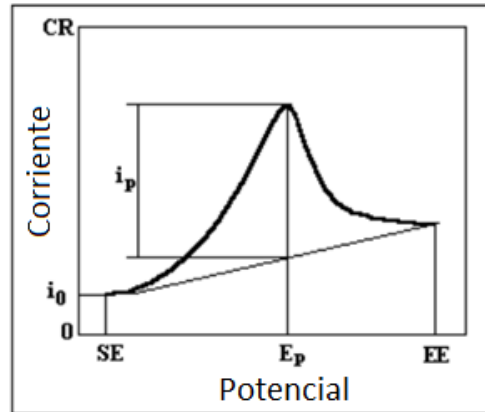
**Figura 2.** Exploración anódica del potencial.

SE: Potencial de inicio; PW: Tiempo de pulso PA: Amplitud del potencial de pulso; PR: Tiempo de repetición de pulso;  $\Delta T$ : Tiempo de muestreo;  $t_0$ : Tiempo inicial de escaneo;  $t_f$ : Tiempo final de escaneo; EE: Potencial final.

**Fuente:** Protti 2001.

Con la diferencia de la medida de corrientes que se da en la oxidación obtenemos el potencial de pico, como lo muestra la figura 3.

**Figura 3.** Creación de pico de un Voltamperograma

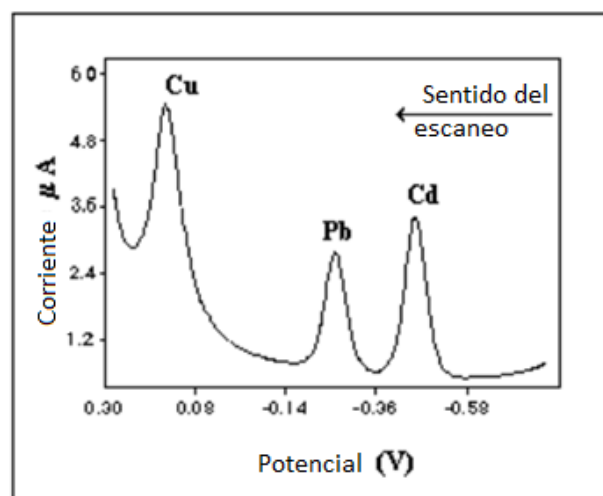


SE: Potencial de inicio; EP: Potencial de pico; EE: Potencial final;  $i_0$ : Comienzo de la exploración de corriente;  $i_p$ : Corriente de pico; CR: Rango de corriente

**Fuente:** Protti 2001.

El gráfico resultante luego de la pre concentración y redisolución de los metales presentes en la muestra es el siguiente:

**Figura 4.** Voltamperograma.



**Fuente:** Protti 2001.

Esta técnica permite mejorar la sensibilidad debido a que durante la pre-concentración una gran cantidad de analito pasa a un pequeño volumen de electrodo y las medidas de corrientes de pelado son mayores que las que obtienen otras técnicas de voltametría no acumulativo (Protti, 2001).

### 1.3.5. Análisis Cuantitativo

El análisis cuantitativo se realizó teniendo en cuenta que el pico de altura y utilizando el método de adición estándar múltiple. Se utilizó este método para la reducción de la interferencia de la matriz.

### 1.4. Método de adición estándar

Es una técnica de análisis químico utilizado para establecer la concentración desconocida de una sustancia adicionando una cantidad definida de una solución con concentración conocida exacta de la sustancia analizada (Castro, 2014).

Este método establece una relación entre el volumen estándar agregado y la respuesta del análisis para en base a las adiciones calcular el valor del analito en un volumen agregado de cero.

Es un método utilizado para evitar interferencias de la matriz y para el uso en voltamperometría una condición esencial es establecer los mismos parámetros en el escaneo relacionado con cada adición con el fin de mantener constante la proporcionalidad entre la concentración y el pico de altura entre los diferentes escaneos, otra condición importante es trabajar en un intervalo lineal de la relación entre la concentración y el pico de altura. (Protti, 2011).

Para el cálculo de la concentración del analito añadido (Ca) después de cada adición tenemos:

$$C_a = \frac{\text{Volumen de solución estándar} \times \text{concentración de solución estándar}}{\text{Volumen de muestra}}$$

Para el cálculo del factor de dilución (d) tenemos:

$$d =$$

$$\frac{\text{Volumen de muestra} + \text{Volumen de la solución estándar añadida cada vez} + \text{Volumen del electrolito de soporte}}{\text{Volumen de muestra}}$$

Al multiplicar cada altura de pico para el factor de dilución relativo, obtenemos una altura corregida.

Al final del proceso obtenemos un gráfico entre la concentración añadida y la altura corregida. El intercepto negativo en el eje de abscisas, de la gráfica nos devuelve la concentración de la muestra.

Este procedimiento permite compensar la dilución de la solución de muestra después de cada adición de un volumen de la solución estándar, multiplicando la altura del pico para el factor de dilución y se puede utilizar sólo en el rango lineal de la relación entre la concentración y la altura del pico.

### **1.5. Métodos jerárquicos de análisis clúster.**

Estos métodos tienen por objetivo agrupar clústeres para formar un nuevo o separar alguno ya existente con el fin de dar origen a otros dos, de tal forma que, si sucesivamente se va efectuando este proceso de aglomeración o división, se minimiza alguna distancia o bien se maximice alguna medida de similitud (Villardón, 2009).

Los métodos jerárquicos se subdividen en aglomerativos y disociativos.

Los métodos aglomerativos, son conocidos también como ascendentes, pues inician el análisis con tantos grupos como individuos existan y a partir de estas unidades iniciales se van formando grupos, de forma ascendente, hasta que al final del proceso todos los casos tratados son englobados en un mismo conglomerado.

Los métodos disociativos, también llamados descendentes empiezan con un conglomerado que engloba a todos los casos estudiados y, a partir de este grupo inicial, a través de sucesivas divisiones, se van formando grupos cada vez más pequeños.

Con estos métodos se puede construir un árbol de asociación, llamado dendrograma en el cual se puede seguir de forma gráfica el procedimiento de unión seguido, mostrando que grupos se van uniendo, en qué nivel concreto lo hacen.

Para el presente trabajo se utilizó la vinculación de Ward para la relación de datos en el método asociativo puesto que es un procedimiento en el cual, en cada etapa, se unen los dos clústeres



para los cuales se tenga el menor incremento en el valor total de la suma de los cuadrados de las diferencias, dentro de cada clúster, de cada individuo al centroide del clúster (Villardón, 2009).

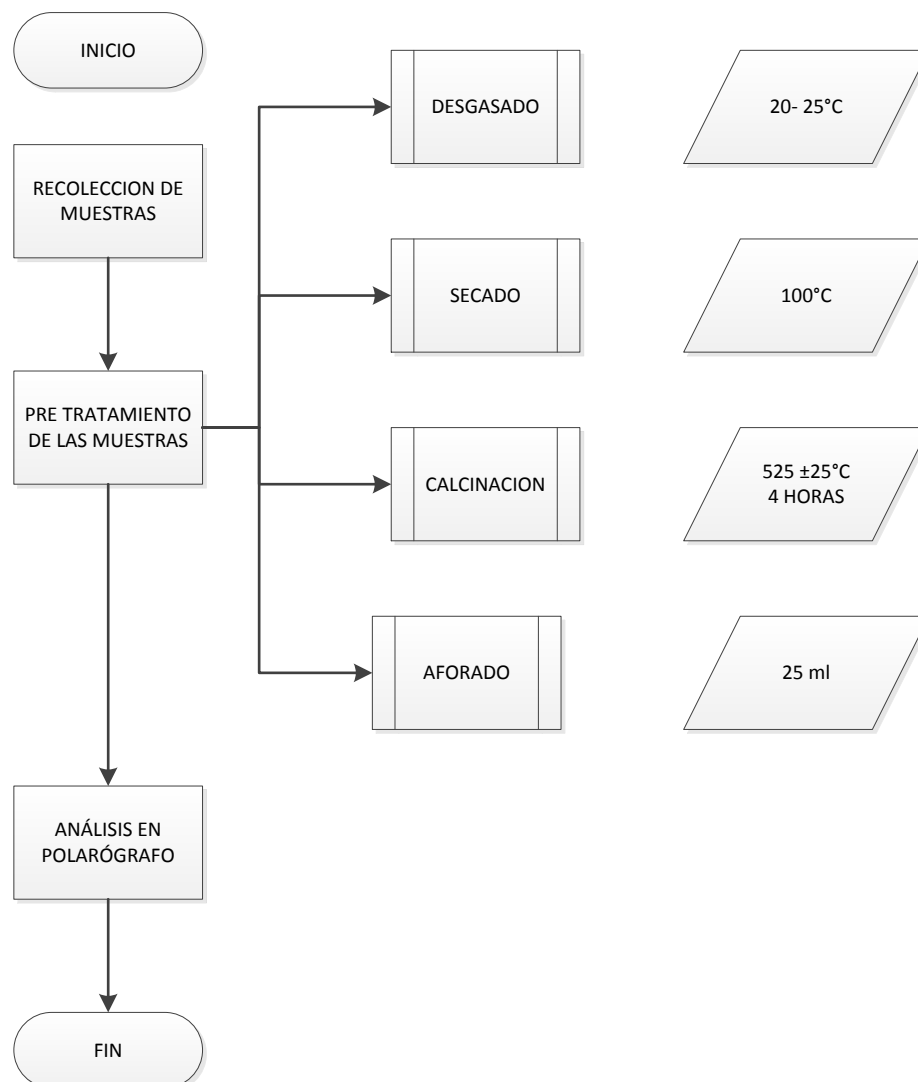
## CAPÍTULO II

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Introducción

En este capítulo se describe la metodología experimental utilizada para esta investigación, como se realizó el muestreo de las cervezas analizadas, su pretratamiento y la determinación del contenido de metales.

#### 2.1. Diagrama de proceso



**Fuente:** Autor

## 2.2. Equipos utilizados

**Figura 5.** Ultrasonido Branson 2510



**Fuente:** Autor

**Figura 6.** Estufa Continental Equipment DAS 140020



**Fuente:** Autor

**Figura 7.** Mufla Nabertherm N61HK



**Fuente:** Autor

**Figura 8.** Polarógrafo AMEL 433



**Fuente:** Autor

### 2.3. Recolección de muestras

Las muestras fueron recolectadas en recintos comerciales tales como: Supermaxi, La Taberna, El Español y Moliendo Café, en el caso de las cervezas industriales y en el caso de las artesanales La Compañía, y Beer Factory; en ambos casos son locales pertenecientes a la ciudad de Cuenca. La toma de muestras se realizó en los meses de noviembre y diciembre del año 2013 además de enero y febrero del año 2014.

Las muestras comerciales seleccionadas fueron: Miller, Estrella Galicia, Estrella Artois, Corona, Negra Modelo, Heineken, Pilsener lata, Águila, Poker, Shandy, Erdinger Negra y Erdinger Rubia que son marcas elaboradas en el exterior del país, mientras que las cervezas nacionales obtenidas para el presente trabajo fueron: Pilsener, Pilsener Light, Club Verde, Club Roja, Club Negra, Brahma y Budweiser.

Las muestras de cervezas artesanales en el caso de ambas productoras se recolectaron tres diferentes variedades rubias, rojas y negras.

**Figura 9.** Toma de muestras.



**Fuente:** Autor

### 2.4. Pretratamiento de las muestras.

Las muestras una vez adquiridas fueron desgasados con la ayuda del equipo Branson 2510 de ultrasonido, manteniendo la temperatura de la cerveza entre 20 a 25°C como lo determina el método oficial AOAC 920.49, posteriormente se evaporó en la estufa a sequedad, 25 ml de muestra a 100°C, se añadió gotas de aceite de oliva para evitar la espuma y se calentó a fuego hasta que se detuvo la hinchazón de la muestra; se las introdujo en la mufla a 525°C  $\pm$ 25 hasta obtener cenizas blancas, lo que en promedio significó 4 horas en este equipo, como sugiere el método oficial AOAC 900.02 .

Una vez obtenidas las cenizas se aforó a 25 ml para el análisis en el polarógrafo.

## **2.5. Análisis en Polarógrafo de las muestras.**

Para la detección de los metales presentes en las diferentes cervezas, se recurrió al uso del polarógrafo AMEL 433. El mismo consta de una cubeta de vidrio en donde se coloca la muestra a analizar con las especificaciones q se dan más adelante. Una vez puesto en marcha, para un correcto funcionamiento evacua el oxígeno de la cubeta utilizando nitrógeno, para evitar la interferencia del mismo en la muestra.

La cubeta requerida por el equipo para el análisis contenía:

-0,5 ml de muestra.

-10ml de  $\text{KNO}_3$  como soporte, para que la conductibilidad de la solución obtenga un valor prácticamente estable.

-Un agitador magnético para revolver la solución.

Como referencia para este proceso se tomó el método oficial AOAC 986.15.

El potencial eléctrico requerido por los metales determinados fue:

-Zn de -1100 a -1000 mV.

-Cd de -700 a -600 mV.

-Pb de -550 a -450 mV.

-Cu de -100 a 0 mV.

Los parámetros del equipo AMEL 433 para la detección de los metales examinados y posterior creación del voltamperograma se muestran a continuación:

**Figura 10.** Método de análisis establecido en el programa AMEL 433 TRACE ANALYCER

**Analytical Method Setup**

Analytical Method: Three Additions Name: Analysis #1

Analyte: Cd Blank Subtr.: Off

Start Peak (mV): -450

End Peak (mV): -700

Results Units: µg/l

Mean: On

Procedure: Automatic

Solvent Volume (ml): 0

Supporting Sol. (ml): 5

Sample Volume (ml): 10

Standard Conc. (µg/l): 2500

Addition (µl): #1 50

OK

Cancel

Fuente: AMEL 433 TRACE ANALYCER

**Figura 11.** Parámetros del programa para la creación del voltamperograma.

**Function Setup**

Stripping

DPS/a

OK

Cancel

Print

Start Potential.....(mV)	-1200
Start Potential.....(mV)	-1200
End Potential.....(mV)	150
Current Range.....(nA/µA/mA)	±20.48 µA
Scan Speed.....(mV/s)	20.0
Deposition Time.....(s)	120
Deposition Potential.....(mV)	-1200
Number of Cycles.....	2
Delay Before Sweep.....(s)	5
Purge and Stir Time.....(s)	120
Stirring Speed.....(r.p.m.)	500
Drop Size.....(a.u.)	60
Potential Scan Filter.....(ms)	100
Electrode Type.....	Hg
Initial Mercury Drops.....	3
Potential hi graphic limit.....(mV)	Auto
Potential low graphic limit....(mV)	Auto

Potential scan start (±4000 mV)

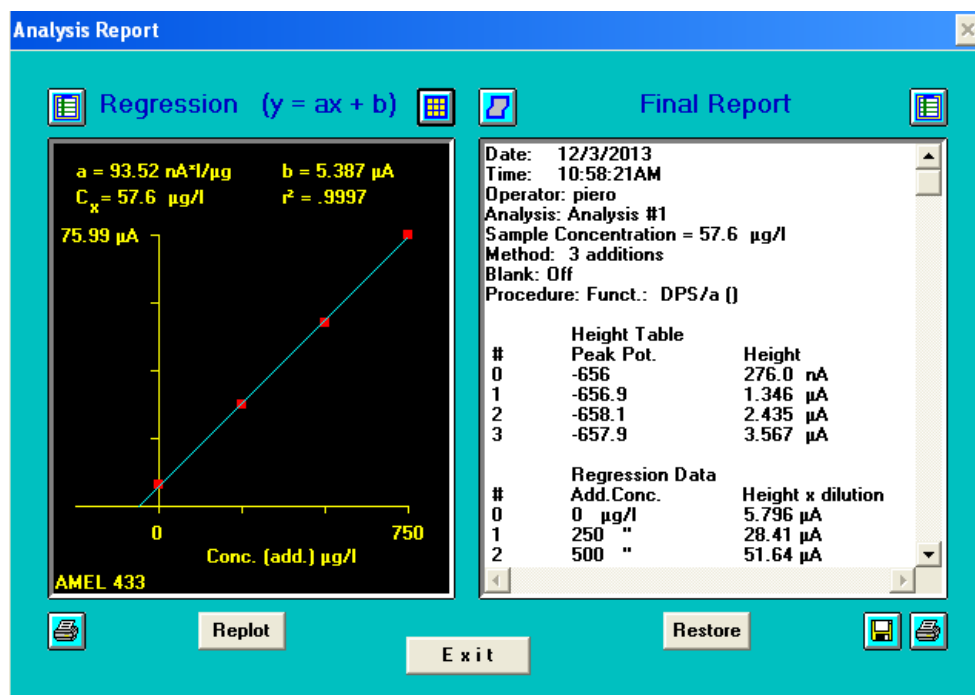
Fuente: Autor

Se preparó además un patrón de 2500 ppm que contenía los metales a determinar, el cual se adicionó en cantidad de 0,5 µl cada vez que el equipo lo requería dado que es un método de determinación de tres adiciones.

## 2.6. Cuantificación de Metales

Del programa del equipo, AMEL 433 TRACE ANALYCER, se obtiene automáticamente el contenido de Cadmio de la muestra (Figura 7):

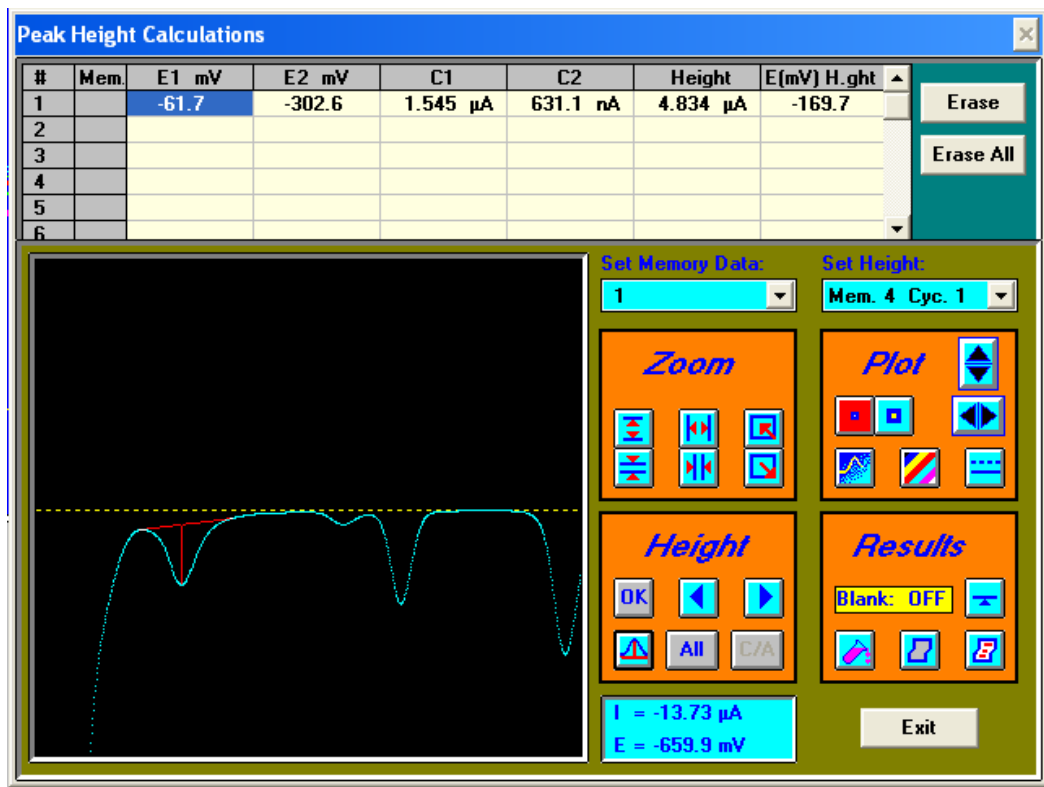
**Figura 12.** Respuesta automática del equipo con el contenido de Cd.



**Fuente:** Autor

Para los otros tres metales (Zn, Pb y Cu), se toma en cuenta la altura de las curvas descritas en el voltamperograma (Figura 8) y con la ayuda del programa EXCEL 2007 que relacionó el altura de las curvas y la cantidad de metal presente en la muestra, mediante extrapolación arroje como resultado el contenido de cada uno los mismos.



**Figura 13.** Determinación de altura de las curvas.**Fuente:** Autor

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS

Luego del análisis en el polarógrafo se obtuvieron los siguientes datos, teniendo en cuenta que la unidad de medición es ppm o mg/l:

#### 3.1. Primer muestreo

**Tabla 2.**Contenido de metales del primer muestreo (Todos los valores están expresados en ppm).

<b>Muestra</b>	<b>Zn</b>	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>	<b>Cu</b>
<b>Pilsener</b>	0,173	0,013	0,041	0,267
<b>Club Negra</b>	0,345	0,004	0,013	0,212
<b>Miller</b>	0,221	0,029	0,037	0,206
<b>Brahma</b>	1,138	0,053	0,039	0,172
<b>Club Verde</b>	0,216	0,036	0,046	0,399
<b>Club Roja</b>	7,851	0,025	0,027	0,142
<b>Pilsener Light</b>	0,076	0,000	0,011	0,365
<b>Stella Artois</b>	0,662	0,139	0,034	0,125
<b>Shandy</b>	1,504	0,166	0,160	1,075
<b>Estrella Galicia</b>	0,476	0,064	0,029	0,544
<b>Heineken</b>	1,699	0,115	0,028	0,314
<b>Corona</b>	0,958	0,066	0,049	0,435
<b>Pilsener Lata</b>	0,408	0,082	0,051	0,366
<b>Negra Modelo</b>	0,601	0,068	0,031	100,189
<b>Rubia Compañía</b>	1,277	0,051	0,028	0,297
<b>Negra Compañía</b>	0,460	0,010	0,028	0,382
<b>Roja Compañía</b>	0,347	0,051	0,009	0,209
<b>Rubia Factory</b>	0,999	0,133	0,018	0,308
<b>Roja Factory</b>	0,237	0,047	0,051	0,433
<b>Negra Factory</b>	0,666	0,055	0,050	17,659
<b>Erdinger negra</b>	0,794	0,012	0,011	0,250
<b>Erdinger rubia</b>	0,977	0,083	0,032	0,401

<b>Águila</b>	1,444	0,000	-0,006	0,127
<b>Poker</b>	0,184	0,000	0,012	0,120
<b>Budweiser</b>	0,349	0,001	-0,004	0,081

**Fuente:** Autor

### 3.2. Segundo muestreo:

**Tabla 3.**Contenido de metales del segundo muestreo. (Todos los valores están expresados en ppm).

<b>Muestra</b>	<b>Zn</b>	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>	<b>Cu</b>
<b>Pilsener</b>	0,084	0,001	0,046	0,388
<b>Club Negra</b>	0,294	0,008	0,041	0,052
<b>Miller</b>	0,366	0,036	0,262	0,013
<b>Brahma</b>	0,153	0,054	-0,007	0,100
<b>Club Verde</b>	0,487	0,022	0,056	0,046
<b>Club Roja</b>	0,957	0,010	0,259	0,103
<b>Pilsener Light</b>	0,199	0,006	0,075	0,002
<b>Stella Artois</b>	0,392	0,036	0,031	0,105
<b>Shandy</b>	0,230	0,000	0,035	0,385
<b>Estrella Galicia</b>	0,258	0,006	0,030	0,057
<b>Heineken</b>	0,064	0,000	0,180	0,097
<b>Corona</b>	0,078	0,004	0,367	0,013
<b>Pilsener Lata</b>	0,333	0,058	1,019	0,094
<b>Negra Modelo</b>	0,164	0,001	0,059	0,373
<b>Rubia Compañía</b>	0,526	0,035	0,007	0,750
<b>Negra Compañía</b>	0,382	0,013	-0,003	0,095
<b>Roja Compañía</b>	0,247	0,057	0,100	0,162
<b>Rubia Factory</b>	0,247	0,035	0,029	0,171
<b>Roja Factory</b>	0,510	0,024	0,015	0,114
<b>Negra Factory</b>	0,789	0,095	0,022	0,731
<b>Erdinger negra</b>	0,208	0,010	0,010	0,054
<b>Erdinger rubia</b>	0,376	0,015	0,012	0,091
<b>Águila</b>	0,331	0,014	0,035	0,354
<b>Poker</b>	0,188	0,005	0,013	0,074
<b>Budweiser</b>	0,165	0,031	0,074	0,746

**Fuente:** Autor

### 3.3. Tercer muestreo:

**Tabla 4.**Contenido de metales del Tercer muestreo. (Todos los valores están expresados en ppm).

<b>Muestra</b>	<b>Zn</b>	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>	<b>Cu</b>
<b>Pilsener</b>	0,121	0,023	-0,007	0,090
<b>Club Negra</b>	0,299	0,038	0,035	0,651
<b>Miller</b>	0,291	0,020	0,028	0,140
<b>Brahma</b>	0,360	0,033	0,008	0,326
<b>Club Verde</b>	0,037	0,023	0,155	0,370
<b>Club Roja</b>	0,081	0,019	0,059	0,657
<b>Pilsener Light</b>	0,026	0,008	0,028	0,301
<b>Stella Artois</b>	0,189	0,038	0,035	0,406
<b>Shandy</b>	0,254	0,021	0,068	0,021
<b>Estrella Galicia</b>	0,139	0,020	0,033	3,605
<b>Heineken</b>	0,265	0,039	0,049	4,839
<b>Corona</b>	0,018	0,012	0,081	0,155
<b>Pilsener Lata</b>	0,366	0,068	0,168	0,061
<b>Negra Modelo</b>	0,076	0,021	0,019	0,112
<b>Rubia Compañía</b>	0,492	0,048	0,020	0,305
<b>Negra Compañía</b>	0,478	0,016	0,025	0,373
<b>Roja Compañía</b>	0,185	0,049	0,026	0,297
<b>Rubia Factory</b>	0,106	0,129	0,023	0,308
<b>Roja Factory</b>	0,538	0,050	0,064	0,451
<b>Negra Factory</b>	0,663	0,083	0,058	1,736
<b>Erdinger negra</b>	0,798	0,011	0,010	0,240
<b>Erdinger rubia</b>	0,367	0,018	0,030	0,096
<b>Águila</b>	0,336	0,012	0,022	0,351
<b>Poker</b>	0,184	0,003	0,020	0,086
<b>Budweiser</b>	0,349	0,016	0,051	0,330

**Fuente:** Autor

## 3.4. Cuarto muestreo:

**Tabla 5.**Contenido de metales del cuarto muestreo. (Todos los valores están expresados en ppm).

<b>Muestra</b>	<b>Zn</b>	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>	<b>Cu</b>
<b>Pilsener</b>	0,183	0,036	0,018	0,448
<b>Club Negra</b>	0,151	0,022	0,030	0,035
<b>Miller</b>	0,578	0,030	0,010	0,073
<b>Brahma</b>	0,120	0,008	0,034	0,044
<b>Club Verde</b>	0,153	0,017	0,061	0,042
<b>Club Roja</b>	0,066	0,021	0,035	0,718
<b>Pilsener Light</b>	0,084	0,013	0,012	0,356
<b>Stella Artois</b>	0,411	0,021	0,013	0,249
<b>Shandy</b>	0,167	0,018	0,055	-0,007
<b>Estrella Galicia</b>	0,180	0,021	0,077	0,040
<b>Heineken</b>	0,214	0,033	0,108	0,346
<b>Corona</b>	0,136	0,033	0,015	0,513
<b>Pilsener Lata</b>	0,042	0,021	0,090	0,016
<b>Negra Modelo</b>	0,146	0,000	-0,011	0,225
<b>Rubia Compañía</b>	0,117	0,021	0,007	0,148
<b>Negra Compañía</b>	0,468	0,019	0,034	0,322
<b>Roja Compañía</b>	0,093	0,013	0,057	0,094
<b>Rubia Factory</b>	0,125	0,029	0,034	0,247
<b>Roja Factory</b>	0,060	0,014	0,021	0,111
<b>Negra Factory</b>	0,099	0,000	0,054	0,239
<b>Erdinger negra</b>	1,155	0,014	0,014	0,221
<b>Erdinger rubia</b>	0,777	0,023	0,028	0,330
<b>Águila</b>	0,140	0,018	0,021	0,168
<b>Poker</b>	0,382	0,036	0,032	0,085
<b>Budweiser</b>	0,256	0,041	0,060	0,373

Fuente: Autor

### 3.5. Promedio de Blancos

Para la obtención de los resultados anteriores se restó el contenido del promedio de blancos que se muestra en la tabla 6:

**Tabla 6.** Promedio de blancos. (Todos los valores están expresados en ppm).

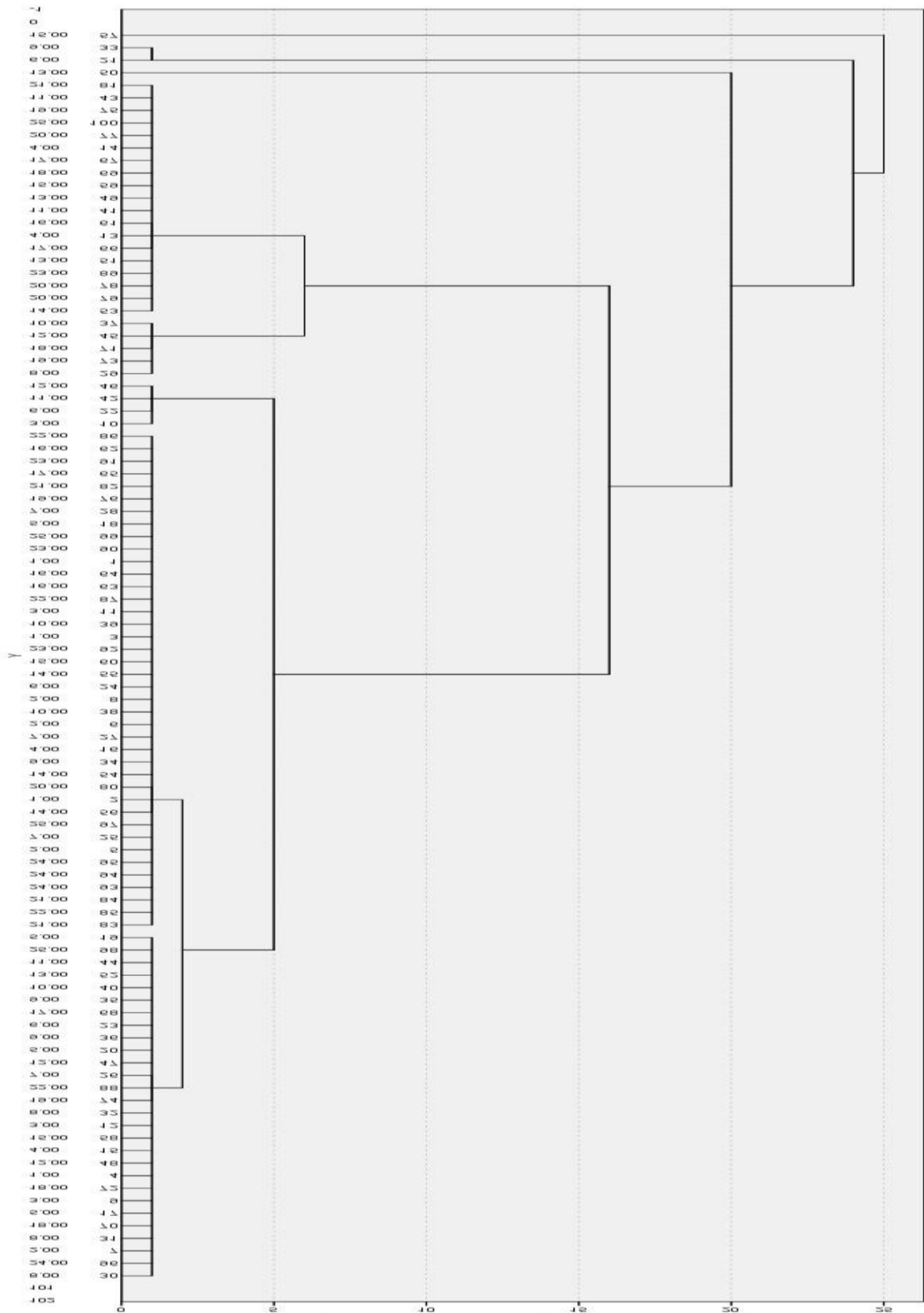
<b>Blanco 1</b>	0,110	0,000	0,013	0,013
<b>Blanco 2</b>	0,095	0,000	0,009	0,043
<b>Promedio Blancos</b>	0,102	0,000	0,011	0,028

**Fuente:** Autor

### 3.6. Análisis Clúster

Luego de obtener los resultados del análisis en el polarógrafo los mismos fueron sometidos a un análisis estadístico mediante el programa SPSS para la creación de un dendograma que utiliza la vinculación de Ward, el mismo se muestra en la figura 14:

**Figura 14.** Dendograma de clasificación de las cervezas.



**Fuente:** Autor



Como se puede observar en el dendograma anterior se distinguen 8 clúster de clasificación siendo el primero y segundo los más numerosos con 28 y 40 cervezas respectivamente seguidas por el quinto clúster al que pertenecen 19 cervezas; el tercero y cuarto clúster son menos numerosos que las anteriores formadas por 4 y 5 cervezas respectivamente y los clúster 6,7 y 8 son grupos que no constan con más de dos cervezas. En las tablas 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y 14 se presentan en detalle la conformación de cada una de las clasificaciones.

**Clúster 1:****Tabla 7.** Cervezas pertenecientes al clúster 1.

#	Cerveza
4	Pilsener
7	Club Negra
9	Miller
12	Miller
15	Brahma
17	Club Verde
19	Club Verde
20	Club Verde
23	Club Roja
26	Pilsener Light
30	Stella Artois
31	Stella Artois
32	Stella Artois
35	Shandy
36	Shandy
40	Estrella Galicia
44	Heineken
47	Corona
48	Corona
52	Pilsener en Lata
58	Rubia Beer House
68	Roja Beer House
70	Rubia Beer Factory
72	Rubia Beer Factory
74	Roja Beer Factory
88	Erdinger rubia
96	Poker
98	Budweiser

**Fuente:** Autor

**Clúster 2:****Tabla 8.** Cervezas pertenecientes al clúster 2.

#	Cerveza
1	Pilsener
2	Pilsener
3	Pilsener
5	Club Negra
6	Club Negra
8	Club Negra
11	Miller
16	Brahma
18	Club Verde
24	Club Roja
25	Pilsener Light
27	Pilsener Light
28	Pilsener Light
34	Shandy
38	Estrella Galicia
39	Estrella Galicia
54	Negra Modelo
55	Negra Modelo
56	Negra Modelo
60	Rubia Beer House
62	Negra Beer House
63	Negra Beer House
64	Negra Beer House
65	Roja Beer House
76	Roja Beer Factory
80	Negra Beer Factory
82	Erdinger negra
83	Erdinger negra
84	Erdinger negra

85	Erdinger rubia
86	Erdinger rubia
87	Erdinger rubia
90	Águila
91	Águila
92	Águila
93	Poker
94	Poker
95	Poker
97	Budweiser
99	Budweiser

**Fuente:** Autor

### Clúster 3:

**Tabla 9.** Cervezas pertenecientes al clúster 3.

#	Cerveza
10	Miller
22	Club Roja
42	Heineken
46	Corona

**Fuente:** Autor

### Clúster 4:

**Tabla 10.** Cervezas pertenecientes al clúster 4.

#	Cerveza
29	Stella Artois
37	Estrella Galicia
45	Corona
71	Rubia Beer Factory
73	Roja Beer Factory

**Fuente:** Autor

**Clúster 5:****Tabla 11.** Cervezas pertenecientes al clúster 5.

#	Cerveza
13	Brahma
14	Brahma
41	Heineken
43	Heineken
49	Pilsener en Lata
51	Pilsener en Lata
53	Negra Modelo
59	Rubia Beer House
61	Negra Beer House
66	Roja Beer House
67	Roja Beer House
69	Rubia Beer Factory
75	Roja Beer Factory
77	Negra Beer Factory
78	Negra Beer Factory
79	Negra Beer Factory
81	Erdinger negra
89	Águila
100	Budweiser

**Fuente:** Autor**Clúster 6:****Tabla 12.** Cervezas pertenecientes al clúster 6.

#	Cerveza
50	Pilsener Lata

**Fuente:** Autor

**Clúster 7:****Tabla 13.** Cervezas pertenecientes al clúster 7.

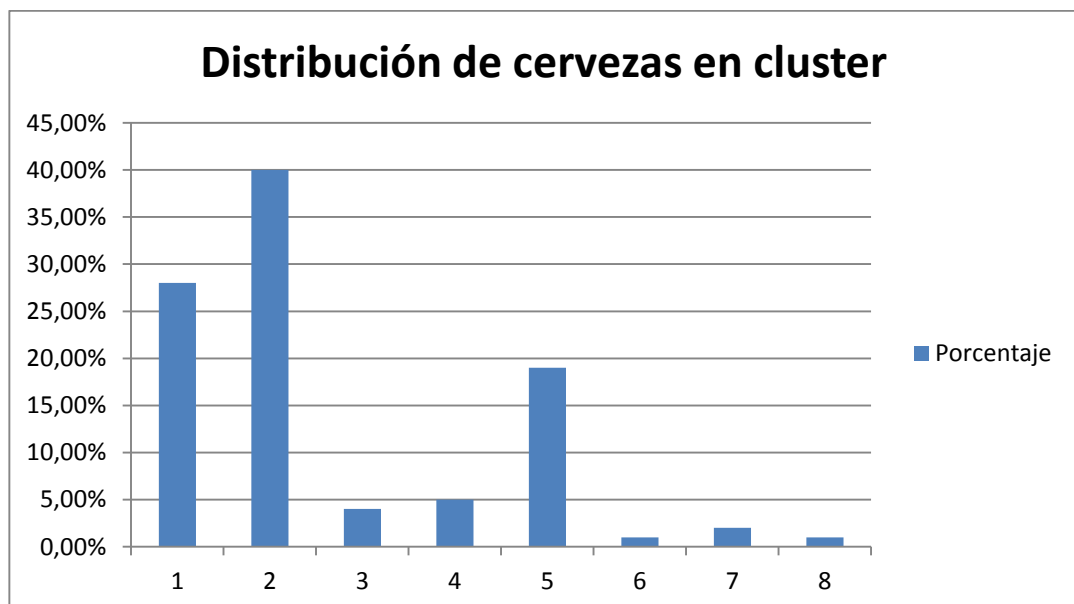
#	Cerveza
21	Club Roja
33	Shandy

**Fuente:** Autor**Clúster 8:****Tabla 14.** Cervezas pertenecientes al clúster 8.

#	Cerveza
57	Rubia Compañía

**Fuente:** Autor

La figura 15 muestra los porcentajes que representan las distintas clasificaciones del total de muestra tomadas.

**Figura 15.** Porcentajes de distribución de cervezas en cada clúster**Fuente:** Autor

Para determinar el contenido medio de cada uno de los metales en las clasificaciones anteriores se calculó el promedio de los mismos con los siguientes resultados:

**Tabla 15.** Contenido medio de metales de cada clúster (ppm).

	Zn	Cd	Pb	Cu
Centroide1	0,255	0,027	0,048	0,270
Centroide2	0,306	0,011	0,024	0,300
Centroide3	0,366	0,013	0,267	0,057
Centroide4	0,994	0,136	0,052	0,426
Centroide5	0,549	0,060	0,047	1,556
Centroide6	0,333	0,058	1,019	0,094
Centroide7	8,818	0,037	0,026	0,219
Centroide8	0,601	0,068	0,031	100,189

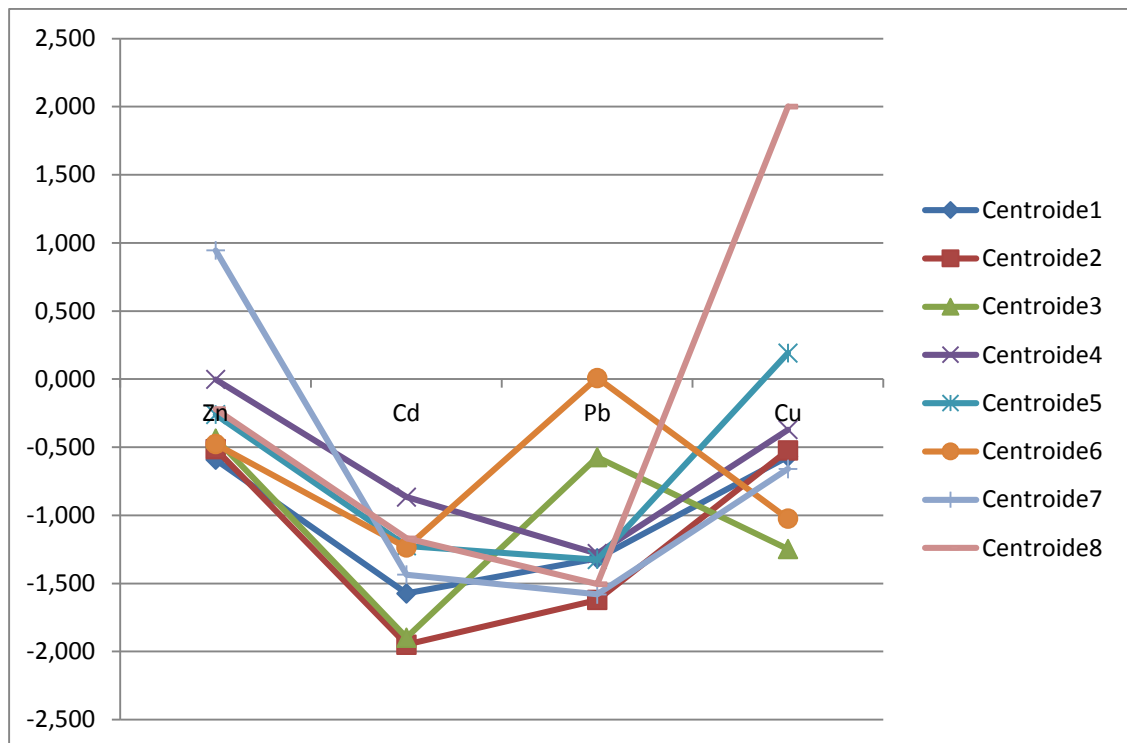
**Fuente:** Autor

Para una mejor apreciación de los resultados de los centroides se analizó sus logaritmos (Tabla 16) y se construyó una gráfica (Figura 16) para determinar si el contenido de cada uno de los metales es alto, medio o bajo.

**Tabla 16.** Logaritmos del contenido medio de metales de cada clúster

	Zn	Cd	Pb	Cu
Centroide1	-0,593	-1,573	-1,316	-0,569
Centroide2	-0,514	-1,949	-1,622	-0,523
Centroide3	-0,436	-1,898	-0,574	-1,248
Centroide4	-0,003	-0,865	-1,281	-0,371
Centroide5	-0,260	-1,224	-1,325	0,192
Centroide6	-0,477	-1,236	0,008	-1,025
Centroide7	0,945	-1,436	-1,580	-0,659
Centroide8	-0,221	-1,169	-1,505	2,001

**Fuente:** Autor

**Figura 16.** Logaritmos del contenido medio de metales de cada clúster

**Fuente:** Autor

Como referencia se tomaron los valores de -2 a -1 para contenido bajo, -1 a 0 contenido medio y 0 a 2 que se considerará como alto, con los siguientes resultados:

Centroide del clúster 1: Medio contenido de Zn, bajo contenido de Cd, bajo contenido de Pb y medio contenido de Cu.

Centroide del clúster 2: Medio contenido de Zn, bajo contenido de Cd, bajo contenido de Pb y medio contenido de Cu.

Centroide del clúster 3: Medio contenido de Zn, bajo contenido de Cd, medio contenido de Pb y bajo contenido de Cu.

Centroide del clúster 4: Medio contenido de Zn, medio contenido de Cd, bajo contenido de Pb y medio contenido de Cu.

Centroide del clúster 5: Medio contenido de Zn, bajo contenido de Cd, bajo contenido de Pb y alto contenido de Cu.



Centroide del clúster 6: Medio contenido de Zn, bajo contenido de Cd, alto contenido de Pb y bajo contenido de Cu.

Centroide del clúster 7: Alto contenido de Zn, bajo contenido de Cd, bajo contenido de Pb y medio contenido de Cu.

Centroide del clúster 8: Medio contenido de Zn, bajo contenido de Cd, bajo contenido de Pb y alto contenido de Cu.

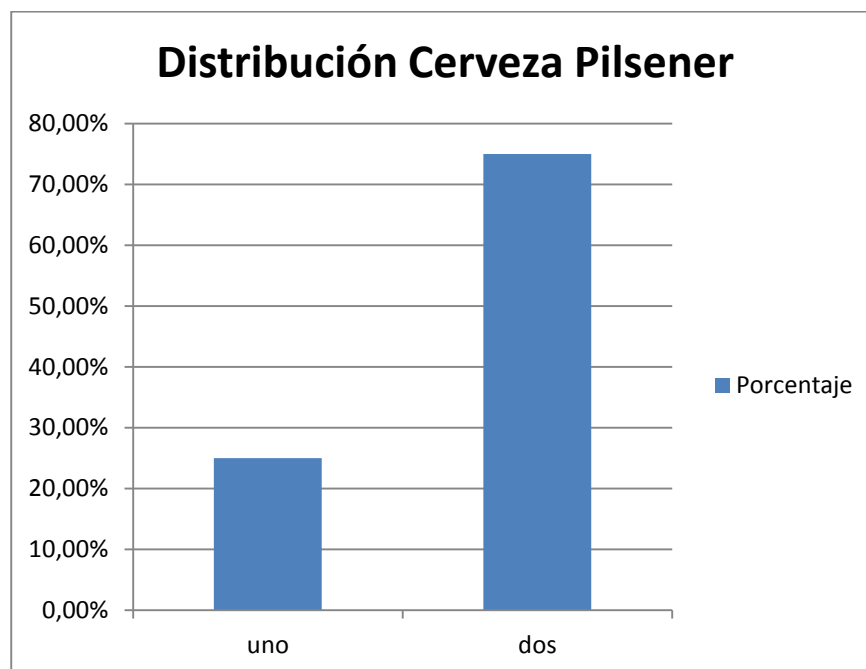
### 3.7. Análisis por cerveza:

Se realizó también un análisis de las marcas seleccionadas de cerveza para apreciar la homogeneidad de los datos entre los 8 clúster de clasificación realizados.

#### -Pilsener

Esta cerveza presenta en los resultados obtenidos que el 75% pertenecen al clúster 2 y un 25% al clúster 1, por lo que hay una cierta homogeneidad en cuanto al contenido de los metales analizados.

**Figura 17.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Pilsener en los clúster.

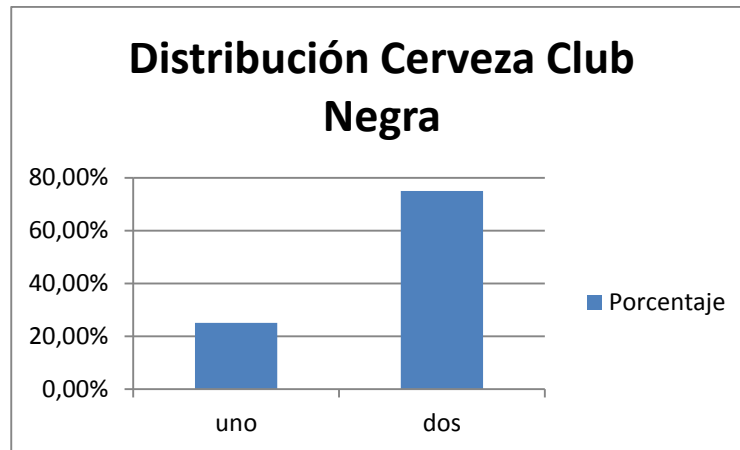


**Fuente:** Autor

### -Club Negra

Esta marca de cerveza al igual que la anterior tiene una distribución del 25% en el clúster 1 y 75% en el clúster 2 observándose homogeneidad entre los resultados de las dos cervezas.

**Figura 18.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Club Negra en los clúster.

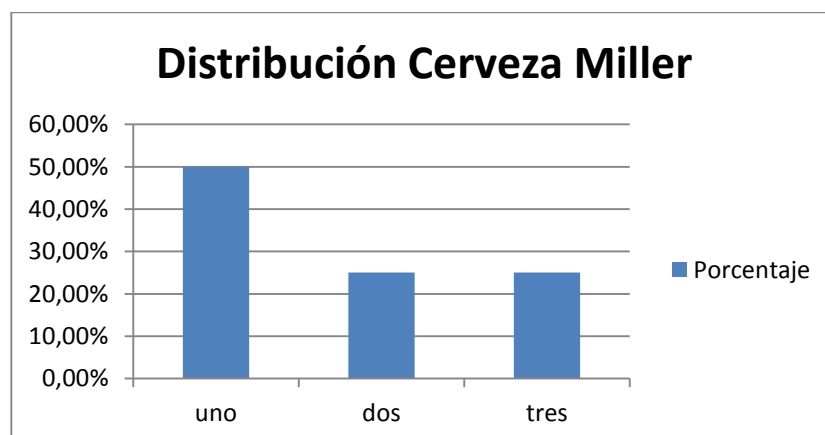


**Fuente:** Autor

### -Miller

Esta marca presenta una mayor pertenencia al clúster 1 con un 50%, distribuyéndose también entre los clúster 2 y 3 con 25% en cada uno, observándose poca homogeneidad en la concentración de los metales.

**Figura 19.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Miller en los clúster.

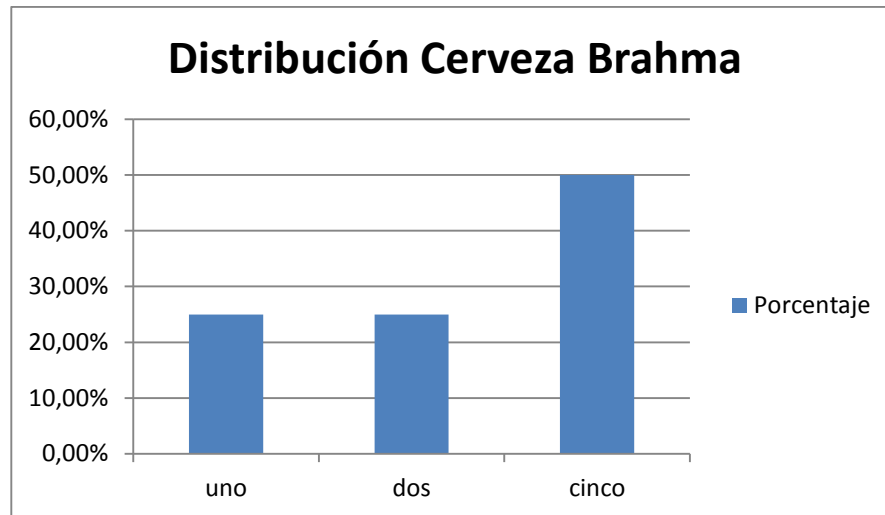


**Fuente:** Autor

### -Brahma

Esta cerveza se distribuye entre los clúster 1 y 2 con un 25% perteneciendo también al clúster 5 con el 50% restante lo que denota poca homogeneidad en la concentración de los metales.

**Figura 20.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Brahma en los clúster.

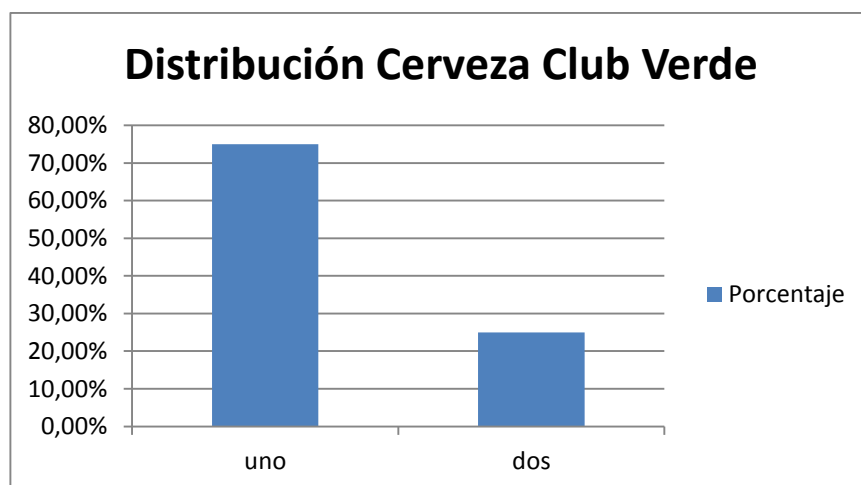


**Fuente:** Autor

### Club Verde

Esta marca muestra homogeneidad en la concentración de los metales con un 75% perteneciente al clúster 1 y un 25% perteneciente al clúster 2.

**Figura 21.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Club Verde en los clúster.

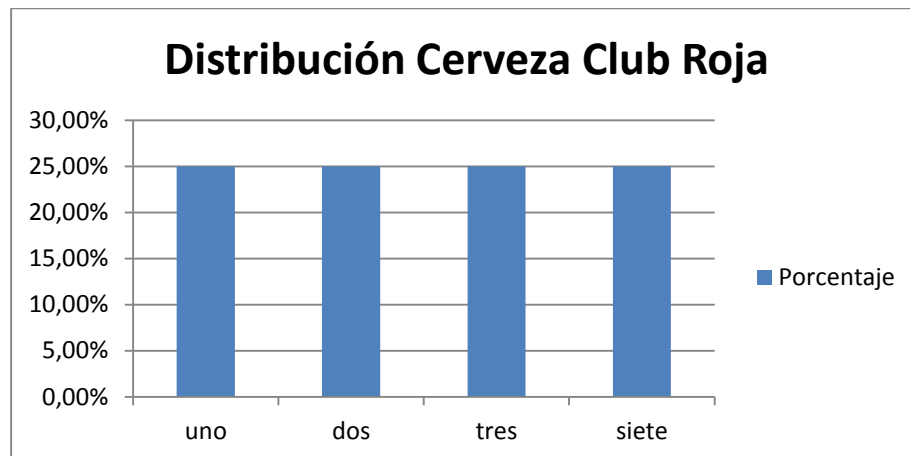


**Fuente:** Autor

### -Club roja

Esta cerveza muestra homogeneidad nula entre los datos obtenidos distribuyéndose entre los clúster 1, 2, 3 y 7 con un 25% en cada uno de ellos, con la observación que el clúster 7 es considerado como un dato anómalo.

**Figura 22.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Club Roja en los clúster.

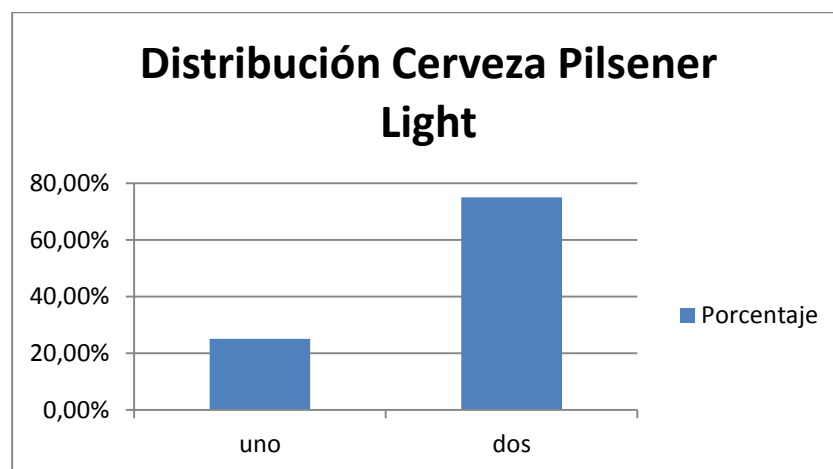


**Fuente:** Autor

### -Pilsener Light

Esta marca pertenece mayoritariamente al clúster 2 con un 75% y el porcentaje restante al clúster 1, por lo que se puede observar homogeneidad entre los resultados.

**Figura 23.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Pilsener Light en los clúster.

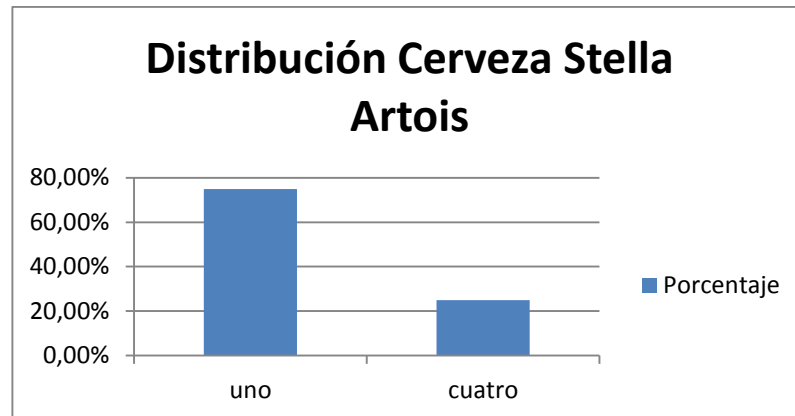


**Fuente:** Autor

### -Stella Artois

Los datos obtenidos de esta marca de cerveza muestran homogeneidad pues el 75% pertenece al clúster 1 y el 25% pertenece al clúster 4.

**Figura 24.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Stella Artois en los clúster.

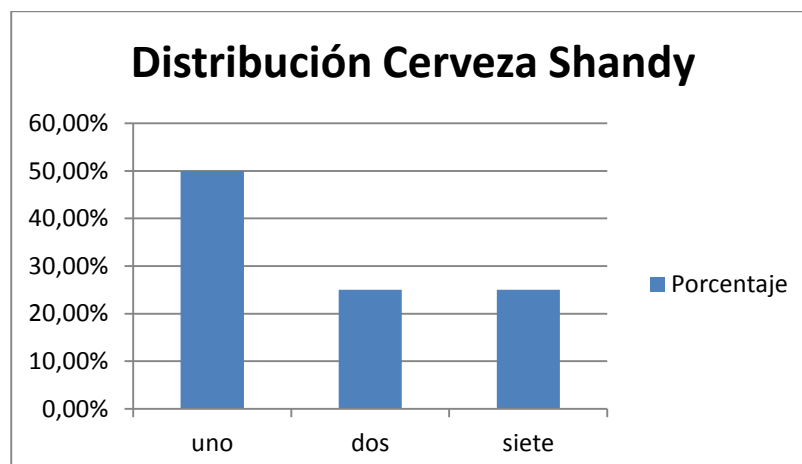


**Fuente:** Autor

### -Shandy

Muestra una pertenencia de un 50% al clúster 1 y un 25% a los clúster 2 y 7, teniendo en cuenta que los datos pertenecientes a este último son considerados como anómalos; por lo que existe poca homogeneidad entre los resultados.

**Figura 25.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Shandy en los clúster.

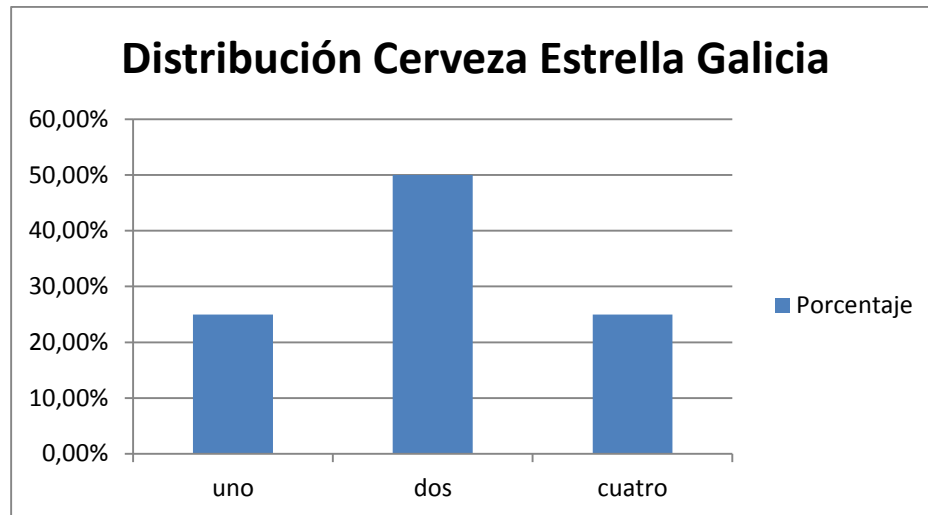


**Fuente:** Autor

### -Estrella Galicia

Esta cerveza muestra una distribución entre los clúster 1 y 4 con un porcentaje del 25%, perteneciendo con el otro 50% al clúster 2 observándose poca homogeneidad entre los resultados.

**Figura 26.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Estrella Galicia en los clúster.

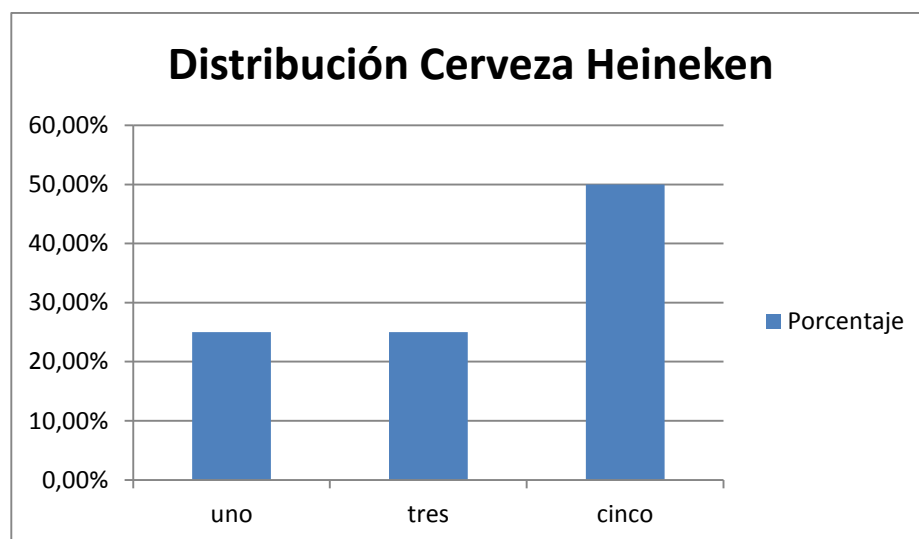


**Fuente:** Autor

### -Heineken

Esta marca pertenece en un 50% al clúster 5, dividiéndose la mitad restante entre los clúster 1 y 3 con 25 % cada uno, mostrándonos poca homogeneidad entre los resultados.

**Figura 27.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Heineken en los clúster.

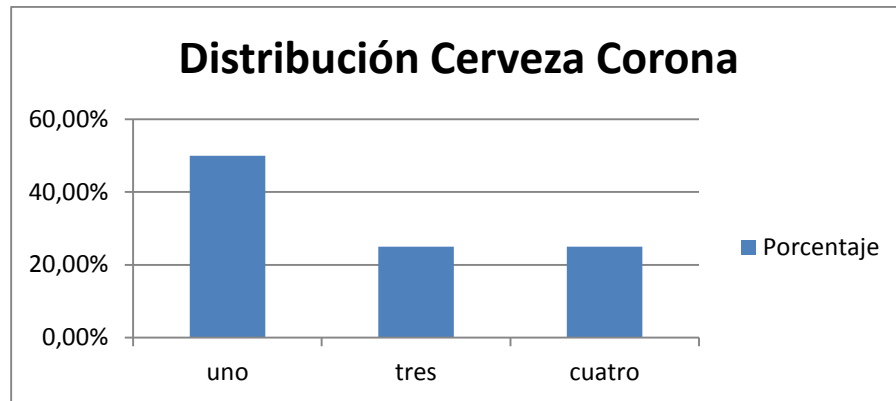


**Fuente:** Autor

### -Corona

Esta marca tiene una pertenencia del 50% al clúster 1, el resto se divide en los clúster 3 y 4 con un 25% en cada uno, denotando poca homogeneidad entre los resultados obtenidos.

**Figura 28.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Corona en los clúster.

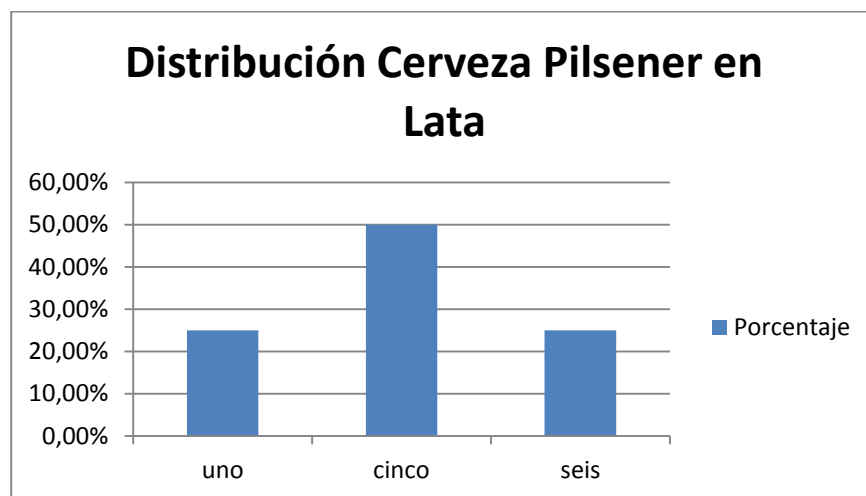


**Fuente:** Autor

### -Pilsener en Lata

Esta cerveza está dentro del clúster 5 con un 50% de sus datos pertenecientes al mismo y un 25% al clúster 1; también tiene un 25% de los resultados en el clúster 6, que como se dijo anteriormente se considera como un dato anómalo, razón por la cual existe poca homogeneidad entre los resultados.

**Figura 29.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Pilsener en lata en los clúster.

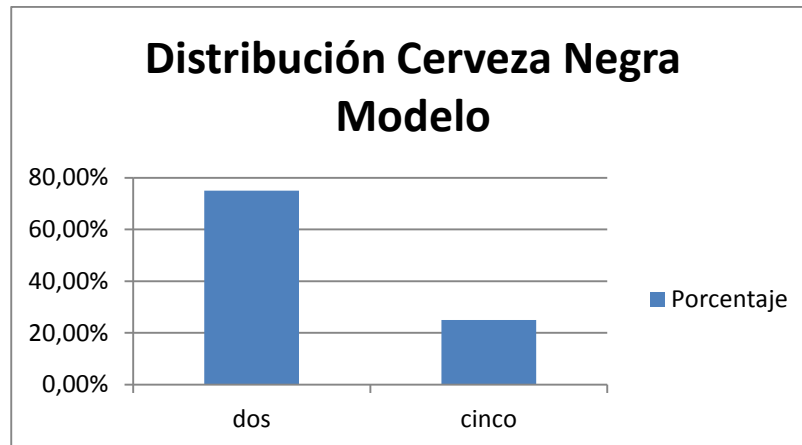


**Fuente:** Autor

### -Negra Modelo

Esta marca muestra homogeneidad entre los datos obtenidos con un 75% de los mismos en el clúster 2 y el 25% restante pertenece al clúster 5.

**Figura 30.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Negra Modelo en los clúster.

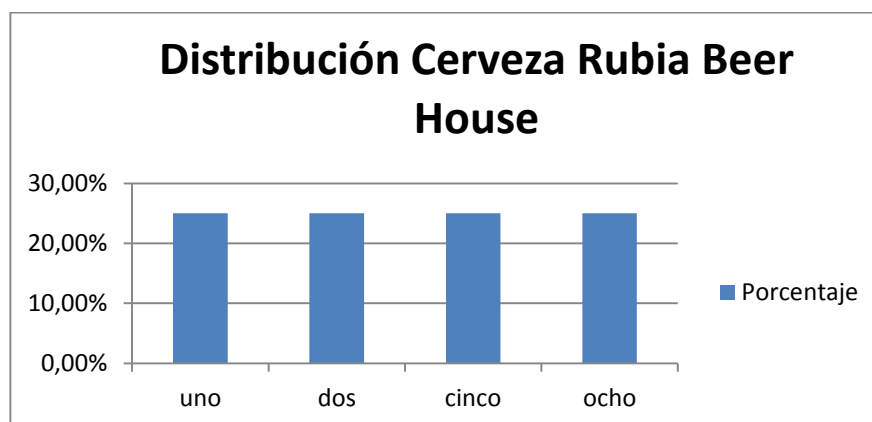


**Fuente:** Autor

### -Rubia Beer House

En esta cerveza puede observarse una homogeneidad nula entre los datos ya que están divididos entre los clúster 1,2 ,5 y 8 con un 25% para cada uno de ellos, teniendo en cuenta que el dato del clúster 8 es un dato anómalo.

**Figura 31.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Rubia Beer House en los clúster.



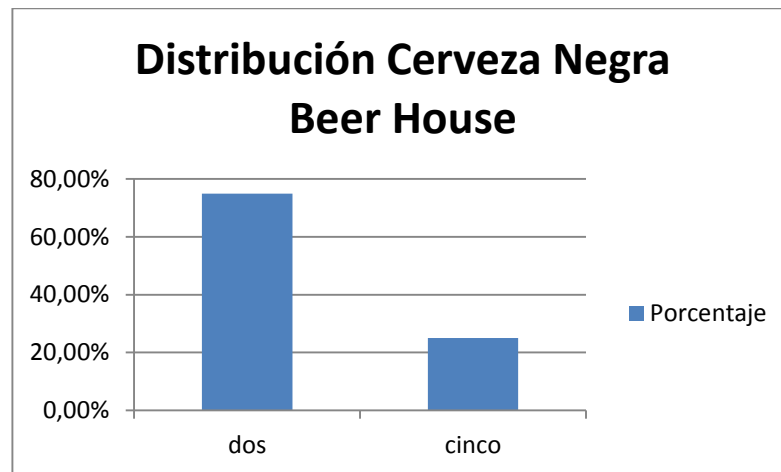
**Fuente:** Autor



### -Negra Beer House

Los datos obtenidos en esta cerveza muestran similitud ya que el 75% pertenecen al clúster 2 mientras que un 25% de los mismos están en el clúster 5.

**Figura 32.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Negra Beer House en los clúster.

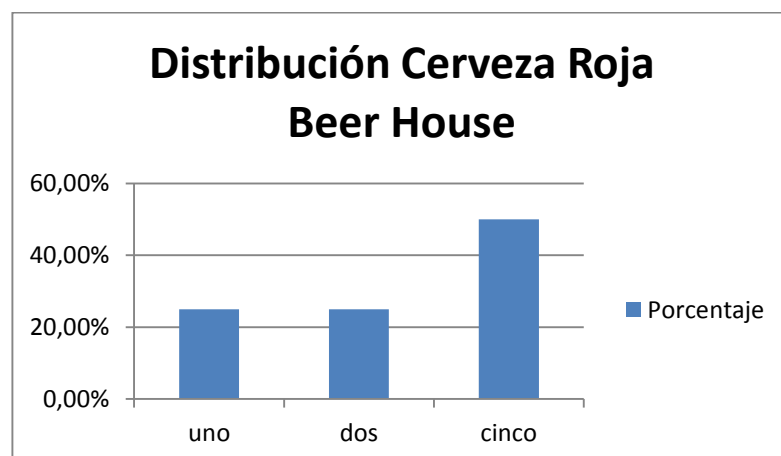


**Fuente:** Autor

### -Roja Beer House

Esta cerveza presenta que un 50% de sus datos están dentro del clúster 5 y el resto están divididos entre el clúster 1 y 2 con 25% cada uno observándose poca homogeneidad entre los resultados.

**Figura 33.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Roja Beer House en los clúster.

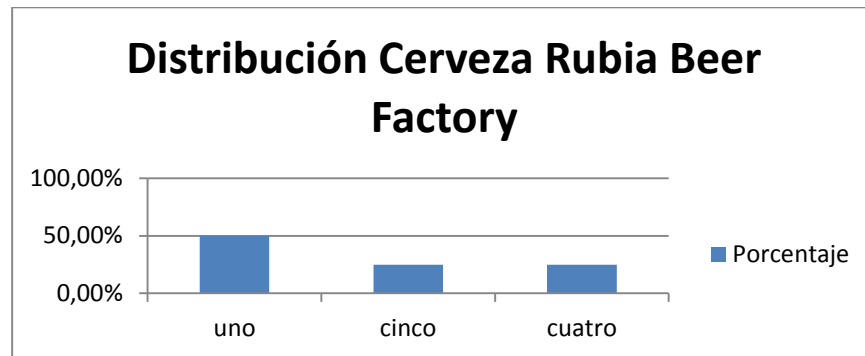


**Fuente:** Autor

### -Rubia Beer Factory

Esta cerveza presenta que el 50% de sus datos están dentro del clúster 1 mientras que la mitad restante se distribuyen entre los clúster 4 y 5 con un 25% respectivamente, denotando poca homogeneidad entre los resultados obtenidos.

**Figura 34.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Rubia Beer Factory en los clúster.

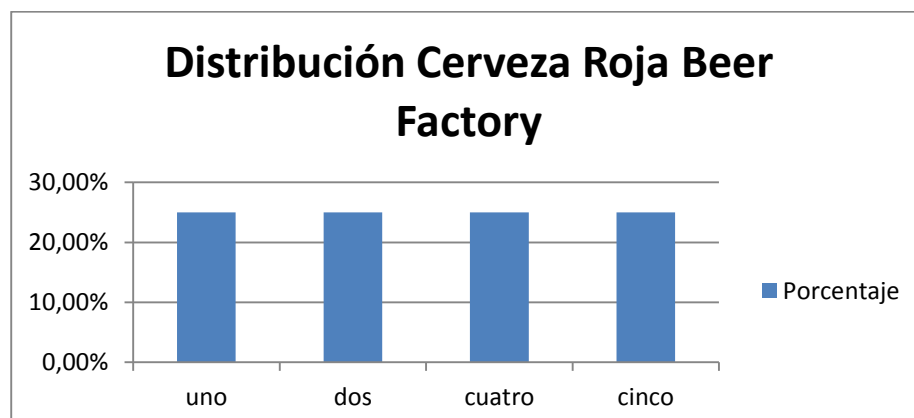


**Fuente:** Autor

### -Roja Beer Factory

Los datos obtenidos de esta cerveza muestran una homogeneidad nula ya que están distribuidos entre los clúster 1, 2, 4 y 5 con un 25% en cada uno de ellos.

**Figura 35.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Roja Beer Factory en los clúster.

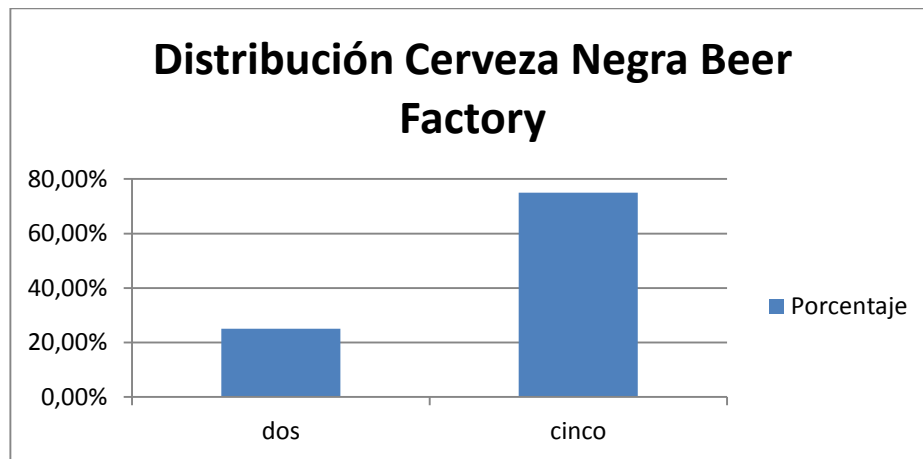


**Fuente:** Autor

### -Negra Beer Factory

Esta cerveza pertenece en un 75% al clúster 5 y un 25% al clúster dos por lo que se puede apreciar homogeneidad en los resultados obtenidos.

**Figura 36.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Negra Beer Factory en los clúster.

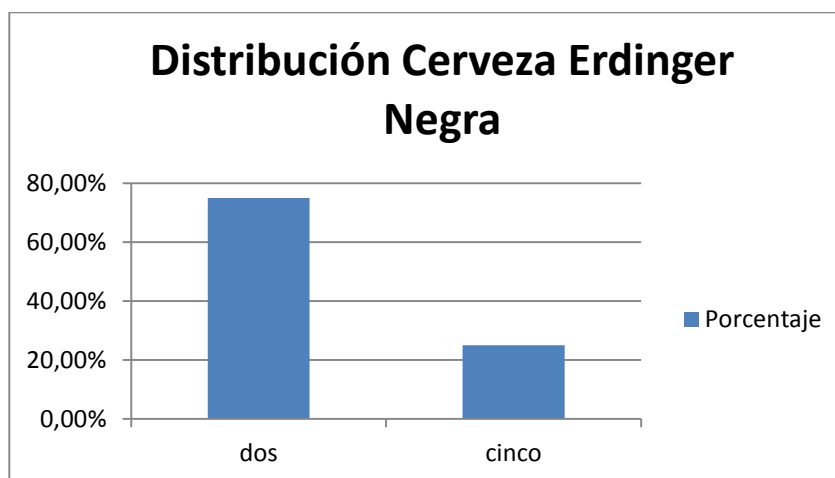


**Fuente:** Autor

### -Erdinger Negra

Esta marca tiene similitud entre los datos obtenidos ya que un 75% de los mismos pertenecen al clúster 2, dejando un 25% para el clúster 5.

**Figura 37.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Erdinger Negra en los clúster.

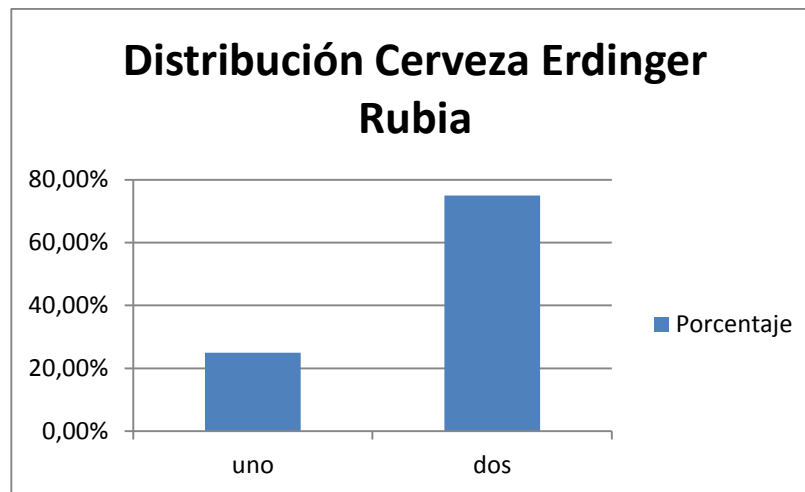


**Fuente:** Autor

### -Erdinger Rubia

Esta marca tiene un 75% de sus datos en el clúster dos y un 25% en el clúster 1, por lo que se puede observar homogeneidad entre los mismos.

**Figura 38.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Erdinger Rubia en los clúster.

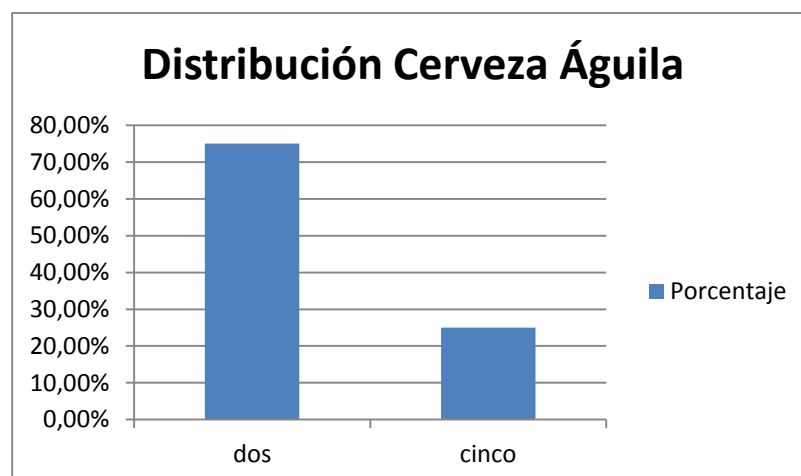


**Fuente:** Autor

### -Águila

Los datos de esta marca muestran homogeneidad entre ellos ya que el 75% pertenece al clúster 2 y el otro 25% al clúster 5.

**Figura 39.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Águila en los clúster.

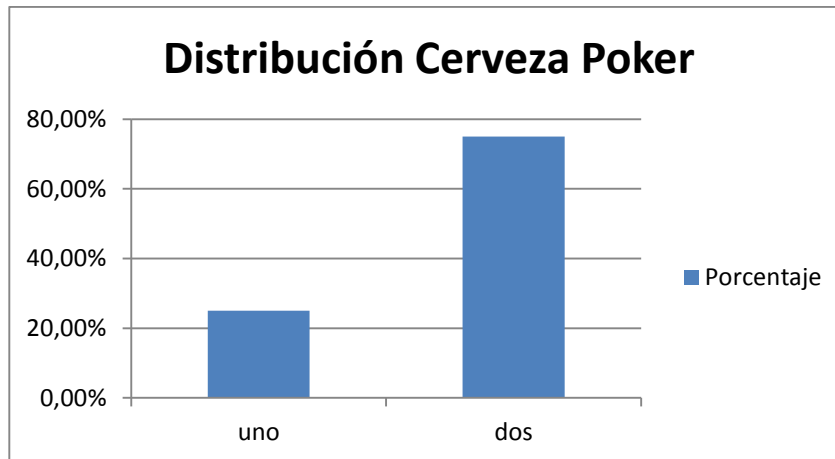


**Fuente:** Autor

### -Poker

La homogeneidad de los datos obtenidos es observable en esta marca de cerveza ya que un 75% pertenece al clúster 2 y un 25% pertenece al clúster 1.

**Figura 40.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Poker en los clúster.

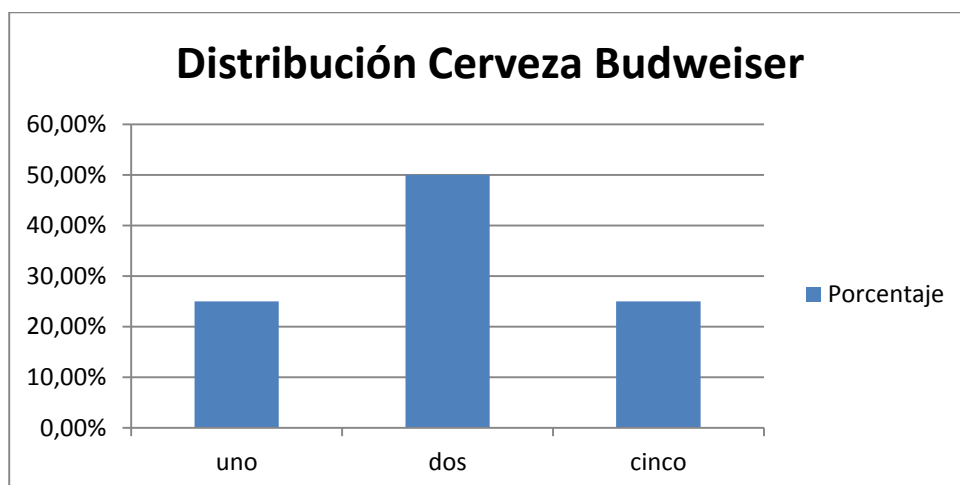


**Fuente:** Autor

### -Budweiser

Esta cerveza muestra una distribución entre el clúster 2 con un 50% de pertenencia al mismo y con la otra mitad dividida entre los clúster 1 y 5 con un 25% cada uno, observándose poca homogeneidad entre los resultados

**Figura 41.** Porcentaje de distribución de las muestras de cerveza Budweiser en los clúster.



**Fuente:** Autor

## Capítulo IV

### 4.1. Discusión:

Cien muestras fueron tratadas en el presente trabajo de investigación, puesto que se seleccionó veinticinco marcas diferentes de cerveza y se realizó cuatro muestreos de las mismas. Luego de realizar la cuantificación del contenido de metales pesados en las mismas mediante el método de Anodic Stripping se creó 8 clúster de clasificación mediante la vinculación de Ward como se puede observar en la figura 14, y de una manera detallada la conformación de cada uno de ellos desde la tabla 7 hasta la 14.

La norma INEN NTE 2 262:2003 (Anexo 1) regula los contenidos de tres de los metales analizados Zn, Cu y Pb que al comparar con el contenido promedio de metales de cada clúster obtenidos en el presente trabajo se determina que:

El clúster 1, 2 y 4 (Véase Tablas 7, 8 y 10) cumplen con los requerimientos de las normas vigentes ya que tienen contenidos menores a 1ppm en lo que se refiere a Zn y Cu y el contenido de Pb es menor que 0,1 ppm.

El clúster 3 (Véase Tabla 9) está dentro de los límites permitidos en lo que se refiere a Zn y Cu (menos de 1 ppm), mientras que está fuera de norma en los requerimientos de Pb sobrepasando lo exigido por la norma que es 0,1 ppm.

El quinto clúster (Véase Tabla 11) cumple con la norma en lo que se refiere a Zn y Pb estando fuera de la misma para Cu.

El sexto clúster (Véase Tabla 12) sobrepasa los niveles aceptados en lo que se refiere a Pb, siendo el clúster que mayor contenido de este metal muestra; los otros dos metales se encuentran dentro de la norma.

El clúster número 7 (Véase Tabla 13) es el único que sobrepasa los niveles aceptados de Zn, los otros dos metales se encuentran dentro de la norma.

El octavo clúster (Véase Tabla 14) muestra un gran contenido de Cu estando fuera de norma, lo que respecta a los otros dos metales no hay excesos.

La norma vigente para cerveza no regula el contenido de Cd, razón por la cual para el análisis de los resultados obtenidos de este metal se tomó como referencia la norma brasileña para cervezas (Anexo 2) y al comparar con los datos de la investigación se observa que todos los clúster están dentro de la misma ya que los contenidos no sobrepasan los 0,5 ppm.

Los resultados fueron también comparados con normas de otros países como Nicaragua y España (Anexo 3 y 4) que tienen requerimientos similares a la norma del país, la norma brasileña que es mucho más estricta en cuanto a contenido de Pb se refiere y que denota que los clúster 3, 4 y 6 están fuera de norma ya que tienen más de 0,05 ppm y finalmente la norma Suiza (Anexo 5) que regula de una forma más severa el contenido de Zn para la cual solo los clústeres 3 y 6 están dentro de norma (menos de 0,2 ppm).

También se analizó la homogeneidad de los datos obtenidos pudiendo apreciarse que cervezas como: Pilsener, Club Negra, Pilsener Light, Stella Artois, Negra Modelo, Negra Beer House, Negra Beer Factory, Erdinger Negra, Erdinger Rubia, Águila y Poker muestran un 75% similitud entre los datos obtenidos de cada una de ellas como marca. Por otro lado cervezas como Miller, Brahma, Shandy, Estrella Galicia, Heineken, Corona, Pilsener en lata, Roja Beer House, Rubia Beer Factory y Budweiser tienen una similitud del 50% entre sí mismas y las cervezas restantes: Club Roja, Rubia Beer House y Roja Beer Factory arrojaron datos completamente distintos en cada uno de los muestreos realizados; esto se debe a que las muestras fueron conseguidas en recintos comerciales y pertenecían a diversos lotes de fabricación.

Con el fin de comparar la sensibilidad de la metodología utilizada, se relacionaron los datos obtenidos en el presente trabajo, en lo que se refiere a Zn y Cu, con los datos de Eunice Marcano, et al, en su trabajo titulado “Estudio preliminar sobre la determinación de elementos traza en cervezas venezolanas por ICP-OES”, en el cual se utilizó el método de espectrometría de emisión atómica por plasma acoplado inductivamente, ICP-OES, el cual permite una determinación mucho más precisa de elementos y además realizar un análisis simultáneo secuencial, con límites de detección favorables para elementos refractarios, con interferencias no espectrales pequeñas, y con un rango lineal amplio. Al realizar la comparación de los datos se observa que existe similitud entre los resultados de los dos trabajos, por lo cual podemos apreciar, que el método de Anoding Stripping, tiene la misma sensibilidad que el método ICP-OES, con ventajas como costo del equipo, costo de insumos y tiempo de operación que son mucho más bajos que en el método ICP-OES.

## CONCLUSIONES

- Luego de haber determinado los diferentes contenidos de Zn, Cd, Pb y Cu en 25 marcas diferentes de cerveza se muestra que los contenidos de los mismos presentan ciertas similitudes razón por la cual se crearon 8 clúster de clasificación, de los cuales los 5 primeros constan con datos numerosos y los tres últimos no contienen más de 2 datos.
- Los resultados obtenidos en cada marca de cerveza no son del todo homogéneos pues las muestras fueron adquiridas en recintos comerciales por lo que las muestras no pertenecen a un mismo lote, la similitud de los datos se detalla en las discusiones.
- Basados en el sustento teórico del presente trabajo se puede deducir que las posibles fuentes de los diferentes metales pueden ser provenientes de los equipos utilizados en el procesamiento de las cervezas ya que a pesar de ser procesos automatizados, tienen contacto con diversas aleaciones de metales que por el desgaste pueden contaminar la cerveza. La calidad de agua y materias primas con la que se elaboran las diversas cervezas es un aspecto que debe ser tomando en consideración pues por esta vía pueden llegar los componentes determinados en el estudio al producto y finalmente el material de envase puede ser también una fuente para la contaminación de metales en la cerveza.
- Las cervezas del clúster 1, 2 y 4 son las que están más apegadas a la norma ecuatoriana INEN 2 262:2003 vigente en nuestro país, el resto de clúster sobrepasa los niveles requeridos por las normas en uno u otro metal, como se puede observar detalladamente en las discusiones.



**BIBLIOGRAFÍA**

DIAZ, A (2014). “Metales Pesados”. Catice Centros y Unidades de Asistencia Técnica e Inspección de Comercio Exterior. Valencia Disponible en: <http://plaguicidas.comercio.es/metalpesa.pdf>

[Accesado el 3 de septiembre de 2014]

TORRES, E, (2004). “Apuntes acerca del tratamiento térmico y la clasificación general de los aceros”. Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos. Cuba. [En línea]. Disponible en: <http://www.bibliociencias.cu/gsd/collect/libros/index/assoc/HASH0158.dir/doc.pdf>

[Accesado el 4 de mayo de 2014]

CARMONA, R., DÍAZ, G., HUERTA, A., MARTINEZ, R (2010). “Creación de una microempresa dedicada a la elaboración de cerveza artesanal”. Tesis de grado, Instituto Politécnico Nacional, México. [En línea]. Disponible en: <http://itzamna.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/8382/1/A7.1840.pdf>

[Accesado el 11 de abril de 2014]

CASTRO, F (2014). “Análisis Instrumental.” [En línea]. Disponible en: <http://blog.utp.edu.co/instrumental/files/2011/08/An%C3%A1lisis-instrumental-Algunos-m%C3%A9todos-Fotom%C3%A9tricos-y-Electrom%C3%A9tricos-Apuntes-de-Clase1.pdf>

[Accesado el 17 de abril de 2014]

COMITÉ DEL CODEX SOBRE ADITIVOS ALIMENTARIOS Y CONTAMINANTES DE LOS ALIMENTOS (1999). “Documento de Examen sobre el Cadmio.” [En línea]. Disponible en: [ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/CCFAC/CCFAC31/fa99\\_21s.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/CCFAC/CCFAC31/fa99_21s.pdf)

[Accesado el 8 de mayo de 2014]

CRUZ, J., DÍAZ, R., FORERO, N. (2001). “La polarografía en los fenómenos fisicoquímicos como método de análisis electroquímico”. Revista colombiana de física, 33(2), 402.

FLÓREZ, J (2003). “Farmacología Humana” (Cuarta Edición). Barcelona: Editorial Masson S.A.

INSTITUTO ECUATORIANO DE ESTADÍSTICAS Y CENSOS (2012). “Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos en Hogares Urbanos y Rurales”. [En línea]. Disponible en: [http://www.inec.gob.ec/inec/index.php?option=com\\_content&view=article&id=615%3Amas-de-900-mil-ecuatorianos-consumen-alcohol&catid=56%3Adestacados&Itemid=3&lang=es](http://www.inec.gob.ec/inec/index.php?option=com_content&view=article&id=615%3Amas-de-900-mil-ecuatorianos-consumen-alcohol&catid=56%3Adestacados&Itemid=3&lang=es)

[Accesado el 8 de diciembre de 2013]

DIARIO HOY (2012)“Las ventas de marcas de cerveza Premium se multiplican en el país” [En línea]. Disponible en: <http://www.hoy.com.ec/noticias-ecuador/las-ventas-de-marcas-de-cerveza-premium-se-multiplican-en-el-pais-562844.html>

[Accesado el 8 de diciembre de 2013]

LATIMER, G (2012). “Official Methods of Analysis of AOAC International Vol. II (19<sup>th</sup> Edition)”. Maryland: AOAC International.

MARCANO E.; GÓMEZ C.; BENZO Z.; LAINE J. (2010). “Estudio preliminar sobre la determinación de elementos traza en cervezas venezolanas por ICP-OES”. [En línea] Disponible en: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422010000300032&lang=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000300032&lang=pt)

[Accesado el 3 de septiembre de 2014]

MORENO, M (2003). Toxicología Ambiental: Evaluación de riesgo para la salud humana. Mc Graw –Hill.

NORDBERG, G., “Metales: propiedades químicas y toxicidad productos químicos”. [En línea]. Disponible en: <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo2/63.pdf>

[Accesado el 11 de mayo de 2014]

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 2 262:2003, “Bebidas Alcohólicas. Cervezas. Requisitos. (Primera Revisión)”, Instituto Ecuatoriano de Normalización, Quito 2003. [En línea]. Disponible en: <http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/ExigenciasTecnicas/documentos/ECU/Bebidas%20alco%C3%B3licas.pdf>

[Accesado el 4 de abril de 2014]

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 1 108:2011, “Agua Potable. Requisitos (Cuarta Revisión)”, Instituto Ecuatoriano de Normalización, Quito 2011. [En línea]. Disponible en: <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1108.2011.pdf>

[Accesado el 4 de abril de 2014]

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 2 327:2002. “Bebidas Alcohólicas. Cerveza. Determinación de Cobre (Primera Edición)”. Instituto Ecuatoriano de Normalización, Quito 2002. [En línea]. Disponible en: <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.2327.2002.pdf>

[Accesado el 4 de abril de 2014]

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (2013). “Intoxicación por plomo y salud. Nota descriptiva N° 379.” [En línea]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs379/es/>

[Accesado el 11 de mayo de 2014]

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (1973). “Los Oligoelementos en la Nutrición Humana. Ginebra. Serie de informes Técnicos N°532”. [En línea]. Disponible en: [http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_532\\_spa.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_532_spa.pdf)

[Accesado el 11 de mayo de 2014]

PROTTI, P (2001). “Introducción a las Técnicas Modernas de Voltimetría y Polarografía (Cuarta Edición)”. Ammel Electroquímica.

SIMONAZZI, A (2009). “Cerveza (Primera Edición)”. Argentina: El Cid Editor. [En línea] Disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/uasuaaysp/docDetail.action?docID=10327708&p00=cerveza>

[Accesado el 4 de abril de 2014]

SETTLE, F (1997). “Manual de Técnicas Instrumentales para el análisis Químico”. New Jersey: Precision Graphic Services, Inc. [En línea]. Disponible en: <http://ceplecture.yolasite.com/resources/Handbook%20Of%20Instrumental%20Techniques%20For%20Analytical%20Chemistry%20-%20Fran%20A.Settle.pdf>

[Accesado el 4 de abril de 2014]

VASSOS, B ., EWING G (1987).” Electroquímica Analítica (Primera Edición)”. México: Editorial Limusa.

VILLARDÓN J (2009). “Introducción al análisis de clúster. Universidad de Salamanca”.[ En línea]. Disponible en: <http://benjamindespensa.tripod.com/spss/AC.pdf>

[Accesado el 8 de junio de 2014]

**ANEXOS**

**Anexo1: Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2 262:2003**



**INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN**

Quito - Ecuador

---

**NORMA TÉCNICA ECUATORIANA**

**NTE INEN 2 262:2003**

---

**BEBIDAS ALCOHÓLICAS. CERVEZA. REQUISITOS.**

**Primera Edición**

ALCOHOLIC BEVERAGES. BEER. SPECIFICATIONS.

First Edition

---

DESCRIPTORES: Bebidas espirituosas, alcoholes, fermentación, bebida alcohólica, bebida, cerveza, requisitos.  
AL 04.02-414  
CDD: 663.41:658  
CIIU: 3131  
ICS: 67.150.10

CDU: 663.41:658  
ICS: 67.160.10



CIU: 3131  
AL 04.02-414

Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria	BEBIDAS ALCOHÓLICAS. CERVEZA. REQUISITOS	NTE INEN 2 262:2003 2003-03
<p style="text-align: center;"><b>1. OBJETO</b></p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir la cerveza para ser considerada apta para el consumo humano.</p> <p style="text-align: center;"><b>2. DEFINICIONES</b></p> <p>2.1 Para efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:</p> <p>2.1.1 <i>Cerveza</i>. Bebida de moderado contenido alcohólico, resultante de un proceso de fermentación controlado, por medio de levadura cervecera proveniente de un cultivo puro, en un mosto elaborado con agua de características fisicoquímicas y bacteriológicas apropiadas, cebada malteada sola o mezclada con adjuntos, con adición de lúpulo y/o los derivados de lúpulo.</p> <p>2.1.2 <i>Cerveza pasteurizada</i>. Producto que ha sido sometido a un proceso térmico y tiene el equivalente a 8 UP mínimo.</p> <p>2.1.3 <i>Unidad de pasteurización UP</i>. Es el equivalente a mantener la cerveza a 60°C durante un minuto; si la temperatura y el tiempo son diferentes a lo indicado, se define mediante la ecuación <math>UP = Z \times 1,353^{(t-60)}</math>, donde: UP = unidad de pasteurización, Z = minutos, t = °C.</p> <p>2.1.4 <i>Cebada malteada</i>. Es el producto de someter el grano de cebada a un proceso de germinación controlada, secado y tostado en condiciones adecuadas para su posterior empleo en la elaboración de cerveza.</p> <p>2.1.5 <i>Adjuntos cerveceros</i>. Son cereales y azúcares procesados o no y/o almidones transformables en otros azúcares.</p> <p>2.1.6 <i>Lúpulo</i>. Es un producto natural obtenido de las flores de la planta <i>Humulus lupulus</i>. Estas pueden haber sido sometidas a un proceso de clasificación, secado, extrusión, y/o extracción, isomerización o estabilización de las sustancias amargas y aromáticas.</p> <p style="text-align: center;"><b>3. DISPOSICIONES GENERALES</b></p> <p>3.1 La cerveza no debe ser turbia ni contener sedimentos apreciables a simple vista.</p> <p>3.2 La levadura empleada en la elaboración de la cerveza debe provenir de un cultivo puro de levadura cervecera, libre de cualquier otro tipo de microorganismo patógeno.</p> <p>3.3 <b>Prácticas permitidas</b></p> <p>3.3.1 El agua debe ser potable (según NTE INEN 1 108). Se puede depurar con ácidos, sales de calcio y zinc para favorecer la acción enzimática de la cebada malteada.</p> <p>3.3.2 Se puede utilizar enzimas amilasas, glucanasas, celulasas y proteasas de origen natural.</p> <p>3.3.3 Se puede utilizar colorantes provenientes de la caramelización de azúcares o de cebadas malteadas oscuras y sus concentrados o extractos.</p> <p>3.3.4 Se puede usar agentes antioxidantes de uso permitidos, tales como el ácido ascórbico, sus sales o bisulfitos de sodio o potasio.</p> <hr/> <p><b>DESCRIPTORES:</b> Bebidas espirituosas, alcoholes, fermentación, cerveza, bebida alcohólica, bebida, requisitos.</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-3999 - Baquerizo 454 y Ave. 6 de Diciembre - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción

3.3.5 Se puede utilizar materiales filtrantes y clarificantes tales como celulosa, carbón activado, tierras de infusorios o diatomeas, tanino, albúmina, gelatina alimenticia, bentonitas, alginatos, dióxido de silicio amorfo, caseína, queratina, poliamidas y polivinilpirrolidona Insoluble y otros de uso permitido que no hagan parte del producto final.

#### 3.4 Prácticas no permitidas.

3.4.1 No está permitida la adición o uso de:

3.4.1.1 Alcoholes.

3.4.1.2 Agentes edulcorantes artificiales

3.4.1.3 Sustitutos del lúpulo u otros principios amargos

3.4.1.4 Adjuntos que proporcionen sabores o aromas diferentes a la naturaleza propia de la cerveza.

3.4.1.5 Esencias o saborizantes naturales o artificiales.

3.4.1.6 Saporinas

3.4.1.7 Materias colorantes diferentes al caramelo de azúcar o a las cebadas malteadas oscuras o a sus concentrados o extractos.

3.4.1.8 Sustancias conservantes

3.4.1.9 Cualquier ingrediente que sea nocivo para la salud.

3.4.1.10 Medios filtrantes constituidos por asbesto.

## 4. REQUISITOS

### 4.1 Requisitos específicos

4.1.1 La cerveza debe cumplir con los requisitos establecidos en las tablas 1 y 2.

TABLA 1. Requisitos físicoquímicos

REQUISITOS	UNIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO	MÉTODO DE ENSAYO
Contenido alcohólico a 20°C	% (v/v)	2,0	5,0	NTE INEN 2 322
Acidez total, expresado como ácido láctico	% (m/m)	-	0,3	NTE INEN 2 323
Carbonatación	Volúmenes de CO <sub>2</sub>	2,2	3,5	NTE INEN 2 324
pH	-	3,5	5,0	NTE INEN 2 325
Contenido de hierro	mg/dm <sup>3</sup>	-	0,2	NTE INEN 2 328
Contenido de cobre	mg/dm <sup>3</sup>	-	1,0	NTE INEN 2 327
Contenido de zinc	mg/dm <sup>3</sup>	-	1,0	NTE INEN 2 328
Contenido de arsénico	mg/dm <sup>3</sup>	-	0,1	NTE INEN 2 329
Contenido de plomo	mg/dm <sup>3</sup>	-	0,1	NTE INEN 2 330



TABLA 2. Requisitos microbiológicos

REQUISITOS	UNIDAD	Cerveza pasteurizada		Cerveza no pasteurizada		MÉTODO DE ENSAYO
		MÍNIMO	MÁXIMO	MÍNIMO	MÁXIMO	
R.E.P.	UFC/cm <sup>3</sup>	-	10	-	80	NTE INEN 1 529-5
Mohos y levaduras	UP/cm <sup>3</sup>	-	10	-	50	NTE INEN 1 529-10

## 5. INSPECCIÓN

### 5.1 Muestreo

5.1.1 El muestreo debe realizarse de acuerdo a la NTE INEN 2 340.

### 5.2 Aceptación y rechazo

5.2.1 En la muestra extraída se efectuarán los ensayos indicados en el numeral 4 de esta norma.

5.2.2 Si la muestra ensayada no cumple con uno o más de los requisitos establecidos en el numeral 4 de esta norma, se extraerá una segunda muestra y se repetirán los ensayos.

5.2.3 Si la segunda muestra de los ensayos repetidos no cumpliere con uno de los requisitos establecidos, se rechazará el lote correspondiente.

## 6. ENVASADO Y EMBALADO

6.1 La cerveza debe distribuirse y expendirse en envases fabricados de un material que permita conservar la calidad del producto, así como su manejo hasta el destino final.

## 7. ROTULADO

7.1 Cada envase debe presentar un rotulado perfectamente legible que incluya la siguiente información en idioma español.

- a) denominación del producto "Cerveza",
- b) marca comercial,
- c) nombre del fabricante. En el caso de productos importados, además constará el nombre y dirección del importador y del país de origen,
- d) contenido alcohólico expresado en porcentaje de volumen,
- e) contenido neto expresado en unidades de volumen del sistema internacional,
- f) número de registro sanitario ecuatoriano,
- g) identificación del lote ,
- h) fechas de elaboración y de tiempo máximo de consumo,
- i) lista de ingredientes,
- j) forma de conservación,
- k) precio de venta al público (P.V.P),
- l) la leyenda "Industria Ecuatoriana" para el producto nacional,

[

]

NTE INEN 2 262

2003-03

- m) NTE INEN de referencia,
- n) "ADVERTENCIA: El consumo excesivo del alcohol puede perjudicar su salud". "Ministerio de Salud Pública del Ecuador", y,
- o) demás especificaciones exigidas por Ley.

7.2 El rotulo no debe presentar leyendas de significado ambiguo ni descripción de características del producto que no puedan ser debidamente comprobadas.

7.3 En la comercialización de este producto se recomienda utilizar lo dispuesto en las regulaciones y resoluciones dictadas, con sujeción a la Ley de Pesas y Medidas.

**Anexo 2: Legislación Brasileña de metales pesados.****LEGISLACIÓN BRASILEÑA DE METALES PESADOS****ANTIMONIO**

<b>ALIMENTO</b>	<b>TOLERANCIA EN PPM</b>
Bebidas alcohólicas fermentadas	<b>0,20</b>
Bebidas alcohólicas fermento-destiladas	<b>0,20</b>
Refrescos	<b>0,20</b>
Zumos de frutas y jarabes naturales	<b>1</b>
Otros alimentos	<b>2</b>

**ARSENICO**

<b>ALIMENTO</b>	<b>TOLERANCIA EN PPM</b>
Bebidas alcohólicas fermentadas	<b>0,10</b>
Bebidas alcohólicas fermento-destiladas	<b>0,10</b>
Refrescos	<b>0,20</b>
Zumos de frutas y jarabes naturales	<b>0,20</b>
Grasas vegetales	<b>0,10</b>
Grasas y emulsiones refinadas	<b>0,10</b>
Grasas hidrogenadas	<b>0,10</b>
Azúcares	<b>1</b>
Caramelos	<b>1</b>
Cereales y productos a base de cereales	<b>1</b>
Helados comestibles	<b>1</b>

Huevos y ovoproductos	<b>1</b>
Leche líquida, lista para el consumo	<b>0,10</b>
Miel	<b>1</b>
Pescado y productos de la pesca	<b>1</b>
Productos de cacao y derivados	<b>1</b>
Té, mate, café y derivados	<b>1</b>
Otros alimentos	<b>1</b>

### **CADMIO (Cd)**

<b>ALIMENTO</b>	<b>TOLERANCIA EN PPM</b>
Bebidas alcohólicas fermentadas	<b>0,50</b>
Bebidas alcohólicas fermento-destiladas	<b>0,20</b>
Refrescos	<b>0,20</b>
Zumos de frutas y jarabes naturales	<b>0,50</b>
Pescado y productos de la pesca	<b>1</b>
Otros alimentos	<b>1</b>

**COBRE**

<b>ALIMENTO</b>	<b>TOLERANCIA EN PPM</b>
Bebidas alcohólicas fermentadas	<b>10</b>
Bebidas alcohólicas fermento-destiladas	<b>10</b>
Refrescos	<b>5</b>
Zumos de frutas y jarabes naturales	<b>30</b>
Aceites y grasas vírgenes	<b>0,40</b>
Aceites, grasas y emulsiones refinadas	<b>0,10</b>
Caramelos	<b>10</b>
Frutas, hortalizas y semillas oleaginosas naturales e Industrializadas	<b>10</b>
Helados naturales	<b>10</b>
Lactosa	<b>2</b>
Miel	<b>10</b>
Otros alimentos	<b>30</b>

**CROMO**

<b>ALIMENTO</b>	<b>TOLERANCIA EN</b>

Cualquier alimento

**0,10**

**ESTAÑO**

<b>ALIMENTO</b>	<b>TOLERANCIA EN PPM</b>
Zumos de frutas cítricas (enlatados)	<b>150</b>
Otros alimentos	<b>250</b>

**MERCURIO**

<b>ALIMENTO</b>	<b>TOLERANCIA EN PPM</b>
Pescados y productos de la pesca (salvo predadores)	<b>0,50</b>
Pescados predadores	<b>1</b>
Cualquier otro alimento	<b>0,01</b>

**NIQUEL**

<b>ALIMENTO</b>	<b>TOLERANCIA EN PPM</b>
Bebidas alcohólicas fermentadas	<b>0,10</b>
Bebidas alcohólicas fermento-destiladas	<b>3</b>
Refrescos	<b>0,10</b>
Zumos de frutas y jarabes naturales	<b>3</b>
Productos hidrogenados	<b>4</b>
Otros alimentos	<b>5</b>

**PLOM****O**

ALIMENTO	TOLERANCIA EN	
	Natural	PPM Industrializado
Carnes	<b>0,50</b>	<b>1</b>
Aves	<b>0,20</b>	<b>1</b>
Pescado y productos de la pesca	<b>2</b>	<b>2</b>
Leche líquida, lista para el consumo	<b>0,05</b>	<b>0,05</b>
Queso		<b>1</b>
Manteca		<b>0,10</b>
Otros derivados de la leche		<b>0,20</b>
Huevos	<b>0,10</b>	<b>0,20</b>
Bulbos	<b>0,50</b>	<b>0,50</b>
Raíces y tubérculos	<b>0,50</b>	<b>0,50</b>
Cereales	<b>0,50</b>	<b>0,50</b>
Hortalizas	<b>0,50</b>	<b>0,50</b>
Leguminosas	<b>0,50</b>	<b>0,50</b>
Frutas (excepto zumos, néctares, confitadas o glaseadas)	<b>0,50</b>	<b>0,50</b>
Zumos y néctares de frutas		<b>0,40</b>
Zumos de frutas cítricas		<b>0,30</b>
Frutas confitadas o glaseadas		<b>1</b>
Semillas oleaginosas	<b>0,20</b>	<b>0,20</b>
Aceites y grasas		<b>0,10</b>
Aceites, grasas y emulsiones refinadas		<b>0,10</b>
Margarina		<b>0,10</b>
Refrescos		<b>0,20</b>

Bebidas alcohólicas		<b>0,05</b>
Cacao (excepto manteca y chocolate)		<b>2</b>
Manteca de cacao		<b>0,50</b>
Chocolate azucarado		<b>1</b>
Chocolate no azucarado		<b>2</b>
Caramelos		<b>2</b>
Azúcar (sacarosa)		<b>2</b>
Dextrosa (glucosa)		<b>2</b>
Fructosa		<b>0,50</b>
Jarabe de glucosa		<b>2</b>
Lactosa		<b>2</b>
Café tostado y molido		<b>1</b>
Caseína y caseinatos		<b>2</b>
Alimentos para fines especiales, para lactantes y niños hasta 3 años		<b>0,20</b>
Partes comestibles de cefalópodos	<b>2</b>	<b>2</b>
Otros alimentos	<b>0,80</b>	<b>0,80</b>

## SELENIO

ALIMENTO	TOLERANCIA EN
Alimentos sólidos	<b>0,30</b>



Alimentos líquidos	
	<b>0,05</b>

**ZINC**

<b>ALIMENTO</b>	<b>TOLERANCIA EN PPM</b>
Bebidas alcohólicas fermentadas	<b>5</b>
Bebidas alcohólicas fermento-destiladas	<b>5</b>
Refrescos	<b>5</b>
Zumos de frutas y jarabes naturales	<b>25</b>

**Anexo 3: Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense**

**Comisión Nacional de Normalización Técnica y Calidad, Ministerio de Fomento, Industria y Comercio  
Telefax: 2774671, Norma Técnica Nicaragüense ( NTN )**

# **NORMA TECNICA OBLIGATORIA NICARAGÜE**

La Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense 03 038 – 06 Primera Revisión Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense Bebidas Fermentadas. Cerveza. Especificaciones y en su elaboración participaron las siguientes personas en representación de sus instituciones:

Rüdiger Adelman	Compañía Cervecera de Nicaragua
Nidia Menicucci	Compañía Cervecera de Nicaragua
William Ramírez	Compañía Cervecera de Nicaragua
Ileana Prado	Compañía Cervecera de Nicaragua
Manuel Novoa	Compañía Cervecera de Nicaragua
Geraldo Melo de Queirós	Cervecería Río
Wilson José Fornacier	Cervecería Río
Fernando Argueta	Cervecería Río
Samantha Aguilar Beteta	Taboada y Asociados (Cervecería Río)
José Ángel Reyes	ENSA
Enrique Brenes	Suplidora Internacional
Manuel Bermúdez	Cámara de Comercio de Nicaragua
Andrés Gómez Palacios	Policía Nacional - DIE
Francisco Pérez	LABAL

Fátima Juárez	CNDR-MINSA
Clara Ivania Soto	Ministerio de Salud (MINSA)
Javier Cruz	Ministerio de Fomento, Industria y Comercio (MIFIC)
Noemí Solano	Ministerio de Fomento, Industria y Comercio (MIFIC)

Esta norma fue revisada y aprobada por el Comité Técnico de Bebidas Fermentadas en la sesión de trabajo el día 25 de mayo de 2006.

## **1. OBJETO**

Esta norma tiene por objeto establecer las especificaciones, requisitos y los métodos de ensayo que debe cumplir la cerveza que haya sido o no sometida a pasteurización y/o microfiltración durante el proceso de elaboración.

## **2. CAMPO DE APLICACIÓN**

Esta norma aplica a todas las cervezas que se elaboran y comercializan en el territorio nacional, sean estas de producción nacional o importadas.

## **3. DEFINICIONES Y TERMINOLOGIA**

**3.1** Cerveza. Bebida resultante de un proceso de fermentación alcohólica controlado, por medio de levadura cervecera, de un mosto elaborado con agua potable, malta y/o sus extractos sola o mezclada con azúcar y/o otros productos amiláceos, adicionado de lúpulo y/o sus extractos y concentrados. La adición de otros granos y azúcar es facultativa

3.2 Malta. Cebada que ha sido sometida a un proceso de germinación controlada y posterior tostación, en condiciones adecuadas para ser utilizada en la elaboración de cerveza.

3.3 Mosto de cerveza. Es la solución en agua potable de carbohidratos, proteínas, sales minerales y demás compuestos resultantes de la degradación enzimática de la malta, con o sin adjuntos cerveceros realizada mediante procesos tecnológicos adecuados

3.4 Aditivos alimentarios. Son aquellas sustancias que entran en la formulación de una bebida alcohólica fermentada con el objeto de preservar, estabilizar o mejorar su color, olor y apariencia, siempre que no perjudiquen su valor nutritivo, normalmente no se consumen como bebidas, ni se usan como ingredientes característicos de la bebida, tengan o no valor nutritivo y cuya adición intencional, en cualquiera de las fases de producción, resulta o es de prever que resulte (directa o indirectamente), en que él o sus derivados pasen a ser un componente de tales bebidas o afecten a las características de éstas

3.5 Bebida alcohólica fermentada. Es la bebida alcohólica obtenida por la fermentación de jugos azucarados de frutas o por la fermentación de azúcares obtenidos de almidón de cereales, por cualquier proceso de conversión.

3.6 Buenas prácticas de manufactura. Condiciones de infraestructura y procedimientos establecidos para todos, los procesos de producción y control de alimentos, bebidas y productos afines, con el objeto de garantizar la calidad e inocuidad de dichos productos según normas aceptadas internacionalmente.

3.7 Etiqueta. Cualquier marbete, rótulo, marca, imagen u otra materia descriptiva o gráfica, que se haya escrito, impreso, estarcido, marcado en relieve o en hueco-grabado o adherido al envase o tapón de una bebida alcohólica fermentada, que cumpla con las disposiciones de la presente Norma.

3.8 Etiquetado. Cualquier material escrito, impreso o gráfico que contiene la etiqueta.

3.9 Ingrediente. Cualquier sustancia incluidos los aditivos alimentarios que se emplee en la fabricación, preparación y conservación de las bebidas y esté presente en el producto final, aunque posiblemente en forma modificada.

3.10 Lote. Es una cantidad determinada de una bebida producida en condiciones esencialmente iguales que se identifica mediante un código al momento de ser envasado.

3.11 Métodos de prueba. Procedimientos analíticos utilizados en el laboratorio para comprobar que un producto satisface las especificaciones que establece la norma.

3.12 Grado alcohólico. Porcentaje en volumen de alcohol etílico contenido en una bebida alcohólica, referido a 20 °C.

3.13 Cerveza saborizada. Es la cerveza a la que se le ha adicionado aromas/jugos/extracto de origen vegetal aprobados por la autoridad competente definida en esta norma.

3.14 Adjuntos. Toda fuente donadora de almidón o azúcares fermentables.

3.15 Lúpulos. Flor o extractos naturales o procesados de la flor *Humulus Lupulus*.



3.16 Extracto original de cerveza. Es la concentración de la cerveza expresada en % en masa y calculada a partir de la concentración de alcohol y del extracto real o verdadero de la misma.

#### **4. CLASIFICACION DE LA CERVEZA**

Las cervezas se denominan de acuerdo a las siguientes características:

##### 4.1 Según la "Especie de levadura"

4.1.1 Cervezas de baja fermentación, es elaborada usando levaduras cultivadas de la especie *sacchoromyces uvarum*, las cuales tienden a sedimentar al concluir el proceso de fermentación.

4.1.2 Cerveza de alta fermentación, es elaborada usando levaduras cultivadas de la especie *sacchoromyce cerevisiae*, las cuales tienden a flotar sobre la superficie del producto al concluir el proceso de fermentación.

##### 4.2 Según el "Grado Alcohólico"

4.2.1 Cervezas sin alcohol, es la que tiene un contenido alcohólico inferior o igual a 0,5% en volumen

4.2.2 Cervezas con alcohol, es la que tiene un contenido alcohólico superior a 0.5% en volumen

4.3                    Según el "Contenido Calórico"

4.3.1                  Podrá denominarse cerveza light o ligera la cerveza suave que contenga un valor energético máximo de 150 kJ/ 100 ml.

4.4                    Según la “proporción de materias primas”

4.4.1.                Cerveza de [...] (seguido del nombre del o de los cereales mayoritarios) Cerveza elaborada a partir de un mosto cuyo extracto original proviene mayoritariamente de adjuntos cerveceros. Podrá tener hasta un máximo de 80% en peso de la totalidad de las materias primas adicionadas. Cuando dos o más cereales contribuyan en igual cantidad se deben declarar todos en la etiqueta.

4.4.2                Cerveza, es aquella que es elaborada a partir de un mosto cuyo extracto original proviene de malta de cebada. Deberá tener hasta un mínima de 50% en peso de la totalidad de las materias primas adicionadas provenientes de malta.

**5.            MATERIAS PRIMAS Y MATERIALES**

5.1                    Agua potable. Agua tratada exenta de contaminantes y apta para consumo humano

5.2                    Cereales: Los cereales utilizados para la fabricación de cerveza deben estar libres de sustancias que puedan dañar la salud de los consumidores.

5.3 Lúpulo: El lúpulo utilizado en la fabricación de cervezas no debe contener sustancias extrañas o perjudiciales para la salud de los consumidores.

5.4 Azúcar. La industria nacional que utilice azúcar en la elaboración de la cerveza, debe cumplir con la legislación nacional vigente. El azúcar utilizado en la elaboración de cervezas importadas, únicamente debe ser declarado como ingrediente en la etiqueta.

5.5 Levadura. La levadura para la fabricación de cerveza deberá de provenir de un cultivo puro.

5.6 Aditivos. Los aditivos utilizados en la elaboración de cerveza están sujetos a las clasificaciones establecidas en el Codex Alimentarius.

## **6. ESPECIFICACIONES Y CARACTERISTICAS**

### 6.1 Características generales.

6.1.1 No se permite el uso de materiales filtrantes como asbesto u otros materiales prohibidos en la industria de alimentos y bebidas.

6.1.2 La cerveza deberá estar libre de cualquier ingrediente dañino a la salud.

6.1.3 La cerveza puede contener solamente los aditivos, colorantes y preservantes establecidos por el Codex Alimentarius.

6.1.4 Las industrias que elaboren y distribuyan cervezas deberán cumplir con la NTON 03 069 – 06/RTCA 67.01.33:06, Industria de Alimentos y Bebidas Procesados. Buenas Prácticas de Manufactura. Principios Generales.

6.1.5 La cerveza deberá estar libre de insectos o restos de ellos y de cualquier otro tipo de fragmento tales como plástico, metales u otras impurezas externas.

6.1.6 El alcohol etílico de la cerveza deberá provenir de la fermentación del mosto con la levadura de cerveza. No se permite la adición de alcohol a la misma.

6.2 Características sensoriales. La cerveza deberá cumplir con las características propias del producto.

6.3 Características físico-químicas: La cerveza deberá cumplir con los requisitos físico-químicos establecidos en la Tabla 1.

6.4 Metales pesados. La cerveza deberá cumplir con los requisitos físico-químicos establecidos en la Tabla No. 2

6.5 Características microbiológicas: La cerveza deberá cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en la Tabla 3.

**Tabla 1. Requisitos físico-químicos de la cerveza**

<b>Requisitos</b>	<b>Unidades</b>	<b>Especificaciones</b>
Grado Alcohólico	% Vol	0 – 12.0
Extracto original	% m/m	Min. 4.0
Unidades de Amargo	EBU*	2.0 – 100
PH		3,0 – 4,8
CO <sub>2</sub>	(% v/v)	2,0 – 4,0

\* EBU equivale a B.U. (European Bitter Unites)

**Tabla 2. Límites de metales pesados en la cerveza**

<b>Metales pesados</b>	<b>Unidades</b>	<b>Límites máximos</b>
Plomo, expresado como Pb	(mg/ l)	0.1
Hierro, expresado como Fe	(mg/ l)	0.2
Cobre, expresado como Cu	(mg/ l)	1.0
Cinc, expresado como Zn	(mg/ l)	1.0
Arsénico, expresado como As	(mg/ l)	0.1

6.6 La autoridad competente podrá realizar los análisis de metales pesados establecidos en la tabla 2, cuando lo estime conveniente.

**Tabla 3. Requisitos microbiológicos de la cerveza**

<b>Microorganismo</b>	<b>Límites máximos</b>
Recuento total de microorganismos mesófilos, UFC/ml	100
Recuento total de mohos, UFC/ml	20
Coliformes y microorganismos patógenos	Ausente

## 7. MUESTREO Y CRITERIOS DE ACEPTACION O RECHAZO

7.1 Muestreo: Para el cumplimiento de los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos, todas las plantas que elaboren y/o comercialicen cervezas deben de tener un programa de monitoreo y muestreo. Este programa debe ser capaz de monitorear el producto en las diferentes etapas del proceso de manufactura y comercialización para asegurar el cumplimiento de los parámetros en la cerveza. Las muestras deben ser representativas y tomadas aleatoriamente cerca del punto en uso.

7.2 Criterio de aceptación o rechazo: Si la muestra ensayada no cumple con uno o más de los requisitos establecidos en la presente norma, se rechazará el lote de la muestra ensayada. En caso de discrepancia, se volverá a hacer un muestreo repitiéndose el ensayo en un laboratorio debidamente acreditado. Cualquier resultado no satisfactorio en este segundo caso, será motivo para rechazar el lote de la muestra ensayada.

7.3 El muestreo y aceptación por parte de las autoridades sanitarias será llevados a cabo de acuerdo al documento “planes de muestreo para alimentos preenvasados CAC/RA 42-1969 del CODEX ALIMENTARIUS”.

## **8. METODOS DE ENSAYOS Y ANALISIS**

8.1 Ensayos físico-químicos y metales pesados. Estos análisis se efectuaran mediante lo indicado en los métodos ASBC, EBC, AOAC o MEBAK.

8.2 Ensayos Microbiológicos. Estos análisis se efectuaran mediante lo indicado en los métodos microbiológicos, ASBC, EBC o MEBAK.

## **9. ETIQUETADO**

El etiquetado de la cerveza se hará de acuerdo a lo dispuesto en la Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense de Bebidas Alcohólicas. Etiquetado de Bebidas Fermentadas.

## **10. ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE**

10.1 Almacenamiento y transporte. El almacenamiento y transporte de la cerveza debe realizarse de acuerdo a lo establecido en la NTON 03 069 – 06/RTCA 67.01.33:06, Industria de Alimentos y Bebidas Procesados. Buenas Prácticas de Manufactura. Principios Generales.

## **11. REFERENCIAS**

- a) Ley General de Salud
- b) Código de Prácticas de Higiene para la elaboración expendio de alimentos en la vía pública

- c) la NTON 03 069 – 06/RTCA 67.01.33:06, Industria de Alimentos y Bebidas Procesados. Buenas Prácticas de Manufactura. Principios Generales.
- d) NTON 03 021 -99 Norma de etiquetado de alimentos preenvasados para consumo humano
- e) Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense, NTON 01 001-96, Metodología para la presentación de Normas Técnicas Nicaragüenses
- f) Norma Guatemalteca Obligatoria COGUANOR NGO, 33 006; Bebidas Alcohólicas, Fermentadas. Cerveza. Especificaciones.
- g) Resolución MERCOSUR/GMC/RES. N 14/01; Reglamento Técnico MERCOSUR de Productos de Cervecería
- h) American Society of Brewing Chemists (ASBC)
- i) European Brewery Convention (EBC)
- j) Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission eV (MEBAK) (Comisión de análisis técnicos cerveceros de Europa Central)
- k) Association of Official Analytical Chemists AOAC 15<sup>th</sup> Edition, 1990

## **12. OBSERVANCIA DE LA NORMA**

La verificación de esta Norma estará a cargo del Ministerio Salud a través de la Dirección Control de Alimento y el Ministerio de Fomento, Industria y Comercio a través de la Dirección de Defensa del Consumidor.

## **13. ENTRADA EN VIGENCIA**

La presente Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense entrará en vigencia a partir de su publicación en la Gaceta Diario Oficial.

## **14. SANCIONES**



El incumplimiento a las disposiciones establecidas en la presente norma, debe ser sancionado conforme la legislación vigente.

## **Anexo 5: Norma española para cerveza**

### **REGLAMENTACIÓN TÉCNICO-SANITARIA PARA LA ELABORACIÓN Y COMERCIO DE LA CERVEZA Y DE LA MALTA LÍQUIDA**

#### **Artículo 1. Ámbito de aplicación.**

1. La presente Reglamentación tiene por objeto definir qué se entiende por cerveza y malta líquida a efectos legales y fijar con carácter obligatorio sus normas de elaboración, circulación y comercio y, en general, la ordenación jurídica de dichas bebidas. Será aplicable asimismo a los productos importados, excepto en los casos que se indican en el apartado 3.

2. Esta Reglamentación obliga a los fabricantes, industriales o elaboradores de cerveza y malta líquida, así como, en su caso, a los importadores y comerciantes de estos productos. Se considerarán fabricantes o elaboradores de cerveza y de malta líquida, aquellas personas naturales o jurídicas que dediquen su actividad profesional o la obtención de estas bebidas.

3. Las exigencias de la presente Reglamentación no se aplicarán a los productos legalmente fabricados y/o comercializados en los restantes Estados miembros de las Comunidades Europeas, ni a los productos originarios, conforme a lo establecido en el protocolo 4 del Acuerdo sobre el Espacio Económico Europeo, de los países miembros de la Asociación Europea de Libre Comercio firmantes de dicho Acuerdo.

Los citados productos podrán ser comercializados en España siempre y cuando no afecten a la aplicación de los artículos 36 del Tratado de la Comunidad Europea y 13 del Tratado del Espacio Económico Europeo, o a la protección imperativa de los intereses generales tales como la defensa de los consumidores, la lealtad de las transacciones comerciales o la protección del medio ambiente.

#### **Artículo 2. Definiciones y denominaciones.**

1. Malta. Son los granos de cebada sometidos a la germinación y ulterior desecación y tostados en condiciones tecnológicamente adecuadas.

2. Malta de cereales. Son los granos de otros cereales distintos de la cebada sometidos al proceso de germinación, desecación y tostado. Se designará con la denominación del cereal de procedencia.

3. Mosto de maltas. Líquidos obtenidos por tratamiento de maltas y otras materias amiláceas con agua potable para extraer los principios solubles en condiciones tecnológicamente apropiadas.

4. Extractos de malta. Productos de consistencia siruposa, obtenidos por concentración del mosto de maltas. Su contenido en materia seca no será inferior al 65 por 100 en masa con actividad diastásica manifiesta.

5. Extractos de malta en polvo. Producto obtenido como el anterior, pero concentrado hasta el mínimo del 95 por 100 en masa.

6. Concentrados de maltas. Productos de idénticas características que las del extracto de malta, pero sin actividad diastásica apreciable.

7. Maltas líquidas. Bebidas obtenidas del mosto de malta, con o sin lúpulo y conservadas por medios físicos. No contendrán alcohol.

8. Maltas espumosas. Bebidas obtenidas por adición de anhídrido carbónico a la malta líquida.

9. Cerveza. Es la bebida resultante de la fermentación alcohólica, mediante levadura seleccionada, de un mosto procedente de malta de cebada, solo o mezclado con otros productos amiláceos transformables en azúcares por digestión enzimática, adicionado con lúpulo y/o sus derivados y sometido a un proceso de cocción, conforme al apartado 10 del artículo 6.

10. Cervezas de cereales. Bebida obtenida reemplazando una parte de malta de cebada por malta de otros cereales. Llevará la denominación de «Cerveza de...» seguida del cereal o cereales de procedencia en orden decreciente de su contenido en peso.

11. Cervezas extras. Se considerarán cervezas extras aquéllas cuyo extracto seco primitivo no sea inferior al 15 por 100 en masa.

12. Cervezas especiales. Se considerarán cervezas especiales aquéllas cuyo extracto seco primitivo no sea inferior al 13 por 100 en masa.

13. Cervezas sin alcohol. Se considerará cervezas sin alcohol aquéllas cuya graduación alcohólica sea menor al 1 por 100 en volumen, incluido en dicho porcentaje la tolerancia admitida por la indicación del grado alcohólico volumétrico.

14. Cervezas de bajo contenido en alcohol. Se consideran cervezas de bajo contenido en alcohol aquéllas cuya graduación alcohólica esté comprendida entre el 1 y el 3 por 100 en volumen, incluido en dicho porcentaje la tolerancia admitida por la indicación del grado alcohólico volumétrico.

15. Cervezas negras. Se consideran cervezas negras todas aquéllas cervezas incluidas en el artículo 2, siempre y cuando las mismas superen las 50 unidades de color, medidas en escala de la European Brewery Convention (EBC).

### **Artículo 3. Requisitos industriales.**

Las fábricas de cervezas y malta líquida cumplirán, obligatoriamente, las siguientes exigencias:

1. Todos los locales destinados a elaboración, envasado y, en general, manipulación de materias primas o de productos intermedios o finales estarán debidamente separados.

2. Dispondrán de laboratorio de análisis propio o contratado, dotado con los elementos suficientes para contrastar calidades y características de las materias primas, de los productos elaborados y de los productos en curso de elaboración.

3. Los recipientes, máquinas, aparatos y tuberías de conducción destinados a estar en contacto con los productos, sus materias primas o productos intermedios durante el proceso de elaboración serán de materiales aptos para el contacto con productos alimenticios.

4. Las líneas embotelladoras estarán provistas de los dispositivos necesarios para la limpieza de los envases, que garanticen su perfecta higiene.

5. El agua utilizada en el proceso de fabricación y limpieza deberá cumplir, en todos los casos, con lo dispuesto en la Reglamentación técnico-sanitaria para el abastecimiento y control de calidad de las aguas potables de consumo público, aprobada por el Real Decreto 1138/1990, de 14 de septiembre.

6. Toda fábrica de cerveza y/o malta líquida formará un conjunto enteramente independiente de cualquier otra instalación industrial cuyos productos elaborados o semielaborados sean incompatibles con los que se elaboran, manipulan o envasan en la misma.

7. Los locales de mezclas estarán situados dentro del recinto de la fábrica, aunque separados de las salas de sacarificación y fermentación, así como de las bodegas.

#### **Artículo 4. Requisitos higiénicos-sanitarios.**

Las instalaciones industriales a que se refiere esta Reglamentación cumplirán los siguientes requisitos:

##### 1. Relativos a los locales:

a) Estarán perfectamente separados y sin comunicación directa con viviendas, cocinas o comedores.

b) Su ventilación será suficiente, por medios naturales o por otros sistemas que la garanticen.

c) Se adoptarán en ellos las medidas pertinentes para evitar la presencia de animales, así como de insectos y roedores.

d) Se evitarán humedades, salvo en locales que requieran alto grado higrométrico. También se evitarán depósitos de polvo o cualquier otra causa de insalubridad.

e) Los suelos serán impermeables y de fácil limpieza.

f) Los desagües tendrán cierres hidráulicos y estarán protegidos con rejillas o placas metálicas perforadas.

g) Los paramentos de los locales de fabricación estarán recubiertos de material lavable.

h) Las cubiertas y techos serán de fácil limpieza.

##### 2. Relativos a las instalaciones y máquinas:

a) Serán accesibles, de modo que puedan limpiarse fácilmente.

b) Se emplearán como productos de desinfección aquellos que estén expresamente autorizados.

#### 6. Relativos a los operarios:

Las personas que intervengan directamente en la elaboración y envasado de la cerveza y de la malta líquida deberán cumplir lo dispuesto en el Real Decreto 2505/1983, de 4 de agosto, por el que se aprueba el Reglamento de manipuladores de alimentos.

### **Artículo 5. Proceso de elaboración.**

1. El proceso de elaboración de la cerveza comprende cuatro fases fundamentales:

a) Preparación de la malta: los cereales serán sometidos a limpieza, remojo y germinación y, posteriormente, a desecación y tostado.

b) Obtención del mosto: de la malta previamente molida y adicionada en su caso de las materias amiláceas a que se refiere el apartado 9 del artículo 2, se obtendrá el mosto mediante un proceso de extracción por sacarificación enzimática. A continuación se clasificará mediante filtración, se agregará el lúpulo en este punto y/o en etapas posteriores y se seguirá con un proceso de cocción. Una vez extraídos los principios propios y aromáticos del lúpulo, se refrigerará el mosto.

c) Fermentación del mosto: al mosto destinado a la elaboración de la cerveza, se le adiciona levadura seleccionada, del género «sacharomyces», y se le somete a fermentación por medio de los sistemas denominados fermentación alta o fermentación baja.

d) Maduración y clarificación: la cerveza obtenida después de la fermentación será sometida a un proceso de maduración en bodega y, en su caso, a posterior clarificación.

2. Las condiciones de elaboración de la malta serán las mismas que las de la cerveza hasta que se produce la fermentación. Es decir, las materias primas, proceso de fabricación e instalaciones hasta ese momento deberán reunir iguales condiciones que las exigidas para la cerveza.

A partir de que se termine su elaboración, las condiciones de envasado también deberán ser idénticas a las exigidas para la cerveza.

#### **Artículo 6. Prácticas permitidas.**

En la elaboración y conservación de la cerveza y de la malta líquida, quedan autorizadas las prácticas siguientes:

1. La adición de agua potable para rebajar el grado alcohólico y ajustar el extracto seco primitivo en el proceso de elaboración.

El agua podrá ser también destilada, desionizada y/o desmineralizada.

Asimismo, se podrá corregir el agua de braceado siempre que conserve su potabilidad.

2. El empleo de caramelo procedente de la deshidratación de sacarosa o glucosa comerciales y de extractos obtenidos de malta torrefactada, con el fin de conseguir una coloración adecuada.

3. La filtración y la clarificación con materias inocuas.

4. La refrigeración, esterilización, pasterización, aireación, oxigenación y tratamiento por rayos infrarrojos y ultravioletas.

5. La mezcla en las fábricas de mostos y cervezas entre sí, procedentes de sus propias elaboraciones o de otras fábricas.

6. El sulfitado por métodos autorizados.

7. El empleo de levaduras seleccionadas del género «sacharomyces».

8. El empleo de anhídrido carbónico siempre que reúna las condiciones previstas en la Orden del Ministerio de Sanidad y Consumo de 16 de septiembre de 1982 («Boletín Oficial del Estado» de 9 de octubre), donde se aprueba su norma de identidad y criterios de pureza para su uso en los productos destinados a la alimentación humana.

Podrá también utilizarse cualquier otro gas inocuo, inerte o apto para uso alimentario.

9. Sustitución de las sumidades floridas de lúpulo por sus extractos y derivados.

10. Adición a la malta, de malta de cereales, granos crudos que contengan féculas, así como azúcares y féculas, siempre que la sustancia o sustancias añadidas no excedan del 50 por 100 en masa de la materia prima empleada.

11. La realización en la elaboración de cerveza destinada exclusivamente a la exportación, de todas aquellas prácticas que se consideren indispensables para el cumplimiento de la legislación de las zonas o países de destino o para satisfacer las exigencias de sus mercados, dentro de las tolerancias en ellos admitidas.

12. La refermentación de cervezas en su propio envase.

13. La utilización de aromas o esencias naturales de cerveza y de sus ingredientes autorizados.

14. La reducción del grado alcohólico por procedimientos físicos.

#### **Artículo 7. Prácticas prohibidas.**

En la elaboración, conservación, maduración, manipulación y venta de la cerveza y de la malta líquida, se prohíben la siguientes prácticas:

1. La utilización del procedimiento denominado «al amilo» para sacarificar el almidón procedente de los cereales.

2. La adición de agua y cualquier manipulación fuera de las fábricas.

3. La adición de alcohol.

4. El empleo de sucedáneos del lúpulo o de principios amargos extraños.

5. La neutralización después del proceso de fermentación.

6. El empleo de esencias y otros productos cuyo uso no está expresamente autorizado en esta Reglamentación.

7. La adición de glicerina en cantidad que exceda de 2 g por 1.000 g m/m de cerveza y, en general, de sustancias que alteren la composición normal de la cerveza.

8. La tenencia en las fábricas y en sus locales anexos de productos cuyo empleo no esté justificado.



9. El trasvase en los establecimientos de venta, almacenistas, detallistas, cafeterías, bares, tabernas y restaurantes o similares, salvo que bajo la responsabilidad de la empresa elaboradora se realice un trasvase sobre envase fijo en el establecimiento de consumo.

#### **Artículo 8. Características de la cerveza y de la malta líquida elaboradas.**

1. Se presentará límpida o ligeramente opalina, sin sedimento apreciable, a excepción de las refermentadas en su propio envase.

2. La acidez total, previa eliminación del anhídrido carbónico, expresada en ácido láctico, no será superior al 0,3 por 100.

3. El anhídrido carbónico contenido no será inferior a tres gramos por litro.

4. El contenido en glicerina no será superior a tres gramos por litro.

5. El pH comprendido entre 3,5 y 5.

6. Las cenizas no serán superiores al 0,4 por 100 en masa.

7. El contenido en metales pesados no excederá de los siguientes límites máximos:

a) Cobre, 1,0 ppm.

b) Zinc, 1,0 ppm.

c) Plomo, 0,2 ppm.

d) Arsénico, 0,1 ppm.

e) Cobalto, 50 ppb.

8. El ácido fosfórico no sobrepasará los 0,12 g por 100 g de cerveza expresado en  $P_2O_5$ .

9. Los hidratos de carbono no sobrepasarán los 7,5 por 100 g de cerveza.

#### **Artículo 9. Aditivos y coadyuvantes tecnológicos.**

En la elaboración de los productos comprendidos en el ámbito de esta Reglamentación técnico-sanitaria, podrán utilizarse los aditivos que figuran en la Resolución de 2 de diciembre de

1982 (rectificada), de la Subsecretaría de Sanidad, por la que se aprueba la lista positiva de aditivos y coadyuvantes tecnológicos para uso en la elaboración de la cerveza («Boletín Oficial del Estado» de 21 de enero de 1983).

El Ministro de Sanidad y Consumo, previo informe de la Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria, podrá modificar en cualquier momento, mediante la correspondiente Orden, las listas positivas de aditivos, en caso de que posteriores conocimientos científicos o técnicos lo aconsejen y para mantener su adecuación a la normativa de las Comunidades Europeas, siendo permanentemente revisables por razones de salud pública.

#### **Artículo 10. Cervezas y maltas líquidas no aptas para el consumo.**

Se considerarán cervezas y maltas líquidas impropias para el consumo:

1. Las que se presentan turbias o contengan un sedimento apreciable a simple vista. A excepción de las refermentadas en su propio envase.
2. Las que tengan olor, color o sabor anormales.
3. Las que por su análisis químico o examen microscópico u organoléptico acusen alteración.
4. Las adulteradas o que, en general, hayan sido objeto en su elaboración de una práctica no autorizada.

#### **Artículo 11. Envasado.**

Los productos sujetos a la presente Reglamentación se expendrán siempre en envases elaborados con materiales autorizados para estar en contacto con los alimentos.

#### **Artículo 12. Etiquetado.**

El etiquetado de los productos, a que se refiere esta Reglamentación, deberá cumplir lo dispuesto en el Real Decreto 212/1992, de 6 de marzo, por el que se aprueba la Norma general de etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios, con las siguientes particularidades:

1. Las denominaciones de venta de los productos serán las establecidas en el artículo 2 de la presente Reglamentación técnico-sanitaria. En el caso de cervezas refermentadas en su propio envase, se indicará en la denominación dichas características.

2. Lista de ingredientes: las cervezas con una graduación alcohólica en volumen inferior o igual al 1,2 por 100, y la malta líquida, deberán incluir todos sus ingredientes.

3. Marcado de fechas: se incluirá la fecha de duración mínima para los productos con una graduación alcohólica en volumen inferior al 10 por 100.

4. Grado alcohólico: en los envases que contengan cervezas con un grado alcohólico en volumen superior al 1,2 por 100, se indicará el grado alcohólico volumétrico adquirido.

Las tolerancias admitidas para la indicación del grado alcohólico volumétrico serán las que figuran en el Real Decreto 1045/1990, de 27 de julio, por el que se regula las tolerancias admitidas para la indicación del grado alcohólico volumétrico en el etiquetado de las bebidas alcohólicas destinadas al consumidor final.

### **Artículo 13. Venta de cerveza de barril al consumidor final.**

En el despacho de los productos de barril se observarán las siguientes reglas:

1. Los barriles estarán en sitio higiénico y asequible y se unirán a la fuente de suministro por tuberías y sistemas continuos cerrados de materiales inocuos.

2. La presión se logrará con anhídrido carbónico u otro gas, o mezcla de gases inocuos e inertes, aptos para uso alimentario.

3. No se permitirá aprovechar el producto para llenar otros recipientes ni el sobrante de los vasos de consumo, quedando prohibida la instalación de recipientes para recoger el excedente.

4. No se permitirá el relleno de barriles.

### **Artículo 14. Exportación.**

Los productos contemplados en esta Reglamentación, que se elaboren con destino exclusivo para su exportación y no cumplan lo establecido en esta disposición, llevarán impresa en su embalaje en caracteres bien visibles la palabra EXPORT. Además, su etiqueta deberá llevar la

palabra EXPORT, o cualquier otro signo que reglamentariamente se indique y que permita identificar inequívocamente, para evitar que el producto sea comercializado y consumido en España.

#### **Artículo 15. Métodos analíticos.**

Los métodos oficiales de análisis serán los aprobados por la Orden ministerial de 15 de octubre de 1985, por la que se aprueban los Métodos oficiales de análisis de la cerveza («Boletín Oficial del Estado» del 23).

Cuando no existan métodos oficiales para determinados análisis, y hasta tanto los mismos no sean propuestos por el organismo competente y previamente informados por la Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria, y publicados en el «Boletín Oficial del Estado», podrán ser utilizados los recomendados por la European Brewery Convention (EBC) y la American Society of Brewing Chemists (ASBC) o, en su defecto, los aprobados por los organismos nacionales e internacionales de reconocida solvencia.

En la determinación del extracto seco primitivo se admitirá una tolerancia de 0,3 unidades, en el porcentaje calculado para la cerveza extra, y de 0,2 unidades, para las demás.

#### **Artículo 16. Responsabilidades y régimen sancionador.**

Las responsabilidades, así como las sanciones a imponer por las infracciones que se cometieran, estarán sometidas a lo dispuesto en el Real Decreto 1945/1983, de 22 de junio, por el que se regula las infracciones y sanciones en materia de defensa del consumidor y de la producción agroalimentaria; a la Ley 14/1986, de 25 de abril, General de Sanidad, y a la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, de Régimen Jurídico de las Administraciones Públicas y Procedimiento Administrativo Común.

**Anexo 5: Contenidos máximos en Suiza para metales****CONTENIDOS MAXIMOS EN SUIZA PARA METALES Y METALOIDES****ALUMINIO**

PRODUCTO	Valor de tolerancia	Valor límite	Observaciones
	(mg/Kg)	(mg/Kg)	
Artículos de panadería o de galletería a la salmuera	15		
Cervezas	2		
Cervezas sin alcohol	2		

**ARSENICO**

PRODUCTO	Valor de tolerancia	Valor límite	Observaciones
	(mg/Kg)	(mg/Kg)	
Sal alimentaria		1	
Sidras sin alcohol		0,2	
Zumos de frutas, zumos de frutas diluidos, néctares de frutas y jarabes de frutas		0,2	

PRODUCTO	Valor de tolerancia (mg/Kg)	Valor límite (mg/Kg)	Observaciones
Vermuts y bitter sin alcohol		<b>0,2</b>	
Vinos		<b>0,2</b>	
Bebidas sin alcohol		<b>0,1</b>	
Grasa y aceites comestibles		<b>0,1</b>	
Margarinas		<b>0,1</b>	
Minarinas		<b>0,1</b>	
Agua potable		<b>0,05</b>	

## BORO

PRODUCTO	Valor de tolerancia (mg/Kg)	Valor límite (mg/Kg)	Observaciones
Vinos	<b>80</b>		Calculado como ácido bórico

## CADMIO

PRODUCTO	Valor de tolerancia (mg/Kg)	Valor límite (mg/Kg)	Observaciones
Moluscos	<b>0,5</b>	<b>2</b>	
Semillas oleaginosas	<b>0,8</b>	<b>1,6</b>	Salvo cacahuete y semillas oleaginosas utilizadas para obtención de aceites vegetales
Crustáceos	<b>0,3</b>	<b>1</b>	

Sal alimentaria		<b>0,5</b>	
Trigo	<b>0,1</b>	<b>0,3</b>	en granos
Cebada	<b>0,1</b>	<b>0,3</b>	en granos
Pescados	<b>0,1</b>	<b>0,3</b>	
Arroz	<b>0,1</b>	<b>0,3</b>	en granos
Centeno	<b>0,1</b>	<b>0,3</b>	en granos
Sidras sin alcohol		<b>0,03</b>	
Zumos de frutas, zumos de frutas diluidos, néctares de frutas y jarabes de frutas		<b>0,03</b>	
Vermuts y bitter sin alcohol		<b>0,03</b>	
Bebidas sin alcohol		<b>0,01</b>	
Vinos		<b>0,01</b>	
Agua potable		<b>0,005</b>	
Setas no silvestres	<b>5</b>		expresado sobre materia seca
Champiñón de cultivo	<b>0,5</b>		expresado sobre materia seca
Cacahuetes	<b>0,2</b>		Sin los tegumentos, salvo los cacahuetes utilizados para obtención de aceites vegetales
Apionabo	<b>0,2</b>		
Espinacas	<b>0,2</b>		
Hortalizas	<b>0,1</b>		Salvo apionabo, espinacas, achicorias (todas las especies), bulbos,

		hortalizas de fruto, leguminosas
Bayas	<b>0,05</b>	



PRODUCTO	Valor de tolerancia (mg/Kg)	Valor límite (mg/Kg)	Observaciones
Frutas de hueso	<b>0,05</b>		
Frutas de pepita	<b>0,05</b>		
Vinagre de fermentación y ácido acético comestible	<b>0,02</b>		

### COBALTO

PRODUCTO	Valor de tolerancia (mg/Kg)	Valor límite (mg/Kg)	Observaciones
Cervezas		<b>0,2</b>	
Cervezas sin alcohol		<b>0,2</b>	

### COBRE

PRODUCTO	Valor de tolerancia (mg/Kg)	Valor límite (mg/Kg)	Observaciones
Bebidas espirituosas	<b>25</b>		Suma de cobre, hierro y zinc en mg/l expresado sobre alcohol al 100

			%
Vino sin fermentar	<b>5</b>		
Sidras sin alcohol	<b>5</b>		
Zumos de frutas, zumos de frutas diluidos, néctares de frutas y jarabes de frutas	<b>5</b>		
Vermuts y bitter sin alcohol	<b>5</b>		
Bebidas sin alcohol	<b>2</b>		
Sal alimentaria	<b>2</b>		
Agua potable	<b>1,5</b>		
Vinos	<b>1</b>		
Cervezas	<b>0,2</b>		
Cervezas sin alcohol	<b>0,2</b>		
Grasas y aceites comestibles	<b>0,1</b>		
Margarinas	<b>0,1</b>		
Minarinas	<b>0,1</b>		

## ESTAÑO

<b>PRODUCTO</b>	<b>Valor de tolerancia (mg/Kg)</b>	<b>Valor límite (mg/Kg)</b>	<b>Observaciones</b>
Bebidas sin alcohol		<b>150</b>	En botes de conserva que

			ceden estaño
Sidras sin alcohol		<b>150</b>	En botes de conserva que ceden estaño
Zumos de frutas, zumos de frutas díluidos, néctares de frutas y jarabes de frutas		<b>150</b>	En botes de conserva que ceden estaño

PRODUCTO	Valor de tolerancia (mg/Kg )	Valor límite (mg/Kg )	Observaciones
Vermuts y bitter sin alcohol		<b>150</b>	En botes de conserva que ceden estaño
Bayas	<b>150</b>		En botes de conserva que ceden estaño
Setas	<b>150</b>		En botes de conserva que ceden estaño
Frutas de hueso	<b>150</b>		En botes de conserva que ceden estaño
Frutas de pepita	<b>150</b>		En botes de conserva que ceden estaño
Hortalizas	<b>150</b>		En botes de conserva que ceden estaño
Bebidas sin alcohol	<b>50</b>		Salvo cervezas sin alcohol

Sidras sin alcohol	<b>50</b>		
Zumos de frutas, zumos de frutas diluidos, néctares de frutas y jarabes de frutas	<b>50</b>		
Vermuts y bitter sin alcohol	<b>50</b>		
Cervezas	<b>0,1</b>		
Cervezas sin alcohol	<b>0,1</b>		

## HIERRO

PRODUCTO	Valor de tolerancia (mg/Kg)	Valor límite (mg/Kg)	Observaciones
Bebidas espirituosas	<b>25</b>		Suma de cobre, hierro y zinc en mg/l expresado sobre alcohol al 100%
Agua potable	<b>0,3</b>		Total

## MANGANES

O

PRODUCTO	Valor de tolerancia (mg/Kg)	Valor límite (mg/Kg)	Observaciones
Agua potable	<b>0,05</b>		Total

## MERCURIO

	Valor de	Valor	
--	----------	-------	--

<b>PRODUCTO</b>	<b>tolerancia (mg/Kg)</b>	<b>límite (mg/Kg)</b>	<b>Observaciones</b>
Anguila, fletán, raya, salmón del Atlántico,  Atún	<b>0,5</b>	<b>1</b>	
Otros pescados	<b>0,2</b>	<b>0,5</b>	
Crustáceos	<b>0,2</b>	<b>0,5</b>	
Moluscos	<b>0,2</b>	<b>0,5</b>	
Sal alimentaria		<b>0,1</b>	
Sidras sin alcohol		<b>0,01</b>	
Zumos de frutas, zumos de frutas diluidos,		<b>0,01</b>	

PRODUCTO	Valor de tolerancia (mg/Kg)	Valor límite (mg/Kg)	Observaciones
néctares de frutas y jarabes de frutas			
Vermuts y bitter sin alcohol		<b>0,01</b>	
Bebidas sin alcohol		<b>0,005</b>	
Agua potable		<b>0,001</b>	
Setas no silvestres	<b>0,5</b>		Expresado sobre materia seca

## NIQUEL

PRODUCTO	Valor de tolerancia (mg/Kg)	Valor límite (mg/Kg)	Observaciones
Grasas comestibles	<b>0,2</b>		Catalizador de hidrógeno
Margarinas	<b>0,2</b>		Catalizador de hidrógeno
Minarinas	<b>0,2</b>		Catalizador de hidrógeno
Cervezas	<b>0,1</b>		
Cervezas sin alcohol	<b>0,1</b>		

## PLATA

PRODUCT	Valor de tolerancia	Valor límite	Observacione
---------	---------------------	--------------	--------------

<b>O</b>	<b>(mg/Kg)</b>	<b>(mg/Kg)</b>	<b>s</b>
Aguas potables	<b>0,1</b>		

## PLOMO

<b>PRODUCTO</b>	<b>Valor de tolerancia (mg/Kg)</b>	<b>Valor límite (mg/Kg)</b>	<b>Observaciones</b>
Moluscos bivalvos	<b>0,8</b>	<b>2</b>	
Sal alimentaria		<b>2</b>	
Crustáceos	<b>0,5</b>	<b>1</b>	
Moluscos	<b>0,5</b>	<b>1</b>	Salvo moluscos bivalvos
Pescados	<b>0,5</b>	<b>1</b>	
Sidras sin alcohol		<b>0,2</b>	
Zumos de frutas, zumos de frutas diluidos, néctares de frutas y jarabes de frutas		<b>0,2</b>	
Vermuts y bitter sin alcohol		<b>0,2</b>	
Vinos		<b>0,2</b>	Valor límite de 0,3 mg/Kg válido para las cosechas hasta 1997
Bebidas sin alcohol		<b>0,1</b>	
Grasas y aceites comestibles		<b>0,1</b>	



Margarinas		<b>0,1</b>	
Minarinas		<b>0,1</b>	
Aguas potables		<b>0,01</b>	Agua de grifo después de dejarla correr 5 minutos
Setas no silvestres	<b>1</b>		Expresado sobre materia seca
Cítricos	<b>0,5</b>		En botes de conserva que ceden

PRODUCTO	Valor de tolerancia (mg/Kg)	Valor límite (mg/Kg)	Observaciones
			plomo, producto escurrido
Otras frutas exóticas	<b>0,5</b>		En botes de conserva que ceden  plomo, producto escurrido
Bayas	<b>0,5</b>		En botes de conserva que ceden  plomo, producto escurrido
Setas	<b>0,5</b>		En botes de conserva que ceden  plomo, producto escurrido
Hierbas aromáticas	<b>0,5</b>		
Frutas de hueso	<b>0,5</b>		En botes de conserva que ceden  plomo, producto escurrido
Frutas de pepita	<b>0,5</b>		En botes de conserva que ceden  plomo, producto escurrido
Hortalizas	<b>0,5</b>		En botes de conserva que ceden  plomo, producto escurrido

Trigo	<b>0,3</b>		en granos
Cebada	<b>0,3</b>		en granos
Arroz	<b>0,3</b>		en granos
Centeno	<b>0,3</b>		en granos
Bayas	<b>0,2</b>		
Frutas de hueso	<b>0,2</b>		
Frutas de pepita	<b>0,2</b>		
Hortalizas	<b>0,2</b>		Salvo achicorias (todas las especies), bulbos, hortalizas de hoja, leguminosas
Vinagre de fermentación y ácido acético comestible	<b>0,2</b>		

## SELENIO

PRODUCTO	Valor de tolerancia (mg/Kg)	Valor límite (mg/Kg)	Observaciones
Agua potable		<b>0,01</b>	

## SODIO

PRODUCTO	Valor de tolerancia (mg/Kg)	Valor límite (mg/Kg)	Observaciones
Vinos	<b>60</b>		Sodio excedentario, no ligado al

cloruro

**TALIO**

<b>PRODUCTO</b>	<b>Valor de tolerancia (mg/Kg)</b>	<b>Valor límite (mg/Kg)</b>	<b>Observaciones</b>
Bayas	<b>0,1</b>		
Frutas de hueso	<b>0,1</b>		
Frutas de pepita	<b>0,1</b>		
Hortalizas	<b>0,1</b>		

**ZINC**

<b>PRODUCTO</b>	<b>Valor de tolerancia (mg/Kg)</b>	<b>Valor límite (mg/Kg)</b>	<b>Observaciones</b>
Bebidas espirituosas	<b>25</b>		Suma de cobre, hierro y zinc en mg/l, expresado en alcohol al 100%
Agua potable	<b>5</b>		
Sidras sin alcohol	<b>5</b>		
Zumos de frutas, zumos de frutas diluidos, néctares de frutas y jarabes de frutas	<b>5</b>		
Vermuts y bitter sin alcohol	<b>5</b>		
Vinos	<b>5</b>		
Bebidas sin alcohol	<b>5</b>		

## Anexo 6: Estudio preliminar sobre la determinación de elementos traza en cervezas venezolanas por ICP-OES

### INTRODUCCIÓN

La importancia de la presencia de metales disueltos en cerveza puede abarcar diferentes aspectos: i) como influyente en la preparación industrial de la misma.<sup>1</sup> Por ejemplo, niveles altos de cobre y cinc pueden interferir negativamente retardando el proceso de producción,<sup>2</sup> y se ha referido que el hierro acelera el deterioro de la cerveza.<sup>3</sup> ii) En el aspecto toxicológico, por la posible presencia de ciertos elementos como el Al, Cd, Pb, Hg, los cuales el organismo humano no puede regular.<sup>4</sup> iii) En el aspecto nutricional, por la presencia de ciertos elementos referidos como esenciales u oligoelementos tales como Cr, Fe, Mn, Cu, Zn, etc.<sup>5,6</sup> Estos dos últimos aspectos pueden tener importancia en Venezuela, país que está entre los mayores consumidores de cerveza en el mundo,<sup>7</sup> siendo el mayor en toda América tal como se refiere en la [Tabla 1](#).

**Tabla 1.** Mayores consumidores de cerveza (litros *per cápita*, 2005)

1	República Checa	160.5
2	Irlanda	127.4
3	Alemania	109.9
4	Austria	105.8
5	Bélgica	98.6
6	Reino Unido	95.7
7	Dinamarca	92.5
8	Eslovenia	92.4
9	Australia	87.8
10	Venezuela	83.3
11	Estados Unidos	82.8
12	España	82.1
13	Finlandia	81.7
14	Hungría	80.1
15	Nueva Zelanda	77.3

Desde que Schwarz y Merzt probaron que la presencia de cromo es esencial en el cuerpo humano para el metabolismo de la glucosa,<sup>8</sup> se ha demostrado que la deficiencia de ese elemento puede ser prevenida por una ingesta apropiada del mismo.<sup>9</sup> El cromo es escaso en la mayoría de los alimentos, siendo la levadura una de las fuentes más ricas en este elemento.<sup>10</sup> Probablemente el cromo ingresa en la cerveza a través de las materias primas, especialmente de la levadura, y posiblemente también por liberación de cromo de los tanques y tuberías de acero inoxidable durante el proceso de fabricación. La asimilación de cromo por medio de la ingesta moderada de cerveza podría considerarse positiva desde el punto de vista nutricional.<sup>11</sup> De hecho, en la revista *Brauwelt*, especializada en cerveza, los beneficios fisiológicos de la misma como bebida luego de la realización de alguna competencia deportiva exhaustiva ha sido reportado.<sup>6</sup>

Se han usado varias técnicas analíticas para determinar cuantitativamente la presencia de elementos importantes en la cerveza, tanto desde los puntos de vista industrial, nutricional y toxicológico.<sup>12-22</sup> La técnica analítica utilizada en el presente trabajo es la espectrometría de emisión atómica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES), la cual permite una precisa determinación de un buen número de elementos con la ventaja de poder realizar análisis simultáneo secuencial, con límites de detección especialmente favorables para elementos refractarios (hasta 1000 veces más bajos que con espectrometría de absorción atómica con llama, FAAS), con interferencias no espectrales pequeñas, y con un rango lineal amplio. Sus principales desventajas son el alto costo de los equipos, el alto ruido de fondo, y las interferencias ocasionadas por las bandas de grupos hidroxilo.

El objetivo de este trabajo es el uso de la técnica ICP-OES para determinar elementos traza nutricionales (Cr, Cu, Fe, Mn, Zn) en cervezas venezolanas, con un énfasis especial en la consideración de este producto como una fuente nutricional de cromo; determinando simultáneamente también otros elementos nutricionales (Ca, K, Mg, Na, P), así como también la posible presencia de elementos potencialmente tóxicos.

## **PARTE EXPERIMENTAL**

### **Aparatos**

Fue usado un espectrómetro simultáneo ICP, marca Perkin-Elmer, modelo OPTIMA 3000, de la Perkin Elmer Corporation, Norwalk, U.S.A.. Para la desgasificación de las cervezas, se utilizó un baño de ultrasonido, marca Cole Palmer modelo 8851 de la compañía Cole Palmer Instrument Company, Chicago, U.S.A..

### **Reactivos**

En este estudio se usó agua ultrapura (18 M $\Omega$ cm) obtenida de un equipo desionizador marca Millipore modelo Milli-Q de la compañía Millipore Corporation, Billerica, U.S.A.. Los patrones usados para la cuantificación fueron preparados por dilución de las soluciones multielementales: 11355 ICP *multi element standard IV* de la Merck, Darmstadt, Alemania, y de N930-218 *multielement atomic spectroscopy standard*, de la Perkin Elmer Corporation, Norwalk, U.S.A.

La incorporación del lantano como patrón interno a muestras y estándares se realizó mediante dilución de la solución de 1 g/L de lantano de la Aldrich Company Inc., Milwaukee, U.S.A..

### **Muestras**

Se utilizaron un total de 10 cervezas, de las cuales 4 estaban enlatadas y el resto en botellas de vidrio; del total 9 eran cervezas rubias tipo Pilsen y 1 denominada ("Cerveza E") era negra. Ocho cervezas eran producidas en Venezuela y 2 eran importadas procedentes de Holanda ("Cerveza D Lata" y "Cerveza D Botella"). Del total de cervezas, 2 estaban contenidas en botellas retornables ("Cerveza B Botella" y "Cerveza F Botella"). Los envases de las cervezas restantes eran desechables. Todas las muestras fueron adquiridas en establecimientos comerciales. Cervezas de la misma marca y tipo pero con diferentes envases están referidas con la misma letra (A, B, etc).

### **Preparación de las muestras para el análisis**



Las cervezas fueron desgasificadas por ultrasonido, para evitar inestabilidad en el plasma, e introducidas directamente en el espectrómetro de ICP. Se trabajó con 5 réplicas de cada muestra.

### **Procedimiento del análisis**

Una vez desgasificadas las cervezas, las mismas (un total de 10) fueron introducidas en el espectrómetro y los elementos fueron determinados cuantitativamente, en forma simultánea por ICP-OES. Los elementos mayoritarios fueron: potasio, calcio, magnesio, fósforo y sodio y los elementos trazas: aluminio, cromo, cobre, hierro, manganeso y cinc. Estos elementos fueron medidos en las longitudes de onda mostradas en la Tabla 2. Pruebas preliminares con el patrón multielemental permitieron verificar que los elementos tóxicos (Cd, Pb y Hg) estaban debajo de los límites de detección (LD) de la técnica en dichas muestras (LD de Cd, Pb y Hg: 1,8; 39,0 y 3,8  $\mu\text{g/L}$  respectivamente).

**Tabla 2.** Condiciones instrumentales y longitudes de onda ( $\lambda$ ) utilizadas

Parámetro	Valor
Potencia	1300 Watts
Flujo del nebulizador	0.5 L/min
Flujo del plasma	15 L/min
Flujo auxiliar	2.0 L/min
Velocidad de bomba	1.0 mL/min
Altura de observación	15 mm
Corrección de fondo	Manual
Tipo de nebulizador	Meinhard
Elemento	$\lambda$ (nm)
Al	396.152
Ca	396.847
Cr	206.149
Cu	324.754
Fe	238.204
Mn	260.569
Zn	213.856
Mg	279.079
Na	589.592
K	766.491
P	213.618
La	379.478

Para la cuantificación se aplicó el método de calibración externa con estandarización interna para compensar la influencia del etanol. El estándar interno usado fue el lantano, agregado a igual concentración a patrones acuosos y muestras (1,00 mg/L).

El rango de patrones utilizado para los elementos mayoritarios (Ca, Mg, P, Na, K) fue: 0-200 ppm (mg/L) y para los trazas: 0-300 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ).

Se optimizaron automáticamente las condiciones de trabajo del equipo (potencia, flujo del nebulizador y altura de observación) con una rutina del software del equipo (*Directed Search algorithm*). En la [Tabla 2](#) se resumen las condiciones de trabajo de este análisis.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de las concentraciones de los elementos analizados en las cervezas son mostrados en la Tabla 3. Los errores en los valores de las 5 medidas de cada muestra fueron siempre menores al 5%. Estos resultados no muestran relación uniforme ni con el tipo de envase (vidrio retornable, vidrio desechable o lata), ni con el tipo o procedencia de cerveza (Pilsen o negra, nacional o importada). En el caso del cromo, el valor promedio de concentración ( $33 \mu\text{g/L}$ , Tabla 3), es más alto que el reportado por Anderson y Bryden,<sup>11</sup> para cervezas de EE.UU. ( $10 \mu\text{g/L}$ ), pero más bajo que el reportado para cervezas brasileñas ( $66 \mu\text{g/L}$ ) por Matsushige y De Oliveira.<sup>16</sup>

Los valores de hierro (rango 10 hasta  $36 \mu\text{g/L}$ ) y cobre ( $10$  hasta  $36 \mu\text{g/L}$ ), fueron aceptables comparándolos con niveles máximos permisibles de  $200 \mu\text{g/L}$  de cada metal encontrados en la literatura.<sup>13</sup>

Aunque se ha mencionado en la literatura,<sup>23</sup> la posible contaminación de ciertos cationes como el sodio por parte de residuos de los detergentes (hidróxido de sodio) usados en la etapa de limpieza de los envases retornables, se puede observar que, tomando el ejemplo de una cerveza enlatada y una embotellada retornable de la misma marca ( "Cerveza B Lata" y " Cerveza B Botella", Tabla 3), la concentración de sodio no difiere en forma importante entre estos dos tipos de muestra, por lo que se puede inferir que en este caso los agentes limpiantes no han dejado huella apreciable en estas muestras.

En cuanto al posible riesgo de consumo de algún elemento tóxico (como podría ser el aluminio), se puede generalizar, observando los resultados de los microelementos (Tabla 3), que el riesgo de absorción de elementos tóxicos ingiriendo cerveza puede ser similar o menor que al consumir agua potable. En efecto, una muestra de agua tomada de un bebedero público fue analizada obteniéndose valores de:  $\text{Al}=152 \mu\text{g/L}$ ,  $\text{Cu}=56 \mu\text{g/L}$ ,  $\text{Fe}=130 \mu\text{g/L}$ ,  $\text{Mn}=101 \mu\text{g/L}$ ,  $\text{Zn}=1526 \mu\text{g/L}$ ,  $\text{Cr} < 10 \mu\text{g/L}$ . El alto contenido de Zn en esta muestra se debe probablemente a las tuberías galvanizadas que normalmente se usan en las conexiones de las aguas servidas. Por otra parte, una muestra de agua

mineral comercial, embotellada en plástico, tenía un contenido de Al= 4 µg/L, Zn=52 µg/L, y trazas menores de 10 µg/L para los demás oligoelementos.

Cabe destacar el relativo alto contenido de Al en solo una de las cervezas analizadas: 225 µg/L (muestra D en lata, importada de Holanda), lo cual puede ser debido a la disolución del aluminio de la lata por parte de la cerveza, debido a defectos en la capa plástica de recubrimiento interior que llevan las latas de aluminio, o a condiciones extremas (elevada temperatura y agitación) durante el transporte y almacenamiento.

Conociendo el consumo *per cápita* promedio diario de cerveza en Venezuela (Tabla 1), el valor promedio de concentración de cromo en las muestras analizadas (33 µg/L), y el requerimiento de cromo mínimo recomendado por día para un adulto, 0.12 mg, puede tenerse una idea del porcentaje de ese requerimiento que aportaría el consumo *per cápita* de cerveza. Este aporte (6.3%, Tabla 4) resulta similar al valor reportado por Robberecht *et al.* para el caso de Bélgica (5%).<sup>10</sup> Cabe resaltar en la Tabla 4 que, con la excepción del cromo, la cerveza no aporta nutricionalmente un porcentaje importante de los demás elementos traza analizados, pero si puede aportar cantidades importantes de algunos de los otros elementos nutrientes (K, Mg, y P).

**Tabla 4.** Aporte nutricional de la cerveza en Venezuela

Elemento	Concentración <sup>a</sup> mg/L	Aporte de Cerveza <sup>b</sup> mg/día.persona	RDA <sup>c</sup> mg/día persona	% Aporte <sup>d</sup> (promedio)
Cr	0.033	0.0076	0.12	6.3
Cu	0.023	0.0053	2	0.3
Fe	0.024	0.0055	10	0.0
Mn	0.069	0.0159	2	0.8
Zn	0.039	0.0090	15	0.1
Ca	23	5.3	1600	0.3
K	313	72.0	4000	1.8
Mg	55	12.6	400	3.2
P	91	20.9	1000	2.1

<sup>a</sup>Concentraciones promedio obtenidas en este trabajo. <sup>b</sup>Cantidad que aporta la cerveza en base al consumo diario per cápita en Venezuela (0.23 L/día.persona, calculado de la Tabla 1). <sup>c</sup>Mínima cantidad diaria recomendada por el Instituto Nacional de Nutrición, Venezuela. <sup>d</sup>Porcentaje del RDA (*Recommend Daily Allowance*) aportado por la cerveza en Venezuela (Nota: este valor debe ser mucho mayor si se refiere solo a la población que realmente consume cerveza, la cual debe ser una pequeña fracción de la población total).

Es importante resaltar que el valor real de esos porcentajes calculados deben ser considerablemente mayores, teniendo en cuenta que el valor *per cápita* toma en cuenta a toda la población, y sólo una fracción de ésta es la que realmente consume cerveza.

## CONCLUSIONES

La determinación en forma simultánea de los niveles de varios elementos químicos en 10 diferentes cervezas del mercado venezolano por ICP-OES demuestra que, con excepción del cromo, la cerveza no aporta cantidades importantes de oligoelementos nutrientes. El porcentaje del requerimiento dietético recomendado (*RDA* en inglés) de cromo por el consumo de cerveza en Venezuela es similar al reportado para Bélgica. En cuanto a elementos tóxicos, los resultados sugieren que la probabilidad de encontrar

aluminio disuelto en la cerveza es mayor en envases de aluminio que en envases de vidrio.