

CERVEZA DE BAJO ALCOHOL CON SABOR A MOSTO REDUCIDO

La presente invención se refiere a un éster con propiedades de enmascaramiento del sabor a mosto particularmente buenas, que se ha hallado es un contribuyente importante al sabor de la cerveza.

5 Antecedentes.

La cerveza es una de las bebidas alcohólicas más populares en todo el mundo. Se prepara por fermentación de una matriz acuosa que contiene azúcares derivada de granos, usando levadura, que convierte los azúcares en etanol ("alcohol"). El proceso de producción de cerveza es generalmente conocido. La
10 cerveza se hace comúnmente a partir de cereales como la cebada, aunque también se pueden usar otros tipos de cereales tales como trigo o sorgo. La cerveza se produce comúnmente mediante un proceso que comprende los siguientes pasos básicos: macerar una mezcla de granos y agua para producir un puré; separar el puré en mosto y grano agotado; hervir el mosto para producir un mosto hervido;
15 fermentar el mosto hervido con levaduras vivas (tales como *Saccharomyces pastorianus* o *Saccharomyces cerevisiae*) para producir un mosto fermentado; someter el mosto fermentado a uno o más pasos adicionales del proceso (por ejemplo, maduración y filtración) para producir cerveza; y envasar la cerveza en un recipiente sellado, por ejemplo, una botella, lata o un barril.

20 En un proceso ejemplar para producir una cerveza de malta de cebada, la cebada se maltea, lo que significa que se germina y posteriormente se seca ("horneado"), para producir malta. Este proceso es importante para la formación de compuestos de sabor y color, y la formación de enzimas que son importantes para un mayor desarrollo del sabor y la degradación del almidón. Posteriormente, la
25 malta se muele y se suspende en agua ("maceración"). El puré se calienta para facilitar la degradación del almidón. La filtración posterior produce mosto, que es una solución acuosa más o menos clarificada de azúcares fermentables, que

234.007

también contiene diversos sabores y aromas y muchos otros compuestos. En el mosto, están presentes tanto compuestos de sabor y aroma deseables como indeseables. Un sabor excesivo a "mosto", que proviene de una presencia excesiva de aldehídos, generalmente se considera indeseable.

5 El mosto se hierve para esterilizarlo, precipitar proteínas y concentrarlo. Opcionalmente se agrega lúpulo, para agregar amargor y sabor. Esta mezcla, después de la eliminación del precipitado, se somete a fermentación. La fermentación produce la conversión de azúcares fermentables en etanol y dióxido de carbono, y además, produce la formación de diversos nuevos compuestos de
10 sabor, entre los que se encuentran los ésteres. Al mismo tiempo, la fermentación de la cerveza elimina la mayoría de los aldehídos, de modo de evitar un sabor excesivo a mosto de la cerveza resultante. Después de la fermentación, la cerveza puede filtrarse y/o almacenarse, a fin de optimizar la apariencia y el sabor.

Las cuestiones relacionadas con la salud y la mayor conciencia de la
15 seguridad vial asociada con el contenido de alcohol de la cerveza han aumentado el interés en la cerveza con un contenido bajo, o incluso cero, de alcohol. En la actualidad, existen dos técnicas principales para la preparación de cerveza que tiene un contenido bajo o cero de alcohol: la desalcoholización de la cerveza regular (que contiene alcohol), y la preparación de cerveza por un proceso que limita la
20 formación de alcohol mediante una fermentación adaptada ("fermentación alcohólica restringida").

La desalcoholización de la cerveza se realiza en cerveza elaborada regularmente, y está diseñada para eliminar el etanol, pero lo menos posible otros componentes de sabor. La desalcoholización se puede lograr mediante, por
25 ejemplo, la rectificación, la ósmosis inversa o la diálisis de la cerveza regular. Sin embargo, es un desafío evitar la privación de sabor luego de la desalcoholización de la cerveza. En consecuencia, una desventaja de la cerveza desalcoholizada es

el sabor llano, que puede corregirse mediante la adición de compuestos de sabor (sabor y olor) a fin de obtener una cerveza aceptable. Sin embargo, como el sabor es complejo debido a la gran diversidad de compuestos que juntos son responsables de impartir sabor, la cerveza desalcoholizada y posteriormente
5 saborizada generalmente se considera menos agradable en términos de sabor, que el sabor de la cerveza regular.

La cerveza con bajo o cero alcohol también se puede preparar por fermentación de alcohol restringida. La fermentación restringida de alcohol es un proceso mediante el cual el mosto se fermenta en condiciones en las que hay poca
10 o ninguna formación de etanol (o por lo menos, donde el proceso de fermentación completo produce poca o ninguna formación de alcohol neto).

Un proceso importante es la fermentación por contacto frío. Cuando el mosto se fermenta a baja temperatura, la levadura apenas produce alcohol, aunque sí produce algunos componentes de sabor, como los ésteres, aún cuando las
15 cantidades por éster pueden diferir de las cantidades obtenidas a partir de la fermentación regular. Por lo tanto, la corrección de sabor mediante la adición de sabores y aromas es generalmente necesaria también para la cerveza de fermentación restringida. Dichas cervezas asimismo se consideran generalmente menos agradables en términos de sabor, que la cerveza regular.

20 Las cervezas existentes de bajo o cero alcohol generalmente sufren de falta de potabilidad. La mayoría de las personas se saturan con el sabor después de solo uno o dos vasos, lo que contrasta con el consumo de la cerveza regular que contiene alcohol. La saturación de sabor y la falta resultante de potabilidad generalmente son provocadas por un sabor abrumador, causado por sabores de
25 mosto excesivamente intensos debido a los altos niveles de aldehídos, y al dulzor demasiado alto. La presente invención proporciona una cerveza que supera estas desventajas.

Síntesis de la invención.

La presente invención divulga una cerveza que tiene un contenido de etanol de 0–1,0% en volumen, que comprende por lo menos 0,001 µg/l de etil–2–metilpentanoato (EMP). Se ha encontrado que EMP es un contribuyente importante al sabor de la cerveza. EMP es eficaz para enmascarar el sabor del mosto y, por lo tanto, suprime el sabor del mosto. Esto es importante, en particular, en la cerveza de bajo o cero alcohol, porque dichas cervezas generalmente tienen sabor a mosto debido al aumento de la presencia de aldehídos, en relación con la cerveza elaborada regularmente. Además, la cerveza generalmente se considera menos espesa y más refrescante. Por esta razón, la presente cerveza se considera más potable que las cervezas comerciales cero alcohol existentes.

Descripción detallada.

En el presente contexto, la cerveza debe entenderse en un sentido amplio, es decir, la cerveza puede referirse a cualquier tipo de cerveza, incluidas, sin limitación, cerveza ale, porter, stout, lager y bock. La cerveza es preferentemente una cerveza a base de malta, es decir, una cerveza preparada a partir de la fermentación de mosto preparado a partir de (entre otros) malta. Preferentemente, la cerveza es cerveza lager, que es una cerveza obtenida por fermentación a 7–15°C usando una levadura de fermentación inferior, y el posterior prensado a baja temperatura. La cerveza lager incluye, por ejemplo, pilsner. Más preferentemente, una cerveza como se describe en el presente documento es una pilsner. Una pilsner es una cerveza lager pálida. Es un propósito de la invención proporcionar una cerveza de cero o bajo alcohol que tenga el sabor y la potabilidad de una cerveza regular.

En el presente texto, "cerveza con cero o bajo alcohol" es una cerveza que tiene un contenido de etanol de 1,0% en volumen ("ABV") o menos, preferentemente 0,5% en volumen o menos, más preferentemente 0,2% en

volumen o menos. Dichas cervezas se denominarán también cerveza NA (sin alcohol, conforme a sus siglas en inglés). Por lo tanto, la cerveza NA es una cerveza que tiene un contenido de etanol de 0–1,0% en volumen, tal como, preferentemente, 0–0,5% en volumen.

5 La invención divulga una cerveza NA, que tiene un contenido de etanol de 0–1,0% en vol, preferentemente, 0–0,5% en vol, que comprende por lo menos 0,001 µg/l de etil–2–metilpentanoato (EMP). Una cerveza NA puede obtenerse por métodos generalmente conocidos.

 Un método para obtener una cerveza NA como se define en esta memoria
10 es somete una cerveza elaborada en forma regular aun paso de desalcoholización, tal como un paso de rectificación, un paso de ósmosis inversa, un paso de diálisis, o un paso de concentración por congelación para eliminar el etanol de la cerveza fermentada. Estas técnicas se describen, por ejemplo, en Brányik et al, J. Food. Eng. 108 (2012) 493–506, o en Mangindaan et al, Trends in Food
15 Science&Technology 71 (2018) 36–45.

 La desalcoholización de la cerveza regular conduce a una cerveza desalcoholizada, que es un tipo de cerveza NA como se define aquí. La cerveza regular, en el presente contexto, es cerveza elaborada regularmente, que tiene un contenido de etanol del 1 al 15% en volumen, preferentemente del 3 al 9% en
20 volumen. Preferentemente, la cerveza regular es cerveza lager regular. La persona experta es capaz de obtener cerveza regular, entre las que se encuentra la cerveza lager, por ejemplo, mediante los métodos descritos en The Brewers Handbook (segunda edición) de Ted Goldammer (2008, editores de Apex). Alternativamente, la cerveza regular se puede obtener comercialmente. Actualmente se ha
25 encontrado que la cerveza regular inherentemente comprende EMP, que se forma durante la fermentación en condiciones regulares (no restringidas).

La desalcoholización de la cerveza regular produce cerveza que tiene una baja cantidad de etanol, pero también produce la eliminación de muchos ésteres y otros compuestos que son responsables del sabor de la cerveza. Dichas cervezas se pueden saborizar con un saborizante antes del consumo, para impartir sabor a la
5 cerveza desalcoholizada. Dicho saborizante no comprende EMP, ya que hasta ahora no se ha reconocido la importancia de EMP como un componente en la saborización de la cerveza.

En el presente contexto, una cerveza desalcoholizada es un tipo preferido de cerveza NA. Más preferentemente, en el presente contexto, la cerveza NA es
10 una cerveza desalcoholizada obtenida por rectificación.

Otro método para obtener cerveza NA es la elaboración de cerveza por un proceso de fermentación restringida, que proporciona una cerveza de fermentación restringida. Una cerveza de fermentación restringida es otro tipo de cerveza NA como se define aquí.

15 Una cerveza de fermentación restringida se define como una cerveza fermentada que se ha obtenido por fermentación de etanol restringida del mosto. La fermentación de etanol restringida del mosto es la fermentación que no produce una formación significativa de etanol neto; es decir, la fermentación restringida como se define en el presente documento produce 1% en volumen o menos,
20 preferentemente 0,5% en volumen o menos de etanol, más preferentemente, 0,2% en volumen o menos, de etanol. Por lo tanto, una cerveza de fermentación restringida tiene un contenido de etanol de 1,0% en volumen o menos, preferentemente, 0,5% en volumen o menos, más preferentemente, 0,2% en volumen o menos.

25 La fermentación restringida del mosto es un proceso en el cual el producto obtenido directamente de la fermentación tiene un contenido de etanol de 1,0% en volumen o menos, preferentemente 0,5% en volumen o menos, más

preferentemente 0,2% en volumen o menos. El experto en la técnica conoce diversas técnicas de fermentación restringida que no producen una formación significativa de etanol neto. Ejemplos son la fermentación de etanol restringida del mosto caracterizada por:

- 5 • una temperatura inferior a 7°C, preferentemente –1–4°C, tal como –0,5–2,5°C, preferentemente durante un período de 8–72 horas, más preferentemente, 12–48 horas ("cerveza fermentada por contacto frío"); y/o
- un tiempo de fermentación corto (por ejemplo, menos de 2 horas), cuya fermentación se detuvo rápidamente por inactivación de la temperatura, tal como
10 por un enfriamiento rápido a –0,5–1°C, seguido opcionalmente de pasteurización posterior ("cerveza de fermentación detenida"); y/o
- fermentación por una cepa de levadura que produce cantidades relativamente bajas de etanol en las condiciones de fermentación aplicadas, tales como, por ejemplo, una cepa de levadura que produce menos de 0,2 g de etanol
15 por gramo de azúcar fermentable en el mosto, preferentemente menos de 0,1 g de etanol por gramo de azúcar fermentable. Las cepas adecuadas (por ejemplo, cepas negativas de Crabtree) son conocidas en la técnica, y la cantidad de etanol producido en condiciones de fermentación variables puede determinarse mediante experimentos de rutina ("cerveza restringida con levadura "); y/o
- 20 • fermentación utilizando una primera cepa de levadura productora de etanol, en presencia de una cantidad suficiente de una segunda cepa de levadura que consume etanol, tal como *Saccharomyces rouxii*, para consumir sustancialmente todo el etanol producido por la primera cepa de levadura; y/o
- mosto con un contenido de azúcares fermentables de modo que se
25 produzca un máximo de 1,0% en volumen de alcohol después de completar su fermentación. En este caso, el mosto generalmente tiene un contenido de azúcares

fermentables de menos de 17,5 g/l, preferentemente de menos de 12 g/l, más preferentemente de menos de 8 g/l ("cerveza de mosto sin azúcar").

Una cerveza de fermentación restringida no se ha sometido a un paso de desalcoholización para alcanzar dicho contenido de etanol de 1,0% en volumen o
5 menos, preferentemente, 0,5% en volumen o menos, preferentemente, 0,2% en volumen o menos. El experto en la técnica conoce diversas técnicas adecuadas para la desalcoholización de una cerveza fermentada, y ninguna de estas técnicas se ha aplicado para alcanzar dicho contenido de etanol. Sin embargo, una cerveza de fermentación restringida, en el presente contexto, puede someterse
10 opcionalmente a una etapa de desalcoholización para reducir el contenido de etanol de 1,0% en volumen o menos, preferentemente 0,5% en volumen o menos, más preferentemente, 0,2% en volumen o menos, obtenido de la fermentación, a un contenido de etanol más reducido. Sin embargo, preferentemente, una cerveza de fermentación restringida como se define en el presente documento no se ha
15 sometido a ningún paso de desalcoholización.

Un paso de desalcoholización para reducir adicionalmente el contenido de etanol de una cerveza de fermentación restringida de 1,0% en volumen o menos, como se definió anteriormente, a cantidades incluso inferiores de etanol es bien conocido en la técnica. Esto ha sido descrito anteriormente, con referencia
20 ejemplar a Mangindaan et al y Brányik et al.

La cerveza de fermentación restringida en el presente contexto es preferentemente una cerveza de mosto sin azúcar, una cerveza con restricción de levadura, una cerveza de fermentación detenida o una cerveza fermentada por contacto frío. En una forma de realización, la cerveza de fermentación restringida
25 es una cerveza de mosto sin azúcar. En una forma de realización adicional, la cerveza de fermentación restringida es una cerveza de levadura restringida. En otra forma de realización más, la cerveza de fermentación restringida es una cerveza

de fermentación detenida. En aún otra forma de realización más, la cerveza de fermentación restringida es una cerveza fermentada por contacto frío. En formas de realización preferidas, la cerveza de fermentación restringida es una cerveza fermentada por contacto frío. Esto se debe a que la cerveza fermentada por
5 contacto frío comprende cantidades relativamente más altas de sabores de mosto que los otros tipos de cerveza de fermentación restringida (ver Brányik et al., citado anteriormente).

La fermentación por contacto frío es bien conocida en la técnica, y la persona experta puede obtener una cerveza fermentada por contacto frío por cualquier
10 medio conocido en la técnica o divulgado aquí. Un método ejemplar para obtener una cerveza fermentada por contacto frío se describe, por ejemplo, en Brányik et al, citado anteriormente. Alternativamente, la cerveza fermentada por contacto frío se puede obtener comercialmente.

Aunque la fermentación restringida puede dar lugar a la formación de
15 algunos compuestos de ésteres, la cantidad y el tipo de éster difieren de la mezcla de éster que se encuentra en la cerveza elaborada regularmente. Por esta razón, el sabor es menos agradable, lo que se corrige mediante la suplementación de un saborizante adecuado para impartir el sabor deseado. Actualmente se ha encontrado que la fermentación restringida no produce una formación significativa
20 de EMP.

Se ha encontrado que EMP es un componente en la cerveza elaborada regularmente que es importante para impartir sabor a cerveza. Este componente está presente en cantidades significativamente más bajas en la cerveza conocida con cero o bajo contenido de alcohol, debido a la baja formación en un proceso de
25 fermentación restringida, por ejemplo, un proceso de contacto frío, y/o debido a la presencia de cantidades reducidas después de la desalcoholización.

Una función importante de EMP es enmascarar el sabor del mosto. EMP además imparte un sabor frutal a manzana, y produce el carácter refrescante que está asociado con la cerveza regular. Por estas razones, se ha encontrado beneficioso enriquecer la cerveza NA con EMP, tal como en una cantidad de por lo
5 menos 0,001 $\mu\text{g/l}$ ("ppb"). En consecuencia, la invención divulga además el uso de 2-metilpentanoato de etilo para enmascarar el sabor del mosto y/o para impartir un sabor refrescante.

La cantidad de EMP en la cerveza NA es preferentemente de por lo menos 0,004 $\mu\text{g/l}$, más preferentemente, por lo menos 0,01 $\mu\text{g/l}$, incluso más
10 preferentemente, por lo menos 0,1 $\mu\text{g/l}$. Las cantidades preferidas de EMP incluyen 0,1–1000 $\mu\text{g/l}$, preferentemente, 1–800 $\mu\text{g/l}$, más preferentemente, 10–500 $\mu\text{g/l}$. En formas de realización preferidas, la cantidad de EMP es de 50–600 $\mu\text{g/l}$.

Un efecto importante de EMP es enmascarar el sabor a mosto generalmente presente en la cerveza NA, en particular, la cerveza fermentada por contacto frío.
15 No obstante, es preferible que la cerveza comprenda cantidades relativamente bajas de aldehído. En formas de realización preferidas, el total de aldehídos en la cerveza, definido como el total de 2-metilpropanal, 2-metilbutanal, 3-metilbutanal, 3-metiltiopropionaldehído, fenilacetaldehído, hexanal, trans-2-nonenal, benzaldehído y furfural es menos de 600, preferentemente menos de 400, más
20 preferentemente menos de 200, más preferentemente menos de 80 $\mu\text{g/l}$. En formas de realización adicionalmente preferidas, el total de aldehídos Strecker (definido como el total de 2-metilpropanal, 2-metilbutanal, 3-metilbutanal, 3-metiltiopropionaldehído y fenilacetaldehído) es menos de 200, preferentemente menos de 150, más preferentemente menos de 100, más preferentemente menos
25 de 50 $\mu\text{g/l}$. La cantidad de EMP en cerveza NA con estas cantidades de aldehído es por lo menos 0,001 $\mu\text{g/l}$, preferentemente por lo menos 0,004 $\mu\text{g/l}$, más preferentemente por lo menos 0,01 $\mu\text{g/l}$, aún más preferentemente por lo menos

0,1 µg/l, tal como 0,1–1000 µg/l, preferentemente 1–800 µg/l, más preferentemente 10–500 µg/l. En formas de realización preferidas, la cantidad de EMP es de 50–600 µg/l. Se prefiere que cuando se presentan cantidades más altas de aldehídos, la cantidad de EMP sea también más alta.

5 Se prefiere que la cerveza de cero o bajo alcohol no sea muy dulce, ya que esto mejora la potabilidad. El contenido de azúcar total de la cerveza NA obtenida, definido como el total de glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa y maltotriosa, es preferentemente de por lo menos 0,2 g/100 ml. Se prefiere que el contenido total de azúcar sea relativamente bajo, tal como, como máximo, 3 g/100 ml,
10 preferentemente como máximo 2 g/100 ml. En formas de realización preferidas, el contenido de azúcar total es de 0,5–2,0 g/100 ml, preferentemente, 1,2–2,0 g/100 ml.

 La cerveza obtenida preferentemente comprende por lo menos 0,2 g/100 ml de maltotriosa. Además, la cerveza preferentemente comprende por lo menos 0,05
15 g/100 ml glucosa y/o por lo menos 0,05 g/100 ml de fructosa. Se prefiere además que el contenido total de azúcar de la cerveza obtenida sea de 50–100% en peso de maltosa, preferentemente 50–80% en peso, más preferentemente 50–65% en peso. El contenido de maltosa de la cerveza final es preferentemente por lo menos 0,5 g/100 ml.

20 Una cerveza preferida obtenida con el presente método comprende además 20–250 mg/l de amino nitrógeno libre (FAN), más preferentemente 50–200 mg/l, más preferentemente 75–150 mg/l. El amino nitrógeno libre, como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad total de compuestos amino libres según se determina por el método NOPA. Este método produce la cuantificación
25 de compuestos amino primarios, tales como aminoácidos libres, péptidos pequeños y amoníaco. La cantidad citada de FAN es un aspecto importante del sabor y color de la cerveza final.

Una cerveza preferida obtenida con el presente método comprende además menos de 5 mg/l de acetaldehído, preferentemente menos de 3 mg/l. Esto es importante para el perfil de sabor de la cerveza obtenida.

Una cerveza de la invención preferentemente también comprende 1 – 20
5 µg/l, preferentemente 1,5–5 µg/l de propanoato de etilo, que es importante para impartir sabor. Una cerveza de la invención comprende además preferentemente 0,05–30 mg/l de acetato de etilo, preferentemente 0,1–15 mg/l de acetato de etilo. Esto también es importante para impartir sabor. La cerveza obtenida de la destilación comprende además preferentemente acetato de isoamilo en una
10 cantidad de 0,05–,5 mg/l, preferentemente 0,08–4,5 mg/l, más preferentemente, 0,1–1 mg/l.

Las ventajas de la presente cerveza incluyen características mejoradas de sabor, entre las cuales se encuentran la dulzura reducida y el sabor a mosto reducido. Esto produce, entre otras cosas, un sabor menos abrumador. La presente
15 cerveza tiene bajo dulzor y niveles favorables de aldehído, incluso, en relación con este menor dulzor. Esto tiene el resultado de que, a menor dulzor e intensidad de sabor, no se considera que la cerveza tenga sabor a mosto, y los consumidores no se saturan con el sabor después de solo algunas cervezas. Además, la cerveza se considera generalmente menos espesa y más refrescante. Por lo tanto, una
20 cerveza de la presente invención es más potable que las cervezas existentes cero alcohol.

La invención describe además un método para preparar una cerveza que tiene un contenido de alcohol de 0–1,0% en volumen, preferentemente de 0–0,5% en volumen, que comprende un paso de combinación de una cerveza de bajo o
25 cero alcohol como se definió anteriormente, con etil–2–metilpentanoato. En una forma de realización, el EMP puede combinarse con la cerveza NA mediante adición como saborizante. En tales formas de realización, el EMP puede obtenerse

comercialmente, y/o puede obtenerse por aislamiento de una fuente natural, tal como por aislamiento de cerveza elaborada regularmente. Por lo tanto, en formas de realización preferidas, la combinación con etil-2-metilpentanoato se logra mediante la combinación con un saborizante que comprende etil-2-
5 metilpentanoato.

En una forma de realización, el saborizante es un saborizante que comprende etil-2-metilpentanoato. En esta forma de realización, el saborizante puede comprender una mezcla de saborizantes diseñada para alcanzar cantidades específicas de ésteres en la cerveza final. El saborizante también puede
10 comprender otros compuestos de sabor y aromas, tales como ácidos (orgánicos), dialdehídos, alcoholes superiores, sales y similares.

En otras formas de realización, el saborizante puede ser una cerveza regular, preferentemente cerveza lager regular, más preferentemente, una pilsner. Una ventaja del uso de cerveza regular como saborizante es que la cerveza regular
15 comprende una mezcla de sabores y aromas que el consumidor de cerveza percibe como naturales, lo que hace que una cerveza NA tenga un sabor y un perfil de aroma similares a la cerveza regular.

En algunas formas de realización, un saborizante de cerveza regular puede ser un saborizante derivado de cerveza regular por concentración, tal como por
20 eliminación parcial o total del alcohol y/o agua para obtener un concentrado de cerveza regular, que puede presentarse en forma sólida o líquida. Las técnicas adecuadas para obtener dicho concentrado de cerveza son, por ejemplo, la liofilización y la concentración por congelación, aunque la persona experta puede encontrar innumerables formas de obtener un concentrado de cerveza adecuado
25 utilizando el conocimiento general común.

En una forma de realización, el saborizante es cerveza regular, preferentemente cerveza lager regular. Preferentemente, en esta forma de

realización, el método comprende un paso de mezclar cerveza de fermentación restringida, preferentemente cerveza fermentada por contacto frío, con cerveza regular, preferentemente, cerveza lager regular. Se prefiere que la cerveza de fermentación restringida y la cerveza regular sean mezcladas en una relación en
5 volumen de 1:99–99: 1, preferentemente, 5:95–50:50.

En algunas formas de realización, el paso de mezcla es seguido de una destilación al vacío, tal como para eliminar el exceso de aldehídos derivados de la cerveza de fermentación restringida. En tales formas de realización, puede ser conveniente agregar un saborizante adicional, por ejemplo, un saborizante que
10 comprende una mezcla de sabores como se definió anteriormente, después de dicho paso de destilación, a fin de lograr un perfil de sabor deseado.

Con propósitos de claridad y una descripción concisa, las características se describen en el presente documento como parte de las mismas o separadas formas de realización; sin embargo, se apreciará que el alcance de la invención puede
15 incluir formas de realización que tienen combinaciones de todas o algunas de las características descritas.

La invención se ilustrará ahora adicionalmente mediante los siguientes ejemplos no limitativos.

Métodos.

20 *Determinación de aldehídos en cerveza mediante microextracción en fase sólida de derivación en fibra y cromatografía de gases–espectrometría de masas.*

Preparación de la muestra.

Bajo una atmósfera de CO₂, se pesaron 30,0 g de muestra de cerveza en un vial de 40 ml. Con una jeringa hermética de 50 µl, se agregaron 30 µl de solución
25 estándar interna a cada muestra. A continuación, todavía bajo una atmósfera de CO₂, se llenaron dos viales de espacio vacío de 10 ml con 4,0 g de muestra. Por lo tanto, la muestra de cerveza se analizó por duplicado.

Procedimiento de derivación.

Se preparó una solución madre de aproximadamente 200 mg/l de O–(2,3,4,5,6–pentafluorobencil)–hidroxilamina (PFBHA) en agua desionizada. Se llenó un vial con espacio vacío de tapón de reborde, de vidrio transparente de 20
5 ml estándar con 14 g de la solución de PFBHA. A continuación, se colocó una fibra SPME (Supelco) en el espacio vacío del vial de derivación durante 10 minutos a 30°C para empapar la fase PDMS/DVB de la fibra SPME con el agente de derivación. La fibra SPME empapada con PFBHA se colocó luego en el espacio vacío de una muestra de cerveza (4,0 g en un vial de 10 ml, lleno bajo una
10 atmósfera de CO₂), de manera de conducir a derivados de PFBHA de los aldehídos de interés. Las condiciones de extracción se seleccionaron a 30 minutos a 30°C.

Condiciones de GC.

Para este método, se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent 7890A, equipado con una entrada dividida/sin división. La separación óptima de los
15 compuestos de PFBHA/aldehído se logró con una columna VF17MS de 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm (Agilent). Algunos compuestos se coeluyen, pero en estos casos, la selectividad de la MS (sigla en inglés de espectrometría de masas) fue capaz de sortear la necesidad de la separación cromatográfica. Por ejemplo, trans–2–nonenal, fenil–acetaldehído y decanal eluyen todos conjuntamente, pero el
20 espectrómetro de masas se dirige a iones selectivos para cada compuesto.

Se usa helio a 1 ml/min como gas portador. Una relación dividida de 5 es utilizada para optimizar el ancho y la sensibilidad del pico. El horno se programó a 50°C (2 minutos) con un aumento de 10°C/min hasta 230°C, seguido de un aumento de 30°C/min hasta 290°C (mantener 2 minutos).

Condiciones de la MS.

El Agilent 5975C MSD se configuró para ionización química negativa (NCI, conforme a sus siglas en inglés).

Para todos los aldehídos apuntados en esta metodología, se eligió un fragmento iónico adecuado. En la mayoría de los casos, se eligió un fragmento específico de compuesto en lugar del fragmento más abundante. Esto permite la determinación selectiva de los compuestos objetivo de interés. En la mayoría de los
5 casos, el MW iónico molecular menos m/z 20 (pérdida de H-F) es el más adecuado.

Como la mayoría del compuesto de PFBHA-aldehído consiste en dos picos (sin y anti), se suman las áreas de los picos. La cuantificación de todos los compuestos aldehídos fue posible estableciendo curvas de calibración apropiadas sobre la base de la adición estándar a la cerveza Heineken.

10 *Determinación de compuestos de ésteres y alcohol en cerveza mediante la extracción de sorción de barra de agitación y cromatografía de gases-espectrometría de masas.*

Debido al amplio rango de concentración de los analitos, las muestras deben analizarse dos veces con diferentes métodos de GC-MS; uno para la determinación
15 de compuestos de alta concentración, y otro, para los compuestos de baja concentración. La diferencia entre los dos métodos es el modo de operación del detector selectivo de masas. El acetato de iso-amilo se determinó usando el método de alta concentración, y el acetato de etilo se determinó usando el método de baja concentración.

20 *Preparación de la muestra.*

Por duplicado, se pesaron 30,0 g de muestra de cerveza en un vial de 40 ml. Con una jeringa hermética de 50 μ l, se agregaron 30 μ l de solución estándar interna a cada muestra. A continuación, se añadió un tornado limpio y preacondicionado a cada muestra. Se usó una placa de agitación de 60 posiciones para extraer las
25 muestras. El tiempo de extracción fue de una hora. Para evitar la formación de compuestos inducidos por la luz, se cubrieron las muestras para protegerlas de la luz.

Condiciones del instrumento.

El cromatógrafo de gases Agilent 7890B se acopló a un MSD Agilent 5977A. La introducción de la muestra fue realizada por un robot Gerstel MPS2–XT, en combinación con una unidad de desorción térmica TDU–2 y una entrada de temperatura controlada CIS–4 (ambas, de Gerstel). La columna capilar principal era una UI DB–5MS de 50 m x 0,25 mm x 0,25 µm. Se usó helio a 1,5 ml/min para gas portador. La desorción térmica de los tornados se realizó en modo de ventilación de solvente, atrapando los eluyentes a –20°C en un revestimiento relleno de Tenax. Durante la etapa de calentamiento, el inyector cambió a una relación dividida de 100:1 y 6:1 para el método de concentración alta y baja, respectivamente. El horno se programó a 40°C (2 minutos), con un aumento de 10°C/min hasta 280°C (mantener 1 minuto). El MSD se configuró para el modo de exploración (33–300 m/z) en el método de alta concentración, y en el modo de iones individuales, para el método de baja concentración.

La cuantificación de todos los compuestos fue posible mediante la preparación de curvas de calibración (adición estándar a una cerveza matriz adecuada (por ejemplo, cerveza Heineken)). Todas las calibraciones se realizaron tanto en bebidas que contenían alcohol, como en bebidas que contenían 0,0% de alcohol.

Determinación del contenido de azúcar en mosto, cerveza y sidra.

El contenido de azúcar se midió con cromatografía líquida de rendimiento ultra (UPLC, conforme a sus siglas en inglés). UPLC puede realizarse adecuadamente a una temperatura de 65°C. Una elección adecuada para el eluyente es una mezcla de acetonitrilo/agua, por ejemplo en una relación en volumen de 75/25. El detector utilizado es típicamente un detector de índice de refracción (RI). El contenido de azúcar de una muestra se determinó comparando

la curva de UPLC de la muestra con curvas de calibración de muestras estándares con concentraciones de azúcar conocidas.

Las muestras para UPLC se prepararon de la siguiente manera. Una muestra de cerveza o mosto se diluyó por un factor de 5 mediante la adición de una mezcla
5 de acetonitrilo/agua (50/50 – partes de igual volumen). Si estaba presente, el CO₂ se eliminó antes de la dilución (por ejemplo, agitando o sacudiendo la muestra). Después de la dilución, la muestra se filtró para obtener una solución transparente. La muestra filtrada se inyectó en la UPLC a 65°C usando el eluyente mencionado anteriormente.

10 *Determinación de amino nitrógeno libre (FAN).*

La cantidad de amino nitrógeno libre se midió de acuerdo con el método de Nitrógeno mediante el Ensayo de O–Ftaldialdehído (NOPA). El método NOPA se realizó utilizando un analizador fotométrico (por ejemplo, el analizador fotométrico Gallery™ Plus). De acuerdo con el método NOPA, una muestra de prueba se
15 somete a un tratamiento con orto–ftaldialdehído (OPA) y N–acetilcisteína (NAC). Este tratamiento dará como resultado la derivación de grupos amino primarios presentes en la muestra de prueba bajo la formación de isoindoles. El contenido de los isoindoles se determina posteriormente utilizando el analizador fotométrico a una longitud de onda de 340 nm. El amino nitrógeno libre (expresado en mg de
20 FAN/l) se puede calcular entonces en función del contenido medido de los isoindoles. Si es necesario, la muestra de cerveza o mosto se somete primero a centrifugación para clarificar la muestra, y/o a una etapa de eliminación de CO₂ (por ejemplo, agitando o sacudiendo la muestra), antes del análisis.

Determinación de etanol en cerveza.

25 El contenido de etanol se midió usando un analizador fotométrico (por ejemplo, el analizador fotométrico Gallery™ Plus). La muestra de prueba se somete a un método enzimático en el que el etanol presente en la muestra se

convierte en acetaldehído con alcohol deshidrogenasa (ADH). El contenido de acetaldehído se determina posteriormente utilizando el analizador fotométrico a una longitud de onda de 340 nm. El contenido de etanol se puede calcular sobre la base del contenido de acetaldehído. Si es necesario, la muestra de cerveza o mosto se
5 somete primero a centrifugación para clarificar la muestra, y/o a una etapa de eliminación de CO₂ (por ejemplo, agitando o sacudiendo), antes del análisis.

Ejemplo 1.

El efecto del etil-2-metilpentanoato como un enmascarador del sabor a mosto y que imparte un refrescante sabor a cerveza frutal.

10 Se preparó una cerveza cero alcohol por rectificación. La cerveza en blanco resultante era relativamente baja en sabores tales como los ésteres. A la cerveza en blanco, se añadió etil-2-metilpentanoato (EMP) como saborizante a 50 ppb. No hubo diferencias adicionales entre la cerveza en blanco y la cerveza enriquecida. Las diferencias sensoriales entre la cerveza en blanco y la cerveza enriquecida con
15 EMP fueron indicadas por un panel sensorial capacitado de 17 personas. El panel sensorial indicó los diferentes atributos de sabor entre las dos cervezas. El número de panelistas que indicaron una mayor presencia de atributos de sabor se presenta en la Tabla 1.

20 A partir de los resultados, se puede ver que EMP tiene un efecto de enmascaramiento del sabor a mosto particularmente fuerte. El sabor del mosto (que proviene de los aldehídos) fue considerado más abundante en la cerveza en blanco por 16 de 17 panelistas. En la cerveza en blanco enriquecida con 50 µg/l EMP, se suprimió el sabor del mosto. Por lo tanto, 50 µg/l de EMP suprimen fuertemente el sabor del mosto.

25 Además, la presencia de EMP imparte un sabor de tipo ácido, frutal y cítrico. Por lo tanto, la cerveza enriquecida se considera más refrescante.

Tabla 1	Cerveza en blanco	Cerveza en blanco + 50 µg/l EMP
Amarga	5	6
Dulce	8	4
Ácida	3	7
Generalmente frutal	0	16
Cítrica/refrescante	0	11
Mosto	16	0
Metálica	10	2
Azufre	12	0
Astringente	5	0
Ácido isovalérico	1	7
Diacetilo	0	2
Tipo hierba	4	0
Tentadora	1	0
Ligera	0	1

Ejemplo 2.

El efecto del etil-2-metilpentanoato como un enmascarador del sabor a mosto y que imparte un refrescante sabor a cerveza frutal en cerveza de sabor
5 completo.

Una cerveza cero alcohol obtenida por destilación al vacío de una mezcla de cerveza regular y cerveza fermentada por contacto frío, y completamente saborizada para impartir sabor a cerveza usando una mezcla de sabor que NO comprendía EMP, se enriqueció con cantidades crecientes de EMP (1, 50, 250, 500
10 y 1000 ppb EMP). Un panel de expertos en sabor compuesto por 17 expertos en sabor capacitados calificó la intensidad percibida para 3 atributos de sabor: sabor a mosto, frutal y a manzana. Los resultados se muestran en la Figura 1.

Los resultados muestran que el aumento de la cantidad de EMP en la cerveza de bajo o cero alcohol enmascara en forma creciente las notas de sabor a
15 mosto, y aumenta el sabor frutal. En el contexto de una mezcla de sabores, EMP imparte un sabor similar a manzana e imparte un fuerte efecto refrescante.

Ejemplo 3.

Comparación de la cerveza obtenida con tipos comerciales de cerveza de bajo o cero alcohol.

Una cerveza obtenida utilizando el presente método se comparó con las
5 cervezas existentes de cero alcohol mediante un panel de expertos en sabor de 17
panelistas capacitados. Las cervezas se evaluaron en atributos de sabor
específicos, que incluyeron dulzor, sabor a mosto e intensidad de sabor total, así
como otras notas de sabor. Para cada atributo, la intensidad percibida se indicó en
una escala lineal. Todos los panelistas evaluaron todas las cervezas en todos los
10 atributos, y los resultados fueron promediados. Los resultados se proporcionan en
la Tabla 2.

Una cerveza obtenida con el presente método tiene un menor sabor a mosto
y un menor sabor dulce que las cervezas comerciales cero alcohol. Por lo tanto, la
probabilidad de que los consumidores se saturen con el sabor con solo algunas
15 cervezas es menor, porque el sabor es menos abrumador. Además, la cerveza
generalmente se considera menos espesa y más refrescante. Por esta razón, la
presente cerveza se considera más potable que las cervezas comerciales cero
alcohol existentes.

Tabla 2	Presente cerveza	Cerveza comercial A	Cerveza comercial B	Cerveza comercial C	Cerveza comercial D	Cerveza comercial E
<i>Sabor dulce</i>	18	28	26	23	23	17
<i>Sabor a mosto</i>	27	39	42	28	33	38
<i>Sabor frutal/éster</i>	31	17	18	33	20	16
<i>>Sabor dulce pera</i>	29	14	12	21	15	12
<i>>Sabor frutal tropical</i>	9	5	7	19	2	1
<i>>Sabor manzana verde</i>	11	2	4	5	2	3
<i>Sabor a lúpulo</i>	14	10	8	24	11	17
<i>Sabor a vinagre</i>	2	1	0	5	1	10
<i>Intensidad total</i>	40	44	45	46	43	47
<i>Textura en boca refrescante</i>	42	33	35	32	37	36
<i>Textura en boca espesa</i>	27	32	32	29	28	29
<i>Textura en boca tibia</i>	5	5	2	5	5	3
<i>Dejo dulce</i>	18	25	25	23	23	15