

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPOSICIÓN FENÓLICA EN EXTRACTOS DE CERVEZA ARTESANAL TIPO ALE

ANTIOXIDANT ACTIVITY AND PHENOLIC COMPOSITION IN ALE-TYPE CRAFT BEER EXTRACTS

Kristel Muñoz S.¹, María Ponce G.¹, Gabriel Burgos B.², Ulbio Alcívar C.² & Diego Munizaga P.³

Recibido: 29 de febrero 2024 / Aceptado: 18 de noviembre 2024
DOI: 10.26807/ia.v13i1.283

Palabras clave: actividad antioxidante, cerveza, compuestos bioactivos, compuestos fenólicos, extractos, industria nutracéutica.

Keywords: antioxidant activity, beer, bioactive compounds, extracts, nutraceutical industry, phenolic compounds.

¹ Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, Carrera de Ingeniería Química, Portoviejo-Ecuador (*correspondencia: kmunoz9267@utm.edu.ec; mponce9870@utm.edu.ec)

² Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, Departamento de Procesos Químicos, Alimentos y Biotecnología, Portoviejo-Ecuador (gabriel.burgos@utm.edu.ec; ulbio.alcivar@utm.edu.ec)

³ Universidad Técnica de Manabí, Instituto de Investigación, Departamento de Posgrado, Portoviejo-Ecuador (diego.munizaga@utm.edu.ec)

RESUMEN

En los últimos años, la revalorización de los extractos líquidos de cerveza ha captado un creciente interés en diversas industrias. En el sector cervecero, estos extractos de cervezas artesanales tipo ALE tienen una gran relevancia para la industria nutracéutica debido a su riqueza en compuestos bioactivos con potenciales beneficios para la salud humana. En el presente estudio se determinó la capacidad antioxidante y composición fenólica en extractos de cerveza artesanal tipo ALE. Las muestras de cervezas, tipo Ipa-Americana, Helles y Whisky, fueron concentradas usando los equipos de rotaevaporador y ultrasonido. Se demostró que el contenido fenólico obtenido mediante rotaevaporador alcanzó un máximo de 2154 mg GAE/L en Ipa-Americana y por ultrasonido la máxima concentración fue de 3261 mg GAE/L en whisky. La capacidad antioxidante valorada por los métodos ABTS y DPPH mostró diferencias notables, en el método ATBS los mejores resultados fueron en Ipa-Americana con 19,578 $\mu\text{mol/L}$ y 21,992 $\mu\text{mol/L}$ en rotaevaporador y ultrasonido respectivamente; por el método DPPH fueron 407,99 $\mu\text{mol/L}$ en Ipa-Americana y 375,47 $\mu\text{mol/L}$ en whisky con el rotaevaporador y ultrasonido respectivamente. Se encontró una correlación positiva entre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de los extractos de cerveza, lo cual es importante para la industria nutraceútica en la elaboración de productos con beneficios para la salud y control de enfermedades.

ABSTRACT

In recent years, the revaluation of liquid beer extracts has attracted growing interest in various industries. In the brewing sector, these extracts of ALE-type craft beers are of great relevance to the nutraceutical industry due to their richness in bioactive compounds with potential benefits for human health; the study focused on determining the antioxidant capacity and phenolic composition in ALE-type craft beer extracts. The samples of Ipa-Americana, Helles and Whiskey type beers were concentrated using rotary evaporator and ultrasound equipment. It was shown that the phenolic content obtained by rotary evaporator reached a maximum of 2154 mg / L in Ipa-Americana and by ultrasound the maximum concentration was 3261 mg / L in whiskey. The antioxidant capacity assessed by the ABTS and DPPH methods showed notable differences, in the ATBS

method the best results were in Ipa-Americana with 19.578 $\mu\text{mol/L}$ and 21.992 $\mu\text{mol/L}$ in rotary evaporator and ultrasound respectively; by the DPPH method they were 407.99 $\mu\text{mol/L}$ in Ipa-Americana and 375.47 $\mu\text{mol/L}$ in whisky with the rotary evaporator and ultrasound respectively. There is a positive correlation of the phenolic compounds and the antioxidant capacity of beer extracts for their use as bioactive compounds; which is important for the nutraceutical industry in the production of products with health benefits and disease control.

INTRODUCCIÓN

Los extractos de plantas presentan compuestos bioactivos que se comportan como antioxidantes, es decir son compuestos preventivos porque tienen la capacidad de reparar el daño causado por los radicales libres (Staszowska & Materska, 2020).

Los rotaevaporadores y las tecnologías ultrasónicas se utilizan ampliamente en los procesos de extracción en la industria alimentaria. Como señala Delgado (2012), el control microbiológico mediante extracción de compuestos bioactivos de materiales vegetales e inactivación de enzimas por ultrasonido mejora los procesos de pasteurización y homogeneización de productos lácteos, que son los métodos más comunes. El principio del

funcionamiento de los métodos ultrasónicos se basa en el fenómeno de la cavitación, en el que pequeñas burbujas estallan violentamente, contribuyendo simultáneamente a cambios físicos y químicos en las moléculas existentes (Ávila, 2021). Por su parte, los rotaevaporadores se utilizan principalmente en la destilación al vacío para la obtención de extractos vegetales y aceites esenciales; el vacío puede ser muy importante en el paso de extracción, permitiendo que el proceso avance más rápido que la presión atmosférica. Se utiliza en laboratorios desde finales de los años 50 y es bien conocido, confiable y robusto (Tec Instrumental, 2016). Esta parece ser una forma interesante de

obtener compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes para beneficio humano.

Algunas técnicas alternativas para la extracción de compuestos bioactivos se realizan por fluidos supercríticos, la extracción asistida por microondas y la extracción asistida por ultrasonido que ofrecen ventajas en la reducción de los tiempos de operación y consumo de energía (Alcívar et al., 2021). Es importante mencionar que “la capacidad antioxidante de un alimento tiene que ver con la composición de compuestos fenólicos individuales” (Urías et al., 2020). Según Muñoz et al., (2007) “los compuestos fenólicos son metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas y actúan como agentes protectores frente a patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa”.

Además, presentan propiedades antirradicales más fuertes entre todos los metabolitos secundarios debido a que reaccionan con una amplia gama de radicales libres como los hidroxilos, aniones

superóxido y otros radicales orgánicos y no orgánicos (Velderrain et al., 2014).

Para la producción de cervezas artesanales se utilizan diversas plantas que otorgan propiedades importantes para los consumidores, por ejemplo; los lúpulos “brindan propiedades antibacterianas conservando la cerveza, contribuyen a la formación y la retención de la espuma, los polifenoles y tienen propiedades beneficiosas para la salud” (Suárez, 2013), mientras que para su elaboración, se puede incorporar base de cereales locales malteados o sin procesar como son el trigo, cebada, arroz, centeno, maíz, avena y sorgo (Dueñas et al., 2023).

La fabricación de cerveza consta de las siguientes etapas: malteado del grano, molienda y maceración, filtrado, ebullición, fermentación, maduración, molienda y envasado final. Durante el proceso de filtrado el bagazo se considera como un subproducto de interés para diversas industrias y constituye el 85 % dentro del proceso de

formación del mosto cervecero. Esto representa el 85 % de todos los residuos generados (Torrente, 2019). El volumen, el bajo costo y los componentes que se obtienen de este subproducto lo convierten en un recurso con gran potencial de reciclaje o aprovechamiento (Castillo et al., 2021).

En la actualidad la obtención de derivados de la cerveza artesanal ha sido uno de los proyectos más innovadores y ha conllevado a realizar estudios en distintas áreas. Según Rodríguez (2021), la adición de materia prima rica en compuestos bioactivos o cervezas fortificadas con proteínas y vegetales para otorgar metabolitos con actividad funcional han sido estudios que evidencian el incremento de la capacidad antioxidante en la bebida.

En diversos estudios se ha evidenciado la importancia y concentración de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en los extractos de cerveza como lo enunciado por Suzuki et al., (2002), los bagazos de malta

de cerveza empleando como sustitutos extractos de café donde la composición fenólica es ácido ferúlico y en menor medida ácido cafeico, pueden ser útiles en el tratamiento de la hipertensión. De igual manera Rincón et al., (2011) determinaron polifenoles en diversos extractos de cervezas, como cebada, maíz y lúpulo mediante desgasificación ultrasónica de las muestras durante 15 minutos. Además, se encontró que los polifenoles y la actividad antioxidante estaban correlacionados positivamente, siendo la cebada y el lúpulo los principales contribuyentes a los polifenoles y la actividad antioxidante en la cerveza. A su vez, López (2019) se enfocó en la comparación en extractos de bagazo de cerveza de trigo artesanal en condiciones de 30 °C, 121,9 min y 10 mL de agua/g de bagazo mediante inmersión, con resultados viables de compuestos fenólicos y actividad antioxidante elevada, donde podría ser aplicable para un proceso de extracción industrial.

Del mismo modo, según Jin et al., (2022), el análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de las muestras de bagazo de malta evaluadas mostró altos niveles de compuestos fenólicos, incluidos ácido ferúlico, ácido *p*-cumárico, ácido sinápico, ácido cafeico y ácido vainílico. Los ácidos, el ácido 4-OH-benzoico y la catequina, tienen propiedades antioxidantes que protegen contra diversas enfermedades. Alrededor del 80 % del contenido fenólico de la cerveza proviene de la malta de cebada, por lo que estos compuestos de cebada previenen enfermedades y contribuyen de manera óptima al proceso de elaboración de la cerveza. Por lo tanto, se ha demostrado que la cerveza producida a partir de malta con mayor contenido fenólico posee propiedades superiores y mejor calidad (Ordoñez et al., 2019).

De acuerdo con Biruete et al., (2009) citado por Morales (2021) los nutraceuticos son componentes de los alimentos que proporcionan beneficios a las personas para la prevención terapéutica y el tratamiento de diversos padecimientos. Además, su finalidad es incorporar en la dieta humana compuestos determinados a partir de la identificación y obtención de principios activos en alimentos comunes.

Por lo postulado anteriormente, en base a las propiedades y beneficios que aporta la bebida alcohólica en mención, se determinó la capacidad antioxidante y composición fenólica en extractos de cerveza artesanal tipo ALE como compuesto bioactivo para la industria nutraceutica empleando equipos como el rotaevaporador y ultrasonido de baño en inmersión.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Ecotoxicología de la Universidad Técnica de

Manabí, ubicada en la ciudad de Portoviejo. Durante el estudio, se emplearon técnicas de extracción

utilizando el rotaevaporador destacándose como uno de los primeros equipos desarrollados con aplicación para laboratorios en la extracción de extractos vegetales y el ultrasonido en forma de baño en inmersión siendo de mayor empleabilidad para extracción de compuestos enzimáticos, además de tener un coste muy bajo. Se llevaron

a cabo análisis específicos para evaluar la capacidad antioxidante, y compuestos fenólicos de las muestras de cerveza artesanal. Los parámetros empleados en este estudio, mediante los cuales se determinaron los resultados aplicados a las muestras de cerveza artesanal, se encuentran detallados en la Figura 1.

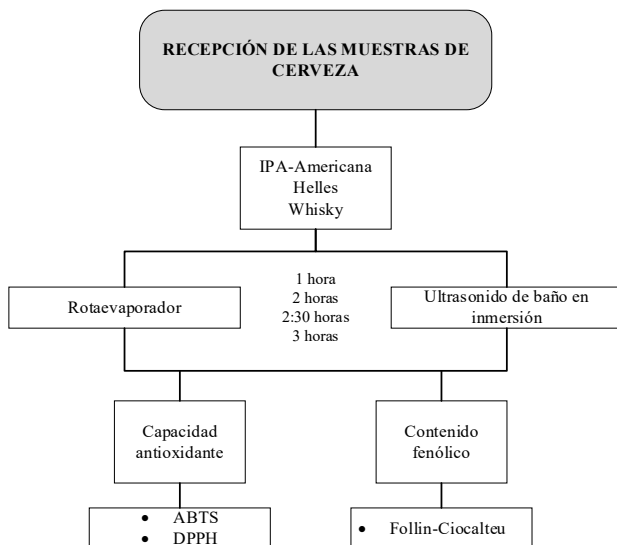


Figura 1. Esquema del proceso aplicado en la determinación de actividad antioxidante y compuestos

Selección y preparación de las muestras

Las diversas muestras de cervezas artesanales, fueron

adquiridas de la cervecería Opus Bräu en Portoviejo, Manabí, Ecuador, dentro de la cual se señalaron las cervezas del tipo Ipa-Americana que destaca por

su tonalidad dorada y rastros de notas cítricas, el tipo Hells de tonalidad dorado-claro y equilibrio de su amargor y malta, y el tipo whisky que presenta rastros de vainilla y caramelo. Previo a la realización de los análisis, cada muestra del extracto líquido de cerveza se somete a un proceso de desgasificación y se mantiene a temperatura ambiente. Este procedimiento asegura que todas las muestras estén en condiciones estandarizadas, minimizando la influencia de burbujas de gas y variaciones de temperatura que podrían afectar la precisión y la reproducibilidad de los resultados analíticos. La desgasificación elimina el CO₂ u otros gases disueltos que podrían interferir con las mediciones, mientras que el mantenimiento a temperatura ambiente garantiza que las muestras se analicen bajo condiciones consistentes.

Obtención de los Extractos concentrados

Rotaevaporador

La técnica se utiliza para la

concentración de muestras en soluciones y recuperación de algún componente de interés, a través de la destilación. El rotaevaporador, consta de un motor eléctrico que hace girar un tubo con matraz de fondo de pera sumergido parcialmente en un baño termostático. Integra un sistema de refrigeración para la condensación del disolvente, recogiénolo en un matraz colector. Todo el sistema está equipado con una bomba de vacío (Marín & Mejía, 2012).

La extracción mediante rotaevaporador se realizó con el equipo Yamato RE-301, equipado con regulador de vacío Vr-300, baño de agua Bm-500 y cristalería tipo A. Las condiciones de extracción fueron las siguientes: temperatura de calentamiento de 95 °C, temperatura de condensación de 80 °C, velocidad de rotación (RPM) de 40, una presión de 60 kPa, y se evitó la enorme pérdida de componentes volátiles que se sufre durante el proceso de secado en el rotaevaporador donde se debe reducir la presión del mismo

(Grigsby et al., 1972).

Las cervezas de mayor difusión y producción son la Ipa-Americana y Hells debido a sus características distintivas, como lo es su apariencia dorada y clara, en la cual se destaca el amargor siendo más pronunciado en la Ipa-Americana mientras en la Hells existe un equilibrio entre la malta y su suave amargor. En contraparte, la cerveza de whisky tiene una composición particular frente a las de su tipo, denotando rastros de esencias aromáticas y dulzor particular, además de intervenir el tiempo de envejecimiento al cual se somete modificando su composición química. Las extracciones se realizaron en intervalos de 1, 2 y 3 horas para la cerveza Ipa-Americana y Hells. Por su parte, la cerveza de Whisky experimentó una reducción significativa en un tiempo de 2:30 horas, resaltando su singularidad química, los tiempos de operación están relacionados a las características individuales de cada una de las muestras.

Ultrasonido de baño en inmersión

La operatividad del ultrasonido se fundamenta en la aplicación de ondas sonoras de frecuencia elevada. Cuando estas ondas interactúan con líquidos, se distinguen por inducir alteraciones químicas mediante procesos de degradación y reacciones oxido-reducción, todo ello generado por el fenómeno cavitatorio (Ávila, 2021, p. 12). Algunos investigadores sugieren que las temperaturas ultrasónicas efectivas ideales deberían estar por debajo de 60 °C, ya que, a partir de este punto, la eficiencia cavitatoria permanece constante (Wood et al., 2017).

Durante el desarrollo de la investigación, se realizó la extracción por ultrasonido de baño en inmersión utilizando el equipo CD4860 Ultrasonic Cleaner. Este dispositivo se llenó con agua destilada, que funcionó como medio de acoplamiento para transmitir eficientemente las ondas ultrasónicas, alcanzando el nivel recomendado por el equipo. Luego, añadimos 200 mL de cada muestra a tres matraces

Erlenmeyer, dimensionados según la capacidad del equipo, y se mantuvieron las condiciones de temperatura a 60°C durante intervalos de 1, 2 y 3 horas.

Determinación de rendimientos

Durante el análisis de rendimiento, se registraron los pesos iniciales y finales de las muestras, y posteriormente se calcularon los rendimientos porcentuales utilizando la ecuación (1).

$$\%R = \frac{w_i - w_f}{w_i} * 100 \quad (1)$$

La ecuación (1) representa el porcentaje de rendimiento (% R), donde w_i es el peso inicial y w_f es el peso final después de obtener el extracto. Se basa en el método del rendimiento real el cual consiste en la cantidad de producto obtenido frente a las condiciones aplicadas con valores que se acercan al 100 % pero no llegan al 100 %. Esta fórmula ha sido adoptada según las indicaciones de Benítez et al. (2019).

Evaluación de composición fenólica

Evaluación de fenoles totales

Se realizó mediante el método de Folin-Ciocalteu, descrito por Margraf et al. (2015) con ligeras modificaciones. Se tomó 250 μ L de cada uno de los extractos de cerveza concentrados por medio del rotaevaporador y el ultrasonido de inmersión, para determinar los compuestos polifenólicos en la muestra, y se colocaron en matraces aforados de 25 mL. Posteriormente, se añadieron 15 mL de agua destilada y 1,25 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu para ser homogenizados y dejar en reposo por 8 minutos en la oscuridad. Transcurrido el tiempo, se agregó a cada matraz 3,75 mL de la disolución de carbonato sódico al 7,5 % y fueron llevados a un volumen de 25 mL con agua destilada, los matraces fueron homogeneizados y mantenidos en la oscuridad a temperatura ambiente por 2 horas. Finalmente, se midió la absorbancia a 765 nm tanto para la muestra como para el control. Los análisis fueron

realizados por triplicado. Los resultados obtenidos fueron expresados en miligramos de equivalente de ácido gálico por litro de muestra mg/L (mg GAE/L).

Este método emplea una solución reactante compuesta por ácido fosfowolfrámico y fosfomolibdico en un entorno alcalino, los cuales experimentan reducción al oxidar los compuestos fenólicos. Este proceso resulta en la formación de óxidos azules de wolframio (W8O23) y molibdeno (Mo8O23) (Lu, 2017).

Cálculo el contenido de fenol en cerveza no concentrada.

El contenido fenólico de la cerveza sin diluir se determinó teniendo en cuenta el factor de dilución del extracto primario. El factor de dilución se calcula mediante la ecuación (2):

$$\text{Factor dilución} = \frac{\text{volumen total de extracto}}{\text{volumen de muestra inicial}} \quad (2)$$

Una vez obtenido el factor de dilución, se calcula el contenido de fenoles en la cerveza no concentrada según la ecuación (3):

$$\text{Contenido de fenol inicial} = \text{concentración de fenol en el extracto} \cdot \text{factor de dilución} \quad (3)$$

El uso de estas ecuaciones permite una estimación precisa del contenido fenólico en la cerveza sin diluir, teniendo en cuenta la relación entre la muestra inicial y el volumen final del extracto.

Evaluación de la actividad antioxidante

La capacidad de los compuestos bioactivos de los extractos para eliminar los radicales libres se evaluó utilizando la prueba basada en cationes radicales ABTS para radicales catiónicos y la prueba basada en radicales DPPH para radicales estables. Estos métodos se utilizan porque pueden completarse en poco tiempo y proporcionan una alta sensibilidad (Burgos et al., 2023).

Ensayo de ABTS antioxidante

La evaluación se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta por Re et al. (1999) con ajustes específicos. El radical ABTS (ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) se

generó mediante la reacción de ABTS (7 mmol/L) con persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$) a 2,45 mmol/L. Posteriormente, esta solución fue diluida con agua hasta alcanzar un volumen final de 10 mL. La incubación de esta solución se realizó a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) con agitación y en la oscuridad, durante un período de 16 horas.

En el siguiente paso, se introdujeron 1000 µL de extracto en tubos de ensayo, a los cuales se añadieron 1000 µL de la solución ABTS. La mezcla resultante fue agitada y mantenida en la oscuridad a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) durante 30 minutos. Todos los análisis se llevaron a cabo por triplicado. El radical ABTS se diluyó con metanol hasta alcanzar una absorbancia de 0,70 ($\pm$ 0,1) a una longitud de onda de 734 nm. Como control, se empleó metanol en lugar de muestra. Posteriormente, se midió la absorbancia a 734 nm tanto para la muestra como para el control. Los resultados fueron expresados en unidades de concentración µmol/L.

Ensayo de DPPH

Se procedió a realizar la evaluación mediante el método DPPH (2,2-difenilo-1-picrylhidracilo) según el protocolo propuesto por Brand et al.(1995), implementando modificaciones específicas. La evaluación DPPH se fundamenta en la reducción del radical DPPH a través de la interacción con los antioxidantes presentes en la muestra. “El barrido de los radicales libres es uno de los mecanismos conocidos mediante el cual los antioxidantes inhiben la oxidación de los lípidos. El ensayo permite evaluar en forma rápida la actividad antioxidante in vitro de compuestos específicos o extractos” (Rincón et al., 2011). Se preparó una solución del radical DPPH con una concentración de 2,4 mg por cada 50 mL, disuelta en metanol. Se introdujeron 1000 µL de extracto en tubos de ensayo, a los cuales se añadieron 1000 µL de la solución DPPH; a continuación, se agitó la mezcla y se conservó en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 minutos, los análisis se realizaron por triplicado.

En el control, se empleó metanol en lugar de la muestra. Después del periodo de incubación, se procedió a medir la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm, tanto para las muestras como para el control. Los resultados fueron expresados en unidades de concentración $\mu\text{mol/L}$.

Método de regresión simple para determinación de concentraciones

Se utilizó el método de regresión simple para encontrar las concentraciones en las 2:30 h en los extractos de las cervezas Ipa-Americana y Helles, mientras que, para la cerveza con sabor a Whisky, se utilizó dicho método para calcular las concentraciones a la hora 3. Según Herrera y González (2018), el modelo de regresión simple se representa por la ecuación (4).

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X \quad (4)$$

En este momento, los valores de β_0 y β_1 son desconocidos. Debemos encontrar la recta que mejor se ajuste a los datos observados. Esto implica buscar los valores de β_0 y β_1 que minimicen los errores de estimación. Por lo tanto, consideraremos como estimaciones de β_0 y β_1 , denotadas como $\hat{\beta}_0$ y $\hat{\beta}_1$, aquellos valores que minimicen la suma de los errores

$$SSE = \sum_{i=1}^n e_i^2 = \sum_{i=1}^n y_i - (\beta_0 + \beta_1 X_i)^2 \quad (5)$$

Por esta razón, se denomina al método de estimación como método de mínimos cuadrados. La solución se obtiene mediante el procedimiento estándar, derivando SSE con respecto β_0 y β_1 , y luego igualando a 0. Los estimadores resultantes son:

$$\beta_1 = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i - n \bar{x} \bar{y}}{\sum_{i=1}^n x_i^2 - n \bar{x}^2} \quad (6)$$

$$\beta_0 = \bar{y} - \beta_1 \bar{x} \quad (7)$$

Donde, X_i es las variables independientes (tiempo), Y_i son las variables dependientes

(concentraciones) e $\bar{Y}$ y $\bar{X}$ son las medias aritméticas de las

variables.

Finalmente, se sustituyen las incógnitas en la ecuación (4) donde X será el tiempo e Y la concentración de la muestra.

Análisis estadístico Los datos obtenidos en este trabajo corresponden a tres ensayos

independientes y se informan como valores medios, con sus respectivas desviaciones estándar. Los análisis ANOVA fueron realizados empleando el Software Statgraphics Centurion versión 16. Las diferencias se consideraron significativas con $p < 0,05$.

RESULTADOS

Rendimientos

Rendimientos de extractos por rotaevaporador Los rendimientos de los extractos de cerveza fueron evaluados en intervalos de 1, 2 y 3 horas para los tipos de cerveza

Ipa-america y Hells. Debido a su singularidad en la elaboración, la cerveza whisky fue evaluada en 1, 2 y 2:30 horas. Los resultados se presentan en las Tablas 1, 2 y 3.

Tabla 1. Rendimiento de compuestos volátiles liberados de la cerveza Ipa-Americana

Tiempo (h)	Peso Inicial (g)	Volumen inicial (mL)	Densidad Inicial (g/mL)	Peso final (g)	Volumen final (mL)	Densidad final (g/mL)	Rendimiento de compuestos volátiles liberados (%)
1:00	690	700	0,99	515,84	523	0,99	25
2:00	523	523	1,00	324,62	323	1,01	38
3:00	600	610	1,02	51,42	47	1,09	91

Tabla 2. Rendimiento de compuestos volátiles liberados de la cerveza Helles

Tiempo (h)	Peso Inicial (g)	Volumen inicial (mL)	Densidad Inicial (g/mL)	Peso final (g)	Volumen final (mL)	Densidad final (g/mL)	Rendimiento de compuestos volátiles liberados (%)
1:00	712,99	700	1,01	477,77	470	1,01	33
2:00	445,96	429	1,03	261,46	250	1,04	41
3:00	233,59	220	1,06	88,87	74	1,20	62

Tabla 3. Rendimiento de compuestos volátiles liberados de la cerveza whisky

Tiempo (h)	Peso Inicial (g)	Volumen inicial (mL)	Densidad Inicial (g/mL)	Peso final (g)	Volumen final (mL)	Densidad final (g/mL)	Rendimiento de compuestos volátiles liberados (%)
1:00	751,55	750	1,00	494,08	470	1,05	34
2:00	463,14	440	1,05	187,00	120	1,55	60
2:30	163,14	140	1,16	91,36	70	1,30	44

Rendimientos de extractos por ultrasonido de baño en inmersión a las muestras de cerveza cada una a un determinado tiempo de 1, 2 y 3 horas, los mismos se presentaron en las Tablas 4, 5 y 6.

Se determinaron los rendimientos

Tabla 4. Rendimiento de compuestos volátiles liberados de la cerveza Ipa-Americana

Tiempo (h)	Peso Inicial (g)	Volumen inicial (mL)	Densidad Inicial (g/mL)	Peso final (g)	Volumen final (mL)	Densidad final (g/mL)	Rendimiento de compuestos volátiles liberados (%)
1:00	212,64	200	1,063	204,31	190	1,08	39
2:00	143,11	125	1,14	141,61	122	1,16	1
3:00	85,48	102	0,830	83,69	95	0,88	2

Tabla 5. Rendimiento de compuestos volátiles liberados de la cerveza Helles

Tiempo (h)	Peso Inicial (g)	Volumen inicial (mL)	Densidad Inicial (g/mL)	Peso final (g)	Volumen final (mL)	Densidad final (g/mL)	Rendimiento de compuestos volátiles liberados (%)
1:00	211,62	200	1,06	182,03	175	1,04	14
2:00	143,16	143	1	141,66	138	1,03	1
3:00	102,39	103	0,99	100,94	97	1,04	1

Tabla 6. Rendimiento de compuestos volátiles liberados de la cerveza whisky

Tiempo (h)	Peso Inicial (g)	Volumen inicial (mL)	Densidad Inicial (g/mL)	Peso final (g)	Volumen final (mL)	Densidad final (g/mL)	Rendimiento de compuestos volátiles liberados (%)
1:00	210,73	215	0,86	206,56	210	0,98	2
2:00	146,194	153	0,96	145,02	150	1,00	1
3:00	87,81	80	1,10	85,21	76	1,12	3

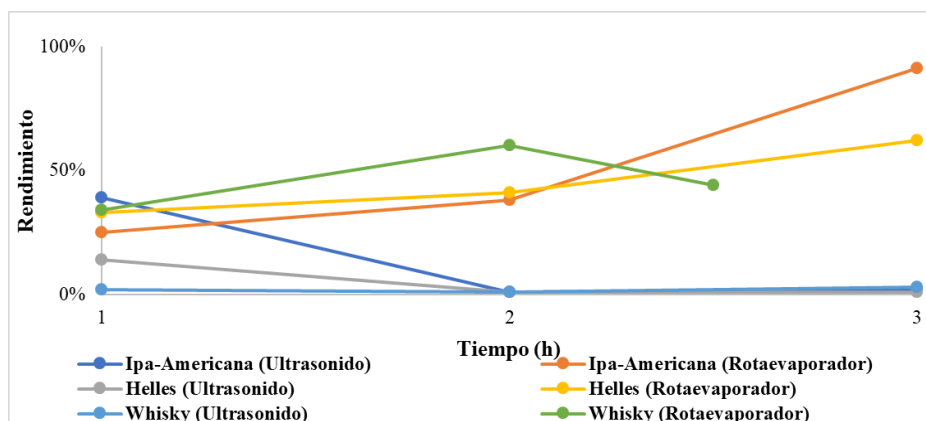


Figura 2. Rendimiento de compuestos volátiles vs tiempos

La evaluación de rendimientos de los equipos en cada tipo de cerveza en distintos intervalos de tiempo revela que la cerveza Ipa-Americana logra un rendimiento de compuestos volátiles liberados mayor en comparación a los demás, alcanzando un 90 % en 3 h a través del uso del rotaevaporador.

Composición Fenólica

El análisis del contenido de fenoles en las muestras de cerveza sin concentrar reveló una variabilidad

interesante. Las muestras procesadas en el rotaevaporador exhibieron concentraciones iniciales de fenoles que oscilaban entre 302,87 mg GAE/L en whisky, 207,31 mg GAE/L en Helles y 144,63 mg GAE/L para Ipa-Americana; mientras que las procesadas por ultrasonido los valores iniciales sin concentrar oscilaron entre 239,67 mg GAE/L en whisky, 164,90 mg GAE/L en Helles y 127,78 mg GAE/L para Ipa-Americana.

Tabla 7. Concentraciones de la composición fenólica para cada cerveza en diferentes intervalos de tiempo

Tiempo (h)	CONCENTRACIÓN (mg GAE/L)					
	Rotaevaporador			Ultrasonido		
	Whisky	Helles	Ipa-Americana	Whisky	Helles	Ipa-Americana
1:00	869	677	186	489	282	261
2:00	1861	915	463	678	317	269
2:30	3245	1184	934	584	313	246
3:00	1992	1961	2154	584	340	209

La cerveza que posee la mayor concentración de compuestos fenólicos es la cerveza whisky, la cual alcanzó una concentración de 3261 mg GAE/L. Este logro se obtuvo mediante el uso de un equipo de rotaevaporador durante un periodo de 2 h y 30 minutos.

Capacidad Antioxidante

Método ABTS y DPPH

Se presentan las tablas con las concentraciones promedio de los análisis de ABTS y DPPH:

Tabla 8. Concentración de ABTS

Tiempo (h)	CONCENTRACIÓN (μmol/L)					
	Rotaevaporador			Ultrasonido		
	Whisky	Helles	Ipa-Americana	Whisky	Helles	Ipa-Americana
1:00	1,44	13,327	19,578	16,114	21,421	19,206
2:00	0	10,005	15,256	15,699	21,219	18,355
2:30	0	10,413	14,910	16,000	21,256	19,851
3:00	0	7,910	9,901	16,018	21,129	21,993

Tabla 9. Concentraciones de análisis DPPH a los extractos de cerveza a distintos tiempos con una dilución 1:10

Tiempo (h)	CONCENTRACIÓN (μmol/L)					
	Rotaevaporador			Ultrasonido		
	Whisky	Helles	Ipa-Americana	Whisky	Helles	Ipa-Americana
1:00	230,08	357,15	407,99	366,17	22,29	21,02
2:00	95,55	285,05	378,10	360,10	20,99	20,17
2:30	381,11	230,41	224,87	367,25	20,69	21,74
3:00	235,58	49,04	188,53	375,47	18,80	24,02

La cerveza que posee la mayor concentración de DPPH es Ipa-Americana, la cual alcanzó una concentración de 407,99 $\mu\text{mol/L}$. Este logro se obtuvo mediante el uso de un equipo de rotaevaporador durante un periodo de 1 h.

Los datos de los análisis de actividad antioxidante y capacidad

fenólica se obtuvieron mediante los métodos mencionados anteriormente. Se aplicó el método de regresión para determinar las concentraciones a las 2:30 h en los extractos de las cervezas Ipa-Americana y Helles, mientras que, para la cerveza whisky, se utilizó dicho método para calcular las concentraciones a la hora 3 (Figuras 3-5).

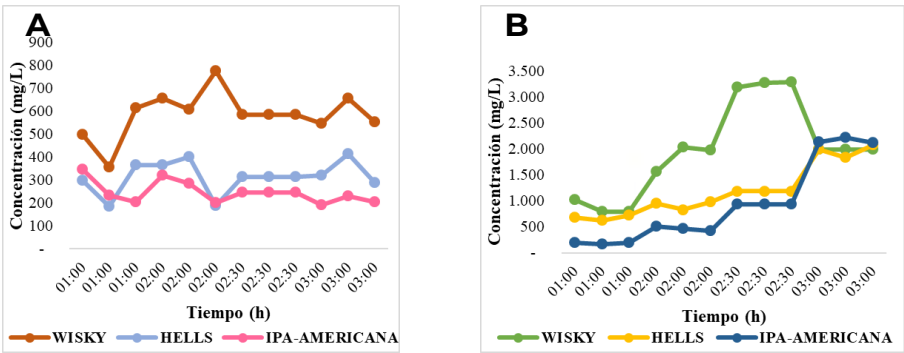


Figura 3. Concentraciones de análisis fenólico vs tiempo: A) Ultrasonido, B) Rotaevaporador

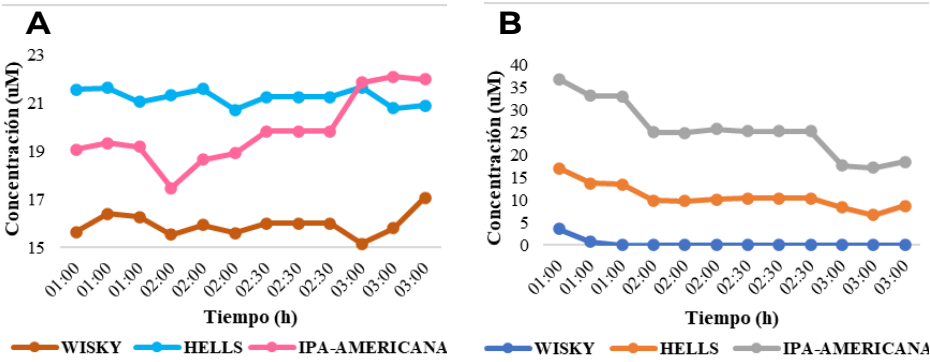


Figura 4. Concentraciones de análisis ABTS vs tiempo: A) Ultrasonido, B) Rotaevaporador

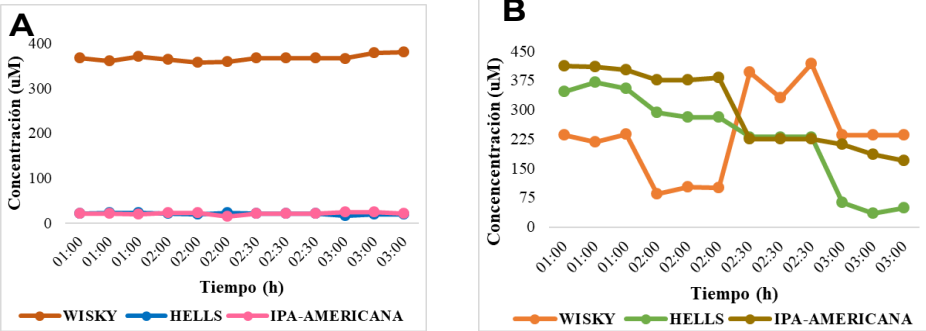


Figura 5. Concentraciones de análisis DPPH vs tiempo en muestras diluidas 1:10 : A) Ultrasonido, B) Rotaevaporador

Tabla 10. Análisis ANOVA para Folin

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2,57005E7	5	5,14009E6	18,27	0,0000
Intra grupos	1,85648E7	66	281285,		
Total (Corr.)	4,42653E7	71			

La Tabla 10 muestra que existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables (-P < 0,05, IC 95%), con una razón de -F de 18,2736.

En la Figura 6 se visualiza la distribución de la media para la concentración fenólica mediante el método de Folin.

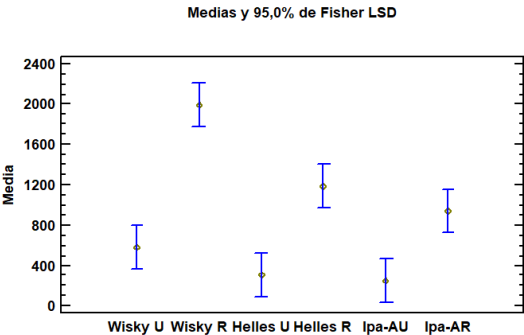


Figura 6. Diagrama de caja sobre la distribución de la mediana para Folin

Tabla 11. Análisis ANOVA para ABTS

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	12571,1	5	2514,21	65,30	0,0000
Intra grupos	2541,17	66	38,5025		
Total (Corr.)	15112,2	71			

La Tabla 11 muestra una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables (-P < 0,05, IC 95%), con una razón de -F de 65,2999. En la Figura 7 se

visualiza la distribución de la media para la capacidad antioxidante valorada por medio del método ABTS.

Figura 7. Diagrama de caja sobre la distribución de la mediana para ABTS

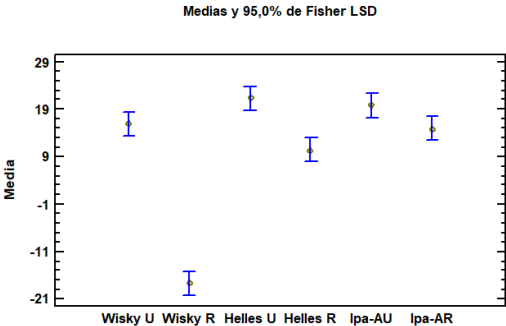


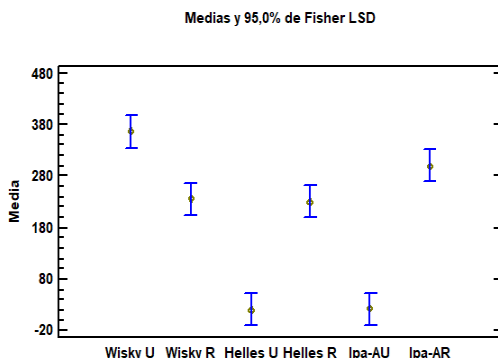
Tabla 12. Análisis ANOVA para DPPH

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1,2476E6	5	249521,	41,93	0,0000
Intra grupos	392755,	66	5950,83		
Total (Corr.)	1,64036E6	71			

La Tabla12 muestra una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 6 variables (-P < 0,05, IC 95%), con una razón

de $-F$ de 41,9304. En la Figura 8 se visualiza la distribución de la media para la capacidad antioxidante valorada por medio del método DPPH.

Figura 8. Diagrama de caja sobre la distribución de la mediana para ABTS



DISCUSIÓN

Los extractos de cerveza Ipa-Americana, Helles y Whisky fueron sometidos a un proceso de extracción y concentración mediante equipos de rotaevaporador y de ultrasonido de baño en inmersión para determinar la concentración de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. Comparando los datos recopilados de los procesos de extracción empleando equipos de rotaevaporador y ultrasonido de baño en inmersión como se muestra en la Figura 2, los valores fueron superiores al 50 % con el rotaevaporador, donde la Ipa-

Americana y Helles llegaron al 91 % y 62 % respectivamente en 3 h, mientras el extracto de cerveza whisky con el 60 % extraído en 2 h. Nausa (2022), informó un rendimiento de compuestos volátiles liberados de extracto del 34 % en 3 h aplicando la extracción por lixiviación en su estudio, mientras que Gómez (2015) informó un método de extracción general usando agua implementado por Varnam & Sutherland (1997) donde la tasa de rendimiento de compuestos volátiles liberados fue del 30 %. Es notable que los rendimientos

de compuestos volátiles liberados obtenidos con la ayuda del rotaevaporador son superiores a los señalados en la literatura analizada.

La composición fenólica es de importancia dentro de las cervezas la cual le confiere características estables como sabor, color y olor; la concentración varía en relación al tipo de extracto y proceso aplicado, como se observa en la Figura 3 el rotaevaporador es superior en concentrar las muestras al ultrasonido de baño en inmersión; las mayores concentraciones de los extractos de Ipa-Americana y Helles a las 3 horas presentaron valores aceptables de 2154 mg GAE/L y 1961 mg GAE/L, respectivamente, mientras que el extracto de whisky presentó la mayor concentración con un valor de 3261 mg GAE/L a las 2:30 horas. Además, la concentración de mayor relevancia en ultrasonido de baño en inmersión se produjo en el extracto de cerveza whisky con un valor de 678 mg GAE/L a 2 h. Las diferencias observadas en las concentraciones iniciales

de fenoles entre las muestras procesadas por rotavaporador y ultrasonido sugieren una clara influencia de la técnica de extracción empleada. El rotavaporador, al aplicar calor y vacío, podría degradar parcialmente algunos compuestos fenólicos, conduciendo a valores ligeramente inferiores en comparación con el ultrasonido, que opera a baja temperatura. Rodríguez et al., (2023) obtuvieron hasta 2082 mg GAE/100 mL utilizando extracto de maíz morado para una cerveza red Ale. La concentración de extracto de malta según Ortiz (2023) es de $2309,7 \pm 344,3$ GAE mg/L y Zuorro et al., (2019) la concentración de extracto de cebada es 4,126 mg GAE/g BSG. Los datos de los extractos evaluados se encuentran dentro del rango de valores establecidos en diversos estudios obtenidos previamente para componentes fenólicos.

Se evaluó el análisis de la capacidad antioxidante para extractos de cerveza de Ipa-Americana, Helles y whisky mediante los métodos

ABTS y DPPH, con la utilización de los equipos de rotaevaporador y ultrasonido de baño en inmersión. La comparación de los extractos de cerveza valorados por el método ABTS obtenidos con los equipos previamente mencionados como se muestra en la Figura 4 evidenció variaciones siendo los de mayor capacidad antioxidante para el extracto de Ipa-Americana con valores de 19,57 $\mu\text{mol/L}$ de DPPH en 1 hora por rotaevaporador y 21,99 $\mu\text{mol/L}$ en 3 h con ultrasonido de baño en inmersión. Rincón et al., (2011) informaron una capacidad

antioxidante de 86,03 EAAs $\frac{\text{mg}}{\text{L}}$ al efectuar la conversión empleando el peso molecular del ácido ascórbico (176,12 $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$) y aplicando la ecuación 8:

$$[\mu\text{M} = \frac{\text{Conc.} \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 1000}{\text{PM ácido ascórbico}}],$$
 la capacidad oxidante equivale a 488,5 $\mu\text{mol/L}$ en cerveza Ice 1. Los extractos de maíz, cebada y lúpulo mostraron capacidades antioxidantes de 71,53±6,48

EAAs $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ equivale a 406,2 $\mu\text{mol/L}$,

509,65±49,89 EAAs $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ equivale a 2891,7 $\mu\text{mol/L}$ y 870,76±21 EAAs

$\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ equivale a 4944,1 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente, indicando que el lúpulo tiene la mayor actividad antioxidante. López (2019) mostró un valor de 71,58 $\mu\text{mol/L}$.

En relación con el análisis de la actividad antioxidante mediante el método DPPH, los valores obtenidos fueron superiores a los registrados con el método ABTS. En particular, los extractos de IPA-Americana, obtenidos por rotoevaporación, mostraron una actividad antioxidante de 407,99 $\mu\text{mol/L}$, mientras que el extracto de whisky, procesado mediante ultrasonido de baño en inmersión, presentó 375,47 $\mu\text{mol/L}$ (ver Figura 5). Rodríguez et al. (2023) informaron que la actividad antioxidante del extracto de cerveza Red Ale fue de 1308-1716 TEAC/100 mL al transformar a $\mu\text{mol/L}$ se hace uso de la masa molar del TEAC (250,23

$\frac{\text{g}}{\text{mol}}$) y aplicando la ecuación 9:

$$[\mu\text{M} = \frac{\text{Conc. mg AG/L}}{\text{Masa molar AG}} \times 10^3],$$
 lo que

equivale a 52,30 $\mu\text{mol/L}$ -68,60 $\mu\text{mol/L}$. En cambio, López (2019) registró un valor de 86,26 $\mu\text{mol/L}$. Gómez (2015) reportó la capacidad antioxidante de diferentes extractos de cerveza que varía desde 57 a 80 mg AG/L de manera similar al convertir los valores a $\mu\text{mol/L}$ se hace uso de la masa molar del ácido gálico (170,12) y aplicando la ecuación 10:

$$[\mu\text{M}] = \frac{\text{Conc.mg AG/L}}{\text{Masa molar AG}} \times 10^3$$
, lo que equivale a 335,6 $\mu\text{mol/L}$ a 470,5 $\mu\text{mol/L}$, así como la Irish Red Ale en 192 mg AG/L siendo equivalente a 1128,5 $\mu\text{mol/L}$ y la Red Corn Malt Beer en 111 mg AG/L aproximadamente equivale a 652,2 $\mu\text{mol/L}$.

La actividad antioxidante de los fenólicos los ha convertido en una parte importante de la industria de alimentos funcionales. Estos compuestos bioactivos no solo mejoran la salud, sino que también $\frac{\text{g}}{\text{mol}}$ mejoran las propiedades de una variedad de productos. El desarrollo de nuevos productos a partir de extractos de cerveza ricos en compuestos fenólicos y la regeneración de estos extractos es

un área con gran potencial para las industrias de nutrición, cosmética y alimentación. La creciente demanda de productos naturales y funcionales ha impulsado el estudio de los extractos de cerveza. Estos concentrados, que están llenos de compuestos bioactivos como polifenoles y vitaminas, tienen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, lo que los convierte en componentes esenciales para la creación de nuevos productos en la industria alimentaria, cosmética, farmacéutica y nutracéutica, entre otras. Cabe señalar que los trabajos de investigación y desarrollo de nuevos productos a partir de extracto de cerveza se encuentran en sus primeras etapas. Se necesitan investigaciones adicionales para evaluar la eficacia y seguridad de estos productos y optimizar la extracción y concentración de compuestos fenólicos. Sin embargo, las perspectivas son prometedoras y prevén un futuro con muchas aplicaciones para estos extractos naturales.

CONCLUSIÓN

Se concluye que aumentar la concentración de compuestos fenólicos mediante un rotoevaporador en la extracción de cerveza supone una mejora sustancial en el proceso de producción, pues a mayor concentración de compuestos fenólicos, mayor capacidad del extracto para neutralizar los radicales libres, previniendo el daño celular y el estrés oxidativo; además, tiene el efecto de mejorar el sabor, aroma y color de la cerveza, lo que consolida un producto final más atractivo para los consumidores.

Los compuestos fenólicos han sido de gran importancia en la industria nutracéutica, donde se emplean en diversos procesos alimentarios y farmacéuticos. Estos compuestos contribuyen a mejorar las propiedades de diversos alimentos y pueden utilizarse como agente para la prevención y control de enfermedades; en ese sentido, son compuestos que, además de generar la revalorización de los extractos cerveceros del sector artesanal, resultan atractivos para los campos de la salud y la nutrición.

LISTA DE REFERENCIAS

- Alcívar, U., Burgos, G., Daza, A., & Lucas, M. V. (2021). Efecto del ultrasonido en el rendimiento y composición fitoquímica de los extractos de *lippia alba* (Mill.) N.E. BROWN. *Revista Colón Ciencias, Tecnología y Negocios*, 8(1), 47-59. <https://doi.org/10.48204/j.colonciencias.v8n1a4>
- Ávila, M. F. (2021). Efectos del uso de ultrasonido en procesos de vinificación: Revisión bibliográfica. *Tesis de grado en Agronomía*. Talca, Chile: Universidad de Talca. <http://dspace.utalca.cl/bitstream/1950/12494/5/2021A000209.pdf>

- Benítez, R., Sarria, R., Gallo, J., Pérez, N., Álvarez, J., & Aristizabal, C. (2019). Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 15(1), 31-40. <https://doi.org/https://doi.org/10.18359/rfcb.3597>
- Biruete, A., Juárez, E., Ortega, S., & Viruegas, R. (2009). Los nutraceuticos. Lo que es conveniente saber. *Revista Mexicana de Pediatría*, 76(3), 136. https://www.researchgate.net/publication/311208787_Los_nutraceuticos_Lo_que_es_conveniente_saber
- Brand, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Burgos, G. A., Verano, L., Cejudo, C., Dueñas, A. A., Mantell, C., & Casas, L. (2023). Extracción de compuestos bioactivos de hojas de *Prestonia mollis* y su impregnación en ácido poliláctico mediante tecnologías de alta presión: potencial para aplicaciones biomédicas. *Antioxidantes*, 12(10), 1-21. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/antiox12101864>
- Castillo, M. A., Castro, J. J., Gil, S., & Useche, A. (2021). Diseño de un producto y proceso industrial aprovechando el bagazo de malta obtenido de la producción de cerveza artesana. *Tesis de grado*. Cali, Colombia: Pontificia Universidad Javeriana.
- Delgado, J. O. (2012). Application of Ultrasound in the Food Industry. *UNAD Publicaciones e Investigación*, 6(141), 141-152. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.22490/25394088.1098>
- Dueñas, E. N., Burgos, G. A., Alcívar, U. E., & Munizaga, D. R. (2023). Cinética de secado para malta procesada y base cereal local para cerveza artesanal. *Revista Centro Azúcar*, 50(4), e1045. http://centroazucar.uclv.edu.cu/index.php/centro_azucar/article/view/777/881

- Cómez, D. R. (2015). Elaboración y Caracterización Físicoquímica y Sensorial de Cervezas Artesanales Elaboradas con Maíz Rojo. [*Tesis magistral, Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana*]. <https://bindani.izt.uam.mx/downloads/qr46r120z?locale=es>
- Grigsby, J. H., Palamand, S. R., Davis, D. P., & Hardwick, W. A. (1972). Studies on the Reactions Involved in the Oxidation of Beer. *Proceedings. Annual meeting -American Society of Brewing Chemists*, 30(1), 87-92. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/00960845.1972.120>
- Herrera, A., & González, J. M. (2018). Estudio del transporte, almacenamiento y comunicaciones y sus efectos sobre el crecimiento del producto interno bruto (PIB) de la república de panamá. Años: 2000-2015. *Guacamaya*, 2(1), 1-11. <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/212/2121090004/2121090004.pdf>
- Jin, Z., Lan, Y., Ohm, J.-B., Gillespie, J., Schwarz, P., & Chen, B. (2022). Physicochemical composition, fermentable sugars, free amino acids, phenolics, and minerals in brewers' spent grains obtained from craft brewing operations. *Journal of Cereal Science*, 104. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcs.2022.103413>
- López, A. M. (2019). Optimización de las condiciones de obtención de un extracto de bagazo de cerveza con mayor actividad antioxidante in vitro. [*Tesis de grado, Ciencias y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Extremadura*]. https://dehesa.unex.es/bitstream/10662/10308/1/TFGUEx_2019_Lopez_Valenzuela.pdf
- Lu, W. (2017). Antioxidantes en magaya de manzana: extracción, caracterización y encapsulación en nanopartículas de origen vegetal. *Tesis magistral*. Oviedo, España: Universidad de Oviedo. https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/43650/TFM_WenwenLiu.pdf?sequence=3&isAllowed=y
- Margraf, T., Karnopp, A. R., Rosso, N. D., & Granato, D. (2015). Comparison

between Folin-Ciocalteu and Prussian Blue Assays to Estimate The Total Phenolic Content of Juices and Teas Using 96-Well Microplates. *Food Chemistry*, 80(11), 2397-2403. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13077>

Marín, S. E., & Mejía, C. M. (2012). Extracción de colorante a partir de la flor de Jamaica. *Tesis de grado en Ingeniería Química*. Managua, Nicaragua: Universidad Nacional de Ingeniería. <http://ribuni.uni.edu.ni/619/1/37975.pdf>

Morales, M. (2021). Revisión crítica: efecto de los nutraceuticos en el paciente con osteoartritis. *Tesis de grado*. Lima, Perú: Universidad Norbet Wiener. https://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13053/4760/T061_43177180_S.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Muñoz, A. M., Ramos, D. F., Alvarado-Ortiz, C., & Castañeda, B. (2007). Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 73(3), 142-149. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2007000300003

Nausa, G. (2022). Análisis de los compuestos fenólicos antioxidantes en diferentes bagazos de cerveza artesanal "Master Beer". *[Tesis de grado, Ingeniería Química, Fundación Universidad de América]*. <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/am/20.500.11839/9050/1/6171274-2022-2-IQ.pdf>

Ordoñez, R., Rodríguez, J., Urresto, J., & Narváez, C. (2019). Compuestos funcionales presentes en la cerveza y su influencia en la salud. *Tesis de grado*. Quito, Ecuador: Universidad Iberoamericana del Ecuador.

Ortiz, J. D. (2023). Propiedades tecno-funcionales del bagazo de malta

(BSG) obtenido del proceso de elaboración de cerveza. [Tesis de grado, Alimentación y Nutrición, Unilasallista Corporación Universitaria]. Unilasallista Corporación Universitaria

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rincón, A. M., Bou, L. M., & Padilla, F. d. (2011). Compuestos fenólicos y actividad antioxidante en cervezas venezolanas. *Revista De La Facultad De Farmacia*, 74(2), 10-16. http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ff/article/view/1540/1434
- Rincón, A., Pérez, M., Bou, L., Romero, A., Bucarito, L., & Padilla, F. (2011). Métodos para la determinación de la actividad antioxidante de vegetales. *Revista Facultad de Farmacia*, 74(1), 24-28. http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ff/article/view/430
- Rodriguez, M. (2021). Cerveza artesanal: innovaciones biotecnológicas en cervecería y sobre su impacto en la microbiota y salud intestinal. *Tesis doctoral*. Madrid, España: Universidad Autónoma de Madrid - Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL). <https://docs.google.com/viewerng/viewer?url=https://digital.csic.es/bitstream/10261/263763/3/Tesis+Magaly+Rodriguez+Saavedra12-2021.pdf>
- Rodríguez, N., Llona, G. G., Rodríguez, G., Hurtado, B. Z., Pineda, M., Huamán, C. M., Pantoja, L. R., & Villanueva, E. (2023). Capacidad antioxidante de la cerveza artesanal red ale con la adición de extracto de maíz morado (*Zea mays* L) y zumo de fruta de maracuyá (*Passiflora edulis*). *Revista Científica y Tecnológica QANTU YACHAY*, 3(2), 45-56. <https://doi.org/https://doi.org/10.54942/qantuyachay.v3i2.58>

- Staszowska, M., & Materska, M. (2020). Phenolic Composition, Mineral Content, and Beneficial Bioactivities of Leaf Extracts from Black Currant (*Ribes nigrum* L.), Raspberry (*Rubus idaeus*), and Aronia (*Aronia melanocarpa*). *Nutrients*, 12(2), 463. <https://doi.org/10.3390/nu12020463>
- Suárez, M. (2013). Cerveza: componentes y propiedades. *Tesis de maestría*. Oviedo, España: Universidad de Oviedo. https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/19093/TFM_%20Maria%20Suarez%20Diaz.pdf?sequence=8
- Suzuki, A., Kagawa, D., Ochiai, R., Tokimitsu, I., & Saito, I. (2002). Green coffee bean extract and its metabolites have a hypotensive effect in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res*, 25(1), 99-107. <https://doi.org/10.1291/hypres.25.99>
- Tec Instrumental. (2016). *Concentración y extracción de compuestos naturales con un rotavapor*. <https://www.tecinstrumental.com/>: https://www.tecinstrumental.com/contenidos/2021/12/01/Editorial_3506.php
- Torrente, S. E. (2019). Aprovechamiento de los subproductos generados en la industria cervecera. *Tesis de grado*. Madrid, España: Universidad Complutense. <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/SANDRA%20ESTEBAN%20TORRENTE.pdf>
- Urías, V., Martínez, G. C., Rojas, R., & Niño, G. (2020). Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en bebidas comerciales de consumo frecuente en términos de tamaño de porción. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 24(70), 29-33. <http://repositorio.utm.mx:8080/bitstream/123456789/297/1/2020-TCyT-VUO.pdf>
- Varnam, A., & Sutherland, J. (1997). Capítulo 7: Bebidas alcohólicas: Cerveza. In *Bebidas. Tecnología, química y microbiología*. Acribia.

- Velderrain, G. P., Wall, A., Ayala, J., Chen, C., Robles, M., ..., & González, G. (2014). Compuestos fenólicos: su viaje después de la ingesta. *Alimentos y funciones*, 5(2), 189-197.
- Wood, R. J., Lee, J., & Bussemaker, M. J. (2017). A parametric review of sonochemistry: Control and augmentation of sonochemical activity in aqueous solutions. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 351-370. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.03.030>
- Zuorro, A., Iannone, A., & Lavecchia, R. (2019). Water–Organic Solvent Extraction of Phenolic Antioxidants from Brewers' Spent Grain. *Processes*, 7(3), 126. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/pr7030126>