



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
HIDALGO**

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

**“VALORACIÓN DEL POTENCIAL CERVECERO DE
MALTAS ELABORADAS CON CEBADAS
PRODUCIDAS EN LOS ESTADOS DE HIDALGO Y
TLAXCALA”**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

VIRIDIANA RAMÍREZ MERA

ASESOR:

DRA. ALMA DELIA ROMÁN GUTIÉRREZ



QUÍMICA EN ALIMENTOS

PACHUCA DE SOTO, HIDALGO, 2006.



QUÍMICA EN ALIMENTOS
PRIMERA GENERACIÓN

El presente trabajo de investigación fue financiado por la Fundación Hidalgo Produce durante el 2004 y se realizó en el Laboratorio de Alimentos I del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

DEDICATORIAS

Todos los días Dios nos da, junto con el sol, un momento en el que es posible cambiar todo lo que nos hace infelices. Todos los días intentamos fingir que no percibimos ese momento, que esa oportunidad no existe, que hoy es igual que ayer y será igual que mañana. Pero quien presta atención a su día descubre en instante mágico. Ese momento existe: un momento en que toda la fuerza de las estrellas pasa a través de nosotros y nos permite hacer milagros. Ese instante mágico de cada día nos ayuda a cambiar, nos impulsa a ir en busca de nuestros sueños.



Paulo Coelho

Gracias Dios por darme la vida, a mis padres, mi familia, amigos y a las personas que me rodean y me permiten ser parte de su historia. Por darme entendimiento, paciencia y toda esa serie de cosas que podemos sentir y experimentar, que nos llenan de sabiduría y experiencias la vida. Por permitirme vivir en este momento y en este espacio.

A mi hermanita Urith, por estar con migo cuando la necesito, por darme ternura, amor y hacerme reír. Te quiero mucho.

A mis papis Inés y Uriel, por darme tanto cariño, consejos, ser mi fuente de admiración, darme apoyo cuando más lo necesito; cuando todo parece estar oscuro ustedes son la luz que aclaran mi entorno. Por toda la paciencia que han tenido con migo les dedico este trabajo. Los quiero mucho.

A mi tía Mary y tío Manuel, por brindarme su ayuda y su tiempo cuando más la necesito. Por darme consejos y creer en mí. Los quiero mucho.

AGRADECIMIENTOS

- ☆ A la Dra. Alma por darme la oportunidad de formar parte de su grupo de tesis, de realizar este trabajo de investigación y por ayudarme en la redacción de mi trabajo. Gracias por todo.
- ☆ A la Fundación Hidalgo Produce por el apoyo económico que aportó durante el 2004. Esto permitió terminar este trabajo de investigación.
- ☆ Dra. Eva, gracias por regalarme un poco de su tiempo y ayudarme en el análisis estadístico.
- ☆ A la Dra. Elizabet Contreras, al Dr. Javier Castro, al Dr. Carlos A. Gómez, gracias por su amistad y por apoyarme en el préstamo de material para llevar a cabo este trabajo.
- ☆ Yuri, gracias por tu ayuda en este trabajo (por fin ha concluido), por compartir tus conocimientos, aventuras y sobre todo por tu amistad. Gracias por todos esos momentos de felicidad, de tristeza y de enojo.
- ☆ Neli, gracias por brindarme consejos, ratos de felicidad y compartir algunas convivencias y aventuras con migo. ¡Usted puede doctora!!!
- ☆ A Urith, Luz, Manuel, por darme ratos de felicidad en los fines de semana y en las reuniones familiares, así como en los gustos por la música.
- ☆ Lili por ser mi compañera de escuela, por compartir tu casa con migo, por tantos momentos de risa y de crítica constructiva. Gracias por todo. Ahora sigues tu!!
- ☆ Pati, gracias por despertarme en las clases y hacer más feliz mis ratos de soledad en el laboratorio y sobre todo por tu amistad. Miauuuu!!!!
- ☆ A Pati, Claus, Mari, Yadi, Angie, Yuri, Lili, Fabiola, Itzma, Zenia, por compartir algunas convivencias y reuniones de trabajo!! Por tantos ratos de risa y diversión en el salón haciendo así más amena la clase.
- ☆ A Pati, Claus, Yuri, Lili, Fa, por las salidas y aventuras en los congresos. Y por tantos ratos de diversión.
- ☆ Zenia, Karla y Eduardo, por compartir su amistad en el laboratorio, a pesar del ruido y de los problemas técnicos. Gracias por todo.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIAS	i
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE GENERAL	iii
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
I. Introducción	1
II. Antecedentes	2
2.1 Historia	2
2.2 Producción de cerveza	4
2.3 Tipos de cervezas	5
2.4 Propiedades nutricionales de la cerveza	6
2.4.1 Alcohol	7
2.4.2 Folatos	8
2.4.3 Polifenoles	8
2.4.4 Fibra soluble	8
2.4.5 Maltodextrinas	9
2.5 Constituyentes de la cerveza	9
2.6 Agua	13
2.7 Lúpulo	14
2.8 Levadura	19
2.9 Malta	22
2.9.1 Transformación de la cebada durante el malteado	23
2.9.2 Selección de la malta para la elaboración de cerveza	24
2.10 Elaboración de cerveza	24
2.10.1 Maceración	25
2.10.1.1 Separación del mosto	27
2.10.2 Cocción del mosto	28
2.10.3 Clarificación y enfriamiento del mosto	30
2.10.4 Fermentación	30
2.10.5 Maduración	35
2.10.6 Embotellado	37
2.10.7 Calidad de la cerveza	37
2.10.7.1 Sabor y aroma	38
2.10.7.2 Peso específico y grado de la cerveza	38
2.10.7.3 Color	40
2.10.7.4 Grado de acidez	40
2.10.7.5 Nitrógeno	41
2.10.7.6 B-glucanos	41
2.11 Aspectos generales de la cebada	41
2.11.1 Cebada maltera	42
2.11.2 Estructura bioquímica de la cebada	43
2.11.2.1 Polisacáridos amiláceos	43
2.11.2.2 Polisacáridos no amiláceos	44
2.11.3 Proteína	45
2.11.4 Lípidos	45
2.11.5 Otros constituyentes	45

ÍNDICE GENERAL

2.12	Producción de cebada	46
III.	Objetivos.	47
IV.	Materiales y métodos	48
4.1	Materia prima	48
4.2	Muestreo	48
4.3	Métodos	49
4.3.1	Elección del proceso de obtención de mosto	51
4.3.2	Elección del inóculo y condiciones de fermentación	52
4.3.2.1	Siembra y propagación de levadura	53
4.3.2.2	Microfermentaciones	54
4.3.3	Fermentación a nivel matraz	56
4.3.4	Maduración	57
4.3.5	Pasteurización	58
4.3.6	Proceso de fermentación a nivel fermentador	59
4.3.7	Determinaciones analíticas	59
4.3.7.1	β -glucanos en mosto	59
4.3.7.2	Nitrógeno en mosto y cerveza método Kjeldahl	61
4.3.7.3	Peso específico del mosto y cerveza	62
4.3.7.4	Fermentabilidad, atenuación real y aparente del mosto	63
4.3.7.5	pH del mosto y cerveza	64
4.3.7.6	Viscosidad del mosto	65
4.3.7.7	Determinación de etanol por método UV en cerveza	67
4.3.7.8	Color de cerveza	68
4.3.7.9	Contenido de alcohol por destilación en cerveza	69
4.3.7.10	Grado real de fermentación de cerveza	70
4.3.7.11	Extracto real, original y aparente	71
4.3.8	Análisis estadístico	72
V.	Resultados y discusiones	73
5.1	Valoración del método de obtención de mosto cervecero	73
5.2	Elección del inóculo y condiciones de fermentación	76
5.2.1	Siembra y propagación de levadura	76
5.2.2	Microfermentaciones	77
5.3	Fermentación a nivel matraz	79
5.4	Fermentación a nivel fermentador	85
5.5	Análisis estadístico	87
5.5.1	Análisis de componentes principales en mosto	87
5.5.2	Correlaciones entre los análisis realizados en cerveza	89
5.5.3	Análisis de componentes principales en cerveza	90
VI.	Conclusiones y perspectivas	92
6.1	Conclusiones	92
6.2	Perspectivas	93
VII.	Bibliografía	95
VIII.	Anexos	100

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Producción de cerveza en el mundo durante 2002 (Fillaudeau <i>et al.</i> , 2005).	4
Tabla 2. Cervezas del tipo <i>Ale</i> (Castañé, 1997b; Galán <i>et al.</i> , 2004).	5
Tabla 3. Cervezas del tipo <i>Lager</i> (Castañé, 1997b; Galán <i>et al.</i> , 2004).	6
Tabla 4. Productos de lúpulo en la fabricación de cerveza (Varnam <i>et Sutherland</i> , 1997b).	16
Tabla 5. Composición química de los lúpulos comerciales (Hornsey, 2003).	17
Tabla 6. Estructura de los α - y β -ácidos del lúpulo (CICS, 2003).	18
Tabla 7. Composición típica del mosto como % de sólidos totales (García <i>et Quintero</i> , 2000).	31
Tabla 8. Análisis del mosto y cerveza terminada (Varnam <i>et Sutherland</i> , 1997b).	37
Tabla 9. Relación de compuestos de la cerveza con el sabor y aroma deseables (Varnam <i>et Sutherland</i> , 1997a).	38
Tabla 10. Porcentaje de atenuación de distintos tipos de cerveza.	40
Tabla 11. Principales características de una cebada malteable.	43
Tabla 12. Variedades de malta utilizadas y región de origen.	48
Tabla 13. Condiciones del caldo de cultivo (mosto) para microfermentaciones.	55
Tabla 14. Rangos de tiempo y temperatura en el proceso de pasteurización.	58
Tabla 15. Procedimiento para determinación de etanol en cerveza.	67
Tabla 16. Calidad de maltas seleccionadas para la elaboración de cerveza (desviación estándar) (Ruiz, 2006).	73
Tabla 17. Resultados de los análisis realizados al método 1 y 2 para la realización de mostos.	73
Tabla 18. Resultados de los análisis realizados al método 1 y 2 para la realización de mostos.	75
Tabla 19. Resultados de análisis realizados a los mostos de las maltas seleccionadas para la elaboración de cerveza.	79
Tabla 20. Resultados de análisis realizados a los mostos de las maltas seleccionadas para la elaboración de cerveza.	80
Tabla 21. Resultados de los análisis realizados a cervezas.	82
Tabla 22. Resultados de los análisis realizados a cervezas.	83
Tabla 23. Resultados de los análisis realizados a cerveza a nivel fermentador.	87
Tabla 24. Vectores característicos para las variables de las muestras de mosto.	88
Tabla 25. Vectores característicos para las variables de las muestras de cerveza.	90

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fragmento de una estructura de β -glucanos (http://www.sbu.ac.uk/water/images/hyglu.gif , 2005).	10
Figura 2. Estructura de los principales componentes polifenolicos del lúpulo (CICS, 2003).	12
Figura 3. Cono de lúpulo (Hornsey, 2003).	15
Figura 4. Diagrama generalizado de la elaboración de cerveza (http://www.cervezasdelmundo.com/cervezaselab.html , 2006).	25
Figura 5. Esquema generalizado de la producción de alcoholes superiores (Hornsey, 2003).	33
Figura 6. Esquema de la producción de diacetilo (Hornsey, 2003).	34
Figura 7. Esquema de las estructuras de un grano de cebada (http://www.sbu.ac.uk/images/hyglu.gif).	42
Figura 8. Fragmento de la estructura de una molécula de amilopectina (www.biociencias.com/revista/1/fig1.jpg).	44
Figura 9. Segmento de la estructura de la molécula de amilasa (www.biociencias.com/revista/2/fig1.jpg).	44
Figura 10. Esquema generalizado de la metodología realizada.	50
Figura 11. Procedimiento 1 para la elaboración de 150 ml de mosto (Vogel, 1999).	51
Figura 12. Procedimiento 2 para la elaboración de 150 ml de mosto (Mesones, 2000).	52
Figura 13. Diluciones de la muestra de levadura de cerveza para su conteo.	53
Figura 14. Modelo de los recipientes para fermentación a nivel matraz.	57
Figura 15. Modelo de recipientes para análisis de fermentabilidad.	63
Figura 16. Viscosímetro capilar (http://www.autotecnicatv.com.ar/MARCELOMARTINS/autos/viscosimetro.jpg).	65
Figura 17. Crecimiento de la levadura activada y no activada.	78
Figura 18. Porcentaje de etanol formado durante el proceso de elaboración de cerveza en 4 variedades de maltas.	81
Figura 19. Gráfico del porcentaje de etanol para la muestra de Esm1-H a nivel fermentador.	85
Figura 20. Distribución de componentes principales en mosto.	89
Figura 21. Distribución de componentes principales en cerveza.	91

I. INTRODUCCION

La cerveza es una de las bebidas más antiguas del mundo mencionándose en escritos sumerios que remontan desde 4000 años antes de cristo. Es un producto natural y saludable de baja graduación alcohólica, su composición y funcionalidad la hacen una bebida con valor nutricional y diferente al resto de las bebidas.

El sector cervecero ha tomado una posición económica estratégica. En el 2002 la producción de cerveza en el mundo excedió los 1.34 billones de hectolitros (Fillaudeau *et al.*, 2005).

Son diversos los cereales con los cuales se puede realizar la cerveza sin embargo, la cebada tiene un alto contenido en almidón que da origen al extracto fermentable. También contienen proteínas con los aminoácidos necesarios para el crecimiento de la levadura y sustancias nitrogenadas para la formación de espuma (García *et* Quintero, 2000).

La cebada es un cereal producido en casi todo el mundo, es el cuarto cereal cultivado a nivel mundial después del trigo, arroz y maíz. En México es de gran importancia económica y social, ya que los agricultores la prefieren por que su ciclo vegetativo es corto, así como su resistencia a la sequía a bajas temperaturas y a la sanidad (López, 2005).

En el año 2005 la producción nacional de este cereal fue de 457,856 toneladas (ciclo primavera-verano). Los Estados de Hidalgo y Tlaxcala son los principales estados productores de cebada.

Durante el ciclo primavera-verano 2005, el estado de Hidalgo produjo un total de cebada en grano de 194,793 toneladas. Por otra parte el Estado de Tlaxcala produjo 137,847 toneladas (SIACON, 2006). Sin embargo, no se han realizado estudios a las variedades que se producen en estos estados para evaluar la calidad de la malta. Por esta razón el objetivo de este trabajo es valorar el potencial cervecero de diferentes variedades de maltas realizadas con cebada producida en los Estados de Hidalgo y Tlaxcala.

II. ANTECEDENTES

La cerveza es una bebida natural alcohólica no destilada, elaborada a partir de la fermentación de una solución de cereales, principalmente cebada, donde el almidón ha sido parcialmente hidrolizado y se le ha conferido por infusión el sabor del lúpulo (García *et* Quintero, 2000). Las principales materias primas de la cerveza son la malta, la levadura, el lúpulo y el agua. La cebada es malteada y sirve como fuente de carbohidratos fermentables, proteínas, minerales, etc. La levadura que generalmente es utilizada es de la especie *Saccharomyces*, la cual produce etanol a partir de los carbohidratos. El lúpulo confiere el amargor, sabor característico y además posee propiedades antimicrobianas en la cerveza. En algunos países se adicionan otras fuentes de carbohidratos llamados adjuntos que reemplazan en parte a la cebada malteada (Varnam *et* Sutherland, 1997a).

2.1 Historia

La mención más antigua de la cerveza se hace en tablas de arcilla, cuya antigüedad se remonta a 4000 años antes de cristo. En ellas se rebela una fórmula de elaboración casera obteniéndose una bebida que transforma la gente en “alegre, extrovertida y feliz” (Galán *et al.*, 2004).

En el Paleolítico, las semillas recolectadas por el hombre fueron mezcladas con abundante agua y obtuvieron sopas claras y fermentadas de sabor ácido y amargo (Castañé, 1997a).

Los cereales por su dureza no pueden fermentarse por exposición al aire, deben ser triturados mezclándolos con un poco agua; si a lo anterior se añade que los granos han germinado durante su almacenamiento, producirán la primera cerveza que se conoce.

En el siglo XI, la aparición del gruyt representa un buen negocio para la Iglesia, que queda con la exclusiva de su fabricación y venta. Este producto era una mezcla de plantas de pantanos: mirlo de Brabante, ericáceas y romero silvestre que aumentaba el lapso de conservación de la cerveza y al mismo tiempo confería un sabor picante (Castañé, 1997a).

II. ANTECEDENTES

La introducción del lúpulo desplazó al gruyt, privando a la Iglesia de la importante fuente de ingreso que representaba. Por razones comerciales y políticas, los cerveceros y las autoridades civiles unieron esfuerzos y eliminaron el gruyt a favor del lúpulo (Castañé, 1997a).

A finales del siglo XV se promulga en Baviera la Ley de Pureza, que permite solamente el uso de malta de cebada, agua, lúpulo y levadura como materias primas en la fabricación de cervezas.

La industria cervecera experimentó un gran desarrollo con la revolución industrial, gracias a la aparición de la máquina de vapor y las líneas férreas, que permitieron el rápido abastecimiento de materias primas y una amplia distribución del producto.

En 1876 Louis Pasteur publicó “Etudes sur la bière” donde demostró que las “enfermedades” de la cerveza provenían de desarrollos microbianos y que la levadura era responsable de la fermentación alcohólica. Introdujo también la pasteurización como medio de conservación. En 1883, Hansen aisló algunas levaduras, las cuales tenían el punto óptimo de fermentación a 8-10 °C aunque seguían mostrando cierta actividad en las proximidades de 0 °C, lo que era fundamental en la maduración de la cerveza. Se les llamó “levaduras bajas” porque se depositaban en el fondo de la cuba de fermentación, al contrario de las “altas” que trabajaban entre 15-20 °C (Castañé, 1997a).

En México, los indígenas obtenían bebidas a base del maíz. En América, la primera cervecería fue construida en 1544 por Don Alfonso de Herrera, cerca de la ciudad de México (<http://www.florida.co.cr/historia2.htm>, 2006).

En 1845, el suizo Bernhard Bolgard, estableció en la Ciudad de México la primera cervecería de fermentación alta. La malta producida por esta fábrica era oscura, elaborada a partir de malta de cebada mexicana secada al sol a la que se le añadía piloncillo. Con esta técnica básica trabajaron los primeros cerveceros de México hasta la octava década del siglo XIX, cuando la Cervecería de Toluca comenzó a fabricar cerveza *lager*. El establecimiento de la red ferroviaria en México, marcó el inicio de la historia moderna de la industria cervecera en los

II. ANTECEDENTES

años 80 del siglo XIX (<http://www.gmodelo.com.mx/historia/cenmexico4.html>, 2006).

2.2 Producción de cerveza

En la industria de los alimentos, el sector cervecero ha tomado una posición económica estratégica. Tan solo en el 2002 la producción de cerveza en el mundo excedió 1.34 billones de hectolitros (FAO, 2003).

La cerveza es un producto muy popular con un promedio de consumo de 23 litros por persona al año. Además, es la quinta bebida más consumida en el mundo después del té, bebidas carbonatadas, leche y café (Fillaudeau *et al.*, 2005).

La industria cervecera es una antigua tradición y es un sector abierto a nuevos desarrollos en tecnología y progresos científicos. Sin embargo, este mercado esconde una importante heterogeneidad de capacidad productiva. Por ejemplo, en el 2002, los diez grupos cerveceros más grandes del mundo generaron 670×10^6 hl de cerveza (Tabla 1). En contraste, una micro-cervecería tiene una producción anual de 1000 hl (Fillaudeau *et al.*, 2005).

Tabla 1. Producción de cerveza en el mundo durante el 2002 (Fillaudeau *et al.*, 2005).

Área	Producción (10^6 hl)
América	457
USA	233
Brasil	69
México	55
Europa	475
Alemania	110
Rusia	65
Reino unido	55
Asia	337
China	230
Japón	43
Corea del sur	18
África	48
Sudáfrica	11
Oceanía	22
Australia	18
Mundo	1339

II. ANTECEDENTES

Hoy en día México se ubica entre los diez países con mayor producción de cerveza del mundo (Tabla 1) y exporta cada vez más al extranjero. En este sentido, nuestro país se ha establecido como productor de buena cerveza a nivel industrial.

2.3 Tipos de cervezas

Hay distintos criterios para establecer una clasificación de la cerveza, el más científico es tomando en cuenta el tipo de fermentación. Son clasificadas en cervezas de fermentación alta (*ales*) o de fermentación baja (*lager*). La diferencia entre ellas radica fundamentalmente en el tipo de levadura utilizada y la temperatura a la que se fermenta el mosto (Castañé, 1997a).

Cerveza Ale

En el inglés antiguo la palabra *ale*, designaba a las cervezas sin lúpulo. Actualmente, se realiza con malta oscura, levadura del género *Saccharomyces cerevisiae*, la cual se fermenta entre 14-20 °C en un máximo de 5 días y se deposita, al final en la superficie del líquido. Son cervezas con elevado sabor a lúpulo, un contenido medio de alcohol del 3-5% y un extracto seco primitivo (concentración de sólidos en mosto) del 7.5-12% (Castañé, 1997b) (Tabla 2).

Tabla 2. Cervezas del tipo *Ale* (Castañé, 1997b; Galán *et al.*, 2004).

Tipo de cerveza	Características
<i>Mild</i>	Es una cerveza de bajo extracto y alcohol, con carácter a malta y débilmente lupulada que puede ser de color pálido u oscuro.
<i>Bitter</i>	Es de carácter seco y lupulada con contenido de alcohol 3-5%, de color rojo ambarino.
<i>Ale Irlandesa</i>	De acento a malta fuerte, con una nota a mantequilla y color rojizo.
<i>Ale Dorada Belga</i>	Es color ambarino, lupulada y de gran complejidad alcohólica.
<i>Trapistas</i>	Se caracteriza por ser de fermentación alta. Algunas son secas.
<i>Ale americana</i>	Se distingue por un carácter intenso a flor de lúpulo y un paladar fresco.

II. ANTECEDENTES

Cerveza Lager

La palabra *lager* proviene del alemán “almacén”. En Gran Bretaña designa cualquier cerveza dorada y de fermentación baja. Se suelen elaborar con malta clara poco tostada.

Es realizada con levadura del género *Saccharomyces carlsbergensis*, actúan a temperaturas entre 6-8 °C durante 8-12 días, se deposita al final de la fermentación en el fondo. Algunos ejemplos de las cervezas del tipo *lager* se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. Cervezas del tipo *Lager* (Castañé, 1997b; Galán *et al.*, 2004).

Tipo de cerveza	Características
<i>Lager oscura</i>	Tienen un carácter de malta y especie, que no es ni dulce ni seco.
<i>Lager estilo de Viena</i>	De color bronce, rojo ambarino o cobrizo con una especial característica dulzona a malta.
<i>Pilsner</i>	Es el nombre original de la cerveza elaborada en la República Checa y que ahora ha dado origen a todo un grupo de cervezas comunes. Se distinguen por un buen carácter de malta, pero acentuado hacia el lúpulo en su forma floral y su final seco. Poseen un elevado amargor con un extracto primitivo alrededor de 11.5-12.5 y un alcohol del 5% en volumen.
<i>Dormunder Export</i>	Es un estilo de lager que se caracteriza por ser fuerte y con un gran cuerpo. Amaltada, seca y de cuerpo, tiene un contenido de alcohol de alrededor del 5.5% pero es menos aromática que una pilsner.
<i>Bock</i>	Es una cerveza muy maltada con un contenido alcohólico del 6.5% y un cierto dulzor. Tradicionalmente oscura de color. Las versiones que son más fuertes se denominan Doppelbock, tienen un nivel de alcohol superior al 7%.

2.4 Propiedades nutricionales de la cerveza

La cerveza es una bebida natural y saludable de baja graduación alcohólica, con características específicas en su composición y funcionalidad que la diferencia del resto de bebidas y le confiere un especial interés nutritivo (CICS, 2004a).

II. ANTECEDENTES

En la cerveza podemos encontrar diferentes compuestos (alcohol, folatos, fibra soluble, polifenoles, maltodextrinas) que influyen directamente sobre el metabolismo humano.

2.4.1 Alcohol

Se ha demostrado que el consumo moderado de alcohol tiene efectos positivos para el organismo, siempre que se trate de individuos sanos y que no consuman fármacos con los que el alcohol pueda interferir (Woods *et Bax*, 1982; Ockhuizen, 1988).

La cerveza, comparada con otras bebidas alcohólicas, contiene una baja graduación alcohólica; medio litro de vino equivaldría a 1.25 litros de cerveza.

El etanol es el alcohol que se encuentra mayoritariamente en esta bebida. Es soluble en agua y en lípidos, debido a estas propiedades difunde rápidamente a través de las membranas celulares. Al ser ingerida vía oral se absorbe rápidamente en el estómago y regiones altas del intestino delgado, distribuyéndose de inmediato a la totalidad del agua corporal. Es metabolizado mayoritariamente en el hígado. Una pequeña cantidad del etanol ingerido se elimina por medio de la respiración, sudoración y la orina (Castañé, 1997b).

El alcohol en cantidades moderadas, aumenta el colesterol asociado a las lipoproteínas de alta densidad (HDL). Este aumento del "colesterol bueno" reduce los riesgos de enfermedades cardiovasculares (White, 1996).

El consumo moderado de alcohol retrasa la aparición de la menopausia. Estudios científicos realizados en diversos países y con diferentes grupos sociales y étnicos de mujeres, dan como conclusión que el nivel de estrógenos en sangre es mayor en el caso de mujeres consumidoras moderadas de alcohol que en abstemias (Gavaler *et al.*, 1991; Ginsburg *et Shea*, 1995; Madigan *et al.*, 1998).

La ingesta de alcohol en cantidades excesivas produce efectos negativos sobre el comportamiento, trastornos hepáticos, pancreáticos y cardiovasculares, obesidad, trastornos del sistema nervioso (Ahmed, 1995) y del sistema digestivo (Gacko *et al.*, 1996) y de cirrosis hepática (Min *et al.*, 1997; Kauhanen *et al.*, 1997).

2.4.2 Folatos

El ácido fólico es una vitamina esencial para el mantenimiento de la vida celular, para el crecimiento y formación de nuevos tejidos, también participa en el metabolismo de los ácidos ribonucleicos (RNA) y desoxirribonucleicos (DNA), especialmente para la síntesis de las proteínas, la formación de la sangre. Esta vitamina se encuentra en la cerveza en cantidades comprendidas entre 1 y 10 microgramos/100 ml dependiendo del tipo de cerveza (CICS, 2004a).

2.4.3 Polifenoles

Son agentes reductores y estos protegen a las células del estrés oxidativo por lo que actúan como antioxidantes. También pueden actuar como quelantes de iones de metales o en terminación de cadenas de radicales libres. Interfieren con la oxidación de lípidos y otras moléculas cediendo átomos de hidrógeno.

Las glándulas de lupulina de las inflorescencias del lúpulo secretan ácidos amargos, humulonas, lupulonas, y prenilflavonoides. (CICS, 2003). Se han descrito diversos efectos químicos y biológicos de los ácidos amargos, en particular de la humulona y de los flavonoides del lúpulo, como son: antimicrobianos, antioxidantes, antiinflamatorios, hormonales, antimutagénicos, anticarcinogénicos, inhibidores de atrofia ósea en la osteoporosis, protectores de la oxidación de lipoproteínas de la sangre (Piendl, 1999, CICS, 2003).

2.4.4 Fibra soluble

Los carbohidratos no digeribles forman parte de la fibra soluble de la cerveza. Esta fibra es importante para la salud, pues evita el estreñimiento, disminuye la incidencia de cáncer de colon y rebaja la colesterolemia (Hughes *et al.*, 1998).

La fibra soluble de la cerveza está constituida por β -D-glucanos y arabinosilanos (Schwarz *et Jee-Yup-Han*, 1995), procedentes del endospermo de los granos de cebada.

2.4.5 Maltodextrinas

Las maltodextrinas contenidas en la cerveza están constituidas por unidades de glucosa enlazadas entre sí por enlaces α (1→4) y α (1→6) (Kumara *et al.*, 1995). Proceden de la depolimerización del almidón por las amilasas del grano de cebada y permanecen en el mosto y cerveza por la falta de actividad enzimática desramificante, que se producen en el proceso de germinación del grano. Su concentración habitual es del 2.6-3.5% del peso de la cerveza.

Cuando se formulan bebidas con glucosa, ésta pasa rápidamente a la sangre lo que produce una fuerte subida de la concentración de azúcar que induce la secreción de las hormonas que transforman esta sustancia. Si la subida ha sido elevada, las hormonas metabolizan y agotan rápidamente el substrato y permanecen en la sangre por algún tiempo, dando lugar a una hipoglucemia, que es justamente el cuadro que trata de evitarse con la ingestión de la bebida. La formulación de bebidas con maltodextrinas corrige este efecto, puesto que la maltodextrina se desdobla lentamente liberando unidades de glucosa que pasan progresivamente a la sangre, y dan lugar a una concentración de glucosa en sangre menos elevado (Cerveceros de España, 2001).

2.5 Constituyentes de la cerveza

Cualquier tipo de cerveza está constituida por más de 400 componentes. Muchos de estos componentes proceden de las materias primas y no han sufrido modificaciones en el proceso de elaboración; otros constituyentes, entre los que se encuentran el CO₂ y el alcohol etílico, son consecuencia de la transformación de las materias primas (Cerveceros de España, 2001).

Los constituyentes de la cerveza son divididos en dos grupos: componentes volátiles y no volátiles. Los primeros tienen una alta presión de vapor y son responsables del aroma y "bouquet", se forman fundamentalmente en la etapa de fermentación. Los componentes volátiles se encuentran concentrados en el espacio de cabeza de los envases de cerveza y el grupo incluye alcoholes, ésteres, aldehídos, cetonas, ácidos orgánicos, compuestos azufrados, aminas,

II. ANTECEDENTES

compuestos fenólicos volátiles, algunos hidrocarburos y lactosas (Hough *et al.*, 1982).

Los compuestos no volátiles incluyen (Sendra *et Carbonell*, 1999):

→ *Compuestos inorgánicos.* Alcanzan una concentración de 0.5-2 g por litro. Los compuestos minerales influyen sobre el sabor de la cerveza. Los cloruros dan sensación de plenitud de sabor, los sulfatos sequedad, los carbonatos y el sodio producen efectos muy variados en el sabor, mientras que el magnesio puede conferir un sabor desagradable. Por otra parte el hierro, plomo, cobre, zinc y estaño pueden producir turbidez en cervezas. La mayoría de estos componentes proceden exclusivamente de las materias primas de partida, especialmente de la cebada malteada y de los cereales usados como adjuntos.

→ *Carbohidratos.* Normalmente, las cervezas contienen un 2.5-4% de carbohidratos, en forma de mono-, di- y trisacáridos, dextrinas y β -glucanos. Proceden de la degradación del almidón por los enzimas de la malta y no han sufrido modificaciones durante la fermentación del mosto. Actúan como portadores de sabor, retienen el CO_2 formado en la fermentación, participan en la formación de la espuma y tienen valor nutritivo (4 cal/g). Entre los azúcares más sencillos se encuentran la ribosa, arabinosa, xilosa, glucosa, fructosa y galactosa; entre los disacáridos la maltosa, isomaltosa, nigerosa y maltulosa, y los trisacáridos la panosa, isopanosa y maltotriosa. Además también contienen pequeñas cantidades de glicerol y mioinositol.

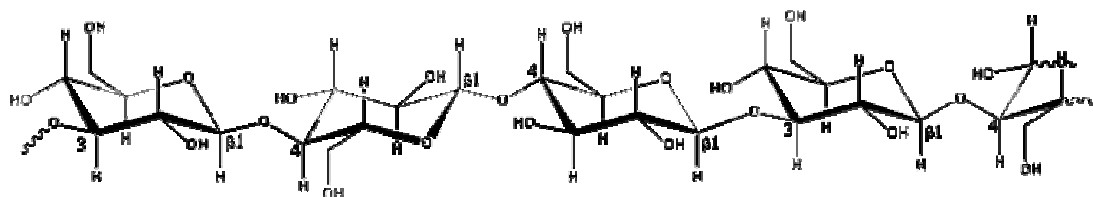


Figura 1. Fragmento de una estructura de β -glucanos (<http://www.sbu.ac.uk/water/images/hyglu.gif>, 2005).

Los β -glucanos (Figura 1) son cadenas lineales constituidas por moléculas de glucosa unidas entre sí por enlaces β (1 \rightarrow 3) y β (1 \rightarrow 4). Proceden de la pared

II. ANTECEDENTES

celular del endospermo del grano de cebada. Su concentración en la cerveza es entre 5-700 mg/l y su peso molecular varía en el intervalo 30000–300000 (Sendra *et al.*, 1989). Aunque en peso sólo suponen como máximo un 2% de las dextrinas contenidas en la cerveza, su participación en las propiedades del mosto y cerveza es importante, pues aumentan sensiblemente la viscosidad, dificultan las operaciones de filtración y pueden producir precipitados gelatinosos en cervezas envasadas. Por lo que en muchos casos es frecuente la adición de β -glucanasas comerciales para completar su despolimerización hasta niveles donde no causen estos problemas en las industrias cerveceras.

También aparecen entre los carbohidratos algunas pentosanas, formadas por cadenas de xilosa y arabinosa, que junto con los β -glucanos fueron parcialmente despolimerizadas por los enzimas producidos en el malteado del grano.

→ *Componentes nitrogenados.* Un litro de cerveza contiene habitualmente entre 1.9-6.3 g de componentes nitrogenados, que incluyen aminoácidos, péptidos, polipéptidos, proteínas, ácidos nucleicos y productos de degradación. No obstante algunos tipos de cerveza de alto extracto original llegan hasta 11.5 g de sustancias nitrogenadas (Hough *et al.*, 1982). Proceden fundamentalmente de los cereales y se modifican cualitativa y cuantitativamente en el proceso de elaboración.

Los constituyentes nitrogenados de la cerveza pueden afectar al aroma, sabor, color, formación y estabilidad de la espuma, estabilidad biológica de la cerveza y pueden dar lugar a enturbiamientos (Sendra *et Carbonell*, 1999).

→ *Compuestos fenólicos.* La cerveza contiene entre 150 y 350 mg/l de diversos compuestos fenólicos, dos tercios de los cuales proceden de la malta y el resto del lúpulo (Charalambous *et Bruckner*, 1977). Una fracción minoritaria es volátil y contribuye al aroma de la cerveza; el resto son polifenoles no volátiles e influyen sobre el color, sabor y estabilidad coloidal de la cerveza. La polimerización de compuestos fenólicos con proteínas da lugar a complejos insolubles que pueden ocasionar enturbiamientos en la cerveza. Entre los grupos

II. ANTECEDENTES

de polifenoles presentes en cerveza destaca por su abundancia el grupo de los antocianógenos (hasta 100 mg/l), seguido por los flavonoides (catequinas, hasta 20 mg/l) y el de los flavonoles (hasta 10 mg/l) (Sendra *et Carbonell*, 1999).

El isoxantohumol (Figura 2) es un flavonoide de tipo flavanona producido durante el proceso de fabricación de la cerveza por la isomerización de xantohumol. La cerveza representa uno de los productos de la dieta más importantes en cuanto al contenido de prenilflavonoides en términos cuantitativos (Stevens *et al.*, 1999).

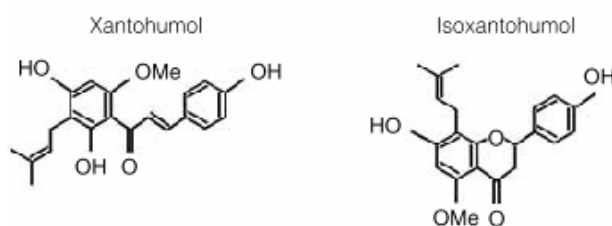


Figura 2. Estructura de los principales componentes polifenolicos del lúpulo (CICS, 2003).

→ *Alcohol etílico.* Es uno de los constituyentes más abundantes en la cerveza. Se produce junto con el CO₂ en la fermentación a razón de 1 g de alcohol por cada 1.6 g de substrato hidrocarbonado transformado. Participa de forma importante en el sabor, su concentración depende del extracto original del mosto. Aunque existen cervezas con muy bajo contenido alcohólico (<0.5%) y otras de graduación similar a la de un vino común (~11%), la mayoría de las tablas de composición de cervezas dan valores próximos al 5% (Bulinski *et Kot*, 1988; Bulinski *et al.*, 1986).

→ *Vitaminas.* La cerveza contiene pequeñas cantidades de vitaminas del grupo B: tiamina, riboflavina, ácido pantoténico, piridoxina, biotina, cianocobalamina y niacina. También contiene ácido fólico y sus derivados (folatos, conteniendo valores habituales de entre 20-44 mg/l). Proceden de la malta, incrementándose en la germinación de la cebada y sobreviviendo al tostado (Mueller, 1993).

→ *Otros compuestos.* La cerveza contiene una pequeña proporción de lípidos, procedentes de la malta, adjuntos y lúpulo, así como resultantes del metabolismo

II. ANTECEDENTES

de la levadura en el proceso de fermentación. Son fundamentalmente ácidos grasos (0.33-0.76 mg/l), mono-, di- y tri-glicéridos (en conjunto hasta 0.4 mg/l), junto a trazas de esteroides y fosfolípidos. Su contenido afecta negativamente a la formación y estabilidad de la espuma, pero puede contribuir positivamente al aroma de la cerveza.

También contiene pequeñas cantidades de ácidos orgánicos (cítrico, fumárico, láctico, málico, pirúvico, succínico, glutárico, oxálico, tartárico, etc.), que afectan al sabor y la estabilidad de la cerveza. Proceden de la malta y de la actividad metabólica de la levadura (Sendra *et* Carbonell, 1999).

2.6 Agua

Es un constituyente importante de gran importancia, debe ser potable y presentar una composición iónica adecuada. Se puede afirmar que cada tipo de cerveza exige agua de características propias. Por ejemplo, algunas cervezas inglesas se elaboran con agua rica en sulfato de calcio (yeso) y las checoslovacas de Pilsner se preparan con agua de bajo contenido en sales.

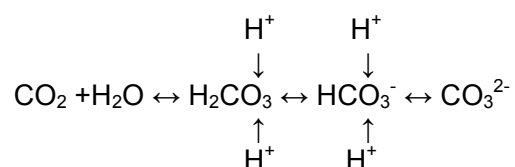
Existen dos tipos de dureza del agua permanente y temporal. La primera es causada por CaSO_4 , CaO , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, MgO y $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, mientras que los carbonatos de calcio y magnesio son responsables de la última. La dureza temporal es uno de los principales problemas del agua, debido a que la disociación de los bicarbonatos determina un aumento del pH en la maceración, y puede eliminarse parcialmente por ebullición, depositándose como sedimento el CaCO_3 . La dureza total de una muestra de agua, es la suma de ambas durezas citadas anteriormente y se calcula valorando 100 ml de agua con EDTA 0.02 M hasta el punto final del indicador.

En general, los principales iones presentes en las aguas de cervecería son HCO_3^- , CO_3^{2-} , Cl^- , SO_4^{2-} , K^+ , Na^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} . También se encuentran presentes en menor cantidad o trazas de otros elementos. De los iones anteriores, HCO_3^- , CO_3^{2-} y Ca^{2+} pueden considerarse los de mayor importancia, especialmente en términos de su capacidad para incidir sobre el pH.

II. ANTECEDENTES

El efecto más deseable del Ca^{2+} está relacionado con su capacidad para reaccionar con el PO_4^{3-} presente en la malta, para formar el compuesto terciario $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, que es relativamente insoluble. Esta reacción libera H^+ que reduce el pH de la mezcla en maceración. Los iones magnesio no tienen el mismo efecto durante la maceración, debido a que el $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ es más soluble que su homólogo cálcico.

Los efectos más indeseables de carbonatos y bicarbonatos se indican mejor por la siguiente ecuación:



En lo que respecta al pH de la mezcla, es indispensable que la reacción sea dirigida de izquierda a derecha, para que libere H^+ contribuyendo a un descenso de pH. El pH del agua de maceración deberá ser de 5.4. Este valor es el óptimo para la actividad aminolítica por consiguiente, la degradación del almidón es eficiente (sacarificación) (Hornsey, 2003).

2.7 Lúpulo

El lúpulo empleado habitualmente en cervecería, *Humulus lupulus*, pertenece a la familia Cannabinaceae de plantas con flores, la cual a su vez, pertenece al orden Urticales.

Es una planta perenne de la especie dioica (los órganos masculinos y femeninos se encuentran en plantas diferentes), siendo el tamaño de la inflorescencia, la diferencia morfológica más evidente entre las plantas macho y hembra. La cabeza de la flor hembra forma conos y mide de 15-20 mm, mientras que la flor macho esta muy ramificada y tiene unos 5 mm de diámetro.

II. ANTECEDENTES

Desde el punto de vista cervecero, la parte útil de la planta de lúpulo es el cono femenino, que tiene todos los componentes necesarios (Figura 3).

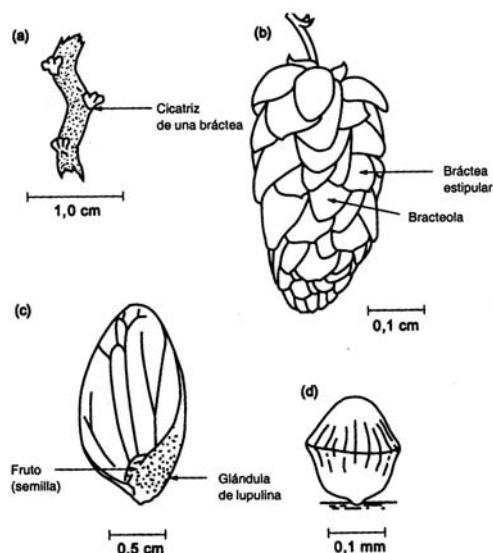


Figura 3. Cono de lúpulo (Hornsey, 2003).

Disección (a) del eje central del cono del lúpulo, (b) estróbito maduro o cono, (c) bracteola aislada mostrando una glándula de lupulina y (d) disección de una glándula de lupulina.

Si la flor hembra es fertilizada por polen de una planta macho, se desarrolla una sola semilla. Esta estará envuelta en un pericarpio, cuya capa externa es membranosa y rica en resina. Estas resinas no están presentes en las plantas sin semilla y, consecuentemente, el amargor potencial de los lúpulos vírgenes será menor que el de los lúpulos con semilla. Los lúpulos sin semillas tienen una relación mayor de aceites esenciales (aroma) a resinas (amargor), y por lo tanto son preferidos si se necesita aportar a la cerveza características aromáticas (Hornsey, 2003).

En general el que compra el lúpulo está interesado en aquellas variedades que son particularmente ricas en α -ácidos, ofrecen un aroma atractivo o son adecuadas desde ambos puntos de vista. Se les conoce como lúpulos aromáticos y de doble función. Aquellas variedades ricas en resinas amargas son más pobres en sustancias aromáticas y viceversa, por ello es frecuente usar mezclas de lúpulos (Catañé, 1997).

Productos del lúpulo

Muchos fabricantes de cerveza usan conos de lúpulo deshidratados en su estado natural. Una elevada cantidad de lúpulo es transformada en productos comerciales como: polvos de lúpulo, pellets comprimidos y extractos de lúpulo (Hornsey, 2003).

En la tabla 4 se resumen algunas presentaciones de productos comerciales del lúpulo.

Tabla 4. Productos de lúpulo en la fabricación de cerveza (Varnam *et Sutherland.*, 1997b).

Lúpulo en polvo y en pastillas

Conos de lúpulos secos y molidos con molinos de martillos, envasados en polvo o como pastillas.

Lúpulos enriquecidos en polvo y en pastillas

Lúpulo en polvo concentrado mecánicamente por cribado a una temperatura, máxima de -20 °C. A tales temperaturas las glándulas de lupulina están rígidas y se separan fácilmente del material celulósico. Contiene un 75% del peso original del lúpulo y un 90-95% de α -ácidos.

Lúpulos especiales en polvo y pastillas

- (a) Incorpora extracto del lúpulo
- (b) Incorporan sales inorgánicas

Extractos de lúpulo

Extraídas con uno o varios solventes con ningún o con el mínimo cambio de los componentes extraídos.

Extractos de lúpulo especiales

- (a) incorporan aceite de lúpulo
- (b) incorporan sales inorgánicas

Extractos de lúpulo isomerizados

α -ácidos aislados e isomerizados obtenidos por:

- (a) Tratamiento del extracto líquido con el álcali.
- (b) Tratamiento de las sales metálicas de los α -ácidos.
- (c) Isomerización y reducción simultánea con barohidruros.

Aceites de lúpulo:

- (a) Para lupulados tradicionales –aceitres esenciales (concentrados o en emulsión acuosa) obtenidos del lúpulo por arrastre en corriente de vapor.
 - (b) Para lupulados tardíos –fracción rica en aceites obtenida por extracción con CO₂ líquido.
 - (c) Para lupulados en seco –aceites fraccionados mediante destilación a baja temperatura y a presión reducida o con extracción con CO₂ líquido.
-

El lúpulo en todas sus formas es muy sensible al almacenarlo, por lo que debe guardarse en un lugar fresco y seco (0 °C). En otro caso, no sólo pierde gran parte de su amargor, si no que puede descomponerse (Vogel, 1999).

II. ANTECEDENTES

Sin embargo, también puede utilizarse el lúpulo en flores enteras, es una forma más pura de utilizarlo. Este método es usado en las micro-cervecerías americanas especializadas en cervezas de alta calidad con sabor y aroma. La utilización de flores enteras obliga a modificar los equipos de elaboración para que las flores se puedan eliminar fácilmente tras la cocción del mosto. Estas flores son utilizadas a su vez para filtrar las proteínas coaguladas del mosto cocido (Mesones, 2000).

Química del lúpulo

En términos generales, una buena muestra de lúpulo comercial debe tener la composición que se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 5. Composición química de los lúpulos comerciales (Hornsey, 2003).

Componente	% de la muestra
Agua	10.0
Resinas totales	15.0
Aceites esenciales	0.5
Taninos	4.0
Pectina	2.0
Lípidos y ceras	3.0
Monosacáridos	2.0
Proteínas (Nx6.25)	15.0
Aminoácidos	0.1
Celulosa y lignina	40.4
Contenido en ceniza	8.0

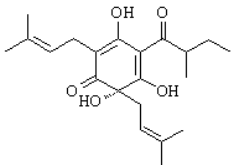
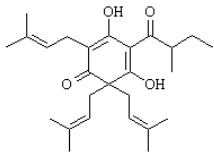
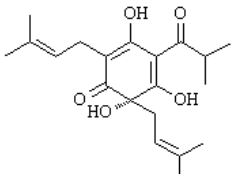
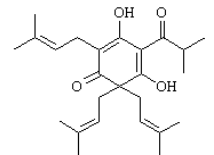
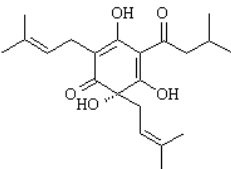
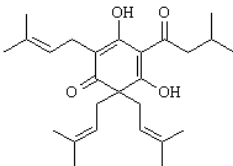
Las resinas se clasifican en base a su solubilidad en diversos disolventes orgánicos. El contenido total de resinas es aquella fracción que es soluble tanto en metanol frío como en éter dietílico. Si la resina total se dispersa en hexano, sólo se disuelve realmente parte de ella, llamada resina blanda y la fracción insoluble se designa resina dura.

La mayoría de amargor propio del lúpulo está concentrado en la fracción de resina blanda, la cual a su vez se divide en α -ácidos y β -ácidos. Los principales α -ácidos son humulona, cohumulona y adhumulona (Tabla 6) y los β -ácidos más importantes son lupulona, colupulona y adlupulona (Hornsey, 2003). A medida que

II. ANTECEDENTES

el lúpulo envejece y se oxida, aumenta la proporción de resinas duras a causa las transformaciones de los α - y β -ácidos. La humulona, principal α -ácido, constituye el principal componente amargo de la cerveza mientras que las lupulonas (β -ácido) son menos importantes para la elaboración de cerveza.

Tabla 6. Estructura de los α - y β -ácidos del lúpulo (CICS, 2003).

α -ácidos	β -ácidos
<p>Adhumulona</p> 	<p>Adlupulona</p> 
<p>Cohumulona</p> 	<p>Colupulona</p> 
<p>Humulona</p> 	<p>Lupulona</p> 

Durante la cocción del lúpulo en el mosto, los α -ácidos se reorganizan o isomerizan generándose iso α -ácidos o isohumulonas, son más amargos y solubles que los α -ácidos. Los β -ácidos tienden a oxidarse durante la ebullición, para dar una serie de derivados amargos y no amargos.

Los aceites esenciales de los conos de lúpulo son una mezcla compleja de cientos de componentes. Algunos son extremadamente potentes, como el tiohexanoato de metilo. Los aceites influyen tanto en el sabor como en el aroma de la cerveza.

II. ANTECEDENTES

Cuando la cerveza es expuesta a la luz solar, los α -isoácidos reaccionan con los compuestos sulfurados presentes en la cerveza para dar un sabor desagradable debido al 3 metil-2-buten-1-tiol (Hough, 1990).

2.8 Levadura

La fermentación alcohólica es la transformación del azúcar en alcohol y dióxido de carbono producidos por enzimas generados por levaduras. Las levaduras son hongos que pertenecen al grupo Eumycota (hongos verdaderos), además caen dentro de la subdivisión Ascomycotina (Hornsey, 2003).

En la industria cervecera utiliza levaduras del género *saccharomyces*, del que se conocen más de 30 especies.

Las diferencias existentes entre la estructura química de las capas exteriores de la células de levaduras son las responsables de que algunas cepas suban a la superficie hacia el final del proceso (Hornsey, 2003). Las levaduras de fermentación alta tienden a ser algo hidrófobas y agruparse en el menisco, lo que no hacen las de fermentación baja (Hough, 1990).

Reproducción de la levadura

Los *saccharomyces* spp., pertenecen a la familia saccharomycetaceae y se distinguen de los demás por sus características morfológicas y fisiológicas. Se reproducen asexualmente por gemación vegetativa (Hornsey, 2003).

Al desarrollarse y dividirse las células al periodo entre el fin de una división y el de la siguiente se llama ciclo de multiplicación celular. En el ciclo celular existen dos fases: la fase de crecimiento y la de división. La fase de crecimiento a su vez se divide en tres periodos, cada cual con sus propios acontecimientos moleculares característicos. La siguiente fase es llamada G1, momento de la fase en que la célula es "joven" y acaba de terminar la mitosis. El segundo periodo de crecimiento es la fase S, en ella tiene lugar la multiplicación de DNA y material cromosómico. La manifestación morfológica de esta fase en la levadura es el aumento de tamaño de la nueva célula. Cuando es terminada la síntesis de DNA, la levadura

II. ANTECEDENTES

entra en la fase de G2 ésta termina hasta que el núcleo ha emigrado hasta el estrechamiento entre la célula madre y la yema e inmediatamente entra la fase M, en la que los cromosomas se duplican hasta que la yema se separa e independiza, para comenzar una nueva fase G1 (Hornsey, 2003).

Necesidades nutritivas de la levadura

Las necesidades para el desarrollo global de las levaduras de cervecería son:

- Una fuente carbonada de energía, conocida como azúcares fermentables.
- Una fuente de nitrógeno.
- Factores de crecimiento (vitaminas) e Iones inorgánicos.
- Oxígeno (durante las primeras fases de fermentación).
- Agua.

Algunos carbohidratos son captados pasivamente por la célula de forma intacta como glucosa y fructosa, y otros son hidrolizados fuera de la célula, siendo absorbidos los productos de degradación (sacarosa), mientras que otros son transportados activamente a través de la membrana e hidrolizados en el citosol de la célula.

El modelo general de consumo de azúcares fermentables del mosto durante la fermentación es: sacarosa→glucosa→fructosa→maltosa→maltotriosa, aunque existan diferencias entre cepas de levaduras.

Las levaduras cerveceras no pueden asimilar el nitrógeno elemental, ni los iones nitrato. El nitrógeno requerido para la síntesis de los constituyentes celulares esenciales, procede de los aminoácidos y de los di- y tri-péptidos del mosto.

En general, el oxígeno se es uno de los factores a evitar durante el proceso de fermentación. La levadura no puede sintetizar esteroides y ácidos grasos insaturados en ausencia de oxígeno. Estos dos compuestos están presentes en el mosto pero en cantidades pequeñas. Por lo que tiene que haber suficiente cantidad de oxígeno durante las primeras fases de la fermentación que facilite la síntesis de membrana necesaria para la multiplicación celular (Hornsey, 2003).

Floculación

Es definida como la agregación no sexual de células en grupos, dispersables por EDTA o azúcares específicos y su separación subsiguiente del medio (Stratford, 1992). Las propiedades o pérdida de floculación de un cultivo de levadura cervecera, es uno de los principales factores considerados como características importantes para la fermentación del mosto. Se ha observado mejor calidad en la cerveza con el uso de levaduras floculantes que con las que no lo hacen.

Es posible que la levadura deje de agruparse, haciéndose por tanto muy trabajosa su remoción del mosto fermentado si no se tiene una centrifuga. A consecuencia de esto se dificulta la obtención de una cerveza transparente, se obtienen sabores indeseables además de obtener cervezas más atenuadas.

Las células muy floculantes se separan rápidamente del mosto, por lo que tienen a producir cervezas poco fermentadas (poco atenuadas) y, por tanto, más dulces. A causa del contacto prolongado de las células con la cerveza no se logra su sabor amargo característico. Además la excreción de productos por la levadura y los cambios autolíticos que ésta sufre proporcionan sabores amargos a esta bebida.

La cerveza poco atenuada es muy rica en nutrientes (carbohidratos, sales, factores de crecimiento, compuestos nitrogenados como aminoácidos), por lo que es más fácil la contaminación por otros microorganismos (Mateu *et* Abreu, 2004).

El fenómeno de la floculación es inhibido por los azúcares y favorecido por las sales, es afectado por diversos factores como son:

→ *Factores físicos.* Algunos factores que influyen sobre éste fenómeno es la fortaleza de la unión de la floculación, atracción entre células, carga superficial, componentes hidrofóbicos e hidrofílicos, tamaño y movimiento de las partículas causado por movimiento browniano y agitación mecánica.

Los agregados se unen por fuerzas de Van der Waals. En los fermentadores se emplea agitación para incrementar la frecuencia de la colisión entre las células y por tanto aumentar la floculación. Una agitación demasiado fuerte provoca turbulencia quedando separadas las células unas con otras provocando la

II. ANTECEDENTES

disminución este fenómeno. La agitación brinda a las células el momento suficiente para que ocurra el contacto entre las lecitinas y los carbohidratos.

→ *Factores químicos.* La floculación en levadura depende de las propiedades de la pared celular, éstas se encuentran constituidas en dos capas: una interna de glucano y una externa de fosfomano. Existen dos hipótesis en cuanto a las bases moleculares de la floculación en levaduras. Todas coinciden en la necesidad de cationes bivalentes, especialmente el Ca^{2+} (Taylor *et* Oton, 1975; Stratford, 1992). Los agentes quelantes al unirse con iones divalentes como el Ca^{2+} afectan negativamente a la floculación. El EDTA es un agente quelante y la cantidad requerida para cada sepa es específica.

→ *Factores biológicos.* La edad fisiológica de las células influye de forma considerable en la floculación. Este fenómeno también depende de la concentración de células en suspensión.

2.9 Malta

Es uno de los ingredientes de partida más importantes en la elaboración de cerveza. La cebada sin tratar no serviría para la fabricación de bebidas alcohólicas, ya que la levadura sólo puede producir alcohol a partir de azúcares sencillos y la cebada contiene una mínima cantidad de azúcar y una elevada cantidad de almidón. Éste es la reserva para el embrión de la futura planta, por lo cual debe degradarse primero en la semilla con ayuda de enzimas. Éstos se producen en la germinación y su objetivo es transformar el almidón en azúcares simples (Vogel, 1999).

El proceso de malteado se inicia con operaciones de limpieza y selección de los granos, posteriormente se colocan a remojo durante algunos días, hasta que la humedad se incrementa desde 10% hasta 41-45%.

El grano mojado se drena y mantiene en las condiciones óptimas de temperatura, humedad y aireación para que germine. La germinación es un proceso fisiológico que requiere de oxígeno, por lo tanto la aireación es importante y a la vez eliminar el CO_2 que se produce. El movimiento es importante porque permite una

II. ANTECEDENTES

adecuada respiración del grano, ayuda a mantener homogénea la temperatura y evitar que las raicillas que van creciendo se trencen entre los granos. La germinación procede hasta que la plúmula de la mayoría de los granos alcanza una longitud de aproximadamente $\frac{3}{4}$ de la del grano.

En este momento se obtiene lo que se conoce como malta verde, la cual es sometida al de secado con corrientes de agua caliente. Esta operación tiene como objeto detener la germinación sin destruir las enzimas producidas durante la germinación y provocar las reacciones que conllevan a la formación de sustancias oscuras y sabores característicos, importantes para las cualidades de la cerveza.

Las temperaturas típicas de horneado son: para maltas *lager* entre 55-70 °C, y para maltas *ale* entre 60-177 °C. Generalmente la humedad de la malta es de 3-6% al final del proceso de horneado (García *et* Quintero, 2000).

2.9.1 Transformación de la cebada durante el malteado

Durante el malteado se incrementa considerablemente el contenido de enzimas aminolíticas, las cuales en el proceso de elaboración de cerveza van a degradar el almidón del mosto generando las cantidades necesarias de azúcares sencillos para llevar a cabo la fermentación.

Una gran cantidad de enzimas son sintetizadas durante la germinación del grano, siendo las más relevantes en el proceso de elaboración de cerveza las α y β amilasas, la α -glucosidasa, las glucanasas, las proteasas y las pentosanas (García *et* Quintero, 2000).

La α -amilasa ataca al azar, hidrolizando cualquier enlace α 1-4. Los productos de esta enzima son fundamentalmente carbohidratos complejos denominados dextrinas ramificadas y lineales. Se produce durante el malteado como respuesta al ácido giberélico, éste es una hormona vegetal natural producido por el embrión durante la germinación y es transportado durante el proceso de malteado a la capa de aleurona. Al final del malteado diversas enzimas líticas (degradativas) han sido trasportadas al endospermo donde modificarán la textura del almidón de una masa amorfa a un sustrato más disgregable.

II. ANTECEDENTES

La β -amilasa ataca a moléculas de almidón en sus extremos, rindiendo unidades de β -maltosa obteniéndose moléculas ramificadas. Esta enzima libera también dextrinas ramificadas pero su principal producto es la maltosa (Hornsey, 2003; Hough, 1990).

La excesiva hidrólisis del almidón proporciona extractos pobres para cervecería.

Un aspecto importante durante el malteado, es la degradación de los β -glucanos de la pared celular del endospermo y la exposición de las partes proteicas que rodean a los gránulos de almidón, al ataque de las proteasas.

La cebada en germinación también contiene peptidasas que dividen aminoácidos o péptidos simples de las proteínas (García *et* Quintero, 2000).

2.9.2 Selección de la malta para la elaboración de cerveza

Los cerveceros establecen especificaciones muy ajustadas y no hay una norma que indique cuales son los parámetros en los que el cervecero debe enfocarse, ya que esto dependerá del tipo de cerveza que se realice. Estas especificaciones dependen de los métodos analíticos. De manera general el cervecero necesita conocer: contenido en agua, proteína o nitrógeno total, actividad enzimática, fermentabilidad del extracto, color, contenido en β -glucanos, entre otras (Hough, 1990).

2.10 Elaboración de cerveza

El proceso de elaboración de cerveza comienza con la molienda de la malta, consiguiendo partículas de un tamaño que sea rápidamente atacado por las enzimas. No deben ser demasiado pequeñas ya que genera problemas de drenaje del mosto. Si las partículas son excesivamente grandes, resultará afectada la enzimólisis, siendo las velocidades de conversión lentas e incompletas (Hornsey, 2003).

II. ANTECEDENTES

En la figura 4 se ilustra de manera general la elaboración de cerveza a nivel industrial.

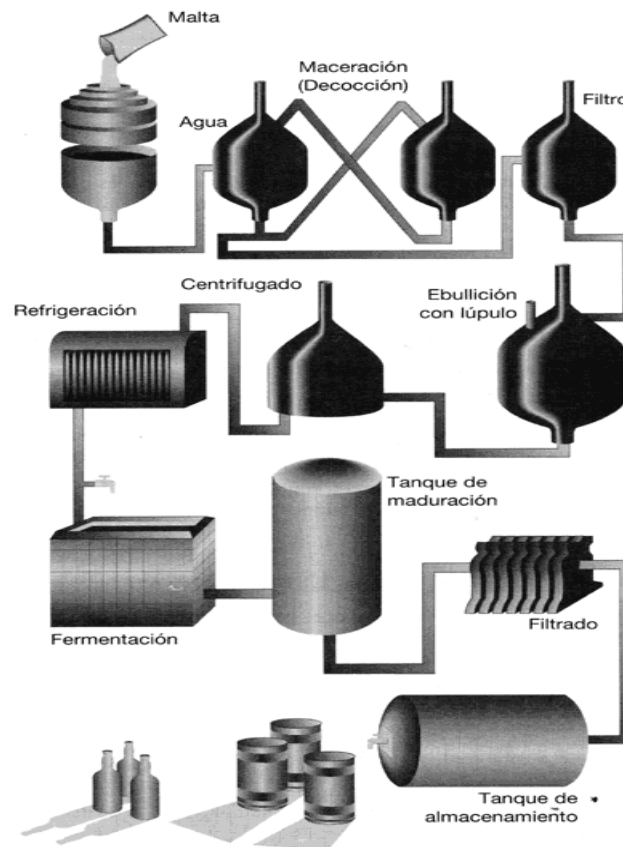


Figura 4. Diagrama generalizado de la elaboración de cerveza (<http://www.cervezasdelmundo.com/cervezaselab.html>, 2006).

2.10.1 Maceración

Es la extracción de los componentes solubles de la malta molida, ésta se mezcla con agua. En la figura 4 se ilustra de manera general la elaboración de cerveza a nivel industrial.

caliente agitando lentamente para producir un extracto fermentable es decir, se disuelven en ella los almidones y demás componentes solubles, los cuales permiten el adecuado crecimiento de la levadura y la producción de cerveza obteniendo, así buenos rendimientos (Mesones, 2000).

II. ANTECEDENTES

Durante la maceración se llevan a cabo distintos tratamientos térmicos, incrementando la temperatura a distintos rangos de tiempo, hasta llegar a temperaturas de 76 °C, con el fin de activar las enzimas.

Al conjunto de los componentes de la malta disueltos en el agua se le denomina extracto. La maceración provoca en los gránulos de malta molturada los siguientes efectos (Hornsey, 2003):

(a) En las primeras etapas de maceración de la malta (45-60 °C) actúan principalmente las proteasas y β -glucanasas. Las proteasas degradan proteínas con dos objetivos; por un lado, eliminar un exceso de proteínas que luego pueden provocar turbiedades en la cerveza y por el otro, mantener algunas proteínas para conseguir que la cerveza final disponga de cuerpo y de espuma estable.

Las β -glucanasas son activadas a 45 °C y se inactiva a 60 °C, hidrolizan enlaces β (1→3) y α (1→4) de los polímeros de glucosa conocidos como glucanos. La degradación de estos polímeros y de las pentosanas es importante para disminuir la viscosidad del mosto. También estabilizan suspensiones coloidales en la cerveza, por lo que su degradación es importante para reducir la turbiedad del producto (García *et* Quintero, 2000).

(b) El almidón se encuentra en pequeñas celdas, éstas al ser humedecidas por el agua se hinchan hasta llegar a reventar soltando su contenido. Es hidrolizado por varias enzimas; la α -amilasa es una endoenzima que hidroliza los enlaces α (1→4) de la amilosa y la amilopectina lo realiza en distintos puntos dentro del polímero, pero alejados de los puntos de ramificación (enlaces α (1→6)) y de los extremos de la cadena. El producto de esta enzima son las dextrinas y en menor cantidad oligosacáridos, su temperatura óptima se encuentra entre los 70 °C (Mesones, 2000). La β -amilasa hidroliza también los enlaces α (1→4), pero en este caso se trata de una exo-enzima que actúa a partir de los extremos no reductores de la cadena, liberando en cada corte una molécula de maltosa, su temperatura óptima se encuentra entre los 60 °C. En cada corte de la α -amilasa se genera un nuevo extremo no reductor donde la β -amilasa puede actuar. La α -

II. ANTECEDENTES

glucosidasa hidroliza enlaces α (1→4) como los α (1→6) pero tiene mucha mayor afinidad por las cadenas cortas por lo tanto actúa más bien sobre oligosacáridos.

Con la combinación de de estas enzimas durante la sacarificación se obtiene una mezcla de dextrinas límites, oligosacáridos (como maltosa y maltotriosa principalmente, y en menor proporción maltotetrosa, isomaltosa, panosa, etc.) y glucosa; las cantidades dependerán de las proporciones de las enzimas y del perfil de tiempos y temperaturas durante la sacarificación es decir, de la oportunidad que se de a cada enzima de actuar durante el proceso; cada enzima tiene su temperatura óptima por lo tanto, entre mayor tiempo se encuentre una enzima en esa temperatura o cerca de ella, mayor oportunidad existirá de que la enzima actúe en condiciones óptimas. Con base en esto, diferentes perfiles de sacarificación generarán composiciones distintas del mosto (Hornsey, 2003; Hough, 1990).

El término “actividad diastasa”, muy usado en cervecería, normalmente se asocia con la actividad de β -amilasa sin embargo, dado que se determina por el aumento de grupos reductores y cada corte por cualquiera de las enzimas aminolíticas genera un extremo reductor (García *et* Quintero, 2000).

Los almidones producen un aumento en la viscosidad de la maceración al ser liberados de las celdas contienen entre otros, cadenas de moléculas de glucosa como amilosa y amilopectina. Éstas son inmediatamente atacadas por las enzimas α -amilasa transformándolas en cadenas más cortas de moléculas de dextrinas de 7 hasta 12 restos de glucosa, reduciendo la viscosidad (Mesones, 2000).

2.10.1.1 Separación del mosto

Una vez realizada la maceración será necesario separar el extracto disuelto en el agua de los restos de malta no disueltos como las cascarillas y plántulas. El extracto disuelto en el agua es llamado mosto y los restos de malta se llaman bagazo o cebadilla. El bagazo restante, si bien no dispondrá ya de líquido, estará impregnado de mosto, así que se añade agua a 78 °C (Mesones, 2000).

II. ANTECEDENTES

La composición del mosto está constituida en su mayoría de carbohidratos de los cuales el 98% proviene de la hidrólisis del almidón.

Existen 4 fracciones principales de carbohidratos en el mosto (Hornsey, 2003):

→ *Oligosacáridos*. Son dextrinas que representan entre 25-27% de los carbohidratos totales del mosto. Éstas no son fermentables y constituyen al valor calórico de la cerveza terminada. La principal dextrina es la maltotetrosa y también se encuentran pequeñas cantidades de maltopentosa, maltohexosa y maltoheptosa.

→ *Trisacáridos*. Compuestos principalmente por la maltotriosa, que supone un 14% de los carbohidratos totales del mosto (c.t.m.).

→ *Disacáridos*. El principal disacárido es la maltosa (14% c.t.m.) y sacarosa (5% c.t.m.).

→ *Monosacáridos*. La glucosa y fructosa son los principales representantes de este grupo (9-10% c.t.m.).

Es importante esta separación ya que se consigue una máxima extracción de azúcares fermentables solubles, obtener mostos brillantes con mínima cantidad de sólidos suspendidos y reducir al mínimo la concentración de oxígeno en el mosto.

2.10.2 Cocción del mosto

El mosto obtenido después de la filtración del macerado es necesario cocerlo. El proceso de cocción dura entre 45-120 minutos y la ebullición es constante. La finalidad de la ebullición del mosto es (Hornsey, 2003; Mesones, 2000):

→ *Esterilización del mosto*. Es fundamental durante la cocción, tanto la malta como el lúpulo contienen bacterias y mohos que no son dañinos para la salud, pero que continúan su efecto biológico en la cerveza, produciendo sabores no deseados o acidificación a largo plazo. La cocción destruye todos estos microorganismos.

→ *Detener la actividad enzimática derivada de la malta*. La mayor parte de las enzimas presentes durante la maceración es inactivada. Sin embargo, persistirá

II. ANTECEDENTES

un pequeño porcentaje de actividad que resultará totalmente inactivada por coagulación durante la ebullición. La destrucción de estas enzimas evita que sigan actuando, cambiando la estructura de los azúcares.

→ *Concentración del mosto.* Dependiendo del régimen de ebullición, entre 5-15% del volumen original del mosto se perderá por evaporación.

→ *Culminar las reacciones químicas que comienzan en la maceración, con la reducción resultante del pH.* La ebullición termina por completar el proceso de precipitación del fosfato cálcico y la disociación del ión bicarbonato. Ambos procesos determinan una ligera bajada del pH debido a la formación de ácido sulfúrico.

→ *Coagulación de proteínas y taninos.* El calor hace que las proteínas se desnaturalicen irreversiblemente. Los taninos del lúpulo y de la malta se disuelven en su totalidad en el mosto reaccionando con las proteínas. Esta unión es insoluble y se precipita al fondo formando el turbio caliente. Cuanto más cerca esté el pH del mosto al punto isoelectrónico, más rápida será la sedimentación. La coagulación es uno de los procesos más lentos.

→ *Descomposición y eliminación.* Durante la ebullición se pierden muchas sustancias volátiles, algunas de ellas son indeseables desde el punto de vista de su aportación negativa al sabor y aroma. Se pierden también componentes favorables, aunque se puede compensar parcialmente mediante la adición tardía de lúpulo después de la ebullición.

La cocción del mosto ayuda eliminar el dimetil sulfuro (imparte un sabor a verduras cocidas a la cerveza). El DMS es volátil y el resto del tiempo de cocción hará que este desaparezca con el vapor.

→ *Intensificación del color del mosto.* Los fenoles simples y polimerizados son extraídos en la maceración y se encuentran en el mosto hervido. Una porción de estos compuestos reaccionan con las proteínas como se mencionó anteriormente, los que no lo hacen sufren una diversidad de reacciones, algunas de las cuales producen compuestos coloreados. Ocurre la oxidación de fenoles y polifenoles, con la subsiguiente formación de quinonas y sus derivados.

II. ANTECEDENTES

La interacción de compuestos nitrogenados (aminas primarias) y carbohidratos (azúcares reductores) dan como resultado un oscurecimiento no enzimático o reacción de Maillard. Los pigmentos producidos son polímeros llamados melanoidinas. Cuanto más tiempo hierva el mosto y más concentrada sea la fuente de calor, mayor será la cantidad de estos compuestos producidos. Las melanoidinas son de carácter ácido y el lúpulo también es ligeramente ácido. Ambos acidificarán ligeramente el mosto cocido.

→ *Extracción de aceites esenciales del lúpulo.* La cocción del lúpulo es quizás la parte más esencial en la ebullición. Las resinas del lúpulo que imparten el amargor final a la cerveza, no se disuelven en el mosto frío. Al cocerlo, sus α -ácidos se isomerizan y se disuelven con mayor facilidad. Del total de α -ácidos que contiene, aproximadamente un 25% llega hasta el producto final, la otra parte se queda adherida a los restos de proteínas coaguladas tras la cocción a los mismos restos de las flores de lúpulo y a la levadura.

2.10.3 Clarificación y enfriamiento del mosto

En la cocción del mosto ha coagulado gran parte de las proteínas y extraído los taninos y α -ácidos contenidos en el lúpulo y a continuación son eliminados.

Una vez que el mosto ha sido centrifugado o filtrado, el siguiente paso es el reducir la temperatura de este, que tras la cocción y centrifugación todavía tiene unos 77 °C. La temperatura ideal para añadir la levadura se sitúa entre los 8-24 °C según el tipo de levadura y el tipo de cerveza que se quiere elaborar (Mesones, 2000).

2.10.4 Fermentación

El proceso de fermentación se inicia con la inoculación del mosto lupulado con un cultivo "puro" de levaduras (García et Quintero, 2000). La tasa de inoculación normal es del orden de 0.45 kg de levadura por barril de mosto (0.3 kg/hl) (Hornsey, 2003).

II. ANTECEDENTES

La composición típica del mosto lupulado se muestra en la tabla 7, además contiene algunas otras sustancias nitrogenadas simples, sales minerales (calcio, magnesio, sodio, potasio, hierro, zinc, cobre, magnesio, cloruros, sulfatos, carbonatos y fosfatos) y vitaminas (biotina, ácido pantoténico, inositol, tiamina, piridoxina y el ácido nicotínico) (Hough, 1990).

Tabla 7. Composición típica del mosto como % de sólidos totales (García *et* Quintero, 2000).

Sustancia	Cantidad %
Glucosa	4-8
Maltosa	43-46
Maltotriosa	10-13
Otros oligosacáridos y dextrinas	22-25
Sacarosa	1-3
Fructosa	1-2
Aminoácidos libres,	1-1.5
Péptidos y proteínas	1.5-3

La temperatura del mosto en el momento de la inoculación es importante, si ésta se encuentra a 5 °C de diferencia por debajo de la temperatura a que se ha tenido la levadura de siembra, se produce el choque frío. Este se manifiesta por un prolongado periodo de inactividad (García *et* Quintero, 2000).

La mayor parte de las sustancias presentes en el mosto difunden libremente a través de la pared de la levadura al plasmalema (resinas, proteínas y polifenoles), y algunas se adsorben sobre la superficie externa de la pared celular. Una vez en el interior de las células no todas las sustancias son utilizadas de inmediato. La glucosa y la fructosa se consumen con gran rapidez; la maltosa más lentamente y finalmente la maltotriosa; la sacarosa es hidrolizada en la pared celular por la invertasa. Los aminoácidos se absorben secuencialmente, primero el grupo de los que forman parte el glutamato, asparagina y serina, luego histidina y leucina, finalmente los pertenecientes en los que se hallan la glicocola y triptófano (Hough, 1990).

II. ANTECEDENTES

Durante las primeras horas que siguen a la inoculación no sucede nada visible. Esta es la fase de latencia y puede durar desde 6 hasta 15 horas. Las levaduras se adaptan al nuevo medio de crecimiento y sintetizan nuevos sistemas enzimáticos para permitir que la levadura utilice una amplia variedad de constituyentes del mosto.

En las fases iniciales de fermentación es necesario que en el mosto exista suficiente oxígeno por lo tanto, el mosto tiene que ser agitado o pre-oxigenado. Las cepas de levadura tienen necesidades de oxígeno para el rápido crecimiento celular inicial, la síntesis de los esteroides y ácidos grasos de la membrana; pero no una cantidad excesiva, porque la levadura recurre a la respiración aerobia mediante la oxidación y descarboxilación del piruvato y finalmente el ciclo de Krebs. Si se aporta exceso de oxígeno los productos finales son dióxido de carbono y agua (Hough, 1990).

En condiciones anaerobias la levadura transforma rápidamente los azúcares fermentables en etanol y dióxido de carbono, a través del ciclo glucolítico de Embden-Meyerhof-Parnas.

Este es el principal proceso generador de energía para la levadura, la parte oxidativa del proceso origina la coenzima NADH reducida. El NADH es re-oxidado al reducirse el acetaldehído a etanol. Esto ocasiona el agotamiento de la reserva estática de NAD^+ , situación que afecta el equilibrio redox de la célula. La situación es compensada por una serie de mecanismos redox-equilibradores, como la producción de glicerol, las etapas terminales de la producción de glicerol, las etapas terminales de la producción de alcoholes superiores (fusel) y la producción del diacetilo.

La fase de latencia viene seguida por una fase corta de crecimiento acelerado, que conduce a una fase de crecimiento exponencial. Durante este periodo de crecimiento logarítmico, es razonable esperar que la densidad de la levadura aumente de cuatro a seis veces. Las células se multiplican por gemación y producen rápidamente etanol y dióxido de carbono. Se produce considerable

II. ANTECEDENTES

cantidad de calor y es necesario enfriar para mantener la temperatura por debajo de 20-22 °C.

Si la temperatura supera dicho nivel, se producirán otros alcoholes superiores que proporcionan aromas desagradables. El crecimiento logarítmico persiste durante 48-60 horas, tras el cual se entra en una fase de crecimiento desacelerado.

Además de etanol y CO₂ existen otros productos de fermentación (Hornsey, 2003):

→ *Alcoholes combustibles o fusel*: son alcoholes superiores, cuya formación está en su mayor parte condicionada por la composición en aminoácidos del mosto, mientras haya disponible suficiente azúcar.

En la figura 5 se muestra un esquema generalizado de la producción de alcoholes superiores.

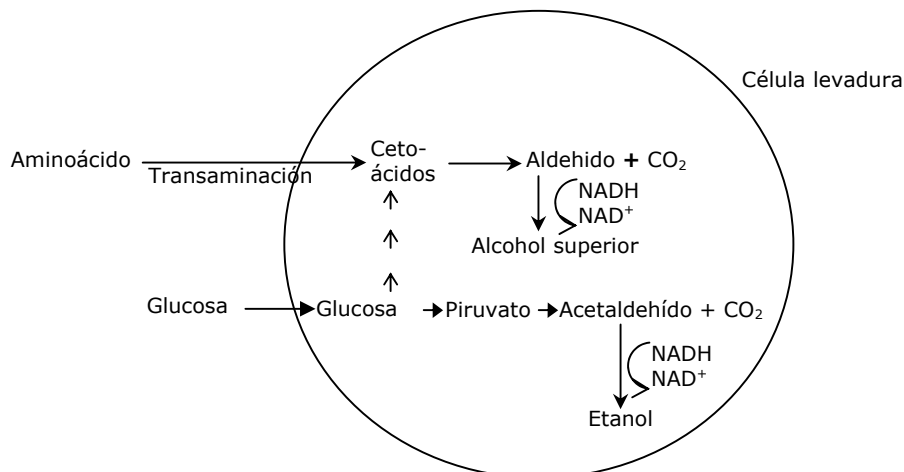


Figura 5. Esquema generalizado de la producción de alcoholes superiores (Hornsey, 2003).

Otros factores que influyen en la producción de estos compuestos son utilizar temperaturas de fermentación elevadas, excesivo crecimiento de la levadura y la propia cepa de levadura.

→ *Ácidos*. Durante la fermentación se produce una amplia variedad de ácidos orgánicos, de los cuales algunos confieren de forma importante el sabor. Son producidos ácidos orgánicos volátiles (ácido acético, propiónico y butírico) y ácidos orgánicos no volátiles (ácido pirúvico, ácido succínico).

II. ANTECEDENTES

Es esencial disponer de un mosto de alta calidad que contenga todos los nutrientes necesarios para que la levadura se multiplique sin dificultad en el momento de su adición, junto con el oxígeno disuelto necesario, para que la fermentación transcurra sin problemas. Si se controla adecuadamente la temperatura y duración de la fermentación, se evita la formación de subproductos que impartan sabores desagradables a la cerveza y rompan su estabilidad biológica a largo plazo (Mesones, 2000).

2.10.5 Maduración

Una vez que la cerveza ha sido fermentada, llamada “cerveza verde”, se inicia la maduración. En la maduración debe procurarse que la cerveza retenga la mayor cantidad posible de dióxido de carbono. En muchas publicaciones para cerveceros se recomienda embotellar la cerveza inmediatamente después de la fermentación principal. Como la maduración se realiza en la botella, no se necesita volver a trasegar, con lo que se evitan las pérdidas de dióxido de carbono que lleva consigo esta operación (Vogel, 1999).

En la cerveza de fermentación baja es conveniente reducir el tiempo de maduración, ya que los tiempos prolongados ocasionan que las heces de las levaduras estropeen la cerveza (Vogel, 1999).

Las cervezas *lager* y de alta calidad, tradicionalmente experimentan una fermentación secundaria durante un periodo de semanas o incluso meses. Debido a que “el tiempo es dinero” se acortan los procesos de guarda a periodos de dos o tres semanas (Vogel, 1999; Mesones, 2000).

Determinados aspectos de la maduración pueden acelerarse elevando la temperatura de la cerveza cierto tiempo. En algunas cervecerías la fermentación primaria se mantiene hasta un nivel en el que queda muy poca materia fermentable para la fermentación secundaria.

Durante la maduración pueden considerarse cinco procesos principales (Hornsey, 2003):

II. ANTECEDENTES

→ *Afinamiento del sabor.* Eliminar algunos productos indeseables de la fermentación primaria, como son los compuestos sulfurados, acetaldehído y el diacetilo.

→ *Clarificación de la cerveza.* Los residuos de levadura sedimentan durante esta etapa y es eliminada cuando finaliza. La levadura no debe eliminarse de la cerveza demasiado pronto, ya que en tal caso los procesos de maduración no tendrían lugar. La sedimentación de levadura puede fomentarse añadiendo clarificantes.

→ *Estabilización de la cerveza.* La cerveza que necesita una vida útil prolongada tiene que ser estabilizada. La forma más común de inestabilidad, es la producción de turbidez no biológica, la cual precipita junto con la levadura. En la turbidez no biológica existen dos componentes, cada uno de ellos capaz de producir partículas de tamaño lo suficientemente grandes para provocar turbidez visible. Es producida por interacciones entre proteínas de bajo peso molecular, taninos y carbohidratos.

→ *Carbonatación de la cerveza.* Se produce de forma natural durante el periodo de maduración, aunque aquí sólo se liberan volúmenes relativamente pequeños de CO₂. El gas se disuelve más cuanto más baja es la temperatura.

Durante la maduración, la cerveza se mantendrá a una temperatura próxima a los 0 °C. En el curso de una o dos semanas la cerveza debe clarificarse y entre 2 semanas y 3 meses la cerveza está lista para embotellar (Vogel, 1999).

La cerveza se clarifica durante el almacenamiento, aunque sin llegar a tanto como se acostumbra ver en la cerveza de las fábricas industriales. Sin embargo, no es malo que la cerveza tenga un ligero velo porque adquiere incluso un mejor sabor que la filtrada. Hoy vuelve a haber fabricas de cerveza que no filtran la cerveza para dar con ello un producto con una imagen totalmente natural de mayor sabor tradicional (Vogel, 1999).

2.10.6 Embotellado

La cerveza puede ser trasegada en barriles (metal o madera) o bien a botellas. Cualquiera que sea el recipiente es necesario que se encuentre estéril.

Un producto limpiador de cocina, resulta inadecuado para la limpieza interior de la botella, ya que reduce la tensión superficial de la cerveza, con lo que desaparece la espuma. El producto limpiador debe actuar por algún tiempo. Después se aclarará con abundante agua, para eliminar el producto limpiador. Si se desea alcanzar una mayor seguridad, las botellas pueden esterilizarse a 110 °C, una vez enjuagadas. La cerveza se envasará en cuanto las botellas estén completamente frías (Vogel, 1999).

Las botellas cerradas pasan seguidamente a pasteurizar para garantizar la estabilidad microbiológica del producto. Se mantienen en corto periodo de tiempo y luego se enfrían lentamente (Hornsey, 2003). En el proceso de pasteurización se manejan distintos tiempos y temperaturas, en las distintas citas bibliográficas.

2.10.7 Calidad de la cerveza

Una vez terminada la cerveza, se somete a análisis químicos, microbiológicos y sensoriales. Todos ellos se precisan para comprobar que la cerveza está dentro de los márgenes de las especificaciones marcadas. Algunas de las determinaciones analíticas realizadas en la cerveza terminada y en el mosto, son las que se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Análisis del mosto y cerveza terminada (Varnam *et* Sutherland, 1997b).

Mosto	Cerveza	
Densidad	Densidad	Azúcares fermentables
pH	Contenido de alcohol	Proteínas
Acidez	Oxígeno disuelto	Color
Proteínas	Dióxido de azufre	Extracto final
Almidón	Sabor y aroma	Extracto original
Color	Dióxido de carbono	Estabilidad del sabor y del aroma ¹
Viscosidad	Grado de fermentación	Almidón
	pH	Diacetilo
	Acidez	

¹ Aplicable a cerveza sólo embotellada o enlatada

2.10.7.1 Sabor y aroma

Al sabor y aroma de la cerveza contribuyen un gran número de compuestos, procedentes de distintos orígenes (Tabla 9).

Tabla 9. Relación de compuestos de la cerveza con el sabor y aroma deseables (Varnam *et Sutherland*, 1997a).

Fuente	Compuesto
<i>Malta</i>	Productos volátiles de la reacción de Maillard ¹ Por ejemplo, maltol, dimetilsulfuro ²
<i>Lúpulo</i>	Iso-humulonas Aceites esenciales y productos de la oxidación. Por ejemplo, linalool
<i>Fermentación</i>	Etanol Ésteres, por ejemplo, acetato de etilo Ácidos orgánicos, por ejemplo, ácido acético

¹La producción comienza durante el horneado de la malta y continúa en la cocción del lúpulo.

²Se produce a partir de la S-metil metionina de la malta durante el horneado de la malta y la cocción del mosto, y a partir de dimetilsulfóxido en la fermentación.

La cantidad de un compuesto puede determinar su aceptación o rechazo como componente del aroma. Por ejemplo, una cantidad excesiva de ésteres provoca defectos en el aroma de cervezas con alto contenido alcohólico, mientras que una producción escasa conduce a la falta de aroma y de sabor en las cervezas bajas en alcohol (Varnam *et Sutherland*, 1997b).

2.10.7.2 Peso específico y grado de la cerveza

El peso específico de una muestra se define como el peso de la muestra de mosto respecto a un volumen idéntico de agua destilada. Un mosto con peso específico de 1.040 se aproxima, en términos prácticos de cervecería, a un peso específico original (PEO) de 1.040°. El peso específico se expresa la mayoría de las veces en grados plato (°P). El Dr. Plato diseñó una escala que relacionaba directamente el grado del mosto con cantidad de sacarosa en solución. Por definición, 1 °P es equivalente a 1 g de sacarosa disuelto en 7 ml de agua destilada.

La cifra OG, es muy utilizada para referirse al peso específico de la cerveza o bien del mosto el cual equivale a 1000 veces la proporción del peso específico de la

II. ANTECEDENTES

malta fermentable comparada con el agua. En general los grados Plato equivalen a $\frac{1}{4}$ de los dos últimos dígitos de la cifra de OG (<http://www.food-info.net/es/qa/qa-fp84.htm>, 2005).

A medida que tiene lugar la fermentación los azúcares se convierten en alcohol y el peso específico de la cerveza va descendiendo. Las medidas realizadas durante este periodo se denominan de peso específico del momento o aparente (PEA).

El peso específico final o de terminación (PEF) es el peso específico en el que la fermentación ha llegado a su fin. Cuanto más bajo sea el PEF más alcohol se habrá producido a partir de los mostos. Todo mosto no fermentado contribuye al sabor dulce de la cerveza (Hornsey, 2003).

Todas las levaduras tienen una atenuación límite (AL) que es una medida de la cantidad de material fermentable que pueden asimilar del mosto durante el curso de la fermentación. El azúcar residual suele ser dextrinas y representa la diferencia entre el PEF y el punto teórico de transformación total de fermentables que pueden ser de 1.00°. La AL es por lo tanto una cifra positiva, aunque en determinadas circunstancias, en que ha sido total la eliminación de fermentables pueda tener un valor negativo (Hornsey, 2003).

El azúcar formado en la maceración se transforma en el curso de la fermentación en alcohol y CO₂. Si la cerveza terminada se “pesa” con el densímetro, se determina una taza de extracto que sólo es un cuarto de tercio del extracto seco real. Como el alcohol contenido en la cerveza pesa mucho menos que el agua, esta media da idea de un contenido de extracto seco menor que el realmente existente. Es importante decir que el alcohol puede evaporarse antes de la medición y determinar así el extracto real, pero por lo general basta con medir la densidad de la cerveza juntamente con el alcohol. Se obtiene de esta manera el valor del extracto aparente.

Si se relaciona este valor con el extracto de los ingredientes principales se obtiene el grado de fermentación aparente de la cerveza y expresa por tanto, hasta que punto se transforman las sustancias disueltas en el mosto en la maceración.

II. ANTECEDENTES

Con ayuda del grado de fermentación pueden determinarse cuantitativamente conceptos como “muy atenuada” o “poco atenuada”. Como no existe ningún grado de fermentación correcto los datos siguientes sólo deben considerarse como puntos de referencia (Vogel, 1999):

Tabla 10. Porcentaje de atenuación de distintos tipos de cerveza (Vogel, 1999).

Tipo de cerveza	% Atenuación
Cerveza <i>lager</i> clara	75-80
Cerveza Export clara, Pilsner, bock clara.	80-83
Cerveza negra	63-70
Cerveza fermentación alta	85
Cerveza antigua	70

El grado de fermentación aparente (atenuación aparente) se podría comparar con el grado de fermentación real, y con lo que constituye el grado de fermentación total teóricamente alcanzable (atenuación límite). El grado de fermentación real (0.5-6% por encima del grado de fermentación aparente) sólo se determinará cuando una parte de la cerveza se fermenta en unas condiciones de ensayo que realiza una fermentación real, pero que sólo proporciona una cerveza de calidad diferente (Vogel, 1999).

2.10.7.3 Color

El método internacional para medir color de la cerveza consiste en la medida espectrofotométrica a una longitud de onda de 430 nm a través de la muestra.

Las principales contribuciones del color de la cerveza son debidas a las melanoidinas procedentes de la malta y productos de caramelización resultantes de la ebullición (Hornsey, 2003).

2.10.7.4 Grado de acidez

El pH del mosto se encuentra entre 5.2-5.4. La disminución de pH durante la ebullición incrementa la precipitación de las proteínas.

La acidez de un líquido viene expresada por su valor pH que es la concentración de iones de hidrógeno. Cuando la cerveza tiene sabor satisfactorio y se conserva

bien, su pH oscila entre 4.3-4.8. El control de pH es importante, ya que un pH elevado exige adoptar medidas como utilizar agua menos dura (Vogel, 1999).

2.10.7.5 Nitrógeno

El nitrógeno soluble total es el nitrógeno presente en el mosto producido.

Las industrias cerveceras demandan una razón de nitrógeno soluble suficientemente alto para indicar que la modificación de proteínas ha sido alcanzada y que material proteico de alto peso molecular no será extraído en el mosto, con el riesgo de formar turbidez en la cerveza. Las proteínas se encuentran adheridas a los gránulos de almidón y podrían ser removidos permitiendo la gelatinización e hidrólisis del almidón por amilasas.

2.10.7.6 β -glucanos

Los β -glucanos son polímeros de alto peso molecular solubles en agua. Incrementan la viscosidad en el mosto y cerveza, la formación de turbidez así como precipitados gelatinosos en la cerveza almacenada (Manzanares *et Sendra*, 1996).

2.11 Aspectos generales de la cebada

La cebada pertenece a la familia de las Gramíneas, plantas herbáceas con flores. Están incluidas en el género *Hordeum* del que existen varias especies.

Las variedades de cebada tienen tallos relativamente cortos. Las espiguillas están dispuestas en las inflorescencias terminales, o espigas. Las espigas son terminaciones del tallo de la planta. A lo largo de las inflorescencias se encuentran de forma alternada tres espiguillas. Si las tres espiguillas son fertilizadas, entonces se producirán tres semillas, originándose una cabeza de seis hileras es decir, seis granos, en cuyo caso se clasifica como *H. vulgare*. Estas cebadas suelen tener un potencial enzimático superior y un contenido de almidón bajo en comparación a sus homólogos de dos hileras. Si sólo resulta fertilizada una de las tres espiguillas, entonces se desarrollarán dos granos, originando una espiga de dos hileras. Estos

II. ANTECEDENTES

granos son más gruesos y más uniformes. Estas plantas se sitúan en la especie *H. distichon* y lo que realmente ha sucedido, es que sólo se ha desarrollado la tercera parte de las inflorescencias (Hornsey, 2003; Hough 1990).

Existen dos ciclos de cultivo en uno de ellos las variedades se siembran en septiembre y octubre, conociéndose como “cebadas de invierno”; mientras que las otras se plantan en primavera y son llamadas “cebadas de primavera”. Normalmente las variedades de invierno producen mayores rendimientos que las de primavera (Hornsey, 2003).

2.11.1 Cebada maltera

Aunque son varios los cereales que pueden ser malteados, los granos de cebada presentan menos problemas técnicos. La cebada utilizada para la elaboración de malta cervecera es más rica en almidón, que es la sustancia que da origen al extracto fermentable. También contienen las proteínas para proporcionar aminoácidos necesarios para el crecimiento de la levadura, y las sustancias nitrogenadas que desarrollan un papel importante en la formación de espuma (Hornsey, 2003).

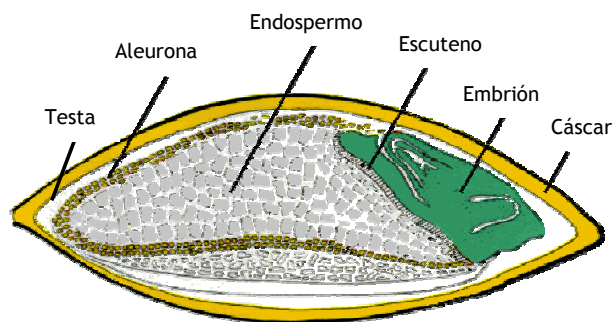


Figura 7. Esquema de las estructuras de un grano de cebada (<http://www.sbu.ac.uk/images/hyglu.gif>, 2005).

La semilla de cebada es preferida por la industria cervecera por las razones que se mencionan a continuación:

→ La semilla tiene tres capas protectoras externas (cáscara, pericarpio y testa) que le confieren una protección vital, especialmente durante el macerado.

II. ANTECEDENTES

- Los granos de cebada contienen hasta un 90% carbohidratos, el 80-85% se encuentra en forma de gránulos de almidón localizados en el endospermo.
- El almidón es hidrolizado por las β y α -amilasas presentes en los granos malteados.
- La baja temperatura de gelatinización (52-59 °C) del almidón.
- La capa de aleurona responsable de la producción de enzimas hidrolíticas es sumamente activa.
- Las raicillas y el brote del embrión son robustas y no se desprenden fácilmente, ésta es importante durante el malteado.

Las principales características de una buena cebada se describen en la tabla 11.

Tabla 11. Principales características de una cebada malteable (Hornsey, 2003).

Los granos deben ser gordos, tener superficie lisa y enteros.
Los granos tienen un tamaño uniforme y exento de semillas extrañas.
Sin pre-germinación.
La germinación debe ser próxima al 100%.
Bajo contenido de nitrógeno (poca proteína).
Sin mohos ni infecciones y con olor saludable.

2.11.2 Estructura bioquímica de la cebada

2.11.2.1 Polisacáridos amiláceos

El almidón está localizado en gránulos específicos que se encuentran en el endospermo del grano. Existen dos tamaños: grandes (20-25 μm de diámetro) y pequeños (1-5 μm). Todos los gránulos se encuentran dentro de una matriz proteica. El almidón de cebada consta de dos fracciones químicas principales (Hornsey, 2003).

- *Amilopectina* (Figura 8). Un polímero ramificado de unidades de D-glucosa, unidas por enlaces α (1 \rightarrow 4) y α (1 \rightarrow 6). Los fragmentos de cadena recta (lineal) de la amilopectina, están formados por enlaces α (1 \rightarrow 4). Compone aproximadamente el 75-80% del almidón de cebada.

II. ANTECEDENTES

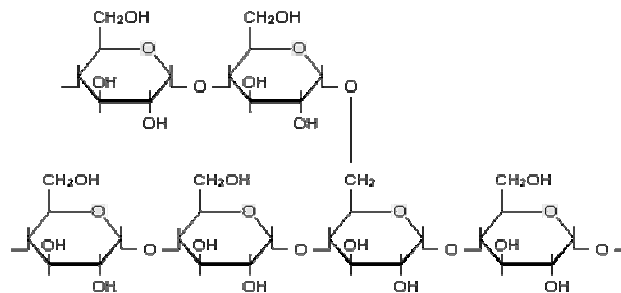


Figura 8. Fragmento de la estructura de una molécula de amilopectina (www.biociencias.com/ revista/1/fig1.jpg, 2005).

→ *Amilosa* (Figura 9). Polímero de cadena recta (enrollada), formado por unidades de D-glucosa unidos solamente por enlaces α (1→4), que supone el 20-25% del componente almidón.

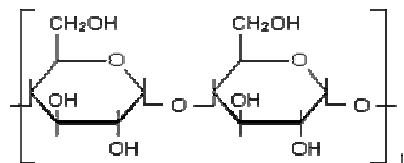


Figura 9. Segmento de la estructura de la molécula de amilosa (www.biociencias.com/ revista/2/fig1.jpg, 2005).

2.11.2.2 Polisacáridos no amiláceos

Son los azúcares, gomas, y hemicelulosas (Hornsey, 2003).

→ *Azúcares*. Los principales azúcares simples del grano de cebada son la sacarosa y la rafinosa, fundamentalmente localizados en la capa de aleúrona y el embrión. En el proceso de malteado se producen muchos más azúcares tanto en términos de variedad como de cantidad.

→ *Gomas*. Son los β -glucanos y pentosanos que son solubles en agua caliente (Hornsey, 2003).

→ *Hemicelulosas*. Esta fracción se refiere al β -glucano y componente pentosanos insolubles en agua. Los pentosanos son arabinoxilanos; constan de una cadena esquelética de unidades de xilosa unidas por enlaces β (1→4) que tienen cadenas laterales de unidades de arabinosa unidos por enlaces β (1→3).

2.11.3 Proteínas

El contenido en nitrógeno de una cebada malteada debe estar dentro del margen 1.4-1.8% sobre peso seco.

La mayor parte del nitrógeno de la cebada se encuentra localizado en el endospermo como proteína enzimática. Existen cuatro fracciones proteicas principales (Hornsey, 2003):

→ Albúmina (soluble en agua caliente) constituye el 4% de la proteína y globulina (soluble en cloruro sódico diluido) que llega a un 31% de la proteína total. Son proteínas enzimáticas, representando fuentes potenciales de β amilasa y peptidasa.

→ Hordeína (soluble en etanol al 70%) alcanzan hasta el 36% de la proteína y gluteína (soluble en hidróxido sódico diluido) entorno al 29% de la proteína total. Las cuales son proteínas estructurales, localizadas en las envolturas de los gránulos de almidón. Son las proteínas que más se degradan durante el malteado.

Además del contenido en proteínas, existen diversos compuestos que contienen nitrógeno en pequeñas cantidades; entre ellos figuran los ácidos nucleicos, aminas, amidas y aminoácidos libres (Hornsey, 2003).

2.11.4 Lípidos

Se encuentran localizados principalmente en el embrión y en la capa de aleurona y constituyen aproximadamente el 3-4% del peso seco total del grano. Los ácidos grasos predominantes encontrados en los lípidos de la cebada son ácido palmítico, oleico y linoleico. También se encuentran fosfolípidos en cantidades pequeñas (Hornsey, 2003).

2.11.5 Otros constituyentes

Monofenoles y polifenoles están presentes en pequeñas cantidades en cáscara, pericarpio, epispermo, y capa de aleurona.

II. ANTECEDENTES

Diversos iones minerales se localizan en la capa de aleurona, siendo los principales K^+ , PO_4^{3-} , Mg^{2+} , Na^+ y Cl^- . El embrión y la capa de aleurona contienen una diversidad de vitaminas del grupo B, entre ellas la biotina y el inositol. Estas serán vitales durante los subsiguientes procesos de fermentación (Hornsey, 2003).

2.12 Producción de cebada

Los principales países productores de cebada son Rusia, Canadá, Alemania, Francia, España, Turquía y Estados Unidos (Serna, 2001), concentrando el 52% del volumen mundial. En tanto que la producción de México tan sólo tuvo una participación del 0.30% en el 2003 (Bustamante *et al.*, 2003). A nivel mundial la cebada ocupa el cuarto lugar después del trigo, arroz y el maíz.

Este importante cereal es sembrado en casi toda la República Mexicana, en el 2005 la producción en México fue de 457,856 toneladas (avance ciclo primavera-verano).

Los Estados de Hidalgo y Tlaxcala aportan dos terceras partes de la producción nacional de cebada de entre 20 Estados productores. Durante el ciclo primavera-verano 2005, el Estado de Hidalgo ocupó el primer lugar a nivel nacional en producción total de cebada con 194,793 toneladas. Por otra parte, el Estado de Tlaxcala ocupó el segundo lugar en producción de cebada con 137,847 toneladas (Avance ciclo primavera-verano, SIACON, 2006).

Objetivo general

- Evaluar el potencial cervecero de diferentes variedades de maltas con cebadas producidas en los Estados de Hidalgo y Tlaxcala.

Objetivos específicos

- Valorar el método para la obtención de mosto de calidad cervecera.
- Evaluar y valorar las condiciones del inóculo (levaduras) a utilizar durante la fermentación.
- Valorar las características químicas de los mostos realizados con variedades de maltas producidas en los Estados de Hidalgo y Tlaxcala.
- Elaborar y evaluar la calidad de cervezas realizadas a nivel matraz y nivel fermentador.
- Comparar las cervezas realizadas a nivel matraz y nivel fermentador.
- Evaluar la calidad de las cervezas realizadas a nivel matraz y fermentador con cervezas comerciales.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materia prima

Para el desarrollo de este trabajo de investigación se utilizaron cinco variedades de malta (tabla 12), de las cuales tres fueron realizadas con cebada producida en los Estados de Hidalgo y Tlaxcala; las dos restantes fueron maltas comerciales de grado nacional Esmeralda T y Esperanza R (producción 2005) donadas por la maltera de Calpulalpan, Tlaxcala.

En la tabla 12 se presentan las maltas codificadas en la realización de mosto cervecero, así como la religión donde se produjeron.

Tabla 12. Variedades de malta utilizadas y región de origen.

Variedad	Clave	Región
Esmeralda 2	Esm2-H	Ápan, Hidalgo
Esmeralda 1	Esm1-H	Emiliano Zapata, Hidalgo
M16	M16-T	Zacatenco, Tlaxcala
Esmeralda T	Esm-T	Calpulalpan, Tlaxcala
Esperanza R	Esp-R	Calpulalpan, Tlaxcala

El agua usada para producir el mosto fue agua purificada embotellada y el lúpulo fue adquirido en el mercado de Sonora en el D. F., el cual se vende de manera a granel.

El inóculo utilizado fue levadura cervecera liofilizada Nottingham®, de la especie *Saccharomyces calsbergensis*. A partir de esta levadura se realizó la propagación de la levadura y activarla.

4.2 Muestreo

El muestreo se realizó mediante el método probabilístico muestreo aleatorio simple, en el cual las unidades se eligen individual y directamente por medio de un proceso aleatorio, donde cada unidad no seleccionada tiene la misma oportunidad de ser elegida que todas las unidades extraídas de la muestra (Castillo, 2005).

4.3 Métodos

La cerveza realizada en este trabajo es de tipo *lager*, debido a las características de la malta obtenida (temperatura de secado, color, y la actividad enzimática (Coghe, 2004; Coghe *et al.*, 2005), así como al tipo de levadura utilizada (*Saccharomyces calshbergensis*), además de que es la más comercial en México.

Es importante resaltar que este trabajo de investigación, es la base para la realización de cerveza artesanal. Ésta tiene como características que el volumen de producción es pequeño, el equipo utilizado no es tan sofisticado como en las cervecerías industriales y algunas partes del proceso son realizadas de manera manual. La cerveza artesanal busca un perfil personal que tenga características propias sensoriales de la región. Así que la cerveza obtenida se comparó con dos cervezas comerciales cerveza Victoria® (Cervecería Modelo) y cerveza Sol® (Cervecería Cuauhtemoc-Moctezuma) para comparar la calidad de las cervezas obtenidas en este trabajo con cervezas comerciales.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

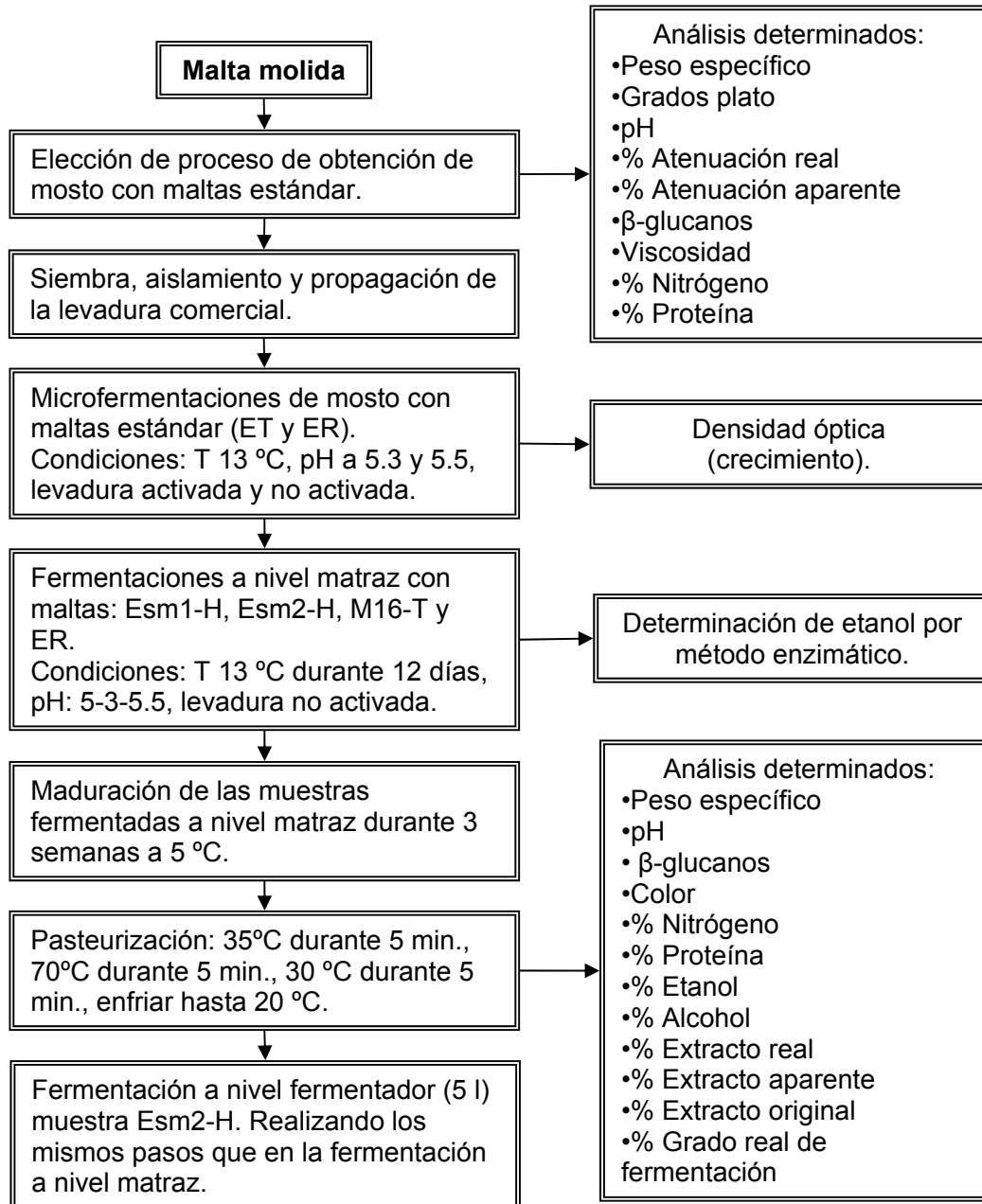


Figura 10. Esquema generalizado de la metodología realizada.

T = Temperatura

4.3.1 Elección del proceso de obtención de mosto

En la bibliografía se encuentran distintos procedimientos para realizar mosto cervecero con el objetivo de elegir el mejor procedimiento y éste, sea aplicado para producir mostos con las variedades a estudiar. Así que se realizaron dos procedimientos que se describen en las figuras 11 y 12. Las principales diferencias entre los procedimientos son la cantidad de materia prima utilizada y rangos de temperatura y tiempo.

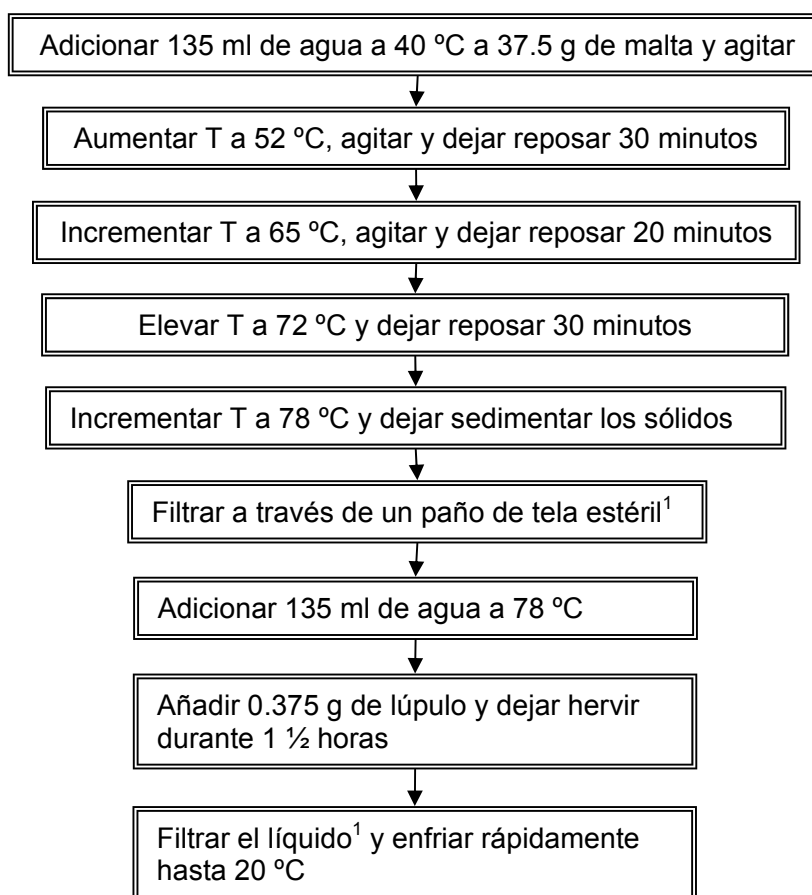


Figura 11. Procedimiento 1 para la elaboración de 150 ml de mosto (Vogel, 1999).

¹ Con un embudo Buchner.

T = Temperatura

La calidad de los mostos obtenidos fue evaluada mediante la realización de análisis analíticos (peso específico, grados plato, pH, % atenuación real, % atenuación aparente, β -glucanos, viscosidad, % nitrógeno, % proteína)

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

mencionados en la bibliografía consultada (EBC, 2003; Varnam *et* Sutherland, 1997b); éstos serán descritos más adelante. Las maltas utilizadas fueron las estándar Esmeralda T y Esperanza R. Cada análisis que se llevó a cabo fue realizado por triplicado.

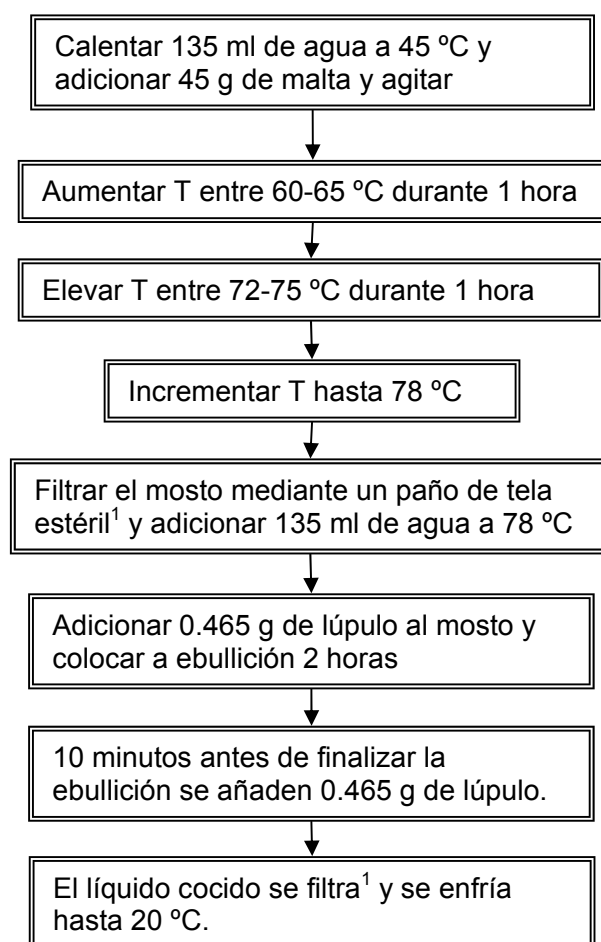


Figura 12. Procedimiento 2 para la elaboración de 150 ml de mosto (Mesones, 2000).

¹ Con un embudo Buchner.

T = Temperatura

4.3.2 Elección del inóculo y condiciones de fermentación

Las microfermentaciones con levaduras se realizaron con dos objetivos principales. El primero fue comparar la viabilidad de levaduras activadas (LA) y levaduras “comerciales” no activadas (LNA). El segundo fue conocer las condiciones adecuadas para el desarrollo de la levadura (temperatura y pH ideales de crecimiento). Se realizaron mediante el uso de dos mostos cerveceros

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

(elaborados con el procedimiento que presentó una mejor calidad) como sustrato, producidos con maltas comerciales Esmeralda T (ET) y Esperanza R (ER).

Para elegir el inóculo adecuado, primero se propagó y aisló la levadura con el fin de activarla, sin ningún microorganismo contaminante.

El material como espátulas, vasos, vidrios de reloj, etc. que estuvo en contacto con el inóculo y el mosto utilizado en este apartado fue previamente esterilizado durante 15 minutos a 121 °C en un autoclave (Autoclave Sterilizer®, Modelo SM200).

4.3.2.1 Siembra y propagación de levadura

En condiciones asépticas se pesó 1.0 g de levadura cervecera Nottingham® (levadura liofilizada pura *Saccharomyces calbergensis*) y se diluyó en una solución salina isotónica (NaCl al 0.85%) en 100 ml de agua destilada. Posteriormente se realizaron 7 diluciones (Figura 13) tomando 1 ml de la solución y diluyendo en 9 ml de solución salina isotónica, se agito por medio de un Vortex durante 10 segundos.

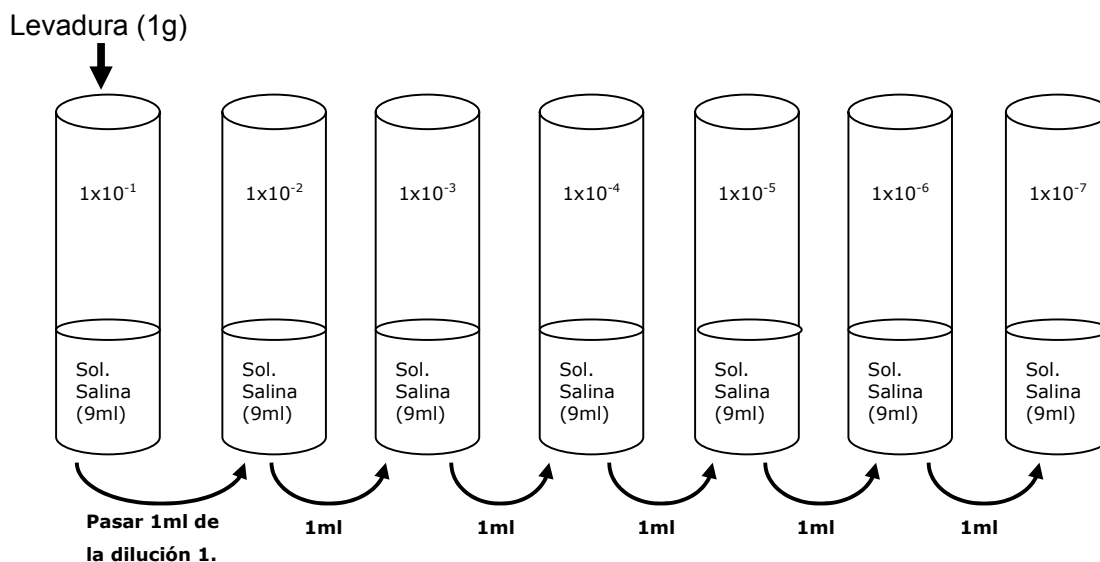


Figura 13. Diluciones de la muestra de levadura de cerveza para su conteo.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron al azar disoluciones impares (1×10^{-1} , 1×10^{-3} , 1×10^{-5} y 1×10^{-7}); se tomó 1 ml de cada muestra y vació (método por vaciado en placa) en cajas petri con agar papa dextrosa (450 g/1000 ml). Se incubaron durante 72 horas a 20 °C (Se incubó un duplicado de cada dilución).

Después de la incubación se estimó el número de unidades formadoras de colonias viables (UFC) presentes en 1 g de levadura mediante el conteo de las colonias formadas en cada una de las placas, para ello se utilizó un contador de colonias. Así mismo se identificó la presencia de microorganismos contaminantes tales como bacterias.

Una vez llevado a cabo el conteo, se seleccionaron aquellas colonias de levaduras “puras”, es decir que no presentaron contaminación microbiológica y se sembraron en placas nuevas de agar papa dextrosa mediante el método estriado en placa; las cajas se incubaron durante 3 días a 20 °C. Esta actividad se repitió tres veces hasta que se aislaron colonias puras de levaduras.

Ya aisladas las levaduras, con un asa de laboratorio se tomó una muestra de las colonias y se colocó en 5 ml de caldo soya tripticaseína (por triplicado) y se incubó durante 24 horas a 20 °C para activar la levadura y prepararla para las microfermentaciones.

Además del conteo de levaduras, se realizaron observaciones al microscopio para detectar la morfología celular típica de las levaduras.

4.3.2.2 Microfermentaciones

Se incubaron las levaduras bajo las condiciones de mosto estéril realizado con el método 2 y con las variedades de malta Esm-T y Esp-R; pH 5.3 y 5.5 (Mesones, 2000; Vogel, 1999; Hornsey, 2003) ajustado con NaOH (0.01 M); levadura activada y comercial, a temperatura de 13 °C (Hough, 1990; Hornsey, 2003; Vogel, 1999; Mesones, 2000;). Para ello las muestras se distribuyeron en micropozos y

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

se adicionaron 400 µl de mosto, a continuación se inoculó con las levaduras activadas y levaduras no activadas con las siguientes cantidades (aproximadamente 50, 000, 000 de levaduras por mililitro (Mesones, 2000)):

→ *Levadura comercial*. Se adicionaron 15 µl de levadura comercial (procedente de una dilución 1×10^{-5} con concentración de 3.6×10^5 levaduras).

→ *Levadura activada*. Se adicionaron 50 µl de levadura activada (con una concentración próxima de 1.0×10^5 levaduras).

Tabla 13. Condiciones del caldo de cultivo (mosto) para microfermentaciones.

Variedad de malta	pH en mosto	Tipo de levaduras
Esmeralda T	Mosto pH=5.3	Levadura activada
		Levadura comercial
		Sin inóculo
	Mosto pH=5.5	Levadura activada
		Levadura comercial
		Sin inóculo
Esperanza R	Mosto pH=5.5	Levadura activada
		Levadura comercial
		Sin inóculo
	Mosto pH=5.3	Levadura activada
		Levadura comercial
		Sin inóculo

Las muestras fueron distribuidas como se muestran en la tabla 13, realizando tres réplicas de cada una, teniendo un total de 36 muestras.

Las microfermentaciones se llevaron a cabo en un equipo automatizado Microbiology Reader BioscreenC®, el cual mide el crecimiento microbiano mediante la turbidez. Los microorganismos incrementan la turbidez durante su crecimiento en el caldo de cultivo; ésta es medida automáticamente por el equipo.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Con estos datos el software construye curvas del crecimiento microbiano. También es posible extraer los datos de densidad óptica y trabajar en otros programas como MSEXcel. El equipo midió densidad óptica cada 20 minutos hasta que se observó crecimiento en los dos inóculos utilizados.

4.3.3 Fermentación a nivel matraz

Las fermentaciones a nivel matraz, es decir con poco volumen, se llevaron a cabo con el objetivo de comprobar que las condiciones establecidas de fermentación del mosto fueran las adecuadas para obtener cerveza con características analíticas adecuadas. Esta fermentación se llevó a cabo en mostos realizados con maltas Esm1-H, Esm2-H, M16-T y Esm-T.

Los resultados obtenidos en este apartado fueron comparados con una fermentación que se llevó a cabo nivel fermentador, así como también con cervezas comerciales.

Todo el material utilizado que estuvo en contacto directo con el mosto y el inóculo, fue esterilizado previamente a su uso durante 15 minutos a 121 °C en un autoclave.

Los mostos fueron ajustados al pH óptimo adicionando NaOH (0.01 M) y posteriormente esterilizados.

Porciones de 500 ml de los mostos se vertieron de manera aséptica, con la ayuda de la flama de un mechero, en recipientes de vidrio de 1000 ml con tapadera. Se adaptó un tubo de vidrio en forma de U y se le introdujo agua destilada para impedir la contaminación microbiológica y mantener en condiciones anaeróbicas la muestra. Así mismo se adaptaron mangueras de plástico con una jeringa para extraer muestra de cerveza y realizarle análisis de contenido de etanol (Figura 14). Cada vez que se muestreaba, la jeringa y la manguera fueron desinfectadas con la ayuda de la flama de un mechero. La unión de entre la tapadera y la boca del recipiente se selló con papel Parafilm®, para mantener estéril y en condiciones anaerobias la muestra y evitar la pérdida de compuestos formados durante la fermentación.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

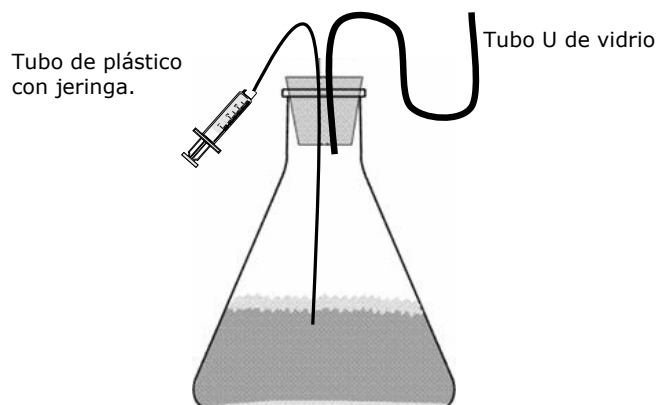


Figura 14. Modelo de los recipientes para fermentación a nivel matraz.

Los mostos se fermentaron por duplicado para cada muestra, con las siguientes características:

- Mosto estéril realizado de acuerdo al procedimiento 2 (Mesones, 2000).
- pH entre 5.3-5.5.
- 1.5 g de levadura Nottingham® (Mesones, 2000; Vogel, 1999; Hornsey, 2003; Graham *et* Stephen, 2004; Obido *et al.* 2002). La levadura fue previamente diluida en una porción de mosto estéril a una temperatura aproximada de 20 °C.
- Agitación manual en rangos de 1-2 minutos cada 30 minutos durante 5 horas.
- Temperatura constante 13 °C.

Las muestras fueron colocadas en una cámara de refrigeración (Ambi-hi-Lo®, Serie 1101) para mantener constante la temperatura durante 12 días (Bamfortg, 2000).

Durante este proceso se cuantificó la cantidad de etanol producida. Se comenzó a cuantificar a partir del tercer día ya que es a partir de este momento en el que el oxígeno se agota y comienza la producción de etanol (García *et al.*, 1993). La determinación se llevó a cabo cada 2 días hasta que la fermentación finalizó.

4.3.4 Maduración

Terminado el proceso de fermentación cada una de las muestras se trasegó en dos botellas estériles color ámbar con ayuda de un embudo de talle largo, previamente esterilizado, evitando que el líquido cayera de manera violenta para

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

evitar la pérdida de CO₂. Se colocó un mechero cerca del proceso, para evitar contaminación. También se procuró que los recipientes tuvieran la misma cantidad de muestra y una porción de levadura para que ésta siga fermentando los carbohidratos que restan en el mosto, así como producir y eliminar algunas sustancias de la cerveza.

Las botellas se taparon con tapones a presión pero éstos no embonaban de manera correcta así que se utilizó papel Parafilm® en los bordes para sellar bien el recipiente.

El proceso de maduración se llevó a cabo durante 3 semanas a 5 °C en una cámara de refrigeración.

4.3.5 Pasteurización

Finalizada la maduración se llevó a cabo el proceso de pasteurización con el fin de inactivar las levaduras que se mantuvieron activas en la maduración. Se llevó a cabo en distintos rangos de temperatura que se muestran en la tabla 14.

Tabla 14. Rangos de tiempo y temperatura en el proceso de pasteurización.

Temperatura (°C)	Tiempo (minutos)
30-35	5
65-70	5
30-35	5
18-20	Hasta llegar a esta temperatura.

El baño de agua se atemperó a 35 °C sumergiendo un cabezal que controla la temperatura. Las botellas con muestra fueron colocadas en el baño con agua atemperado a 35 °C, cuando las muestras fueron introducidas dentro del baño, éste bajó su temperatura, así que se comenzó a tomar el tiempo a partir de que el baño marcó los 35 °C. Después de haber pasado 5 minutos. Se retiraron del baño y se introdujeron dentro de baño de calentamiento (Boekel Grant (5-99 °C)) a 70 °C, se realizó el mismo procedimiento que en el baño de 35 °C. Posteriormente las muestras fueron transferidas al baño de 35 °C. Transcurridos los 5 minutos las muestras se colocaron en un recipiente hasta que alcanzaron una temperatura de

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

20 °C y se colocaron en refrigeración a 5 °C para conservarlas y realizar los análisis de calidad.

4.3.6 Proceso de fermentación a nivel fermentador

Este experimento se realizó con 5 litros de mosto producido con malta de la variedad Esmeralda1 de Hidalgo (1500 g de malta molida y 31 g de lúpulo) mediante el método 2. El mosto fue previamente esterilizado (Autoclave FELISA®) a 121 °C durante 15 minutos antes de ser sometido a la fermentación.

Se llevó a cabo en un fermentador BioFlo 110 (Modular Benchtop Fermentor), de 5 litros de capacidad, el cual está equipado con control de pH, porcentaje de oxígeno disuelto y temperatura. El Software BioCommand Plus (BioProcessing) permite almacenar los valores que los sensores miden durante la fermentación.

El sistema de muestreo permitió tomar la muestra de manera aséptica así como, el trasiego de la muestra del fermentador a los recipientes de maduración se realizó de manera directa sin abrir el fermentador.

El pH del mosto fue ajustado a 5.4 mediante la adición de NaOH (0.01 M) (García *et al*, 1993).

La muestra se inoculó con 15 g de levadura Nottingham®; se mantuvo en agitación a 150 rpm (García *et al*, 1993) durante 5 horas y la temperatura se mantuvo constante a 13 °C durante la fermentación.

Todo el equipo utilizado que estuvo en contacto directo con el mosto y el inóculo fue previamente esterilizado.

4.3.7 Determinaciones analíticas

4.3.7.1 β -glucanos en mosto (EBC, 2003; Método enzimático 3.10.1, 4.16.1 y 8.13.1).

Este análisis se llevó a cabo con el Test kit β -glucanos (Megazyme International).

El método se basa en que las muestras sufren una hidratación en una solución buffer a pH=6.5, posteriormente son incubadas con la enzima liquenasa purificada. Una alícuota de la muestra incubada reacciona con la enzima β -glucosidasa. La glucosa producida es tratada usando un reactivo de glucosa oxidasa/peroxidasa.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Los β -glucanos son convertidos por estas enzimas hasta compuestos más sencillos los cuales forman reacciones coloridas como se muestra en la reacción.



Finalmente la absorbancia de las muestras se determinó en un espectrofotómetro UV a 510 nm. La cerveza fue desgasificada previamente, de preparar la muestra.

En un tubo para centrifuga se colocaron 5 ml de mosto o cerveza y se le adicionó 2.5 g de cristales de sulfato de amonio, se tapo y se disolvió. Las muestras se mantuvieron durante 20 horas a 4 °C. Después se centrifugaron (Centrifuga Sol-Bat®) durante 10 minutos a 3500 rpm y se desechó el sobrenadante. La parte sólida obtenida se disolvió en 5 ml de etanol acuoso, con ayuda de un Vortex. Los tubos se centrifugaron nuevamente durante 10 minutos a 3500 rpm y se desechó el sobrenadante. La parte sólida se resuspendió en buffer fosfato de sodio (2 mM, pH=6.5) y se ajustó el volumen a 4.8 ml. Se adicionó 0.2 ml de liquenasa (10U) al tubo y se incubó a 40 °C durante 5 minutos. Posteriormente se centrifugó a 3500 rpm durante 10 minutos.

La incubación de β -glucosidasa se realizó tomando 0.1 ml del sobrenadante y se colocó en el fondo del tubo test, se dividieron de la siguiente manera:

- Blanco. 0.1 ml de buffer de acetato (0.050 mol/litro, pH = 4.0).
- Tubos muestra. 0.1 ml de β -glucosidasa (0.2 U en el buffer de acetato 0.050 mol/litro, pH = 4.0);

Ambas muestras (blanco y muestra) se incubaron a 40 °C durante 20 minutos.

Para la determinación de glucosa se adicionó al tubo 3.0 ml del reactivo glucosa oxidasa peroxidasa (Reactivo cromógeno) por intervalos de 30 segundos, se incubó a 40°C durante 15 minutos, y se midió la absorbancia a 510 nm para cada muestra.

El contenido de β -glucanos en la muestra se calcula con la siguiente fórmula:

$$\beta G \text{ (mg/l)} = AE \times \frac{F}{W} \times 27$$

donde:

βG = β -glucanos.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

AE = Absorbancia de la reacción – Absorbancia del blanco.

F = 100 μg de glucosa /absorbancia de 100 μg de glucosa.

W = Peso de la muestra seca en mg.

27= Factor de ajuste para determinación de β -glucanos

4.3.7.2 Nitrógeno en mosto y cerveza método Kjeldahl (EBC, 2003; métodos 3.3.1, 8.9.1, 9.9.1).

Se trata de la determinación de nitrógeno presente en mosto o cerveza mediante la digestión de los componentes nitrogenados con ácido sulfúrico en presencia de un catalizador, seguida de una destilación del hidróxido de amonio obtenido y la cuantificación del nitrógeno mediante una titulación con ácido.

Para la determinación de nitrógeno en mosto y cerveza se tomaron 20 ml. Para la cerveza fue previamente desgasificada colocando la muestra en agitación y aplicando un poco de calor. Posteriormente se adicionaron 3.0 ml de ácido sulfúrico. A continuación se evaporó toda el agua presente en la muestra mediante el calentamiento a 170 °C durante 1 hora, realizo en un equipo de digestión de proteína (ESEVE®).

Una vez que se obtuvo la muestra sólida (color negro), se adicionó la mezcla catalizadora (5.0 g de sulfato de potasio y 0.3 g de sulfato de cobre), 5 gotas de solución antiespumante y 20 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se realizó la digestión durante 4 horas en el mismo equipo donde se evaporó la muestra, hasta obtener una solución transparente.

Finalizada la digestión se enfrió la muestra y se neutralizó mediante la adición de 50 ml de H₂O destilada, después se realizó la destilación de las muestras en un equipo de destilación automático (GERARHD VAPODEST®), adicionando 90 ml de NaOH (30%), la muestra destilada se recogió en una solución de ácido bórico al 2%. Finalmente se realizó la titulación del destilad o con una solución estandarizada de H₂SO₄ (0.1 mol/l).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

El nitrógeno en mosto se determinó utilizando la siguiente fórmula.

$$\text{Nitrógeno total (mg/l)} = \frac{T \times 14}{V} \times 100$$

donde:

T = ml de H₂SO₄ requerido para neutralizar el amonio después de su digestión.

V = Volumen de la muestra en ml.

El contenido de proteína fue calculado multiplicando la cantidad de nitrógeno con el factor de conversión 6.25 (EBC, 2003; Obido *et al*, 2002; Jones *et* Budde, 2004).

$$\% \text{ nitrógeno} = \frac{\text{Nitrógeno total}}{100000}$$

4.3.7.3 Peso específico del mosto y cerveza (Matissek *et al.*, 2001; EBC, 2003; Métodos 4.5.1, 8.2).

El peso específico del mosto y cerveza es estimado usando un picnómetro calibrado.

Se determinó mediante picnómetros de vidrio de 10 ml. La calibración del picnómetro se llevó a cabo de la siguiente manera, la masa del picnómetro vacío se determinó lavándolo 3 veces con agua destilada y secando en una estufa de calentamiento. Una vez seco se dejó enfriar a temperatura ambiente, se colocó el tapón y se dejó reposar durante 15 minutos y posteriormente se pesó.

La masa del picnómetro con agua destilada se calculó llenando el picnómetro con agua destilada y se dejó reposar durante 15 minutos en un baño de agua a 20 °C. Se enrasó con agua hasta en menisco y el resto de agua se retiró con papel filtro, se colocó el tapón y se secó con un paño sin dejar pelusas; se colocó en la balanza dejando reposar 5 minutos y se tomó el peso.

La masa del picnómetro con el mosto y cerveza se realizó lavando el picnómetro con la muestra 3 veces y se realizó el mismo procedimiento que con el agua destilada.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

El peso específico se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Peso específico} = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1}$$

donde:

m_1 = Masa en gramos del picnómetro vacío.

m_2 = Masa en gramos del picnómetro con agua destilada.

m_3 = Masa en gramos del picnómetro con la muestra.

4.3.7.4 Fermentabilidad, atenuación real y aparente del mosto. (EBC, 2003; Método: 4.11.1).

Las enzimas aminolíticas del mosto son inactivadas con las altas temperaturas en la preparación del mosto. El mosto es fermentado con levadura durante 24 horas. Se midió el peso específico del mosto a 20 °C. El material que estuvo en contacto con la levadura y el mosto fue previamente esterilizado. En 50 ml de mosto fue adicionado 15 g de levadura y mezcló vigorosamente.

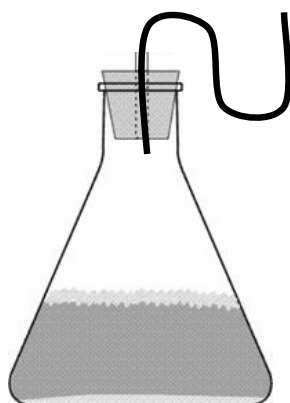


Figura 15. Modelo de recipientes para análisis de fermentabilidad.

Se adaptó a la tapa de un matraz, un tubo U (Figura 15) que contenía agua destilada. La muestra se mantuvo a 20 °C durante 24 horas.

Transcurrido este tiempo se descarbonató una porción del mosto fermentado agitándolo en una parrilla de agitación hasta que no se observó la formación de

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

espuma. Posteriormente se filtró la levadura a través de papel filtro con ayuda de vacío. Al líquido obtenido, se determinó el peso específico a 20 °C.

Para realizar los cálculos primero se calcula el peso específico original (OG) del mosto y el presente (PG) del filtrado fermentado usando la siguiente fórmula:

$$OG(PG)(^{\circ} Sacch) = 1000(SG - 1)$$

donde:

OG = Peso específico original del mosto.

PG = Peso específico presente del filtrado fermentado.

El porcentaje aparente de atenuación (F_{app}) o fermentabilidad aparente se calcula usando la siguiente fórmula:

$$F_{app}(\%) = \frac{OG - PG}{OG} \times 100$$

donde:

F_{app} (%) = Porcentaje de atenuación aparente.

OG = Peso original del mosto.

PG = Peso presente del filtrado fermentado.

El porcentaje de atenuación real se calcula de la siguiente manera.

$$F_{real}(\%) = F_{app}(\%) \times 0.819$$

4.3.7.5 pH del mosto y cerveza (EBC, 2003; Método 1.5, 8.17).

Se determina la concentración de iones hidrógeno con un medidor de pH ajustado a 4.0 y 7.0 con soluciones tampón.

El medidor de pH (pHmeter microprocessor, HANNA, pH213) se calibró con soluciones tampón 4.0 y 7.0 a 20 °C. La muestra de mosto y cerveza se colocó en una parrilla de agitación y se atemperó a 20 °C. Una vez que la temperatura fue constante el pH fue medido.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.3.7.6 Viscosidad del mosto (EBC, 2003; Método 8.4).

La viscosidad es la resistencia que ofrece un líquido a fluir. La viscosidad fue medida con un viscosímetro capilar (CANNON 9721-B53). El mosto se introdujo en el viscosímetro invirtiéndolo y aplicó succión en el tubo G, se sumergió el tubo R en la muestra y llevó el líquido hasta la marca 2; el instrumento se regresó a su posición normal. El viscosímetro se colocó dentro de un baño de agua a temperatura constante de 20 °C y se dejó atemperar durante 15 minutos.

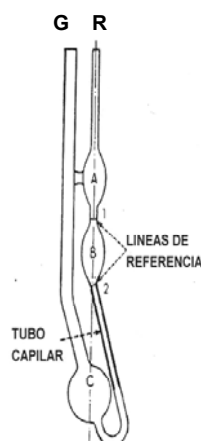


Figura 16. Viscosímetro capilar

(<http://www.autotecnica.tv.com.ar/MARCELOMARTINS/autos/viscosimetro.jpg>, 2006).

Transcurrido este tiempo se succiona el tubo R hasta que el líquido llega a la marca 1. Se midió el tiempo, con ayuda de un cronómetro, en que el mosto llega del punto 1 al punto 2 (Figura 15). Este procedimiento se repitió hasta que el fue constante.

Debido a que en el instructivo del viscosímetro sólo se mencionaba el cálculo para la viscosidad a 40 y 100 °C, y la técnica para mosto y cerveza hace referencia a 20 °C, se calculó una constante obtenida con una regresión por extrapolación. La viscosidad fue calculada de la siguiente manera:

$$\text{Viscosidad} = t \times 0.003994$$

donde:

t = Tiempo en segundos.

0.003994 = Constante para viscosidad a 20 °C.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Viscosidad = cSt (mm^2/s^2).

La EBC muestra los valores esperados de viscosidad del mosto en mPa.s y el viscosímetro con el cual se trabajó daba los valores en cSt, así que se tuvo que realizar una serie de conversiones.

Para la conversión de los valores esperados de viscosidad se tienen las siguientes equivalencias:

Stokes = Poises/densidad

1 cP. = 1.0×10^{-3} Pa.s

1 Pa.s = 1000 mPa.s

1 St = 100 cSt

Conversiones:

a) 1 Pa.s \rightarrow 1000 mPa.s

0.00145 Pa.s \leftarrow 1.45 mPa.s

b) 1 Pa.s \rightarrow 1000 mPa.s

0.00251 Pa.s \leftarrow 2.51 mPa.s

c) 1 cP \rightarrow 1.0×10^{-3} Pa.s

1.45 cP \leftarrow 0.00145 Pa.s; 1.45 cP = 0.0145 Poises

d) 1 cP \rightarrow 1.0×10^{-3} Pa.s

2.51 cP \leftarrow 0.00251 Pa.s 2.51 cP = 0.0251 Poises

e) Stokes = Poises/densidad = $0.0145 \text{ Poises} / (1.005 \text{ g/cm}^3) = 0.0144 \text{ Stokes} = 1.44 \text{ cSt}$

f) Stokes = Poises/densidad = $0.0145 \text{ Poises} / (1.080 \text{ g/cm}^3) = 0.0134 \text{ Stokes} = 1.34 \text{ cSt}$

g) Stokes = Poises/densidad = $0.0251 \text{ Poises} / (1.005 \text{ g/cm}^3) = 0.0245 \text{ Stokes} = 2.45 \text{ cSt}$

h) Stokes = Poises/densidad = $0.0251 \text{ Poises} / (1.080 \text{ g/cm}^3) = 0.0249 \text{ Stokes} = 2.49 \text{ cSt}$

*La densidad se obtuvo de acuerdo a la densidad que suele encontrarse en los mostos cerveceros (EBC, 2003).

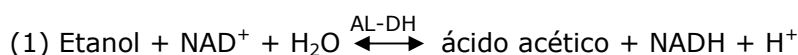
*El rango viscosidad es de 1.34 cSt a 2.49 cSt.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

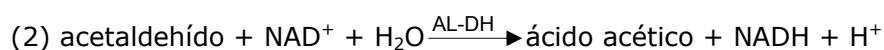
4.3.7.7 Determinación de etanol por método UV en cerveza.

La determinación de etanol se determinó por medio de un Test kit etanol de Roche, procedimiento simplificado para la determinación de etanol en bebidas alcohólicas.

El etanol es oxidado a acetaldehído por nicotinamida-adenina dinucleótido (NAD) en presencia de la enzima alcohol des-hidrogenasa (ADH) (1).



Debido a que el equilibrio de esta reacción es hacia el lado izquierdo, la reacción es completada desplazando a la derecha en condiciones alcalinas y por atrapamiento del acetaldehído formado. El acetaldehído es cuantitativamente oxidado a ácido acético en presencia de aldehído des-hidrogenasa (AL-DH) (2).



Para determinar el etanol producido la muestra se centrifugo durante 5 minutos a 3600 rpm para retirar la materia sobrenadante y evitar que esta materia provocara turbidez e interfiriera en los valores obtenidos. Con el líquido obtenido se realizó una dilución 1:1000 como lo indica la técnica para cerveza.

El procedimiento para la determinación de etanol se realizó como se muestra en la siguiente tabla (Tabla 15).

Tabla 15. Procedimiento para determinación de etanol en cerveza.

Pipetear dentro de cubetas	Blanco	Muestra
Mezcla de AL-DH con NAD (buffer difosfato de potasio pH=9.0)	3.000 ml 0.10 0ml	3.000 ml -
Agua destilada	-	0.100 ml
Solución de la muestra		
Mezcla, después de aproximadamente 3 minutos se leyó la absorbancia de la solución (A ₁) a 365 nm. Comenzar la reacción por adición de:		
Alcohol deshidrogenasa	0.050 ml	0.050 ml
Se mezcló, después de 10 minutos que la reacción fue completada se leyó la absorbancia de las soluciones inmediatamente una después de otra (A ₂).		

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

La absorbancia se midió en un espectrofotómetro UV (GENESYS UV) a 365 nm en cubetas de plástico.

El contenido de etanol se calculó primero determinado las diferencias de absorbancia (ΔA).

$$\Delta A = (A_2 - A_1)_{muestra} - (A_2 - A_1)_{blanco}$$

donde:

A_2 = Absorbancia del blanco.

A_1 = Absorbancia de la muestra.

$(A_2 - A_1)_{Muestra}$ = Diferencia de absorbancia de la muestra.

$(A_2 - A_1)_{Blanco}$ = Diferencia de absorbancia del blanco.

De acuerdo con la ecuación general para el cálculo de la concentración en la reacción en las cuales en contenido de NADH formado es estequiométricamente medido a la mitad del contenido de sustrato:

$$c = \frac{V \times MW}{E \times d \times v \times 2 \times 100} \times \Delta A \left(\frac{g \text{ muestra}}{\text{solución de muestra}} \right)$$

donde:

V = Volumen final (ml).

v = Volumen de la muestra (ml).

MW = Peso molecular del etanol (g/mol).

d = Camino de onda. 1.0 cm.

E = Coeficiente de extinción NADH. $3.40 [1 \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}]$.

La muestra fue diluida para la determinación, por lo que el resultado fue multiplicado por el factor de dilución F, que en este caso fue de 1000.

4.3.7.8 Color de cerveza (EBC, 2003; Métodos 8.6.1; 9.6).

La absorbancia de la cerveza se mide a 430 nm; con ello se determina de manera indirecta el color de la cerveza.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron 30 ml de muestra y se le adicionó reactivo de Kieselguhr para precipitar los turbios más rápido y fácilmente. La filtración de la muestra se realizó en una membrana de filtración de 0.45 micrones (Micro-mill®) con ayuda de una unidad de filtración y vacío.

El espectrofotómetro se ajustó a 430 nm y se llenó una celda con agua, este fue el blanco para las muestras. Después las celdas se llenaron con la muestra de cerveza filtrada y finalmente se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro UV (GENESYS UV).

$$\text{Color}(EBC) = A \times f \times 50$$

donde:

A = Absorbancia de la muestra leída en celdas de 10mm.

f = Factor de dilución de la muestra.

Los resultados de color se expresaron en unidades EBC, con dos cifras decimales.

4.3.7.9 Contenido de alcohol por destilación en cerveza (EBC, 2003; Método 9.2.1).

Se destila la cerveza usando calor. Se determina la gravedad específica 20 °C/20 °C del alcohol destilado, después de llevarlo al peso original con agua destilada.

La muestra fue preparada de la siguiente manera, se pesaron 50 g de cerveza en un matraz y después se añadieron 25 ml de agua. La muestra se colocó en un destilador automático (GERARHD VAPODEST®). La destilación se detuvo al recolectar de 40 a 45 ml de destilado.

El volumen recolectado se llevó a 50.0 g con agua. Se midió el peso específico 20 °C/20 °C del destilado (SG_A). Así mismo se midió el peso específico 20 °C/20 °C de la cerveza, (SG_{EA}). Antes de medir el peso específico de la cerveza se centrifugó durante 5 minutos a 3600 rpm, para eliminar los sólidos y turbios que contenía.

El % de alcohol (m/m) se calculó convirtiendo el peso específico del destilado, SG_A , al contenido de alcohol (A) como % (m/m) usando el siguiente polinomio:

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

$$A = 517.4 (1 - SG_A) + 5084 (1 - SG_A)^2 + 33503 (1 - SG_A)^3$$

donde:

A = Contenido de alcohol del destilado = contenido de alcohol de la cerveza.

SG_A = Peso específico del destilado.

El % (v/v) de alcohol se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Contenido de alcohol \% (v/v)} = \frac{A \% (m/m) \times SG_{EA}}{0.791}$$

donde:

0.791 = SG_{Etanol} peso específico del etanol 20 °C/20 °C.

SG_{EA} = Peso específico de la cerveza.

4.3.7.10 Grado real de fermentación de cerveza. (EBC, 2003; Métodos 9.2.1, 9.4 y 9.5,).

El grado real de fermentación (GRF) es una expresión de la fracción del extracto original presente en el mosto el cual ha sido transformado a alcohol (y CO_2). Este puede ser calculado del % contenido de alcohol (m/m) y extracto real (% plato).

La preparación de la muestra y el procedimiento del análisis se realizaron de la misma manera que en el Contenido de alcohol por destilación en cerveza, apartado 4.2.8.9. El grado real de fermentación de la cerveza se calculó de la siguiente manera:

$$RFD = \frac{100 \times 2.0665 \times A}{2.0665 \times A + E_R}$$

donde

A = % alcohol (m/m).

E_R = Extracto real, % plato.

RDF = Grado real de fermentación.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.3.7.11 Extracto real, original y aparente (EBC, 2003; Métodos 9.4).

Se destila la cerveza usando calor. Se determina el peso específico 20 °C/20 °C del alcohol destilado, después de llevarlo al peso original con agua destilada.

La preparación de la muestra y el procedimiento del análisis se realizaron de la misma manera que en el Contenido de alcohol por destilación en cerveza, apartado 4.2.8.9.

Se determinó el peso específico 20 °C/20 °C del residuo de la destilación de la cerveza, después de llevarlo al peso original con agua, 50.0 g.

Determinación del peso específico 20 °C/20 °C de la cerveza centrifugada.

Los resultados para calcular Extracto real se obtuvieron con la siguiente fórmula:

$$E_R = -460.534 + 662.649 SG_{ER} - 202.414 SG_{ER}^2$$

donde:

SG_{ER} = Peso específico del residuo.

E_R = Extracto real.

El extracto aparente, E_A , como % (m/m) se calculó con la siguiente ecuación:

$$E_A = -460.234 + 662.649 SG_{EA} - 202.414 SG_{EA}^2$$

donde:

SG_{EA} = Peso específico de la cerveza.

E_A = El extracto aparente, E_A .

Extracto original

Calcula el extracto original de la cerveza usando la siguiente formula:

$$p = \frac{(2.0665 \times A) + E_R}{100 + (1.0665 \times A)} \times 100$$

donde:

p = Extracto original del mosto en % plato.

E_R = Extracto real de la cerveza en % (plato).

A = Contenido de alcohol en la cerveza en % (m/m).

4.3.8 Análisis estadístico

Para evaluar el mejor método para realización de mosto se realizó un análisis estadístico realizando un ANOVA de una vía acoplado a la prueba de Duncan, utilizando el Software STATGRAPHICS Plus versión 4.0.

La evaluación de los distintos mostos realizados con las maltas para la realización de cerveza, así como los resultados obtenidos de las pruebas para la evaluación de las cervezas obtenidas y comerciales fue analizada realizando un ANOVA de una vía acoplado a la prueba de Duncan (Software STATGRAPHICS Plus versión 4.0). También se realizó un ANOVA multifactorial mediante la prueba de de Duncan y análisis de correlaciones a las muestras de mostos, cerveza realizadas y comerciales (Software STATGRAPHICS Plus versión 4.0). Las características de calidad de las cervezas realizadas se compararon con las cervezas comerciales se evaluaron mediante ANOVA multifactorial y también se emplearon las pruebas de análisis por componentes principales (CP).

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Este trabajo de investigación es la continuación del trabajo “Elaboración y evaluación de maltas cerveceras de diferentes variedades de cebada (*Hordeum sativum jess*) producidas en los Estados de Hidalgo y Tlaxcala” (Ruiz, 2006). Por consiguiente este trabajo de investigación evalúa el potencial cervecero de las maltas que presentaron una mejor calidad en el trabajo de Ruiz (2006).

En la tabla 16 se muestran los resultados de las muestras de estudio en base a análisis de contenido de proteínas, β -glucanos, poder diastásico y extracto de malta realizado por Ruiz (2006).

Tabla 16. Calidad de maltas seleccionadas para la elaboración de cerveza (Ruiz, 2006).

Variedad	Poder Diastásico*	β -Glucanos	%	
			Proteínas	Ext. Malta
Esm1-H	420 (19)	4 (0.2)	9.2 (0.07)	32.2 (1.3)
Esm2-H	442 (39)	2 (0.1)	9.5 (0.06)	31.8 (1.0)
M16-T	366 (22)	4 (0.4)	9.1 (0.06)	27.9 (0.6)
Esp-R	350 (20)	6 (0.4)	8.6 (0.04)	24.0 (1.2)
Esm-T	400 (20)	5 (0.4)	7.5 (0.05)	28.0 (0.5)
Calidad requerida	200-600	Máx. 5.5	9.05 a 10.9	Min. 24

* Poder Diastásico en unidades Windisch Kolbalch (UWK)

5.1 Valoración del método de obtención de mosto cervecero

Con el objetivo de seleccionar el método más adecuado para la obtención de mosto cervecero se analizaron dos procedimientos; los resultados de los análisis realizados para cuantificar su calidad se muestran en las tablas 17 y 18.

Tabla 17. Resultados de los análisis realizados al método 1 y 2 para la realización de mostos (desviación estándar).

Variedad	Peso específico	Grados plato	pH	Método 1	
				% atenuación	
				real	aparente
Esp-R	1.064(0.1) ^c	16.16(0.1) ^c	6.06(0.1) ^a	47.55(0.2) ^a	58.05(0.3) ^a
Esm-T	1.062(0.1) ^b	15.58(0.1) ^b	6.19(0.0) ^a	57.12(1.3) ^b	69.74(1.6) ^b
Método 2					
Esp-R	1.061(0.0) ^b	15.25(0.3) ^b	6.27(0.2) ^a	62.37(0.8) ^d	76.15(1.0) ^d
Esm-T	1.058(0.1) ^a	14.58(0.1) ^a	6.29(0.0) ^a	59.37(0.4) ^c	72.50(0.5) ^c

*Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas estadísticas (P<0.05).

El peso específico es expresado en la mayoría de la bibliografía, en grados plato ($^{\circ}$ P), por esta razón se discutirán los resultados de grados plato. El método 2

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

(Tabla 17), presentó los valores más bajos en comparación con el método 1. También se observa que la muestra de Esmeralda T en el método 1 (15.58) y método 2 (14.58) mostró los valores más bajos en comparación con la variedad de Esperanza R.

Aunque en la bibliografía no se especifica el valor adecuado de °P, O'Connor-Cox *et Ingledew* (1991) menciona que un mosto normal se encuentra entre el rango de 10-12 °P y un mosto con alto peso específico se encuentra en el rango de 15-24 °P o más. La mayor parte de los mostos obtenidos no cumple con el parámetro de mosto normal; no obstante los valores registrados en el método 2 la muestra de Esmeralda T (14.58) y Esperanza R (15.25), no se encuentra dentro de los rangos de mosto normal o alto peso específico.

Un °P elevado tiene un efecto negativo sobre el desarrollo de la levadura debido a la elevada presión osmótica (Pratt-Marshall *et al.* 2002; Pratt-Marshall *et al.*, 2003) sin embargo, los mostos del método 2 no se encuentran dentro del rango de alto peso específico.

Estos resultados demuestran que el método utilizado para, así como la variedad de malta utilizada influye en la calidad final de la muestra. El método que proporciona mosto con bajo °P es el de Mesones (2000).

Para obtener mosto con valores de °P normal es necesario ajustarlo con agua estéril, y esto solucionará el problema.

El rango de pH óptimo es entre 5.0-5.5 y como se puede observar los valores obtenidos se encuentran por encima de 6.0. Sin embargo, el pH no presenta diferencias significativas entre método ni variedad de malta utilizada (Tabla 17), por lo tanto el pH no es un análisis que ayude a elegir el método para realizar mosto cervecero.

El porcentaje de atenuación indica la cantidad de azúcares convertidos en alcohol. La muestra Esmeralda T en el porcentaje de atenuación real (57.12%) y aparente 69.74% en el método 1 (Tabla 17), registró los valores más bajos y en el método 2 presentó los valores más altos en ambos análisis. También se observó que el

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

método 2 proporcionó los valores más altos de atenuación, en comparación con el método 1. Lo que significa que en el método 2 hubo una mayor producción de alcohol. La causa puede ser que en el proceso 2, el tiempo fue suficiente para que las enzimas hidrolizaran el almidón en azúcares más sencillos, y estos fueran fácilmente consumidos por las levaduras y convertidos en alcohol. En la bibliografía se mencionan rangos aceptables de atenuación aparente desde 67% (<http://www.minicerveceria.com/listado.asp?cat=143>, 2005) hasta 80% (Vogel 1999). En el método 2 ambas variedades de malta entran dentro de este rango, pero en el método 1 sólo la muestra de Esmeralda T.

Los análisis de atenuación real y aparente presentan diferencias significativas entre variedad y método utilizado; por lo tanto, se concluye que la conversión de azúcares a alcohol dependerá de la variedad de malta utilizada y del método para obtención de mosto utilizado. Y el método 2 es el procedimiento que permite obtener mostos con los estándares de atenuación real y aparente requeridos.

Tabla 18. Resultados de los análisis realizados al método 1 y 2 para la realización de mostos (desviación estándar).

Método 1				
Variedad	β-glucanos (mg/L)	Viscosidad (cSt/s)	% Nitrógeno	% Proteína
Esp-R	2.68 (0.1) ^b	1.79 (0.0) ^a	1.49 (0.0) ^b	9.35 (0.5) ^b
Esm-T	4.80 (0.1) ^d	1.90 (0.0) ^c	1.40 (0.0) ^b	8.73 (0.5) ^b
Método 2				
Esp-R	1.34 (0.0) ^a	1.78 (0.0) ^a	1.27(0.1) ^a	7.94 (0.3) ^a
Esm-T	3.16 (0.1) ^c	1.87 (0.0) ^b	1.16 (0.1) ^a	7.25 (0.2) ^a

*Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas estadísticas (P<0.05).

Con respecto a los resultados de β -glucanos se observa que la variedad de Esmeralda T (Tabla 18) presentó los valores más altos en ambos métodos (método 1= 4.80 y método 2= 3.16). Por otra parte el método 2 mostró los valores más bajos con respecto al método 1 (Esm-T= 4.80 y Esm-R= 2.68). Altos contenidos de β -glucanos en el mosto causa numerosos problemas como la ineficiente y retardada filtración en el mosto y cerveza, alta viscosidad en el mosto y formación de turbios en el producto final (Bamforth, 1982; Palmer, 1975). Los resultados de β -glucanos son estadísticamente diferentes entre método y variedad. Estos

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

resultados permiten concluir que con el método 2 se obtienen bajos valores, lo cual indica que la conversión de β -glucanos a carbohidratos sencillos fue eficiente.

La viscosidad muestra los valores (Tabla 18) más altos en la variedad de Esmeralda T (método 1= 1.90 y método 2= 1.87). El método 1 presentó los valores más bajos comparados con el método 2. Lo cual significa que el método a utilizar en la realización de mosto influye en los resultados de viscosidad en el caso de Esmeralda T, sin embargo, se observa que en la muestra de Esperanza R, el método no presentó diferencias significativas.

Los análisis de % de nitrógeno y proteína muestran diferencias significativas entre métodos (Tabla 18), observándose valores bajos en el método 2. Altos niveles de proteínas dificultan la separación del mosto de la cáscara bloqueando los poros del filtro, además de formar enlaces con los taninos y precipitados especialmente después de que la cerveza se enfría (Paynter, 1999). Lo cual indica que el método influye de manera importante en los análisis de nitrógeno y proteína pero no dependerá de la variedad utilizada.

Se concluye que la variedad de malta y el método para obtener mosto influyen de manera importante para obtener mostos con buena calidad. Con los resultados de los análisis realizados de grados plato, porcentaje de atenuación, β -glucanos, % de nitrógeno y proteína, permitieron concluir que el método 2 es el mejor proceso para realizar mosto cervecero y que cada variedad de malta tiene un método óptimo para obtener mosto de buena calidad.

5.2 Elección del inóculo y condiciones de fermentación

5.2.1 Siembra y propagación de levadura

Para comparar la viabilidad de levaduras activadas (LA) y levaduras “comerciales” no activadas (LNA), se propagó y aisló la levadura para activarla sin ningún microorganismo contaminante, así como para calcular las unidades formadoras de colonias por gramo de levadura.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Las colonias de levadura procedentes de las diluciones 1×10^{-1} y 1×10^{-3} fueron incontables, mientras que la dilución 1×10^{-7} presentó entre 12 y 17 UFC/g de muestra; por lo que se tomó la dilución 1×10^{-5} , donde se estimó un promedio de 36×10^5 UFC/g.

Con respecto a la identificación mediante tinción violeta de genciana, las levaduras presentaron formas ovaladas de color blanco, de tamaños grandes y pequeños, formando aglomeraciones de levaduras.

Además de las levaduras, se identificaron otras estructuras redondas en color rosa y amarillo, estas no formaron aglomeraciones y el tamaño era mínimo comparado con el tamaño de las levaduras. Estos microorganismos eran bacterias que contaminaron el medio, no se identificó el género ni la especie. Además se encontraron colonias de mohos de color gris-verdoso en las muestras incubadas, no se tipificaron dichas colonias, puesto que no es el objetivo de la investigación.

La presencia de estas colonias se presentó debido que hubo una contaminación microbiológica, la posible causa pudo deberse a que el empaque que contenía la muestra de levadura había sido previamente destapado y almacenado en un refrigerador ($5\text{ }^{\circ}\text{C}$), o bien pudo haberse contaminado al momento de abrir el empaque.

5.2.2 Microfermentaciones

Para conocer las condiciones de pH, temperatura así como, para evaluar el inóculo para la fermentación, las muestras se sometieron a fermentaciones con un pequeño volumen de mosto realizado con maltas estándar.

El equipo (Mycrobiology Reader BioscreenC®) en el cual se llevo acabo las microfermentaciones midió la densidad óptica cada determinado tiempo, la cual es una medida indirecta del crecimiento en este caso de la levadura.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Los resultados obtenidos en el equipo se muestran en la figura 17.

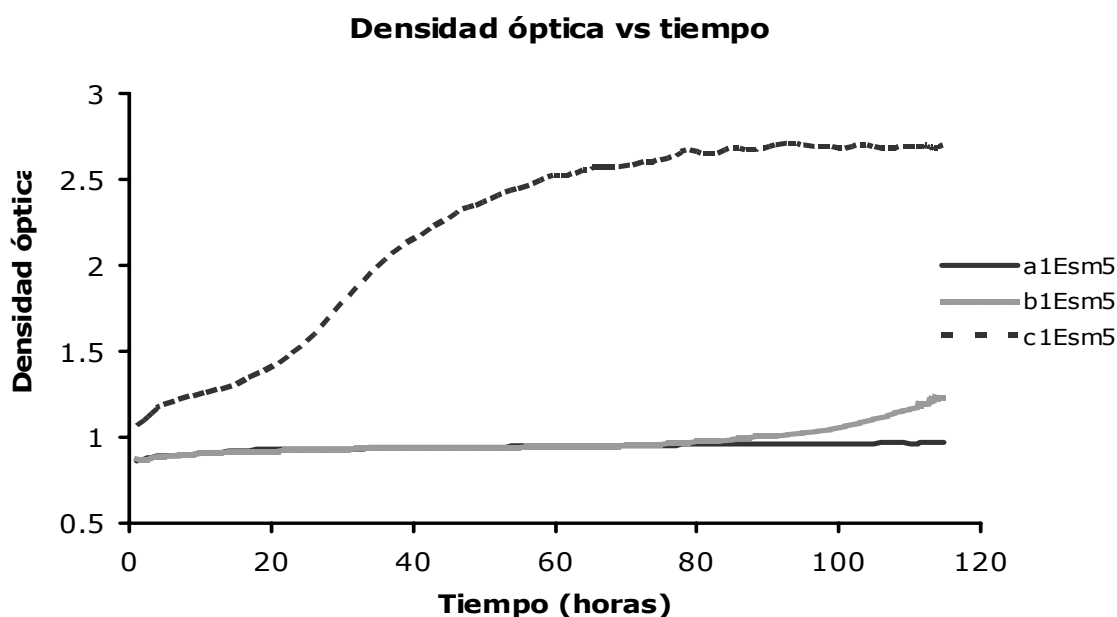


Figura 17. Crecimiento de la levadura activada y no activada.

a1Esm5 (ET, pH=5.5, sin levadura).

b1Esm5 (ET, pH=5.5, levadura activada).

c1Esm5 (ET, pH=5.5, levadura comercial) .

En el gráfico sólo se muestra el crecimiento para la variedad Esmeralda T con la levadura activada, comercial y el blanco, con pH=5.5, ya que todas las muestras tuvieron un comportamiento parecido. No se observaron diferencias entre pH 5.5 y 5.3, por lo que el pH y variedad de malta no afectan el desarrollo de la levadura.

En el caso del inóculo, se observó que la levadura comercial (no activada) tuvo un mejor desarrollo ya que comenzó a registrarse actividad desde las primeras 20 horas; en el caso de la levadura activada se observó actividad a partir de las 100 horas. La cantidad de inóculo influye de manera importante en la velocidad de fermentación y por consecuencia, influye en el tiempo requerido para la fermentación (Jin et Speers, 1998) por tanto es posible que la cantidad de inóculo no fue suficiente para el desarrollo de la levadura activada. Debido a que el objetivo de este trabajo no es establecer las cantidades de inóculo adecuadas para el desarrollo de la levadura no se realizaron más experimentos.

Con base a los resultados obtenidos se concluye que las condiciones favorables para fermentar son a pH de 5.3-5.5 y con levadura comercial. La levadura no

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

activada tuvo un desarrollo más bajo debido a que el volumen de muestra inoculada no fue suficiente. Por otra parte, la levadura activada fue propagada en caldo soya tripticaseína, es conveniente que se lleve a cabo directamente en el mosto cervecero para que la levadura se adapte al medio y pueda desarrollarse mejor.

5.3 Fermentación a nivel matraz

La fermentación llevada a cabo a nivel matraz se realizó con mostos producidos con el método 2. Los resultados de los mostos y cerveza realizados con las variedades de malta de estudio se compararon con la variedad Esmeralda T; ésta fue elegida debido a que presentó mejores resultados en cuanto a calidad maltera. Los mostos realizados con las muestras de estudio fueron previamente evaluados de acuerdo a los análisis de calidad de mostos. Los resultados de dichos análisis se muestran en la tabla 19.

Se observa que en el análisis de Grados plato (Tabla 19) la muestra M16-T (12.00) presentó el valor más bajo y le sigue la muestra de Esm1-H (13.50).

Las muestras de Esmeralda T (14.58) y Esm2-H (14.75) son estadísticamente iguales, y mostraron los valores más altos. Estos resultados indican que la cantidad de sólidos presentes (en su mayoría carbohidratos como, glucosa y maltosa (Kobayashi *et al.*, 2005) en las muestras de Esmeralda T y Esm2-H son mayores que en el resto de las muestras.

Tabla 19. Resultados de análisis realizados a los mostos de las maltas seleccionadas para la elaboración de cerveza (desviación estándar).

Variedad	Peso específico	Grados plato	pH	% atenuación	
				real	aparente
Esm-T	1.058 (0.0) ^c	14.58 (0.1) ^c	6.29 (0.0) ^d	59.04 (0.1) ^b	72.09 (0.1) ^b
Esm1-H	1.054 (0.0) ^b	13.50 (0.0) ^b	5.34 (0.0) ^a	63.52 (0.1) ^d	77.56 (0.1) ^d
Esm2-H	1.059 (0.0) ^c	14.75 (0.0) ^c	5.60 (0.0) ^b	56.22 (0.0) ^a	68.65 (0.0) ^a
M16-T	1.049 (0.0) ^a	12.00 (0.0) ^a	5.65 (0.0) ^c	62.76 (0.0) ^c	76.63 (0.0) ^c

*Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas estadísticas (P<0.05).

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

El mosto normal se encuentra en el rango de 10-12 °P y el mosto con alto peso específico se encuentra en el rango de 15-24 o más. La muestra de M16-T se encuentra dentro de los rangos de un mosto normal, en cambio el resto de las muestras no se encuentra en ninguno de los rangos por lo que no se puede catalogar como mosto con alto peso específico o normal.

El análisis de pH muestra diferencias significativas entre las variedades de malta (Tabla 19). Las muestras de Esmeralda T (6.29) y Esm2-H (5.60) son estadísticamente iguales y a la vez presentaron los valores más altos. La muestra de M16-T presentó un valor de 5.65 y la muestra de Esm1-H de 5.34. El rango de pH óptimo es de 5.0-5.5; la muestra de Esm1-H se encuentra dentro de este rango. Por lo tanto se puede decir que las muestras son estadísticamente diferentes en el análisis de pH y la muestra de Esm1-H se encuentra dentro de este rango de pH óptimo. Sin embargo, éste se puede ajustar con una solución de NaOH.

El porcentaje de atenuación real (A. R) y aparente (A. A) fue más bajo en las muestras de Esm2-H (A. R. 56.22 y A. A.68.65%) y Esmeralda T (A. R. 59.04 y A. A. 72.09%), lo cual indica que hubo una menor conversión de azúcares del mosto en alcohol y en las muestras de Esm1-H (A. R. 63.52 y A. A. 77.56%) y M16-T (A. R. 62.76 y A. A. 76.63%) hubo una mayor conversión. Los rangos aceptables de atenuación aparente son desde 67% hasta 80% y todas las muestras cumplen con este rango de atenuación, por lo tanto aunque son diferentes estadísticamente cumplen con los valores óptimos de atenuación.

Tabla 20. Resultados de análisis realizados a los mostos de las maltas seleccionadas para la elaboración de cerveza (desviación estándar).

Variedad	β -glucanos (mg/L)	Viscosidad (cSt/s)	% Nitrógeno	% Proteína
Esm-T	3.16 (0.0) ^c	1.87 (0.0) ^c	1.15 (0.0) ^a	7.17 (0.0) ^a
Esm1-H	2.13 (0.0) ^b	1.54 (0.0) ^b	1.30(0.0) ^b	8.13 (0.2) ^b
Esm2-H	1.05 (0.1) ^a	1.48 (0.0) ^a	1.15 (0.5) ^a	7.19 (0.3) ^a
M16-T	2.22 (0.0) ^b	1.59 (0.0) ^b	1.11 (0.0) ^a	6.97 (0.0) ^a

*Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas estadísticas (P<0.05).

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

La muestra Esm2-H registró el resultado más bajo de contenido de β -glucanos (1.05). Las muestras de Esm1-H (2.13) y M16-T (2.22) son estadísticamente iguales y la muestra de Esmeralda T (3.16) mostró el valor más alto.

Los resultados de viscosidad muestran una tendencia similar a la de β -glucanos; el rango de viscosidad óptimo es de entre 1.34 a 2.49 cSt, como se observa en la tabla 20. Aunque las muestras son estadísticamente diferentes, todas las muestras cumplen con este análisis.

En los análisis de % de nitrógeno (%N) y proteína (%P) las muestras de Esmeralda T (%N 1.15 y %P 7.17), Esm2-H (%N 1.15 y %P 7.19), M16-T (%N 1.11 y %P 6.97) son estadísticamente iguales. Los valores aceptables establecidos por la EBC son de 7 a 16.5% y todas las muestras entran dentro del rango. Por lo tanto aunque hay poca diferencia estadística entre las muestras, todas entran dentro del rango aceptable de contenido de proteína.

Después de haber realizado los mostos cerveceros se colocaron a fermentar, durante el proceso de transformación se tomó muestra de mosto y se midió el porcentaje de etanol formado. Los resultados de la producción de etanol se pueden observar en el gráfico (Figura 18).

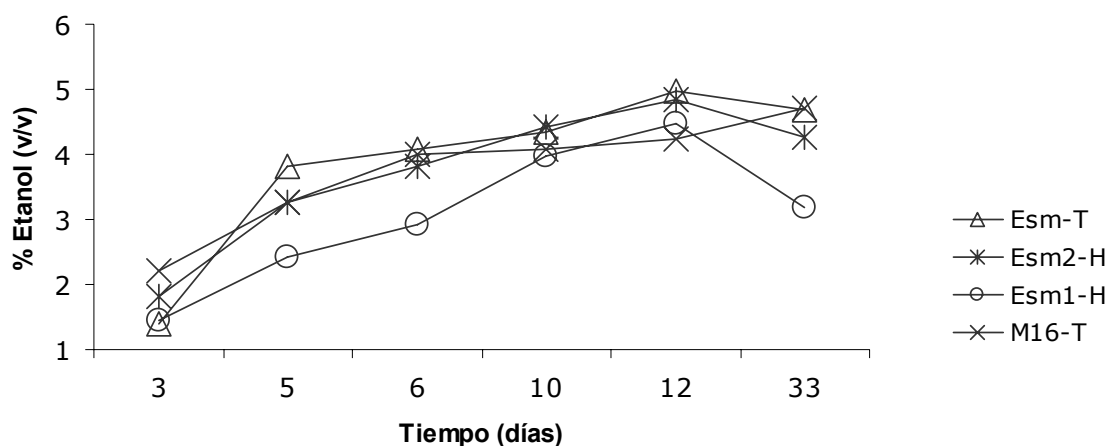


Figura 18. Porcentaje de etanol formado durante el proceso de elaboración de cerveza en 4 variedades de maltas.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Se puede observar que la producción de etanol incrementa ligeramente durante el transcurso de fermentación en las cuatro muestras de estudio, lo cual indica que la levadura consumió los azúcares del mosto y produjo por consecuencia etanol.

Después de 12 días la fermentación fue detenida y las muestras se embotellaron y fueron colocadas a maduración durante 21 días. Transcurrido este tiempo se pasteurizaron y se realizaron análisis de calidad a la cerveza terminada. Entre los análisis realizados se midió nuevamente el porcentaje de etanol.

En el gráfico 18 se observa que al finalizar la fermentación (día 33) el contenido de etanol tiene una ligera pérdida para las variedades Esm-T, Esm2-H y Esm1-H y por el contrario M16-T tuvo un ligero incremento. Este hecho pudo deberse a que los recipientes en los que se llevó a cabo la maduración no se encontraban debidamente cerrados y hubo una pérdida del etanol.

En las tablas 21 y 22 se muestran los resultados de los análisis realizados a las muestras Esm1-H, Esm2-H y M16-T, las cuales fueron comparadas con una malta comercial y con dos cervezas (Sol y Victoria).

Tabla 21. Resultados de los análisis realizados a cervezas (desviación estándar).

Variedad	Peso específico	pH	β-glucanos (mg/L)	Color (EBC)	%	
					Nitrógeno	Proteína
Esm-T	1.012 (0.0) ^b	4.34 (0.0) ^b	0.80 (0.0) ^c	14.26 (0.4) ^b	0.88 (0.0) ^b	5.50 (0.5) ^b
Esm1-H	1.012 (0.1) ^{bc}	4.35 (0.0) ^b	1.00 (0.0) ^d	18.24 (0.8) ^c	1.29 (0.0) ^d	8.00 (0.2) ^d
Esm2-H	1.011 (0.0) ^b	4.32 (0.0) ^b	1.18 (0.0) ^e	16.06 (0.5) ^{bc}	1.00 (0.0) ^c	6.26 (0.1) ^c
M16-T	1.010 (0.0) ^b	4.37 (0.0) ^b	2.14 (0.0) ^f	31.79 (2.9) ^d	0.95 (0.0) ^c	5.93 (0.2) ^b
Sol	1.013 (0.0) ^c	4.05 (0.0) ^a	0.01 (0.0) ^a	5.74 (0.1) ^a	0.49 (0.0) ^a	3.13 (0.0) ^a
Victoria	1.009 (0.0) ^a	4.10 (0.0) ^a	0.22 (0.0) ^b	17.23 (0.6) ^c	0.56 (0.0) ^a	3.00 (0.0) ^a

*Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas estadísticas (P<0.05).

Se observa que en el análisis de peso específico las muestras Esmeralda T, Esm1-H, Esm2-H y M16-T son estadísticamente iguales; las muestras Esm1-H y Sol también son estadísticamente iguales. La muestra de Victoria (1.009) presentó el valor mas bajo y es estadísticamente diferente a las demás muestras. Las muestras de cerveza no presentan una marcada diferencia significativa en el análisis de peso específico.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

El análisis de pH no presenta diferencias significativas entre las cervezas realizadas en este trabajo. Se observa una diferencia significativa con las cervezas comerciales, esto es debido a que presentan un pH más bajo, como se observa en la tabla 21.

En el análisis de color, las muestras de Esm1-H, Esm2-H y Victoria son estadísticamente iguales. Por el contrario la muestra Sol presentó el valor más bajo como se puede observar en la tabla 21, lo cual indica que este tipo de cerveza presenta un color más claro. Como se puede observar las demás muestras se encuentran por arriba de 10.00 EBC, las cuales tienen un color más oscuro. La variedad de M16-T (31.79 EBC) fue la más oscura. La analítica EBC plantea que los valores óptimos se encuentran en el rango de entre 8.0-120 EBC. Todas las muestras cumplen con el rango establecido, a excepción de la muestra de cerveza Sol.

Las muestras de cervezas comerciales son estadísticamente iguales (Sol (0.49) y Victoria (0.56)) con respecto al % nitrógeno y además presentaron los valores más bajos. Las muestras de Esm2-H y M16-T son estadísticamente iguales y el resto de las cervezas presentan diferencias significativas. Los valores adecuados de nitrógeno establecido por la EBC son de entre 0.04-1.00 % de nitrógeno. Todas las variedades cumplen con esta especificación a excepción de muestra de Esm1-H (1.29) la cual excede esta cantidad.

Tabla 22. Resultados de los análisis realizados a cervezas (desviación estándar).

Variedad	%					
	Etanol	Alcohol	Extracto real	Extracto aparente	Extracto original	G. R. F.
Esm-T	4.68 (0.1) ^d	6.80 (0.0) ^e	4.13 (0.1) ^b	3.19 (0.2) ^{cd}	14.3(0.2) ^c	73.1(0.1) ^c
Esm1-H	3.18 (0.9) ^b	5.14 (0.0) ^c	4.66 (0.5) ^{cd}	3.08(0.1) ^c	12.4(0.5) ^b	66.0(0.8) ^b
Esm2-H	4.27(0.9) ^c	6.87(0.6) ^e	4.39 (0.3) ^{bc}	2.73(0.1) ^b	14.6(1.1) ^c	71.34(2.5) ^c
M16-T	4.70 (0.0) ^d	6.05 (0.3) ^d	4.98 (0.1) ^d	2.67 (0.3) ^b	14.6 (0.4) ^c	66.2 (0.9) ^b
Sol	1.07 (0.0) ^a	4.09 (0.0) ^b	3.09 (0.0) ^a	3.39 (0.0) ^d	9.3 (0.0) ^a	67.9 (0.1) ^b
Victoria	1.10 (0.0) ^a	3.29 (0.0) ^a	3.40 (0.0) ^a	2.36 (0.0) ^a	8.5 (0.0) ^a	61.1 (0.2) ^a

*Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas estadísticas (P<0.05).
G. R. F. = Grado real de fermentación

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

En la tabla 22 se muestran los análisis de % de etanol y % de alcohol, se observa que las muestras de cerveza comercial (Sol y Victoria) muestran los valores más bajos. Los valores esperados para % de etanol son de 3.6-4.2 (Hough, 1999) y ninguna de las muestras estudiadas cumplen con este valor. Para el contenido de alcohol el rango aceptable es de entre 1.7-7.0 y todas las muestras aunque son estadísticamente diferentes cumplieron con este análisis de calidad.

Las muestras de Sol (3.09) y Victoria (3.40) son estadísticamente iguales en cuanto al porcentaje de extracto real. Estos resultados son valores bajos, lo cual indica que hay un bajo contenido de materia sólida que no se fermentó en la cerveza terminada. Por otra parte las muestras de M16-T (4.98) y Esm1-H (4.66) muestran valores altos sin embargo, todas las muestras cumplen con los rangos que indica la EBC el cual es de 2.9-6.

En los valores de extracto aparente la muestra de Victoria (2.36) obtuvo el valor más bajo. Las muestras de Esmeralda T y Sol tuvieron los valores más altos además no existen diferencias significativas entre ellas. El rango aceptable establecido por la EBC se encuentra entre 1.5-3.0, las muestras de Esmeralda T y Sol no cumplen con este parámetro.

Las muestras de Esmeralda T (14.32), Esm2-H (14.57) y M16-T (14.60) presentan las cantidades más altas de extracto original además de no presentar diferencias significativas. Los valores más bajos son de Sol (9.31) y Victoria (8.52). El rango aceptable es de 7-12%, por lo tanto las muestras comerciales son las que cumplen con este rango, y la muestra de Esm1-H (12.43) podría entrar en el rango.

El porcentaje de grado real de fermentación muestra que las variedades de Esm2-H (71.39) y Esmeralda T (73.11) obtuvieron el valor más alto; el valor más bajo lo presentó la muestra de victoria (61.14). Las muestras de Esm1-H, M16-T y Sol son estadísticamente iguales. El rango recomendable para este análisis es de 63-71

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

%, las muestras que se encuentran dentro del rango son las de Esm1-H (66.03), Esm2-H (71.39), M16-T (66.18) y Sol (67.92).

5.4 Fermentación a nivel fermentador

La fermentación a nivel fermentador se realizó con el fin de comparar los resultados de una escala pequeña a una escala más grande. De igual manera que en la fermentación a nivel matraz se realizaron los mismos análisis.

Los resultados obtenidos en la producción etanol para la muestra de 5 litros se presentan en la figura 19, Se observa que la producción de etanol fue incrementando ligeramente conforme la fermentación transcurría.

Si se comparan los resultados obtenidos en la fermentación a nivel matraz y nivel fermentador se puede observar que la muestra a nivel fermentador registró valores pequeños de etanol. También se observar que en este caso incrementó la cantidad de etanol en la muestra terminada (33 días), debido a que en esta muestra las botellas fueron debidamente selladas con corcholatas, lo cual se evitó la pérdida de este.

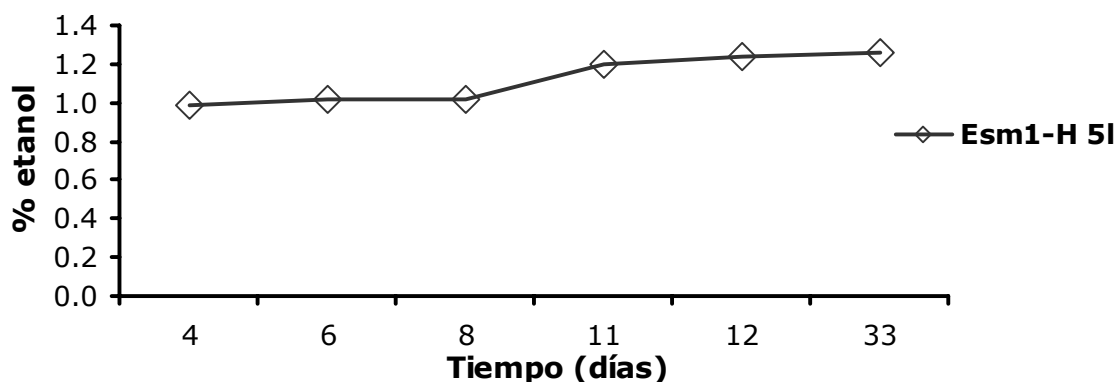


Figura 19. Gráfico del porcentaje de etanol para la muestra de Esm1-H a nivel fermentador.

Durante el transcurso de la fermentación el equipo de fermentación midió el pH y concentración de oxígeno disuelto en la muestra. En los Anexos I y II se encuentran los gráficos de concentración de oxígeno y los valores de pH que se registraron durante la fermentación.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

En el gráfico de pH (Anexo I), se observa que los primeros 1.9 días el pH descendió, manteniéndose estable después de los 7.4 días de fermentación. Sin embargo, el fermentador no registró los datos entre 1.9 y 4.2 días, debido a que la energía eléctrica fue suspendida. Este hecho dio lugar a que la temperatura no fuera controlada y por consecuencia el pH incrementó y se mantuvo un poco inestable. Durante el transcurso de la fermentación se tuvo algunos otros problemas de este tipo, no obstante, el pH siguió descendiendo poco a poco hasta mantenerse constante (Anexo I).

Durante el tiempo de agitación el porcentaje de oxígeno mantuvo una concentración alta. Después de los 0.5 días de fermentación se observa un marcado descenso y posteriormente seguir decreciendo de manera más lenta (Anexo II). Por lo tanto después de este tiempo las levaduras comenzaron a trabajar bajo condiciones de anaerobiosis.

Al tercer día de fermentación se observó que las levaduras se depositaron en el fondo del fermentador, esto nos indica que las levaduras floclaron demasiado pronto, trayendo como consecuencia una baja fermentabilidad del mosto. La floclación es la agregación no sexual de células en grupos (Mateu *et* Abreu, 2004; Jin *et* Speers, 1998). Una floclación muy rápida en el mosto produce cervezas poco fermentadas.

En los fermentadores se emplea agitación moderada para incrementar la frecuencia de la colisión entre las células y aumentar la floclación al término del proceso. Una agitación muy fuerte provoca turbulencia disminuyendo la intensidad de la floclación (Stratford *et* Keenan, 1987).

En la fermentación realizada a nivel fermentador la agitación se llevó a cabo de manera controlada y más lenta; en la fermentación a nivel matraz se llevó a cabo de manera manual, ésta fue realizada de manera más rápida (Anexo II). Por lo tanto se sugiere que en experimentos futuros en la fermentación a nivel fermentador, la agitación se lleve a cabo por un tiempo más prolongado con la misma intensidad.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

En la tabla 23 se muestran los resultados obtenidos en los análisis en la muestra de cerveza de Esmeralda 1 de Hidalgo.

Tabla 23. Resultados de los análisis realizados a cerveza a nivel fermentador (desviación estándar).

Análisis	Esmeralda 1
Peso específico	1.01(0.0)
pH	4.53 (0.0)
B-glucanos (mg/L)	0.42 (0.0)
Color (EBC)	14.03 (0.6)
% Nitrógeno	0.39 (0.0)
% Proteína	2.49 (0.0)
% Etanol	1.31 (0.0)
% Alcohol	2.43 (0.0)
% Extracto real	2.90 (0.0)
% Extracto aparente	2.47 (0.0)
% Extracto original	6.72 (0.0)
% Grado real de fermentación	57.58 (0.5)

*Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas estadísticas ($P < 0.05$).

En el Anexo III se observa una tabla en la que se muestran los resultados de los análisis realizados, la cual agrupa las cervezas comerciales (Sol y Victoria), las realizadas a nivel matraz (Esmeralda T, Esm1-H, Esm2-H, M19-T) y nivel fermentador (Esm1-H). Se observa que la muestra de fermentación a nivel fermentador obtuvo los niveles más bajos en cuanto a los análisis de peso específico, % alcohol, extracto real, extracto aparente, extracto original y grado real de fermentación. Estos análisis reflejan una baja fermentabilidad de la muestra.

Se puede concluir que la baja fermentabilidad de la cerveza se debió a la rápida floculación de las levaduras, provocada por la inadecuada agitación.

5.5 Análisis estadístico

5.5.1 Análisis de componentes principales en mosto

El análisis de correlaciones aplicado a los análisis del mosto se muestra en la tabla del anexo IV (a y b); se observa que el % de atenuación real está altamente correlacionado con el % de atenuación aparente ($R^2=1.00$), viscosidad con β -glucanos ($R^2=0.8855$), peso específico con grados plato ($R^2=1.00$) y % nitrógeno

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

con % proteínas ($R^2=0.9992$). Para la realización del análisis de componentes principales es conveniente trabajar con pocas variables y así facilitar el manejo de los datos. Como se mencionó anteriormente algunos de los análisis están correlacionados. Por lo tanto para la realización del análisis de componentes principales sólo se tomaron en cuenta los análisis de grados plato, pH, % de atenuación aparente, β -glucanos y % proteínas.

Se observa en la tabla 24 que los vectores característicos de las variables de los dos primeros componentes muestran una contribución mayoritaria.

En el CP1 la variable con mayor influencia de manera positiva es el % de atenuación aparente por el contrario el pH influyó de manera negativa. En el CP2 la variable que influyó mayormente de manera negativa fue β -glucanos.

Las variables con mayor influencia en la calidad de los mostos son los que presentaron los valores más altos en los componentes.

Tabla 24. Vectores característicos para las variables de las muestras de mosto.

Variable	CP1	CP2
% Atenuación aparente	0.575	-0.374
β-glucanos	-0.076	-0.722
% proteínas	0.385	0.181
Grados plato	-0.495	0.304
pH	-0.520	-0.462

CP	Proporción	Acumulado
1	0.455	0.455
2	0.336	0.792
3	0.196	0.988
4	0.016	0.998
5	0.001	1.000

En la figura 20 se presenta la distribución de las muestras entre el CP1 y CP2, donde se observa que las muestras de mosto forman tres grupos, lo cual indica que cada mosto tiene características propias de calidad, a excepción de las muestras de M16-T y Esm1-H que tuvieron un comportamiento similar.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

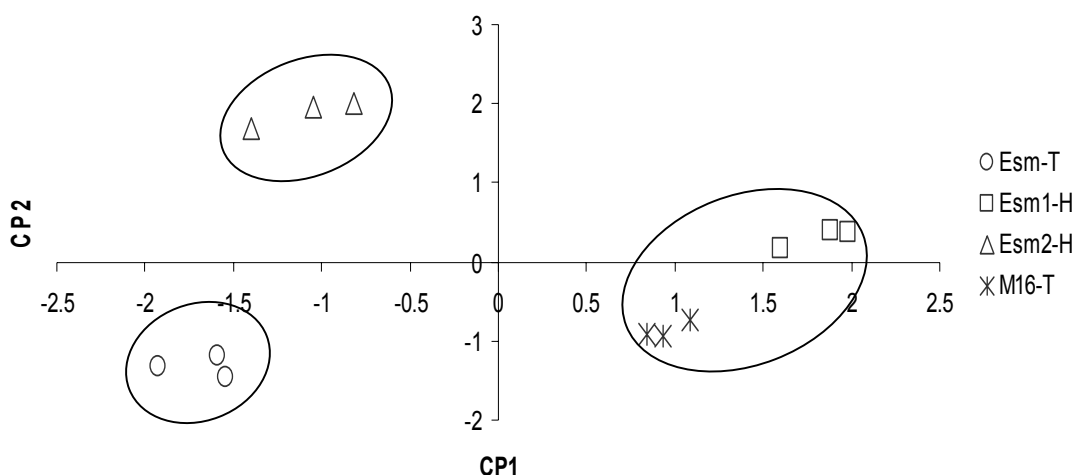


Figura 20. Distribución de componentes principales en mosto.

5.5.2 Correlaciones entre los análisis realizados en cerveza

En el Anexo IV (a y b), se presenta la tabla de correlaciones en la cual se puede observar que el % de alcohol está correlacionada positivamente con el % de etanol ($R^2=0.7172$) y grado real de fermentación ($R^2=0.8584$). El etanol es producto del metabolismo primario, y es el alcohol que se encuentra mayoritariamente en la cerveza terminada (Bulinski et Kot, 1988), los azúcares del mosto fueron por lo tanto más fermentados y esto se ve reflejado en la correlación positiva con el grado real de fermentación.

También se puede observar que el % de nitrógeno está correlacionado negativamente con el % de etanol ($R^2=-0.9681$). Esto se podría deber a que, para el adecuado desarrollo de la levadura necesita de nutrientes, tales como fuentes de nitrógeno, por lo tanto entre más nitrógeno consuma la levadura, más actividad presentará la levadura y por consecuencia, producirá más etanol (Obido et al, 2002).

El extracto real se encuentra negativamente correlacionado con el grado real de fermentación, esto indica que entre más extracto real halla menor será el grado real de fermentación, por lo tanto se encuentra mayor materia seca en el mosto.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.5.3 Análisis de componentes principales en cerveza

Al igual que en el análisis de componentes principales en mosto, en la cerveza se realizó este mismo estudio probabilístico. Para no recurrir a todos los análisis realizados de acuerdo con la tabla de correlaciones (Anexo IV a y b) el análisis de componentes principales se llevó a cabo sólo con las variables % de alcohol, β -glucanos, % de nitrógeno, extracto aparente, extracto real y pH. Las variables omitidas no fueron incluidas ya que dan la misma información estadística que las que aparecen.

Tabla 25. Vectores característicos para las variables de las muestras de cerveza.

Variable	CP1	CP2
% Alcohol	0.468	0.244
β -Glucanos	0.476	-0.277
% Nitrógeno	0.490	0.099
% Extracto aparente	0.098	0.701
% Extracto real	0.521	0.020
pH	0.182	-0.602

CP	Proporción	Acumulado
1	0.562	0.562
2	0.246	0.808
3	0.103	0.911
4	0.049	0.960
5	0.033	0.993
6	0.067	1.000

Se observa que los vectores característicos de las variables de los dos primeros componentes principales (Tabla 25) muestran una contribución mayoritaria. Se observa que el CP1 aporta más del 50% y el CP2 más del 20%.

En el CP1 las variables de % alcohol, β -glucanos, % nitrógeno y % extracto real influyen de manera positiva, mientras que en el CP2 influye de manera negativa el pH y de manera positiva % extracto aparente.

En la figura 21 se muestran la distribución de las muestras entre el CP1 y CP2, donde se observa que las muestras de cerveza realizada con variedades Esm1-H y Esm2-H forman un grupo y el resto de las variedades tienen un comportamiento distinto mostrándose muy distribuidas y desagrupadas en el gráfico.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

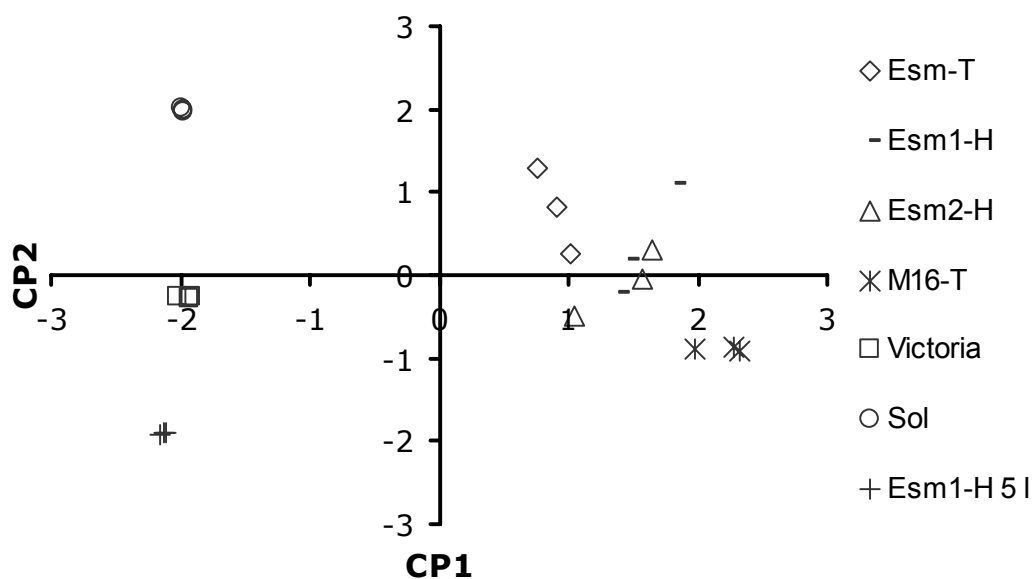


Figura 21. Distribución de componentes principales en cerveza.

También se puede observar que la fermentación con la variedad Esmeralda 1 de Hidalgo realizada a nivel matraz (Esm1-H) y nivel fermentador (Esm1-H 5l), presentaron comportamiento distinto, a pesar de que se llevaron a cabo en condiciones similares. Este resultado indica que las muestras realizadas a distintas escalas presentan comportamientos diferentes ya que la muestra desarrollada a nivel fermentador se llevó a cabo de manera más controlada que la otra.

VI. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

6.1 Conclusiones

De los diferentes procesos para obtener el mosto estándar, se concluye que el método 2 fue el que presentó la mejor calidad. Es importante remarcar que para este proceso se utilizaron maltas comerciales especiales para cervecería. A pesar que dichas maltas cumplen con los parámetros de las normas oficiales mexicanas, al momento de elaboración del mosto presentaron diferencias significativas en las calidades de los mismos.

Los resultados de las microfermentaciones mostraron que la levadura comercial no activada tuvo un menor desarrollo que la activada, por lo tanto fue la utilizada en la producción de cerveza.

Las fermentaciones llevadas a cabo a nivel matraz y nivel fermentador mostraron comportamientos distintos. Sin embargo, el análisis a nivel matraz ayudó a comprobar que algunas de las variables mencionadas en la bibliografía son las adecuadas para la producción de cerveza.

La agitación de la muestra fue un factor de gran importancia para el buen desarrollo de la levadura y conversión de azúcares en alcohol, así que para obtener cervezas más atenuadas es necesario aumentar el tiempo de agitación de la muestra. Esto se concluye después de evaluar las fermentaciones a nivel matraz y fermentador. Durante el proceso de transformación de azúcares a alcohol a nivel matraz, se realizó con una agitación manual lo que se tradujo en una buena producción de alcohol. Por el contrario a nivel fermentador esta transformación fue más lenta por la inadecuada agitación dando como resultado una baja producción de alcohol.

De acuerdo a lo establecido por la EBC, se concluye que todas las muestras analizadas poseen la calidad requerida. Mediante los resultados de distribución de componentes principales se concluye que las muestras obtenidas tienen distintas calidades comparadas con la cerveza realizada con malta comercial y cervezas

VI. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

comerciales. Las muestras de Esmeralda 1 y 2 de Hidalgo tuvieron comportamientos parecidos en cuanto a calidad.

Se concluye que las cuatro variedades de malta utilizadas en este trabajo de investigación presentaron excelentes potenciales en la fabricación de cerveza. Es importante remarcar que fueron comparadas con las comerciales y estas se distinguieron por poseer cualidades peculiares, propias de las cervezas artesanales.

Por lo tanto estas variedades de malta tienen el potencial para obtener cerveza de buena calidad y de características propias.

6.2 Perspectivas

En este trabajo de investigación se concluyó que el método 2 para obtención de mosto presenta una mejor calidad, en futuras investigaciones es recomendable optimizar este método y así obtener mostos de excelente calidad.

Con lo que respecta al inóculo, la levadura activada presentó una menor actividad en las microfermentaciones con respecto a la levadura comercial. Esto probablemente se debió a la cantidad de inóculo utilizado. Así también como al medio de propagación que se utilizó (caldo soya tripticaseína), probablemente este fue inadecuado. Para investigaciones posteriores es importante tomar en cuenta distintas cantidades de inóculo y realizar la propagación directamente en el mosto cervecero, con el fin de optimizar los mecanismos de propagación.

Es recomendable también, que se tome muestra durante la fermentación para realizar análisis de densidad óptica, con el fin de verificar que la biomasa está incrementando y con esto verificar que la levadura se desarrolla de manera adecuada.

VI. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

En este trabajo de investigación se utilizó lúpulo fresco adquirido en forma a granel. Debido a que el lúpulo es uno de los ingredientes con mayor influencia en la elaboración de cerveza, le confiere un sabor y amargor característico. Sería interesante evaluar la influencia del uso de diferentes lúpulos con diferentes niveles de amargor.

En este trabajo de investigación se utilizó agua embotellada la cual le confiere ciertas características sensoriales. En investigaciones futuras es necesario realizar un análisis de agua completo, para determinar el contenido de sales, minerales, metales, microorganismos.

En las posteriores investigaciones a realizar es conveniente que se lleven acabo directamente en el equipo de fermentación, ya que algunos parámetros pueden controlarse y almacenarse en registros. Como son los parámetros de agitación y oxigenación, los cuales fueron factores que influyeron en las diferencias de los resultados de las fermentaciones nivel matraz y fermentador.

El tipo de cerveza que se realizó fue de tipo *lager* en esta investigación, debido al tipo de maltas claras usadas. En un futuro sería interesante obtener maltas de diferentes niveles de tostado (maltas claras hasta maltas chocolates) para elaborar cervezas oscuras.

La parte experimental de este trabajo se desarrolló a nivel matraz y fermentador. Por lo tanto sería recomendable probar esta metodología a nivel piloto.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- ☑ Ahmed, F .E. (1995). Toxicological effects of ethanol on human health. *Critical Reviews in Toxicology*. pp 347-367.
- ☑ Bamfortg, C. W. (2000). Review: Brewing and brewing research: past, present and future. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. pp 1371-1377.
- ☑ Bulinski, R., Kot, A. (1988). Evaluation of Polish beers; nutritional and caloric values. *Przemysl Fermentacyjny i Owocowo Warzywny*. pp 3-5.
- ☑ Bulinski, R., Bloniarz, J., Koktysz, N., Kot, A., Marzec, Z., Szydłowska, E. (1986). Nutritive and energy values of Polish beer. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*. pp 73-76.
- ☑ Bustamante, G. J. O., Cauich, C. I. y Gomez, G. A. A. (2003). Producción y rentabilidad del cultivo de la cebada en el Estado de Tlaxcala. Universidad Autónoma de Chapingo.
- ☑ Castañé, X. S. (1997) a. La cerveza: historia, fabricación y propiedades. *Alimentación. Equipos y tecnología. Revista Técnica de la Industria Alimentaria*. No. 4, Mayo. pp. 41-48.
- ☑ Castañé, X. S. (1997) b. Tipos cerveza. *Alimentación. Equipos y tecnología. Revista Técnica de la Industria Alimentaria*. No. 4, Mayo. pp. 87-91.
- ☑ Castillo, R. C. D. (2005). "Uso alternativo de las cebadas (*Hordeum sativum* jess) cultivadas en los estados de Hidalgo y Tlaxcala en la industria de la panificación".
- ☑ Cerveceros de España. (2001). Libro blanco de la cerveza. Madrid, España. pp. 16-18.
- ☑ Charalambous, G. Bruckner, K. .J. (1977). Analysis of metallic ions in brewing materials, wort, beer and wine by inductively coupled argon plasma-atomic emission spectroscopy. *Technical Quarterly*. Vol. 2. pp 197-208.
- ☑ CICS. Centro de Información Cerveza y Salud (2004) a. *Cerveza y Salud*. No. 161. pp. 41-44.
- ☑ CICS. Centro de Información Cerveza y Salud (2004) b. *Cerveza y Salud*. No. 162. pp. 65-68.
- ☑ CICS. Centro de Información Cerveza y Salud. Hebe A. D. (2003). *Cerveza y Salud*. No. 157. pp. 77-82.
- ☑ Coghe S., D'Hollander H., Verachtert H., Delvaux R. F. (2005). Impact of Dark Specialty Malts on Extract Composition and Wort Fermentation. *The institute of Breweing & Distilling*. pp 51-60.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- ☑ Coghe, S. (2004). Influence of non-enzymatic browning on malt colour, flavour and antioxidative activity. Dissertations de Agricultura Nr. 616. Leuven, Belgium. pp 149.
- ☑ EBC European Brewery Convention. (2003). ANALITICA EBC. Fahuer Druck. Ombh, Lauf A. D. Peghits, Alemania.
- ☑ FAO Source (2003). 2000-2002 world beer production. BIOS International. Vol. 8(2). pp 47-50.
- ☑ Fillaudeau, L. Blanpain, A. P., Daufin G. (2005). Water, Wastewater and waste management in brewing industries. Journal of Cleaner Production. pp. 1-9.
- ☑ Gacko, M., Worowska, A., Roszkowska Jakimiec, W. (1996). Effect of chemicals found in alcoholic beverages on the protease activity of the digestive tract. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna. pp 71-77.
- ☑ Galán, G., Oliver, P., Estran et al. (2004). La cerveza. Alimentación. Equipos y tecnología. Revista Técnica de la Industria Alimentaria. No. 190, Mayo. pp. 47-50.
- ☑ García, A. I., García, L. A., Díaz, M. (1993). Características del crecimiento durante la fermentación de cerveza. La cerveza. Alimentación. Equipos y tecnología. Revista Técnica de la Industria Alimentaria. No. 190, Junio. pp. 69-75.
- ☑ García, G., Quintero, R. (2000). Biotecnología Alimentaria. Ed. Limusa S.A. de C.V. México, D.F. pp 269-287.
- ☑ Gavalier, J., Love, k., Van Thiel, D. (1991). An international study of the relationship between alcohol consumption and postmenopausal estradiol levels.
- ☑ Ginsburg, E. S., Shea, B. F. (1995). Effect of acute ethanol ingestion on prolactin in menopausal women using estradiol replacement.
- ☑ Graham, G. S., Stephen, A. M. (2004). Wort Clarity: Effects on Fermentation. MBAA TQ. Vol. 41. No. 1. pp 18-26.
- ☑ Hornsey, I. S. (2003). Elaboración de cerveza, microbiología, bioquímica y tecnología. ACRIBIA S. A., Zaragoza, España. pp 18-27, 91-97, 101, 142-144, 177-179.
- ☑ Hough, J. S. (1990). Biotecnología de la cerveza y de la malta. Editorial ACRIBIA S. A., Zaragoza, España. pp 17-20, 12-27, 31-41, 44-46, 58-67, 70-75, 86-106, 144-124, 139-141, 160-162, 169, 182-185.
- ☑ Hughes, J. S., Slattery, M. L., Boucher, K. M., Caan, B. J., Potter, J. D., Ma, K. N. (1998). Potential contribution of dry bean dietary fiber to health Eating patterns and risk of colon cancer [see comments]. Food Technology. pp 4-16.
- ☑ Jin, Y., Speers, A. R. (1998). Flocculation of *saccharomyces cerevisiae*. Food research International. Vol. 31. pp 421-440.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- ☑ Jones, B. L., Budde, A. D. (2004). How various malt endoprotease classes affect wort soluble protein levels? *Journal of Cereal Science*. pp. 95-106.
- ☑ Kauhanen, J., Kaplan, G. A., Goldberg, D. E., Salonen, J. T. (1997). Beer binging and mortality: results from the Kuopio ischaemic heart disease risk factor study, a prospective population based study. *British Medical Journal*. pp 846-851.
- ☑ Kobayashi, M., Hiroshima, T., Nagahisa, K., Shimizu, H., Shioya, S. (2005). On-line estimation and control of apparent extract concentration in low-malt beer fermentation. *Journal of the institute of brewing*. pp 128-136.
- ☑ Kumara S., H. M. C., Iserentant, D., Verachtert, H. (1995). Comparative analysis of malto-oligosaccharides in different beer types by thin layer chromatography, chemical and enzymatical analysis. *Cerevisia*. pp 47-53.
- ☑ López, P. P. (2005). "Evaluación de la calidad de diferentes variedades de cebada (*Hordeum sativum* jess) cultivadas en los Estados de Hidalgo y Tlaxcala.
- ☑ Madigan, M. P., Troisi, R., Potischman, N., Dorgan, J. F., Brinton, L. A., Hoover, R. N. (1998). Serum hormone levels in relation to reproductive and lifestyle factors in postmenopausal women. *Cancer Causes Control*. United States. pp 199-207.
- ☑ Manzanares, P., Sendra, J. M. (1996). Research Note Determination of Total b-D-Glucan in Barley and Malt Flour Samples. *Journal of Cereal Science* 23. pp. 293–296.
- ☑ Mateu, R. Y., Abreu, M. J. (2004). La floculación en levaduras cerveceras. *Alimentación. Equipos y tecnología. Revista Técnica de la Industria Alimentaria*. No. 109, Noviembre. pp. 109-112.
- ☑ Matissek, Schnepel, Steiner. (2001) *Análisis de los alimentos, fundamentos, métodos, aplicaciones*. Ed. Acribia, S.A. pp 1-3.
- ☑ Mesones de B. (2000). *Manual práctico del cervecero*. Derechos de Autor Reservados.
- ☑ Min J. Y., Ross, R. K., Yu Tang Gao, Henderson, B. E., Yu, M. C. (1997). Follow up study of moderate alcohol intake and mortality among middle aged men in Shanghai, China. *British Medical Journal*. pp 18-23.
- ☑ Mueller, H. (1993). [Determination of the folic acid content of grain, cereal products, bakery products and legumes by means of high-performance liquid chromatography (HPLC).] *Bestimmung der Folsaeure-Gehalte von Getreide, Getreideprodukten, Backwaren und Huelsenfruechten mit Hilfe der Hochleistungsfluessigchromatographie (HPLC)*. *Zeitschrift fuer Lebensmittel Untersuchung und Forschung*. pp 573-577.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- ☑ Obido, C. F. J., Nwankwo, N. L., Agu, C. R. (2002). Production of malt extract and beer from Nigerian sorghum varieties. *Process Biochemistry*. Vol. 37. pp 851-855.
- ☑ Ockhuizen, T. (1988). How healthy is beer?. *Cerevisia*. pp 79-81.
- ☑ O'Connor-Cox, Ingledew, W. M. (1991). Alleviation of the effects of nitrogen limitation in high gravity worts through increased inoculation rates. *Journal of industrial microbiology*. Vol 7. pp 89-96.
- ☑ Palmer, G. H. (1975). Influence of endosperm structure on extract development. *Proceeding of the American Society of Brewing Chemists*. pp 174-180.
- ☑ Paynter, B. (1999). Grain protein and malting quality in barley. *Agriculture western Australia. Farmnote 40/96*.
- ☑ Piendl, A. (1990). The role of beer in present-day nutrition. [See FSTA (1989) 21 11H25 for original De version.]. *Brauwelt International*, III. pp 174-176.
- ☑ Ruiz, S. (2006). "Elaboración y evaluación de maltas cerveceras de diferentes variedades de cebada (*Hordeum sativum jess*) producidas en los estados de Hidalgo y Tlaxcala".
- ☑ Schwarz, P. B., Jee Yup Han. (1995). Arabinoxylan content of commercial beers. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. pp 157-159.
- ☑ Sendra, J. M., Carbonell, J. V. (1999), Evaluación de las propiedades nutritivas, funcionales y sanitarias de la cerveza en comparación con otras bebidas. Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IATA/CSIC). pp. 7-19.
- ☑ Sendra, J. M., Carbonell, J. V., Gosalbes, M. J., Todo, V. (1989). Determination of beta-glucan in wort and beer by its binding with Calcofluor, using a fluorimetric flow-injection-analysis (FIA) method. *Journal of the Institute of Brewing*. pp 327-332.
- ☑ Serna, S. S. R. (2001). Química e industrialización de los cereals. AGT Editor. México, D. F. pp 3-23, 47-73, 79-89.
- ☑ Stratford M., Keenan, M. H. J. (1987). *Yeast*. pp 3, 201-206.
- ☑ Stratford, M. (1992). Yeast flocculation: a new perspective. In *Advances in Microbiol. Physiol.* Academic Press. New York. Vol. 33. pp 1-71.
- ☑ Taylor, N. W., Orton, W. L. (1975). *Inst. Brew.* pp 53-57.
- ☑ Varnam, A. H., Sutherland, J. P. (1997) a. *Bebidas, Tecnología, Química y Microbiología*. Serie 2. Ed. Acribia S. A. pp .307-373.
- ☑ Varnam, A. H., Sutherland, J.P. (1997) b. *Beverages: technology, chemistry and microbiology*. Viii. pp. 464.

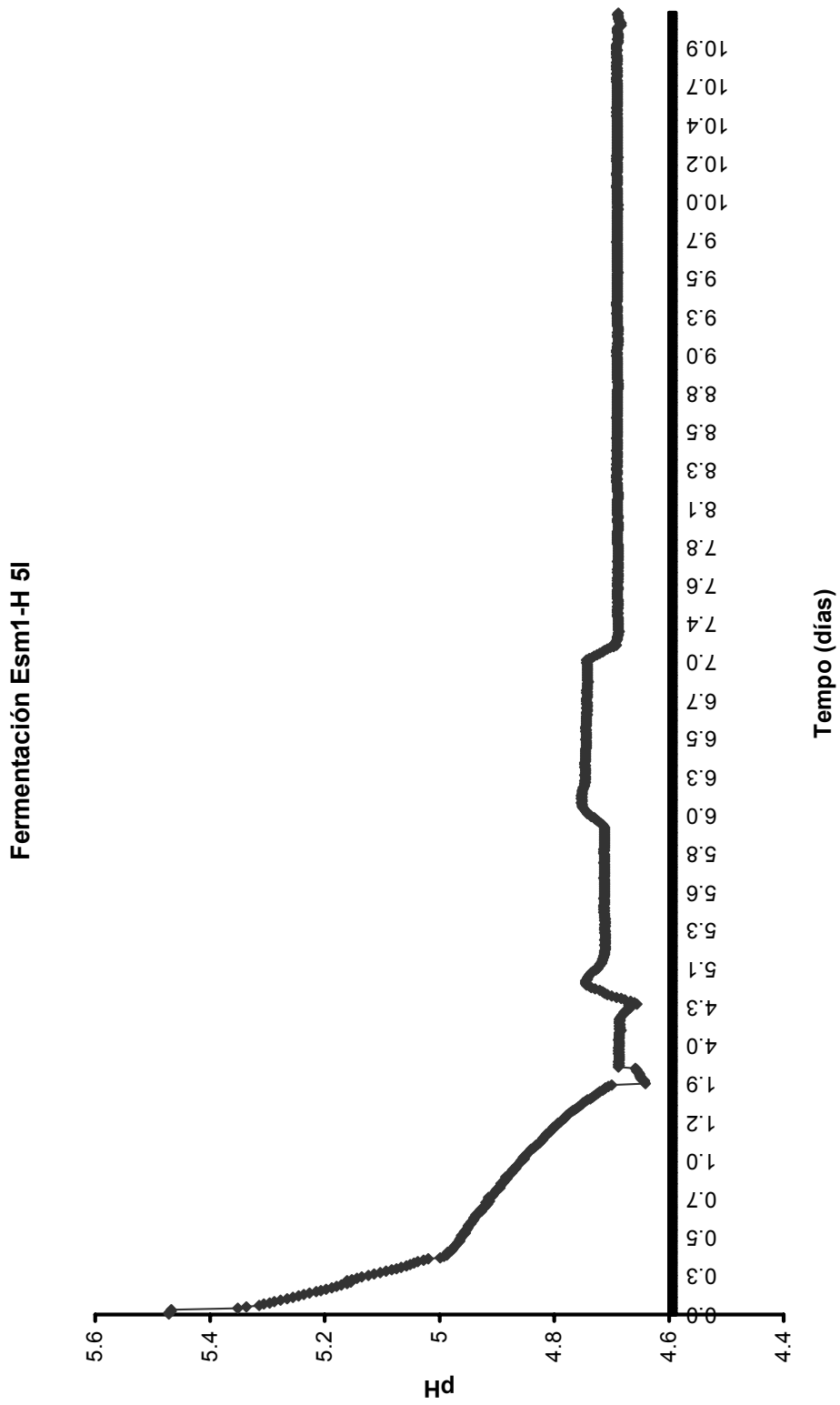
VII. BIBLIOGRAFÍA

- ☑ Vogel, W. (1999). Elaboración casera de la cerveza, Editorial ACRIBIA S. A., Zaragoza, España. pp 5, 15-19, 21-25, 28-29, 49, 66, 69, 73, 76-82, 87-88.
- ☑ White, I. R. (1996). The cardioprotective effects of moderate alcohol consumption. British Medical Journal. pp 1179-1180.
- ☑ Woods, H. F., Bax, N. D. S. (1982). Interactions between food and drugs. Bnf Nutrition Bulletin. pp 120-129.

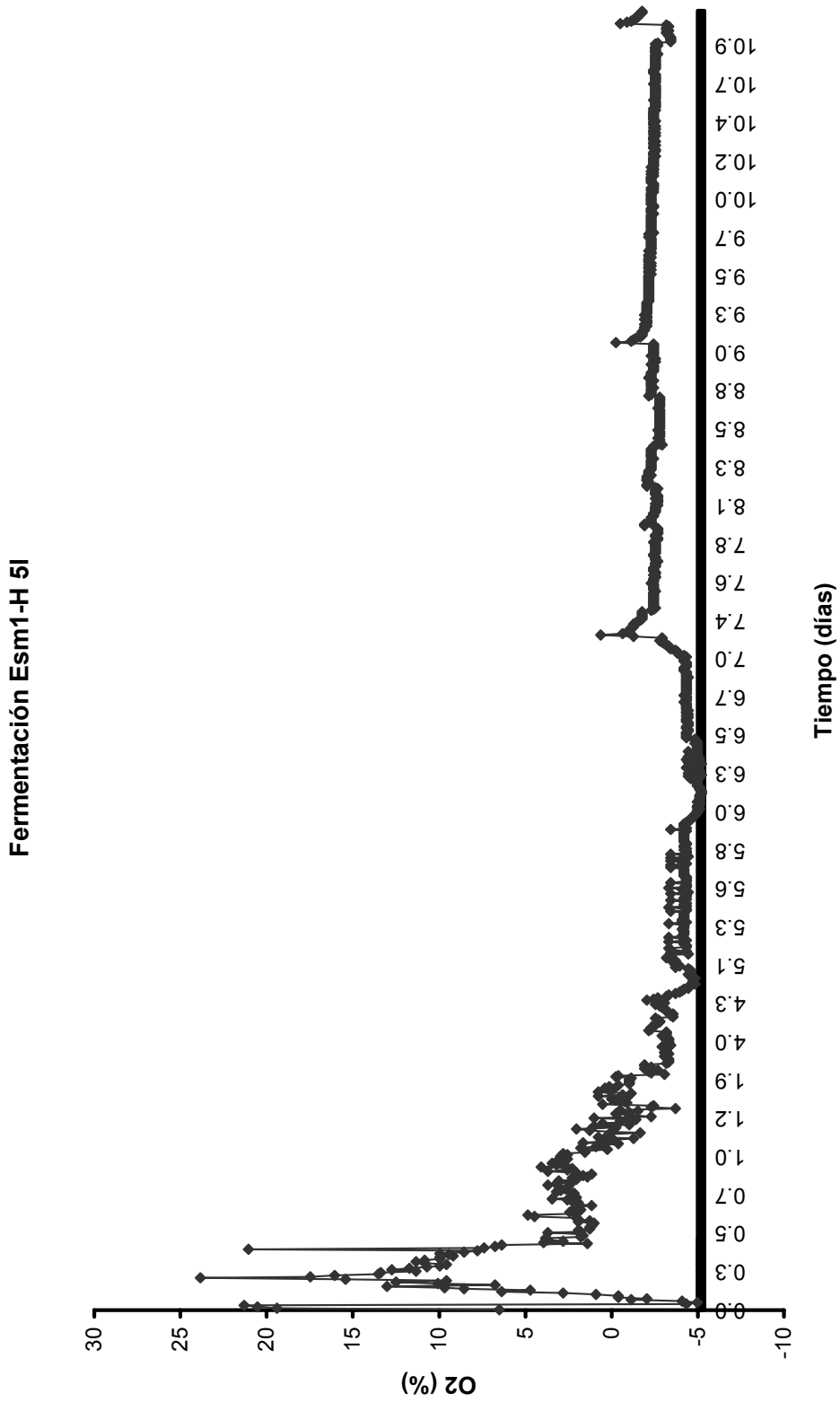
Sitios consultados en Internet:

- <http://www.food-info.net/es/qa/qa-fp84.htm>, 2005.
- <http://www.cerveceriainternacional.com/Cerveza.htm>, 2005.
- <http://www.florida.co.cr/historia2.htm>, 2006.
- <http://www.gmodelo.com.mx/historia/cenmexico4.html>, 2006.
- <http://www.sbu.ac.uk/water/images/hyglu.gif>, 2005.
- <http://www.cervezasdelmundo.com/cervezaselab.html>, 2006.
- <http://www.sbu.ac.uk/images/hyglu.gif>, 2005.
- www.biociencias.com/revista/1/fig1.jpg, 2005.
- www.biociencias.com/revista/2/fig1.jpg, 2005.
- <http://www.autotecnicatv.com.ar/MARCELOMARTINS/autos/viscosimetro.jpg>, 2006.
- <http://www.sagarpa.gob.mx/cgcs/>, 2006 (SIACON).

Anexo I. Gráfico de pH en la fermentación a nivel fermentador.



Anexo II. Gráfico de % de O₂ durante la fermentación a nivel fermentador.



A.R.M.

VIII. ANEXOS

Anexo III. Resultados de los análisis realizados a las cervezas realizadas y cervezas comerciales (desviación estándar).

Variedad	Peso específico	pH	β -Glucanos (mg/l)	Color (EBC)	%	
					Nitrógeno	Proteína
Esm-T	1.012 (0.0) ^{cd}	4.34 (0.0) ^b	0.80 (0.0) ^d	14.26 (0.4) ^e	0.88 (0.0) ^d	5.5 (0.5) ^d
Esm1-H	1.012 (0.1) ^{de}	4.35 (0.0) ^b	1.00 (0.0) ^e	18.24 (0.8) ^d	1.29 (0.0) ^g	8.0 (0.2) ^f
Esm2-H	1.011 (0.0) ^{bcd}	4.32 (0.0) ^b	1.18 (0.0) ^f	16.06(0.5) ^{bc}	1.0 (0.0) ^f	6.26 (0.1) ^e
M16-T	1.010 (0.0) ^{bc}	4.37 (0.0) ^b	2.14 (0.0) ^g	31.79 (2.9) ^e	0.94 (0.0) ^e	5.93 (0.2) ^e
Sol	1.013 (0.0) ^c	4.05 (0.0) ^a	0.01 (0.0) ^a	5.74 (0.1) ^a	0.99 (0.0) ^b	3.13 (0.0) ^b
Victoria	1.009 (0.0) ^a	4.10 (0.0) ^a	0.22 (0.0) ^b	17.23 (0.6) ^{cd}	0.56 (0.0) ^c	3.5 (0.0) ^a
Esm1-H 5L	1.01(0.0) ^{ab}	4.53 (0.0) ^c	0.42 (0.0) ^c	14.03 (0.6) ^b	0.39 (0.0) ^a	2.49 (0.0) ^a

*Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas estadísticas (P<0.05).

Variedad	%					
	Etanol	Alcohol	Extracto real	Extracto aparente	Extracto original	G. R. F.
Esm-T	4.68 (0.1) ^d	6.80 (0.0) ^f	4.13 (0.1) ^d	3.19 (0.2) ^{de}	14.3 (0.2) ^d	73.1 (0.1) ^d
Esm1-H	3.18 (0.9) ^c	5.14 (0.0) ^d	4.66 (0.5) ^{fg}	3.08(0.1) ^d	12.4 (0.5) ^c	66.0 (0.8) ^c
Esm2-H	4.27(0.9) ^d	6.87(0.6) ^f	4.39 (0.3) ^{ef}	2.73(0.1) ^c	14.6 (1.1) ^d	71.4 (2.5) ^d
M16-T	4.70 (0.0) ^e	6.05 (0.3) ^e	4.98 (0.1) ^g	2.67 (0.3) ^{bc}	14.6 (0.4) ^d	66.2 (0.9) ^c
Sol	1.07 (0.0) ^a	4.09 (0.0) ^c	3.09 (0.0) ^{bc}	3.39 (0.0) ^e	9.3 (0.0) ^a	67.9 (0.1) ^e
Victoria	1.10 (0.0) ^a	3.29 (0.0) ^b	3.40 (0.0) ^c	2.36 (0.0) ^a	8.5 (0.0) ^b	61.1 (0.2) ^b
Esm1-H 5L	1.31 (0.0) ^b	2.43 (0.0) ^a	2.90 (0.0) ^a	2.47 (0.0) ^{ab}	6.7 (0.0) ^a	57.56 (0.5) ^a

*Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas estadísticas (P<0.05).

G. R. F. = Grdado real de fermentación.

Anexo IV a. Tabla de correlaciones.

	% Alcohol	A. A.	A. R.	β G cerveza	β G mosto	% N cerveza	% P cerveza	Color	% Etanol	% E. A.
% Alcohol	1									
A. A.	-0.8178 *	1								
A. R.	-0.8178 *	1.00 **	1							
β G cerveza	-	-	-	1						
β G mosto	-	-	-	-	1					
% N cerveza	-	-	-	-	-	1				
% P cerveza	-	-	-	-	-	0.9997 **	1			
Color	-	0.5639 '	0.5639 '	0.9572 **	-	-	-	1		
% Etanol	0.7172 *	-	-	-	-	-0.9681 **	-0.9675 **	-	1	
% E. A.	-	-	-	-0.6870 '	0.5808 '	-	-	-0.5696 '	-	1
% E. O.	0.7946 *	-0.5077 '	-0.5077 '	-	-	-0.7845 *	-0.7858 **	-	0.7951 *	-
% E. R.	-	0.5391 '	0.5390 '	0.6294 '	-	-	-	0.6390 '	-	-
% GRF	0.8584 **	-0.8037 '	-0.8037 *	-0.5327 '	-	-0.5997 '	-0.6064 '	-0.6625 '	-	-
% N mosto	-0.7288 *	-	-	-	-	0.8411 **	0.8409 **	-	-0.8739 **	-
% P mosto	-	-	-	-	-	-	0.8409 **	-	-	-
ρ P	-	-	-	-	-	-	-	-0.9115 **	-	-
P. E.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.7053 '
P. E. mosto	0.5112 '	-0.7954 *	-0.7984 *	-0.8304 **	-	-	-	-0.9115 **	-	-
pH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH mosto	0.6347 '	-	-	-	0.6724 '	-0.7896 *	-0.7858 *	-	0.7105 *	-
Viscosidad	-	-	-	-	0.8855**	-0.5532 '	-0.6144 '	-	-	0.5008 '

β G: β -Glucanos
 % E. A: Extracto aparente
 A. A.: Atenuación aparente
 % P: Porcentaje de proteína

% N: porcentaje de nitrógeno
 % E. O.: Extracto original
 A. R. Atenuación real

% E. R: Extracto real
 % GRF: Grado real de fermentación.
 P.E.: Peso específico

- Correlación no significativa.
 ' Significativo a un 95%
 * Significativo a un 99%
 ** Significativo al 99.9 %

Anexo IV b. Tabla de correlaciones.

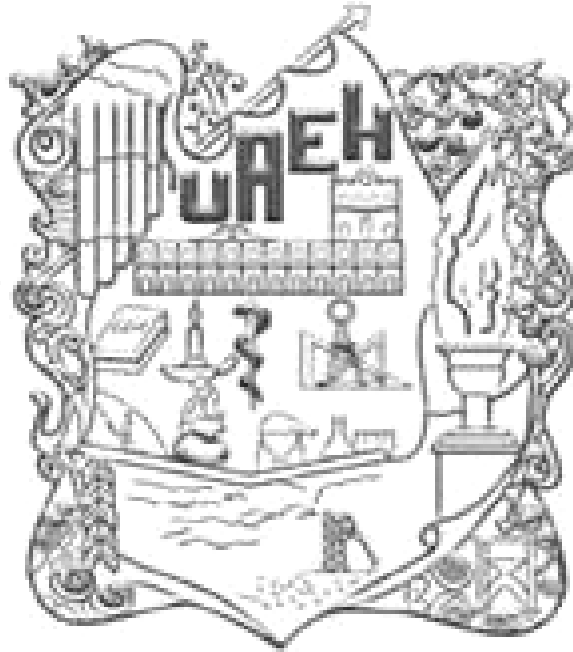
	% E. O.	% E. R.	% G. R. F.	% N mosto	% P mosto	°P	P. E.	P. E. mosto	pH	pH mosto	Viscosidad
% Alcohol											
A. A.											
A. R.											
βG cerveza											
βG mosto											
% N											
% Proteínas											
Color											
% Etanol											
% E. A.											
% E. O.	1										
% E. R.	-	1									
% GRF	-	-0.7359 **	1								
% N mosto	-0.8739 **	-	-	1							
% P mosto	-	-	-	-	1						
°P	-0.8694 **	-0.7274 *	0.7834*	0.9992 **		1					
P. E.	-	-	-	-	-	-	1				
P. E. mosto	-	-0.7274 *	0.7834 *	-	-	1.00 **	-	1			
pH	-	-	-	-	-0.5140 '	-	-	-	1		
pH mosto	-	-0.5084 '	0.7220 *	-0.5144 '	-	-	-	-	-	1	
Viscosidad	-	-	0.5138 '	-	-	-	-	-	-	0.9036 **	1

βG: β-Glucanos
 % E. A: Extracto aparente
 A. A.: Atenuación aparente
 % P: Porcentaje de proteína

% N: porcentaje de nitrógeno
 % E. O.: Extracto original
 A. R. Atenuación real

% E. R: Extracto real
 % GRF: Grado real de fermentación.
 P.E.: Peso específico

- Correlación no significativa.
 ' Significativo a un 95%
 * Significativo a un 99%
 ** Significativo al 99.9 %



Este trabajo de investigación ha sido publicado en los siguientes foros científicos:

- ▶ XXXV Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, 2004.
- ▶ II Simposio Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, 2004.
- ▶ Congreso Internacional de Inocuidad Alimentaria, 2004.
- ▶ II Simposio Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, 2005.
- ▶ VII Congreso Ciencia de los Alimentos, 2005.
- ▶ Primer Foro de Química en Alimentos, 2005.

Publicaciones en revistas:

- ▶ Buenas prácticas de manufactura aplicadas al malteado de diferentes variedades de cebada (*Hordeum Sativum jess*) producidas en el Estado de Hidalgo. Revista salud pública y nutrición. Edición Especial No. 4, 2005.
- ▶ Influencia del Contenido de β - Glucanos en la Calidad de Maltas Cerveceras Elaboradas con Variedades de Cebada (*Hordeum Sativum Jess*) Producidas en los Estados de Hidalgo y Tlaxcala”. Revista salud pública y nutrición. Edición Especial No. 13, 2005.
- ▶ Optimización del proceso de remojo para la producción de malta producida en los Estados de Hidalgo y Tlaxcala. Revista salud pública y nutrición. Edición Especial No. 13, 2005.