



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

Instituto de **Ciencias Básicas e Ingeniería**

**USO DE MALTA CAMELO PARA LA
ELABORACIÓN DE UNA CERVEZA
ARTESANAL**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO EN

QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

Jaén Echeverría Emmelin

DIRIGIDO POR:

**Alma Delia Román Gutiérrez
Abel Blancas Cabrera**

PACHUCA DE SOTO, HGO 2010.





Foros científicos



Parte de este trabajo ha sido presentado en los siguientes foros científicos:

④ *Primer Foro Estudiantil
"Jóvenes en el Desarrollo de la Ciencia UAETH-2009"
26 de agosto del 2009.
Pachuca de Soto, Hidalgo*

④ *XI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos
31 de agosto y 1ro de Septiembre de 2009
Monterrey, N. L.*

④ *XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de
Alimentos
27 y 28 de Mayo de 2010
Guanajuato, Gto.*

④ *VII Encuentro, Participación de la Mujer en la Ciencia
26-28 de Mayo de 2010,
León, Gto.*





Agradecimientos

Primero antes que nada, doy gracias a Dios, por darme la vida, darme a mi familia y a los amigos que tengo. Por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

Por ser mi creador, el motor de mi vida, porque todo lo que tengo, lo que puedo y lo que recibo es regalo que él me ha dado.

- Ⓜ Agradecer hoy y siempre a mi familia, que siempre procuran mi bienestar, por todo su apoyo, su amor y la solvencia económica, tengo claro que si no fuese por el esfuerzo realizado por ellos, mis estudios no hubiesen sido posibles.
- Ⓜ A la Dra. Alma Delia, quien me permitió formar parte de su equipo de trabajo, por su confianza y sobre todo por la paciencia que me tuvo durante la elaboración de mi tesis. Gracias por todo.
- Ⓜ Al ingeniero Abel Blancas, por el tiempo que me dedico durante mi estancia en la UNAM, por su confianza y sus conocimientos que compartió conmigo, igualmente al equipo de trabajo de biomédicas, que hicieron mi estancia más fácil y agradable. Gracias por todo.
- Ⓜ Al jurado, por tomarse el tiempo de leer y corregir esta tesis, lo cual logró que este trabajo fuera mejor.
- Ⓜ A COFUPRO, por el apoyo económico que aportó durante esta investigación, su colaboración permitió culminar este trabajo con resultados satisfactorios.

A mis amigos incondicionales, Miguel y Lalo que no tengo palabras para agradecerles tantos momentos especiales e inolvidables, Los quiero mucho.

Sabi†... que siempre estarás en mi corazón, te extraño, pero entiendo que Dios tenia un mejor plan para ti.

Aurea, siempre voy a estar agradecida contigo por todo lo que me ayudaste, por escucharme y nunca dejarme sola donde no conocía. Eres una gran amiga.

Moni, Gaby, Clau, Viry, gracias por hacerme reír, apoyarme y por todo lo que hizo una vida universitaria genial.



Dedicatorias

A ti papa **Sergio Jaén**, por

heredarme esa fuerza para
luchar por lo que quiero, por
apoyarme siempre y estar junto
a mi cuando lo necesito y por
ser un excelente padre.



A mis hermanos, **Lili, Eve, Cocolito y Jaque**,
por sus buenos consejos, el ánimo, apoyo
incondicional y alegría que me brindan, la
cual me da la fortaleza necesaria para seguir
adelante.

A mis sobrinos y sobrinas.... que siempre me recuerdan que la vida es
maravillosa, que nunca se debe abandonar el niño que llevamos dentro, que
con un simple beso y una sonrisa me tranquilizan y me devuelven mucha paz.

A ti mamá **Gury**

Echeverría, por todos tus
cuidados, bendiciones y
ánimos que día a día llenan mi
vida de luz, por ser la mejor
del mundo y por desempeñar
muy bien tu rol de madre,
consejera y amiga.



Este proyecto de investigación, titulado; **“Uso de malta caramelo para la elaboración de una cerveza artesanal”**, fué financiado por COFUPRO región centro en la convocatoria 2007. Dentro del proyecto: Obtención de bioproductos a partir del grano de cebada, con clave 42-2007-0902.

Parte de este trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Alimentos I del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Y en su mayoría en la Unidad de Bioprocesos del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México como responsable el Ingeniero Abel Blancas Cabrera.





ÍNDICE GENERAL

Foros científicos	<i>i</i>
Agradecimientos	<i>ii</i>
Dedicatorias	<i>iii</i>
Índice general	<i>v</i>
Índice de figuras	<i>vii</i>
Índice de tablas	<i>viii</i>
Resumen	<i>x</i>
1. INTRODUCCIÓN	2
2. ANTECEDENTES	4
2.1 Cebada.....	4
2.1.1 Composición.....	6
2.1.2 Clasificación y uso de la cebada.....	10
2.1.3 Cebada maltera.....	11
2.1.3.1 Principales variedades de cebada maltera.....	12
2.2 Malta.....	13
2.2.1 Elaboración de malta.....	13
2.2.2 Tipos de maltas.....	16
2.3 Historia de la cerveza.....	18
2.4 Ingredientes de la cerveza.....	19
2.4.1 Agua.....	19
2.4.2 Malta.....	20
2.4.3 Levadura.....	20
2.4.4 Lúpulo.....	23
2.5 Elaboración de cerveza.....	25
2.5.1 Producción del mosto.....	25
2.5.1.1 Lupulación.....	29
2.5.2 Fermentación.....	30
2.5.2.1 Fases de la fermentación.....	31
2.5.2.2 Tipos de fermentación.....	33
2.5.3 Maduración o fermentación secundaria.....	33
2.5.4 Adjuntos.....	34
2.5.5 Envasado.....	35
2.6 La cerveza.....	35
2.6.1 Tipos de cerveza.....	36
2.6.2 Producción y consumo de cerveza.....	36
2.6.3 Composición de la cerveza.....	37
2.6.4 Microorganismos alteradores de la cerveza.....	50
3. OBJETIVOS	41
3.1 Objetivo general.....	41
3.2 Objetivos específicos.....	41
4. MATERIAL Y MÉTODOS	43



4.1 Materia prima.....	44
4.2 Análisis físico de la cebada.....	44
4.3 Proceso de malteado.....	44
4.4 Elaboración de mostos.....	47
4.4.1 Análisis de calidad de los mostos.....	49
4.4.1.1 Preparación de muestras.....	50
4.4.1.2 Azúcares reductores.....	50
4.4.1.3 Azúcares totales.....	50
4.4.1.4 Grados brix.....	50
4.5 Propagación del inóculo de levadura.....	51
4.6 Etapa fermentativa.....	52
4.6.1 Tratamiento de las muestras de fermentación.....	53
4.6.2 Determinación de alcohol.....	54
4.6.3 Determinación de almidón total.....	54
4.6.4 Determinación de maltosa-sacarosa-D-glucosa.....	55
4.6.5 Análisis estadístico.....	55
5. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	57
5.1 Análisis físico.....	57
5.2 Malteado.....	57
5.2.1 Remojo.....	57
5.2.2 Germinación.....	58
5.2.3 Secado.....	58
5.3 Elaboración del mosto.....	59
5.3.1 Azúcares totales.....	59
5.3.2 Azúcares reductores.....	60
5.3.3 Grados brix.....	62
5.3.4 Elaboración de un mosto a una nueva concentración de agua/malta.....	63
5.3.5 Elaboración de un mosto a partir de malta clara.....	65
5.4 Inoculación de la levadura.....	67
5.5 Fermentación.....	69
5.5.1 Crecimiento de la levadura.....	69
5.5.2 Producción de etanol.....	71
5.6 Proceso fermentativo de la mezcla elegida.....	73
5.6.1 Producción de etanol.....	76
5.6.2 Consumo de azúcares en la fermentación.....	77
5.6.3 Rendimiento de etanol.....	78
6. CONCLUSIONES.....	81
7. PERSPECTIVAS.....	84
8. BIBLIOGRAFÍA.....	86
9. ANEXOS.....	92



ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	Página
1. Estructura del grano de cebada.....	4
2. Una célula del endospermo de cebada.....	6
3. Estructura de la amilosa y amilopectina	9
4. Estructura de las espigas de cebada.....	10
5. Cultivo de cebada maltera.....	12
6. Malta clara, caramelo y chocolate.....	18
7. Reproducción de <i>S. cerevisiae</i> en gemación activa.....	22
8. Levadura <i>S. cerevisiae</i>	22
9. Conos de lúpulo.....	24
10. Curva de crecimiento de las levaduras.....	33
11. Germinación.....	45
12. Secado.....	46
13. Molino manual.....	46
14. Elaboración del mosto.....	47
15. Mosto claro y caramelo.....	49
16. Refractómetro.....	50
17. Inoculación de la levadura en las diferentes mezclas de mosto.....	52
18. Lupulación.....	52
19. Fermentación.....	53



ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	Página
1. Composición química de la cebada.....	6
2. Principales variedades de cebada maltera.....	12
3. Composición química de los conos de lúpulo.....	24
4. Efecto de la temperatura en la maceración.....	26
5. Acción de la temperatura y pH sobre las amilasas.....	26
6. Composición del mosto después de la maceración y filtración.....	29
7. Etapas de la fermentación.....	31
8. Temperaturas de gelatinización de los diferentes cereales.....	35
9. Producción y consumo de cerveza.....	37
10. Diluciones de las muestras.....	50





RESUMEN

El objetivo de éste proyecto fue elaborar una cerveza a partir de malta caramelo, para lo cual se elaboró una serie de mostos con 2 variantes, tiempo y temperatura. Primeramente se elaboró la malta caramelo a partir de malta clara aumentando la temperatura a 175 °C por un par de horas. Posteriormente se elaboró el primer mosto caramelo, a 3 diferentes temperaturas cada uno, con una relación de 1:3 (malta:agua), a una temperatura de 50, 60 y 70 °C por 4 h. El segundo mosto se realizó a una temperatura gradual de 50 °C por una hora trascurrido el tiempo se aumentó a 60 °C por 1h y finalmente a 70 °C durante 1 h más. De ambos mostos se observó que el mosto elaborado a una temperatura gradual presenta concentraciones menores de azúcares reductores (AR), en comparación con el mosto elaborado a una temperatura constante. Del primer mosto, se observa que el elaborado a 50 °C, presenta 10 g/L de AR. Sin embargo el mosto que se obtiene es espeso, se logra un volumen pequeño y se utiliza gran cantidad de materia prima (malta) al final. Por lo que se elaboró, otro par de mostos con diferencia en la relación de malta caramelo:agua (1:7 y 1:5), y solamente con temperatura constante (50, 60 y 70 °C). Los resultados obtenidos de la relación 1:5 a 50°C son; °Brix (5.5) y AR (10.2g/L). Por otro lado se realizaron diferentes combinaciones de malta clara:malta caramelo: 90/10, 80/20, 70/30 y 50/50, las cuales se sometieron a fermentación. Una vez finalizada la fermentación, se determinó que la mezcla 70:30 presentó un aroma y sabor preferente sobre las otras mezclas. Se obtuvo 3% de etanol, $0.41 \text{ g}_{\text{almidón}}/\text{L}_{\text{solución}}$, la fermentación comenzó con $0.744 \text{ g}_{\text{maltosa}}/\text{L}_{\text{solución}}$ y finalizó con $0.0244 \text{ g}_{\text{maltosa}}/\text{L}_{\text{solución}}$. Lo que indica que la levadura utilizó los azúcares fermentables para producir el etanol de forma óptima y eficaz.

El elaborar una cerveza artesanal utilizando un 30 % de mosto caramelo y un 70 % de mosto claro, es viable ya que presentan niveles de etanol semejantes a la cerveza artesanal elaborada con 100 % mosto proveniente de malta clara.





1. INTRODUCCIÓN

El código Alimentario Español define a la cerveza como una bebida resultante de fermentar, mediante levadura seleccionada, el mosto procedente de malta de cebada, solo o mezclado con otros productos amiláceos transformables en azúcares por digestión enzimática, cocción y aromatizado con flores de lúpulo (Olalla, 2002).

La producción y consumo de bebidas alcohólicas es una de las actividades más antiguas desarrolladas por el hombre. Hoy en día, la elaboración de cerveza, de vino y de destilados representa una de las principales actividades comerciales en muchos países (Varman y Sutherland, 1994).

La cerveza es una bebida que se remota entre 6000 u 8000 años, y cuyo proceso se ha mantenido intacto durante centenarios, a pesar de ser cada vez más regulado y bajo control gracias a los grandes avances en su composición. Los ingredientes básicos de la mayoría de las cervezas son la cebada malteada, agua, lúpulo y levadura (Bamforth, 2005).

Comparada con otras bebidas alcohólicas, la cerveza presenta bajo contenido de alcohol, en la mayoría de las cervezas, se encuentra entre 3.6 y 4.5 % (v/v). Por otro lado, se trata de una bebida de elevado contenido energético, pero de algún modo se considera un alimento equilibrado (Hough, 1990). Es importante admitir que un exceso en el consumo de alcohol conduce a graves problemas sociales por la disminución de la productividad por parte de los bebedores (Varman y Sutherland, 1994).

El procedimiento de la producción de cerveza, consiste en cuatro etapas: (1) malteado (básicamente es la germinación y secado de la cebada); (2) producción del mosto (molienda e hidrólisis de los componentes de la malta, seguido por el hervido con lúpulo y finalmente la separación de los compuestos); (3) fermentación (en la mayoría de los casos dividida en primaria o fermentación principal y fermentación secundaria); y (4) tratamiento final (filtración, gasificación y embotellamiento) (Linko y col, 1998).





2. ANTECEDENTES

2.1 Cebada

La cebada pertenece a la familia de las gramíneas. Su nombre en latín es *Hordeum vulgare*, aunque este término suele aplicarse a la cebada de seis carreras, y *Hordeum distichon* a la cebada de dos carreras (Bamforth, 2005).

La cebada constituye el cuarto cereal más importe del mundo, después del trigo, maíz y arroz (Dendy y Dobraszzyk, 2001). Se cree que fue una de las primeras plantas domesticas al comienzo de la agricultura. La causa de que la cebada continué siendo un cereal importante, después de tantos siglos de cultivo, se debe a su amplia adaptación ecológica, uso para alimento animal y humano y a la alta calidad de la malta de cebada para la fabricación de cerveza (López, 1991). Su cultivo se encuentra más extendido, desde las áreas montañosas cercanas al ecuador, hasta por debajo del nivel del mar, y desde las regiones marítimas húmedas, hasta las áreas de riego de los desiertos. No obstante la cebada no crece en regiones tropicales y semitrópicas húmedas (Dendy y Dobraszzyk, 2001). El grano de cebada presenta forma oval y alargada y se inserta en la espiga por la base, lugar donde se encuentra el germen (Figura 1) (Callejo, 2002).

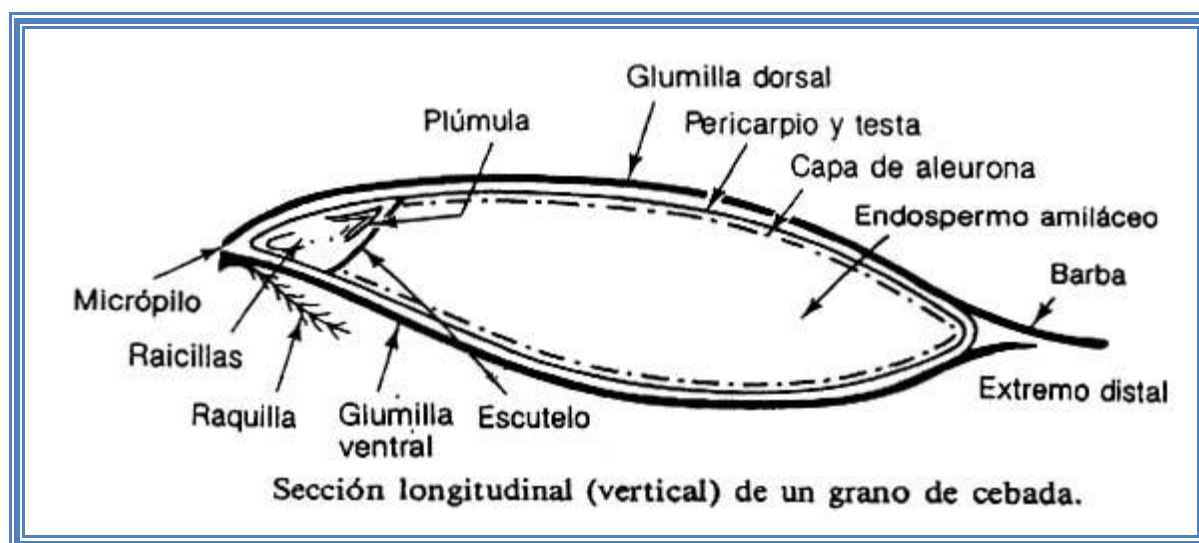


Figura 1. Estructura del grano de cebada (Hough, 1990)



Entre las principales características a tener en cuenta en las cebadas cerveceras, figuran; peso, forma y color del grano, finura de glumillas, germinación, contenido de proteínas del grano, proteínas solubles, rendimiento en extracto y actividad enzimática (López, 1991). El grano de cebada consta de 4 partes fundamentales; (Bamforth, 2005).

1. el embrión, la planta hija
2. el endospermo feculento, la reserva de alimentos para el embrión
3. la capa de aleurona, genera enzimas que degradan el endospermo feculento
4. la cáscara, la capa protectora del grano

La parte amilácea del endospermo supone el 90% de toda la masa del endospermo y consiste en grandes células muertas, de finas paredes llenas de gránulos de almidón y de proteínas de reserva. El almidón en dichas células, se presenta en dos forma, gránulos grandes (aproximadamente 25 μ m) y gránulos pequeños (5 μ m).

El endospermo es una masa de células cada una de las cuales está formada por una pared celular delgada dentro de la cual hay numerosos gránulos de almidón insertados en una matriz de proteínas (figura 2). La pared que envuelve cada célula del endospermo está compuesta en un 75% por β -glucanos, 20% de pentosanos, 5% de proteínas y algunos ácidos, como ácido acético y fenólico. El β -glucano, está formado por largas cadenas lineales de unidades de glucosa unidas mediante enlaces β , los cuales están hidrolizados por endo β -glucanasas. Por otro lado las proteínas del endospermo pueden ser clasificados según su solubilidad en albúminas (10-15%) que son hidrosolubles, y las hordeínas (85-90%) solubles en alcohol, estas son las proteínas de reserva que necesitan ser degradadas para que el almidón sea accesible y generen aminoácidos que serán usados por la levadura (Bamforth, 2005).

El endospermo está rodeado por la aleurona, una capa de células vivas con paredes gruesas. En el embrión se producen diversas hormonas que están involucradas en el metabolismo de la germinación del grano (Varman y Sutherland, 1994). La utilización de la cebada para elaborar cerveza, se debe tanto a razones de tradición como a la bioquímica del grano, el cual ofrece muchas posibilidades



favorables al malteado y también por el hecho de que la cascarilla protege al embrión del daño ocasionado por el propio proceso (Dendy y Dobraszazyk, 2001).

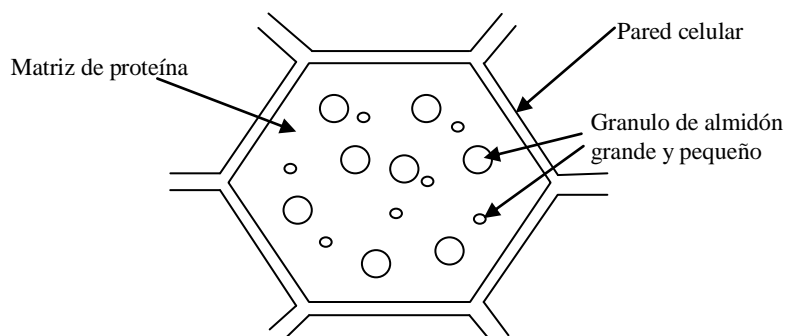


Figura 2. Una célula del endospermo de cebada (Bamforth, 2005)

2.1.1 Composición

La cebada presenta una composición química muy variable, incluso entre los mismos lotes. Como es lógico la cebada con cascarilla es más rica en fibra y en lignina que la cebada limpia. La tabla 1 muestra la composición química media de la materia seca de la cebada (Callejo, 2002).

Tabla 1. Composición química de la cebada

Compuesto	Porcentaje
Hidratos de carbono	70 – 85
Almidón	50 – 63
Azúcares	1.8 – 2
Celulosa	5 – 6%
Hemicelulosa	Resto
Proteína	10.5 – 11.5
Materia inorgánica	2 – 4
Lípidos	1.5 – 2
Otras sustancias	1 – 2

Fuente: Callejo, 2002

Polisacáridos amiláceos

Dentro de los polisacáridos amiláceos, el más importante es el almidón, que se presenta en sus dos formas estructurales (figura 3), el principal es la amilopectina, o cadena ramificada, que está constituida por unidades de glucosa unidas mediante enlaces glucosídicos α -(1-4) y por un número menor de enlaces α -(1-6) que



conforman una estructura ramificada, la cual supone aproximadamente el 75-80% del almidón presente en la cebada. El componente minoritario es la amilosa o cadena lineal (20-25% del total amiláceo), la cual es una molécula formada por unidades de glucosa unidas principalmente por enlaces glucosídicos α -(1-4) (Varman y Sutherland, 1994).

Polisacáridos no amiláceos

En los granos se encuentran otros glúcidos no amiláceos como son (Hornsey, 2003):

- Azúcares; los principales azúcares simples del grano de cebada como mono, di, y tri sacáridos es decir glucosa, maltosa, sacarosa y rafinosa, estos están contenidos normalmente en cantidades variables que oscilan entre 1 y 2 % (Salinas, 1993), fundamentalmente localizados en la capa de la aleurona y el embrión.
- Gomas; son los β -glucanos y pentosanos que son solubles en agua caliente.
- Hemicelulosas; esta fracción se refiere al β -glucano y componente pentosano insoluble en agua caliente. El β -glucano (80-90%) es un polímero lineal compuesto por unidades de glucosa unidas mediante enlaces β (1-3) y β (1-4), disueltas por las β -glucanasas, y los pentosanos (10-20%) los cuales son polímeros de xilosa unidas por enlaces β (1-4), que tienen cadenas laterales de unidades de arabinosa unidos por enlaces β (1-3).

Los β -glucanos y los pentosanos son de los polisacáridos no amiláceos más interesantes ya que pueden causar problemas en la cerveza (Dendy y Dobraszzyk, 2001).

La degradación del almidón es paulatina, comenzando por dextrinas, eritrodextrinas, acrodextrinas, maltosa y finalmente glucosa (azúcar reductor) (Salinas, 1993). La maltosa a su vez durante la fermentación, se metaboliza en alcohol y anhídrido carbónico, dando a la cerveza su típico contenido en estos compuestos (Madrid, 1994).



Proteínas (nitrógeno)

La cebada tiene usualmente un contenido en nitrógeno entre el 1.3 y 2.5 % en función de la materia seca (Dendy y Dobraszazyk, 2001). La mayor parte de éste nitrógeno está localizado en el endospermo como proteína de reserva y proteína enzimática (Hornsey, 2003).

Las proteínas pueden tener influencia importante en el aporte de turbidez, las sustancias nitrogenadas de cebada se dividen en dos grupos; proteínas insolubles en soluciones acuosas que precipitan durante la cocción, la proteína disminuye durante el malteado ya que es descompuesta enzimáticamente. Y los productos de degradación de la proteína, que son solubles en agua y no precipitan en la cocción (Dendy y Dobraszazyk, 2001).

Lípidos

Los lípidos totales de la cebada se encuentran usualmente alrededor del 3.5 % de los que 2.5% son lípidos neutros que se concentran en el embrión y en la capa de la aleurona (Dendy y Dobraszazyk, 2001). Los ácidos grasos predominantes encontrados en los lípidos de la cebada son los ácidos palmítico, oleico y linoleico. También se encuentran fosfolípidos en cantidades pequeñas (Hornsey, 2003).

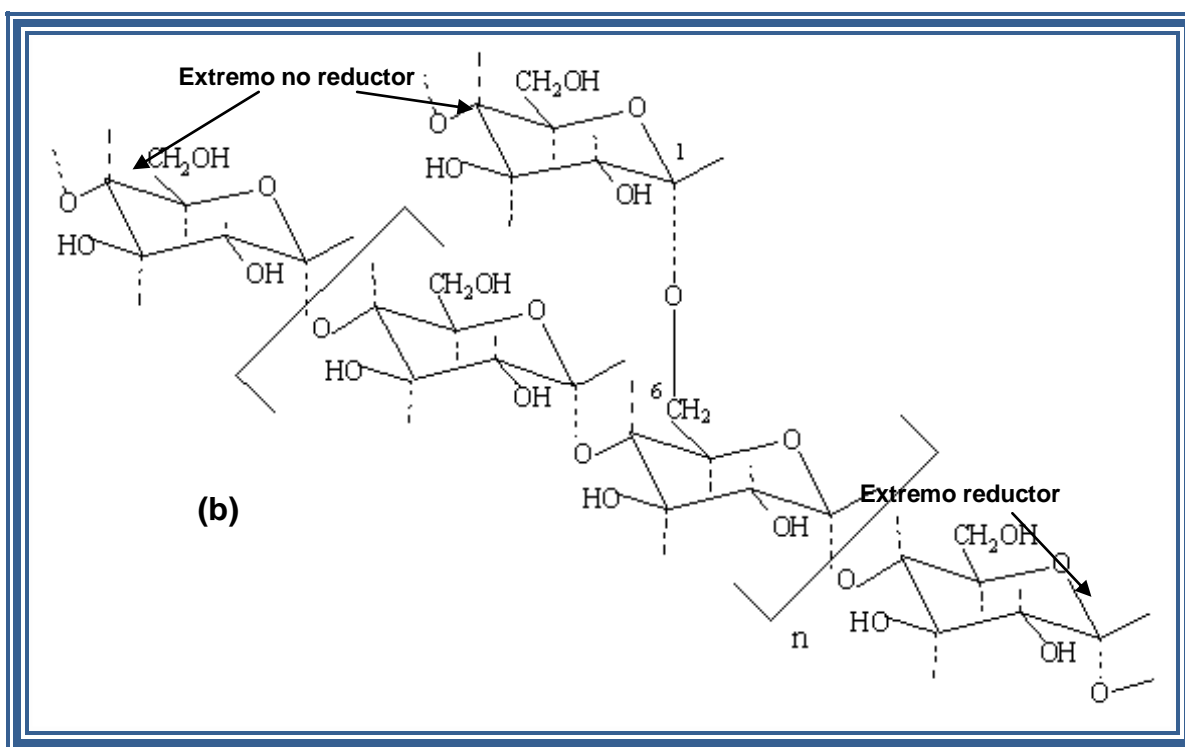
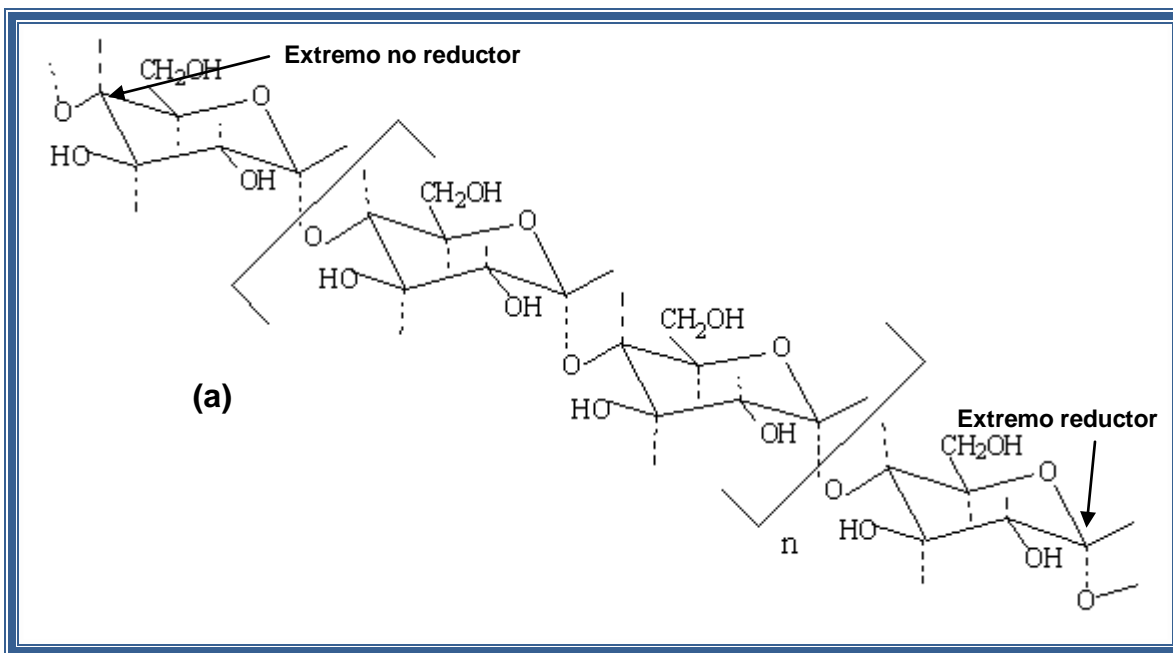


Figura 3. Estructura de la (a) amilosa y (b) amilopectina
Fuente: www.monografias.com/, Enero 2010



Otros constituyentes

Los granos de cebada contienen otras muchas sustancias en cantidades menores que incluyen ciertas vitaminas, materiales fenólicos (Dendy y Dobraszazyk, 2001), así como diversos iones minerales, siendo los principales K^+ , PO_4^{3-} , Mg^{2+} , Na^+ y Cl^- (Hornsey, 2003).

2.1.2 Clasificación y uso de la cebada

La cebada se clasifica en función de la estructura de sus espigas (figura 4). En las cebadas con espigas de dos carreras, solamente las flores centrales de las triadas florales son fértiles, de ahí que vista desde arriba, la espiga madura presenta 2 filas de grano. En las cebadas de 6 hileras, todas las flores son fértiles y por ello se forman 6 hileras de grano (Dendy y Dobraszazyk, 2001), utilizando mayormente para la producción de cerveza la de 2 hileras, ya que tiene granos más desarrollados que dan mayor rendimiento (Madrid, 1994).

Obviamente, en el segundo caso hay menos espacio para cada grano, por lo que tienden a ser más pequeños y de algún modo retorcidos, por lo que son menos apreciados (Bamforth, 2005).

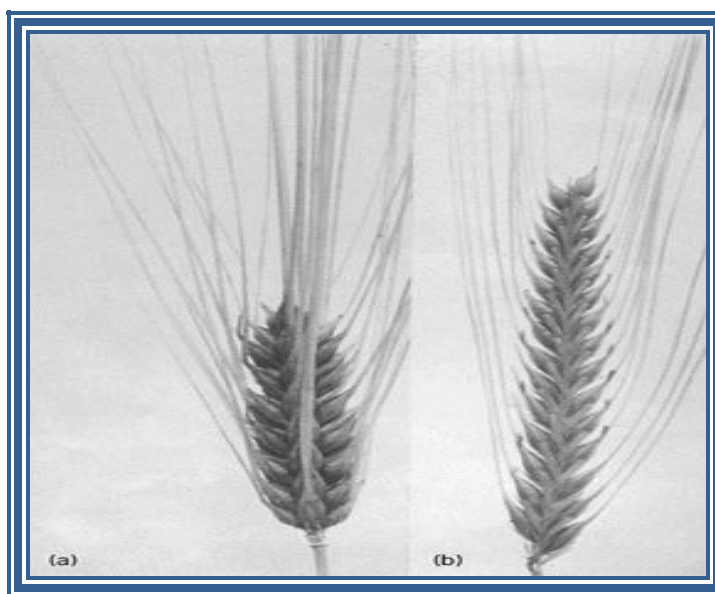


Figura 4. Estructura de las espigas de cebada de seis hileras (a) y de dos hileras (b).

Fuente: www.answers.com/topic/barley, Enero 2010



Los dos principales usos del grano de cebada son la alimentación animal y el malteado. Durante muchos años se han mejorado líneas de cebada para obtener una calidad superior de malteado. La cebada para malteado debe presentar criterios más estrictos de germinación que la que se destina a la producción del grano para pienso; así los granos de cebada de malteado deben germinar rápida y completamente (viabilidad) (Dendy y Dobraszayk, 2001).

Puesto que la mayor parte de los carbohidratos existentes en los granos de cereal, que se utilizan en la elaboración de cerveza, se encuentran en forma de almidones y puesto que las levaduras fermentadoras no producen amilasas que degraden el almidón (Jay, 1992), se necesita una germinación preliminar, en la que el almidón y las proteínas se hidrolizan enzimáticamente a azúcares simples y aminoácidos que proporcionan los principales nutrientes de la fermentación (Doyle y col., 1997).

2.1.3 Cebada maltera

El cultivo de cebada maltera bajo el sistema de riego, se realiza principalmente en el Bajío (Zacatecas, Guanajuato, Jalisco, Michoacán y Querétaro). En tierras irrigadas y fertilizadas, los rendimientos duplican a los obtenidos en condiciones de temporal. Son cebadas de alta calidad, con mayor contenido de proteínas y comportamiento más predecible en cuanto a su rendimiento.

El cultivo de la cebada maltera de temporal depende de la lluvia y principalmente se siembra en el Altiplano Central (Hidalgo, Puebla, Tlaxcala y Estado de México). Los rendimientos son menores y el grano de menor calidad; además su contenido de proteínas es más bajo con respecto a las cosechas de riego (figura 5).

En total, México aporta aproximadamente el 0.5% de la producción mundial de cebada. La industria maltera-cervecera en coordinación con el INIFAP (Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuaria), promueven la formación de variedades de cebada maltera con alto rendimiento, buena calidad y tolerante a enfermedades, lo que permite incrementar la superficie de cultivo de éste cereal y reducir la dependencia de la importación (exposición mumci, marzo 2010).



Figura 5. Cultivo de cebada maltera, Fuente: México, exposición mumci, Marzo 2010

2.1.3.1 Principales variedades de cebada maltera

La tabla 2 muestra las principales variedades de cebada maltera.

Tabla 2. Principales variedades de cebada maltera

Variedad	Ciclo vegetativo	Estatura	Tipo de espiga	Rendimiento promedio
Esmeralda	De 120 a 130 días (temporal)	Crece de 70 a 97 cm	6 hileras	2120 Kg/hectárea
Esperanza	De 115 a 132 días (riego)	Crece de 70 a 97 cm	6 hileras	5820 Kg/hectárea
Cerro prieto	De 124 a 130 días (riego)	Crece de 70-115 cm	6 hileras	1700 Kg/hectárea
Gabyota	De 104 a 127 días (temporal)	Crece de 82-110 cm	2 hileras	2120 Kg/hectárea
Puebla	De 120 a 130 días	Crece de 80-110 cm	6 hileras	2120 Kg/hectárea

Fuente: México, exposición mumci, Marzo 2010



2.2 Malta

La malta es el producto de transformar la cebada seleccionada, esta transformación comprende una imbibición que rehidrata los granos, una fase de germinación controlada que causa la aparición de diversas enzimas, concretamente amilasas y proteasas, y al final una desecación (calentamiento breve), que estabilizan el grano de malta y su contenido enzimático encargado de llevar a cabo a lo largo del malteado la hidrólisis en moléculas de sacarosa del almidón de la malta (Bourgeois y Larpent, 1989).

2.2.1 Elaboración de malta

La calidad de la malta se ve fuertemente influenciada por la variedad, condiciones de crecimiento, maduración del grano y manejo poscosecha.

El proceso de malteado empieza con una buena selección de la cebada, su posterior limpieza para remover material extraño y obtener lotes con características homogéneas, seguido por el remojo del grano, germinación y secado (Serna, 2001). La limpieza principal tendrá lugar como fase previa a su procesamiento. Los granos de cebada de distintos tamaños no se comportan de la misma forma durante el malteo, ni en las propiedades de la malta obtenida, por lo tanto es importante tener todo el grano de un mismo tamaño (Callejo, 2002).

Remojo

Tras la limpieza de los granos, éstos se remojan a 10-16°C para elevar su contenido en agua hasta el 42-46%, de 24 a 48 h (Callejo, 2002), de tal manera que la humedad absorbida propicie la generación de fitohormonas giberélicas que desencadenan el suceso fisiológico de la germinación (Serna, 2001), el agua se introduce en el grano sólo por el micrópilo para hidratar el embrión y endospermo, esto activa el metabolismo del embrión que envía señales hormonales a la aleurona y activa la síntesis de enzimas responsables de la digestión de los componentes del endospermo, los productos de la digestión migran hacia el embrión sosteniendo su crecimiento (Bamforth, 2005). En esta fase se incrementa la respiración del grano y, por lo tanto, las necesidades de oxígeno (Callejo, 2002). La falta de oxígeno en el



agua de remojo, puede inhibir la germinación, por esta razón es recomendable drenar y airear periódicamente los granos (Varman y Sutherland, 1994). El remojo se interrumpe mediante el drenaje del agua, la cual contiene sólidos solubles provenientes principalmente de granos quebrados (Serna, 2001). Durante esta etapa se aumenta la humedad y los granos incrementan considerablemente su peso, ésta impregnación acuosa determina que el germen comience a desarrollar, con esto se han puesto en marcha las enzimas, las principales son una citasa (Salinas, 1993), que disuelve el material que une las paredes celulares del endospermo y ayuda a liberar los gránulos de almidón contenidos en la célula (Kent, 1971), una peptonasa y lo que es más importante, 2 enzimas amilolíticas, la alfa y beta amilasa (Salinas, 1993), e igualmente enzimas proteolíticas que hidrolizan las proteínas que están conjugadas con las amilasas, las liberan y activan (Varman y Sutherland, 1994).

Germinación

Después de concluir la etapa de remojo, se hace germinar la cebada, para lograr la activación enzimática deseada, como enzimas amilolíticas de las que la α - y β -amilasa son las que revisten la mayor importancia (Varman y Sutherland, 1994), este proceso es el que tarda más tiempo en toda la operación del malteado (Serna, 2001).

Al igual que en el remojo, durante todo el proceso se hace circular aire y al cabo de unos días una gran parte del almidón se ha convertido en maltosa y glucosa, por lo que el grano se emblandece (Salinas, 1993). Al final del periodo de germinación se habrá degradado alrededor del 18% del almidón y los granos se habrán hecho más ricos en azúcares solubles y en aminoácidos (Dendy y Dobraszazyk, 2001).

La operación se puede realizar en el piso o en equipos diseñados para éste fin. La germinación en piso es más tradicional y se practica con mayor frecuencia, los granos se transfieren del remojo y se extienden sobre el suelo formando una capa delgada de espesor, volteándose manualmente y continuamente para evitar que las raíces en desarrollo se enreden unas con otras durante la germinación (Doyle y col., 1997). Cuando ésta, se da por terminada, la longitud de las raicillas será



aproximadamente de 1.5 veces la longitud del grano y se detiene secando los granos, sin destruir las enzimas por el calor (Salinas, 1993). Igualmente al tostar, las raicillas son separadas del grano y pasan a formar parte de las pérdidas durante el malteo (4%) (Callejo, 2002).

Secado

El secado es más complejo que simplemente eliminar agua del grano (Doyle y col., 1997), depende del tipo de cerveza que se pretende elaborar, los objetivos del secado son; reducir el contenido de agua de la malta verde lo suficiente para que pueda ser almacenada por periodos prolongados, detener el proceso de germinación y formar componentes de color y sabor (Callejo, 2002). La malta no solo es una fuente de azúcares fermentables y otros nutrientes para las levaduras, proporciona también las enzimas proteolíticas y amilolíticas para la hidrólisis de cualquier cereal adicional. Estas enzimas son moderadamente termorresistentes, pero se van inactivando por acción de las temperaturas de secado superiores a 70°C (Doyle y col., 1997). Este múltiple papel de secado se desarrolla en dos etapas;

- ④ fase biológica y enzimática (deshidratación lenta-presecado), la tasa de humedad pasa del 45-47% al 10% con el objetivo de minimizar la inhibición de actividades enzimáticas (Callejo, 2002), por lo que se usan temperaturas menores de 50°C (Serna, 2001).

- ④ fase físico-química, la tasa de humedad pasa del 10% hasta el 4% y dura un par de horas, en este punto se producen reacciones de Maillard. La formación de melanoidinas a partir de azúcares y aminoácidos, influye sobre el color y sabor de la malta, en esta etapa se utilizan temperaturas de hasta 100°C (Callejo, 2002).

Se comienza a bajas temperaturas y se continua con una temperatura lo suficientemente alta como para detener, pero no destruir, la actividad enzimática



(Varman y Sutherland, 1994). Para cada tipo de malta hay diferentes programas de secado.

2.2.2 Tipos de maltas

La malta es un cereal en etapa temprana de germinación, cuyo proceso fisiológico ha sido controlado y detenido por el secado a diferentes temperaturas (García y col., 2002).

Generalmente temperaturas más elevadas dan lugar a malta de color más oscuro debido a las reacciones de “pardeamiento”, explicadas por primera vez por Maillard entre azúcares y compuestos nitrogenados del grano (Doyle y col., 1997).

Las temperaturas en el ciclo del horneado se controlan para asegurar que quede una suficiente actividad enzimática para producir un mosto de la composición deseada, aunque con algunas maltas especiales no queda actividad enzimática tras el calentamiento. La reacción de Maillard entre los compuestos aminados, normalmente proteínas, y los azúcares reductores comienzan durante el horneado de la malta con la producción de melanoidinas, las cuales son compuestos que juegan un papel importante en el sabor y en el color. La magnitud de la reacción de Maillard durante el horneado dependerá estrechamente de la intensidad del calentamiento y, en muchos casos, la reacción continuará durante la cocción del mosto (Varman y Sutherland, 1994).

Básicamente las maltas se distinguen en dos categorías.

Malta básica

Son maltas claras, poco horneadas con gran poder enzimático, que suelen formar la parte más grande o la totalidad de la mezcla. En concreto estas maltas son llamadas lager, pale o pils, según el fabricante.

Maltas especiales

Las maltas especiales se preparan con diversos fines particulares; la malta oscura y acaramelada se mantiene breve tiempo a 60-80 °C de la malta verde aun húmeda, hasta que las enzimas diastásicas del grano (alfa y beta-amilasas) transformen todo el almidón en azúcares, luego se somete a 150-180 °C, de forma



que los azúcares se caramelicen debido a la exposición adicional de la malta a temperaturas elevadas hasta que alcanza el grado deseado de coloración (Belitz y Grosch, 1997), éstas en general son más oscuras y se utilizan para suministrar color, aroma y sabores especiales, las maltas oscuras pueden mejorar la espuma, la estabilidad y la boca de la cerveza debido a la presencia de melanoidinas. (Coghe y col., 2005). Sin embargo éstas maltas han perdido casi totalmente la actividad enzimática ya que las enzimas se han destruido con las altas temperaturas registradas durante su preparación (Dendy y Dobraszzyk, 2001). Dentro de ésta categoría se encuentran:

Ⓢ Maltas aditivas

Son maltas de color que va de ámbar a negro, muy horneado y con poco o nada de poder enzimático. Suelen ser usados en pequeñas cantidades para incidir sobre el color o el gusto de la cerveza o por algún motivo técnico propio de la elaboración. Hay entonces una gran variedad, entre los que citaríamos las maltas negras, maltas chocolate o maltas tostadas.

Ⓢ Maltas mixtas

Estas maltas están más tostadas que las maltas base pero conservan propiedades enzimáticas suficientes al menos para sus propios azúcares, de manera que pueden ser usados como base o como aditivos. En esta categoría encontramos las maltas de color caramelo y ámbar conocidos en Inglaterra como maltas cristal y en Alemania como maltas caramelo. En esta área, existen dos maltas caramelo particulares llamadas Munich y Viena muy importantes en la cervecería de esos países. El horneado de las maltas caramelo presentan una fase en la que se alcanza una mayor temperatura. Por lo tanto algunos de los enzimas son inactivados parcial o completamente. El grado de inactivación depende de la estabilidad térmica de los enzimas, la temperatura y duración del tratamiento (Varman y Sutherland, 1994).

El la figura 6, se muestra una imagen comparando la malta básica, aditiva y mixta.

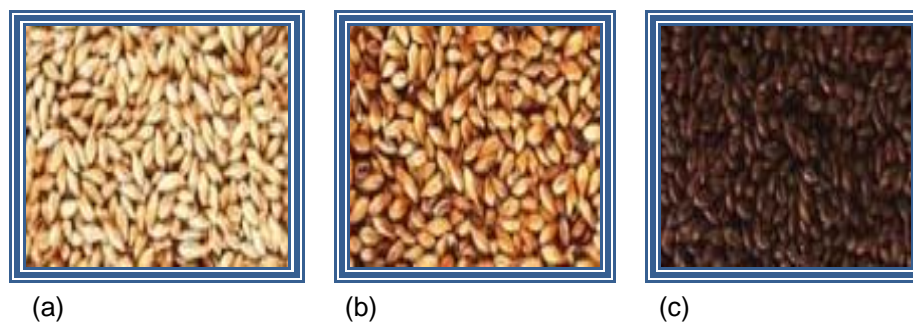


Figura 6. (a) malta clara, (b) malta caramelo, (c) malta chocolate.
Fuente: www.minicerveceria.com/back_office/system/art Diciembre 2010

2.3 Historia de la cerveza

Según algunos investigadores, mucho antes de surgir las primeras villas o pequeñas ciudades en la Antigua Mesopotamia, región ubicada entre los ríos Tigris y Éufrates, en lo que hoy es el Irak, por los alrededores de 4000 años antes de Cristo, nuestros ancestros ya consumían un líquido alcohólico resultante de la fermentación de cereales inmersos en agua (Bairgian, 2006).

Incluso se han encontrado monedas griegas que remontan al periodo comprendido ente 413 y 50 a.C. que estaban adornadas con espigas y granos de cebada (Kent, 1971).

La cerveza, que en sumerio se denominaba "ka" y en arcadio "ikaru", estuvo siempre presente en la vida de sumerios, asirios y babilonios, y de ello es testimonio su abundante literatura.

De acuerdo con los registros hallados, hace mas de 5000 años, estos pueblos dominaban los procesos productivos de más o menos 20 tipos diferentes de cervezas, el nombre genérico de la cerveza era "Kas" = "s'ikaru" palabra que equivalía también, al sinónimo de "bebida embriagante" (Bairgian, 2006).

En el encuentro de Cortés y Moctezuma no podía faltar la cerveza de maíz, elaborada por los indígenas mexicanos. La primera concesión real ofrecida por la Corona Española para establecer una cervecería en territorio nacional, le fue otorgada a Don Alfonso de Herrera en permiso fechado el 12 de diciembre de 1543. Este primer centro productor estaba localizado en la población de Amecameca, Estado de México, próximo al denominado Paso de Cortés.



Para 1890 la industria cervecera empezó a crecer en todo el país, primero en Monterrey, posteriormente en Veracruz. Para principios del siglo pasado, por ahí de 1904, la cerveza mexicana ya era considerada entre las mejores del mundo. (Gonzales, 2006). La revolución industrial introdujo la mecanización en el proceso cervecero, primero en las cervezas británicas y después en el resto del mundo (Callejo, 2002).

La cerveza es la bebida resultante de la fermentación alcohólica, mediante levadura seleccionada, de un mosto procedente de malta de cebada, solo o mezclado con otros productos amiláceos transformables en azúcar por digestión enzimática, al cual se agrega lúpulo y se somete a un proceso de cocción.

La cerveza, como todas las bebidas alcohólicas es un producto inocuo desde el punto de vista del consumidor gracias a su proceso de fabricación; en la primera etapa se produce el mosto, que concluye con una ebullición prolongada, en la etapa posterior, la fermentación produce la aparición de alcohol que tiene un efecto inhibitor para los microorganismos. A este beneficioso efecto del alcohol hay que añadir las propiedades antisépticas del lúpulo. Finalmente las fases de filtración y pasteurización de la cerveza contribuyen también a la estabilización del producto frente a microorganismos (IICA, 1999).

Es un producto de bajas calorías con relación a otras bebidas; contiene en promedio 4% de alcohol etílico y 5% de dextrinas; 1 litro de cerveza proporcionan aproximadamente 400 Kcal o 1670 Kj, así como vitamina B2 (Dupin, 1985).

2.4 Ingredientes de la cerveza

2.4.1 Agua

Aproximadamente el 95% de la cerveza es agua, la calidad de la misma afecta directamente la calidad del producto terminado (Serna, 2001). Ésta debe ser potable y presentar una composición química adecuada y preferentemente con un pH de 6.5 a 7.0 (Varman y Sutherland, 1994).



2.4.2 Malta

La malta utilizada depende del tipo de cerveza que se quiera obtener, ya sea clara, caramelo o chocolate, la cual se elabora como se citó en el apartado de secado de malta, 2.2.2.

2.4.3 Levadura

El término levadura proviene del latín *levare*, que significa levantar (González y Valenzuela, N. D.). En condiciones normales, las levaduras se multiplican durante un ciclo de fermentación y se utilizan como inóculo en los ciclos siguientes (Varman y Sutherland, 1994). Las levaduras son, por lo general, organismos unicelulares, y se presentan en formas muy variadas, desde las esféricas, ovoides y elipsoidales, a las cilíndricas, que pueden ser muy alargadas y filamentosas.

Su estructura interna es compleja y se reproducen vegetativamente por gemación o por fisión y sexualmente por producción de esporas (Bairgian, 2006).

Este microorganismo muestra 5 fases de crecimiento bien definidas cuando es cultivado en medios líquidos con glucosa como fuente de carbono: la fase lag, la fase logarítmica, el cambio diáuxico, la fase postdiáuxica y la fase estacionaria.

La fase lag, es un periodo de adaptación en el cual la célula se prepara para dividirse.

Durante la fase logarítmica las células alcanzan su máxima velocidad de duplicación y llevan a cabo un metabolismo fermentativo del que se produce etanol. Al disminuir la concentración de glucosa, las células atraviesan por el cambio diáuxico, un periodo breve de tiempo en el cual no hay división, y la célula cambia de un metabolismo fermentativo a uno respiratorio. En la fase postdiáuxica las células usan como fuente de carbono el etanol producido durante la fase logarítmica e incrementan su resistencia al estrés gradualmente; en tanto que la fase estacionaria se presenta cuando los nutrientes del medio se han agotado y no hay división celular. En ésta fase, las células acumulan carbohidratos de reserva como trehalosa y glucógeno, alcanzan el máximo nivel de resistencia a estrés y su pared celular se vuelve más gruesa y resistente a la digestión por liticasa (Folch y col., 2004).



La levadura de la cerveza obtiene la mayor parte del nitrógeno que necesita para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos de los aminoácidos del mosto. De igual forma requieren oxígeno para sintetizar ácidos grasos insaturados y los esteroides necesarios en las membranas. Éste oxígeno se introduce en la fase de enfriado del mosto en cantidades suficientes para la levadura, pero no en exceso, ya que una excesiva aireación u oxigenación provoca el crecimiento excesivo de la levadura y una mayor producción de levadura durante la fermentación, resulta una menor producción de alcohol (Bamforth, 2005).

Dos especies se han utilizado clásicamente en la elaboración de bebidas alcohólicas como la cerveza, *Saccharomyces cerevisiae* (levadura ale) o *Saccharomyces ovarum* (levadura lager). La diferencia fundamental entre las cepas ale y lager se basa en la capacidad de fermentar el azúcar melobiosa; las cepas ale no son capaces, mientras que las cepas lager tienen esa capacidad gracias a la producción de una enzima (α -galactosidasa) necesaria para la conversión de melobiosa a glucosa y galactosa (Bamforth, 2005). En un término latino "*Saccharomices*" significa "devoradora de azúcares" (Baigian, 2006).

El género *Saccharomyces* es capaz de fermentar un amplio número de azúcares del mosto (Doyle y col., 1997), en el siguiente orden: sacarosa, glucosa, fructosa, galactosa, manosa, maltosa y maltotriosa. Las dextrinas como la maltotetraosa permanecen sin fermentar (Varman y Sutherland, 1994).

***Sacch. cerevisiae* (cerveza tipo ale)**

Las levaduras ale son llamadas de fermentación alta por su desplazamiento hacia la zona superior de los recipientes de fermentación (Bamforth, 2005).

Las levaduras se multiplican por bipartición celular, es decir, que de una célula de levadura nacen dos células nuevas, cada una de las cuales volverá a su vez a escindir-se en otras dos y así sucesivamente (figura 7) (Vogel, 1999).

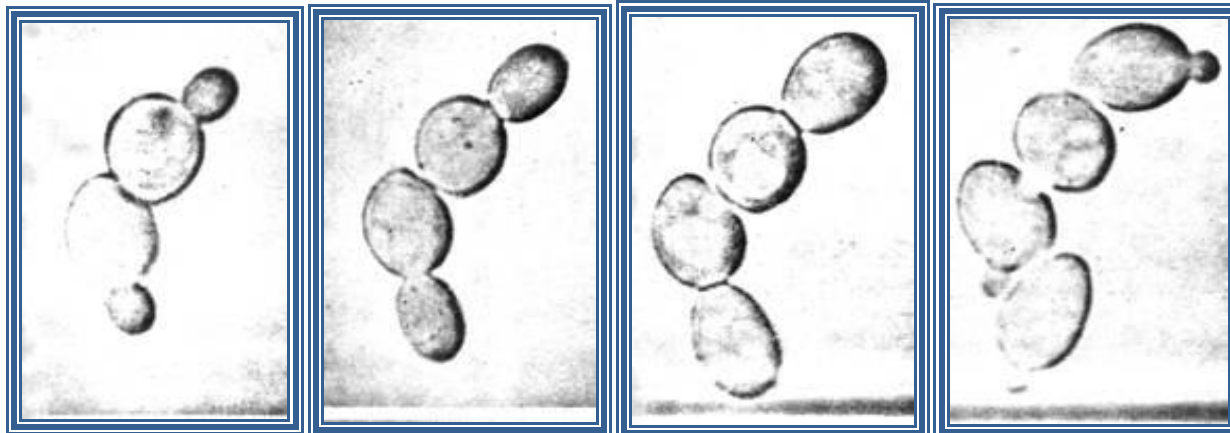


Figura 7. Reproducción de *S. Cerevisiae* en gemación activa
Fuente: http://www.cervezas-argentinas.com.ar/Las_levaduras, Octubre 2010

Las levaduras de fermentación alta permanecen después de la multiplicación agrupadas por uniones lábiles, formando una especie de racimo (figura 8). Esta biomasa ofrece tanta resistencia a las burbujas de dióxido de carbono que tratan de ascender, y la levadura es empujada hacia arriba sobre la superficie del líquido situándose sobre la espuma como capa viscosa de tonalidad oscura y sucia, de donde procede la denominación de fermentación alta (Vogel, 1999). Las levaduras de fermentación alta producen a 15-20°C una cerveza normal, por lo que requiere escasos medios de refrigeración (Varman y Sutherland, 1994).

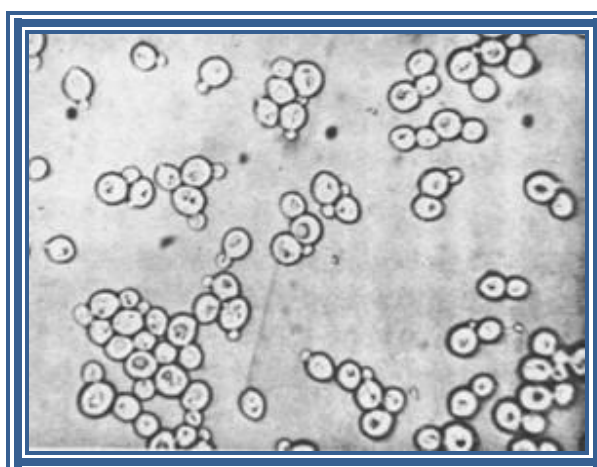


Figura 8 . *Saccharomyces cerevisiae*

Fuente: http://www.cervezas-argentinas.com.ar/Las_levaduras, Octubre 2010



***Saccharomyces carlsbergensis* o *Saccharomyces Uvarum* (levadura lager)**

Son levaduras de fermentación baja o lager que a diferencia de las levaduras de fermentación alta, se forman también por bipartición nuevas células pero completamente sueltas, sin formar racimos, con lo que no ofrecen resistencia a las burbujas de dióxido de carbono, por cuya razón no ascienden y se hunden al fondo del recipiente de fermentación. Las levaduras de fermentación baja necesitan temperaturas de fermentación muy bajas, hasta casi de 0°C (Vogel, 1999).

Conjuntamente con el agua, la malta y la levadura, el lúpulo es uno de los 4 elementos principales que intervienen en la elaboración de la cerveza.

2.4.4 Lúpulo

El lúpulo empleado habitualmente en cervecería es *Humulus lupulus*, pertenece a la familia de las Cannabináceas en sus diferentes presentaciones, flores secas, pellets o extractos de aceite (Hornsey, 2003). Se utiliza sólo la planta femenina la cual consta de una vértebra o soporte leñoso, los pétalos, semillas y las glándulas de lupulina en la base de los pétalos. Son plantas de un género de enredaderas, confiere el amargor, el sabor característico y hace a la cerveza más fácil de digerir, además sirve como conservante natural (Hornsey, 2003), ya que posee valiosas propiedades antimicrobianas (figura 9). Se considera que existen dos clases de variedades; variedades ricas en α -ácidos, que contienen altos niveles de humulona las cuales son muy insolubles en agua que sufren isomerización durante el proceso de elaboración de la cerveza para formar isohumulonas o iso- α -ácidos, que son las responsables de una gran parte del sabor amargo de la cerveza (Lee, 1996); y variedades ricas en aroma, que contienen un alto nivel de aceites esenciales que dan el carácter al lúpulo (Varman y Sutherland, 1994).

Composición

El lúpulo está formado por diversos componentes, descritos en la tabla 3. (Callejo, 2002). Sin embargo las peculiares características que lo convierten en un ingrediente insustituible para la fabricación de la cerveza son las resinas responsables del amargor de la cerveza (almacenadas en las glándulas de lupulina),



los aceites esenciales que confieren su aroma característico (humuleno, farneseno, mirceno, cariofileno, etc.) y los taninos, los cuales ayudan en el proceso de clarificación de la cerveza, debido a que tienen la propiedad de ligar a las proteínas que causan la turbidez del producto terminado (Serna, 2001).

Tabla 3. Composición de los conos de lúpulo

Ingrediente	Porcentaje
Agua	6-13
Celulosa y ligninas	40.4
Resinas totales	15
Proteínas (Nx')	15
Sales minerales	8
Taninos	4
Lípidos	3
Monosacáridos	2
Pectinas	2
Aceites esenciales	0.5
Amino ácidos	0.1

Fuente: Callejo, 2002

El sabor y aroma que imparten los aceites esenciales de los conos de lúpulo se pierden en su mayoría por destilación, por esta razón algunos cerveceros fraccionan la adición de lúpulo (Callejo, 2002).



Figura 9. Conos de lúpulo

Fuente: http://farm2.static.flickr.com/1418/1438235253_5b10c24732.jpg Septiembre 2010



2.5 Elaboración de cerveza

La elaboración de cerveza conlleva una serie de pasos los cuales se mencionan a continuación.

2.5.1 Producción del mosto

Molienda

El macerado es el proceso de mezcla de la molienda de malta con agua caliente (Callejo, 2002). Para comenzar, la malta se muele para poder extraer los materiales solubles, (Salinas, 1993). Fundamentalmente, cuanto más extensa es la molienda, el potencial de extracción de material aumenta, sin embargo, la cáscara es importante como medio de filtrado. Así pues, la molienda debe conseguir moler al máximo el endospermo, pero dejando la cáscara lo más intacta posible (Bamforth, 2005).

Maceración

Es la operación más importante en la producción del mosto su objetivo es solubilizar la mayor cantidad de materias hidrosolubles de la malta (Callejo, 2002) y generar un mosto que contenga todos los ingredientes necesarios para la fermentación (Bamforth, 2005).

El macerado es el primer paso en la degradación del almidón. El almidón presente en los gránulos está altamente ordenado, haciendo difícil su digestión (Bamforth, 2005). El proceso de extracción, consta de dos partes; la sacarificación, a lo largo de la cual se activan los enzimas de la malta y se continúan los procesos enzimáticos, y la extracción de los compuestos solubles de la malta. Finalmente se realiza la separación del mosto de la malta no extraíble (bagazo) (Varman y Sutherland, 1994). El calentamiento de los gránulos en el caso del almidón (Tabla 4) rompe el orden molecular en un proceso conocido como gelatinización. Una vez las interacciones dentro del almidón son rotas sus moléculas son susceptibles.



Tabla 4. Efecto de la temperatura en la maceración

Temperatura	Efecto
Entre 10 y 35 °C →	Actividad de las enzimas proteolíticas. Continuación de los fenómenos de la germinación (desagregación)
Entre 45 y 52 °C →	Temperatura de peptonización. Zona importante de actividades de proteasas
55 °C →	Temperatura óptima de formación de nitrógeno soluble no coagulable
Entre 53 y 62 °C →	Formación de maltosa muy fácilmente fermentable
Entre 62 y 65 °C →	Formación máxima de maltosa
Entre 65 y 70 °C →	Formación decreciente de maltosa y creciente de dextrinas
70 °C →	Destrucción de proteasas
Entre 70 y 75 °C →	Aumento de la velocidad de sacarificación. Formación de dextrinas y azúcares fermentables en menor proporción
76 °C →	Temperatura límite de sacarificación
Entre 80 y 85 °C →	Formación de dextrinas. Únicamente actividad de licuefacción
Entre 85 y 100 °C →	Gelatinización del almidón por efecto térmico (engrudado)

Fuente: Callejo, 2002

Se requieren varias enzimas para conseguir la completa conversión del almidón a glucosa. La α -amilasa hidroliza enlaces $\alpha(1-4)$ entre amilosa y amilopectina, la β -amilasa también hidroliza enlaces $\alpha(1-4)$ pero del almidón intacto o dextrinas producidas por la α -amilasa por el extremo no reductor cortando unidades de dos glucosas (moléculas de maltosa), por otro lado la dextrinasa límite, ataca los enlaces $\alpha(1-6)$ de las cadenas laterales de amilopectina (Bamforth, 2005). La tabla 5 muestra la temperatura y pH óptimos de las amilasas.

Tabla 5. Acción de temperatura y pH sobre las amilasas

	Temperatura °C		pH	
	Óptima	destrucción	óptima	Destrucción
α -amilasa	72 – 75	80	5.6 – 5.8	---
β -amilasa	62 – 65	70	5	5.7

Fuente: Callejo, 2002

La α -amilasa se forma durante la fase de germinación del grano y dirigirán la ruptura total del almidón hasta su completa sacarificación (Callejo, 2002), mientras que la β -amilasa ya se encuentra presente en el endospermo feculento de la cebada cruda en forma inactiva. Existen inhibidores endógenos en el grano de la dextrinasa



límite, y esto es probablemente el factor principal que determina que el 20% del almidón permanezca en el mosto en forma de dextrinas no fermentables (Bamforth, 2005).

Típicamente un macerado tiene un espesor de tres partes de agua por una parte de malta. Concluido el proceso de maceración, la mezcla se filtra y se separa el mosto o material soluble de la cascarilla (Serna, 2001).

Mosto

El mosto es el líquido azucarado que se extrae de la malta mediante los procesos de molienda, macerado y separación del mosto (Bamforth, 2005). Es una solución compleja y sutilmente equilibrada de carbohidratos fermentables, aminoácidos, fuente de nitrógeno, vitaminas (como el biotín; vitamina B soluble en agua, ácido pantoténico; vitamina B5 hidrosoluble, tiamina; vitamina B1 que ayuda a las levaduras a convertir carbohidratos y el inositol esenciales para el crecimiento de la levadura) y minerales (potasio, sulfuro, fosfato que está implicado en el crecimiento de la levadura, calcio que mejora las características de la floculación de la levadura, magnesio que se necesita para el crecimiento de la levadura y actúa como activador de la enzima), que sirven como sustrato para el crecimiento de la levadura, la producción de etanol y como una fuente de precursores del aroma y del sabor (Varman y Sutherland, 1994).

Con la cocción del mosto dulce se cubren siete objetivos tecnológicos; evaporación del exceso de agua (concentración), ebullición que permite el ajuste de la densidad y suele durar de 30 a 90 minutos (Callejo, 2002), extracción de los componentes del lúpulo e isomerización de las humulonas, destrucción de los enzimas de la malta, esterilización del mosto, eliminación de los compuestos volátiles indeseables, formación de los compuestos responsables del aroma, del sabor, del color mediante la reacción de Maillard (Varman y Sutherland, 1994) y coagular y precipitar las proteínas y otros compuestos (Frazier y Westhoff, 1993).



Composición

Típicamente la composición aproximada de los azúcares de un mosto sería 45% maltosa (disacárido formado por dos unidades de glucosa con unión en los carbonos 1 y 4, el 1 de una glucosa y el 4 de la otra con fórmula $C_{12}H_{22}O_{11}$), 15% de maltotriosa (tres unidades de glucosa dependiendo del tipo de enlace), las cuales son hidrolizadas enzimáticamente a glucosa dentro de la célula, 10% de glucosa (unidad básica del azúcar), 5% de sacarosa (disacárido compuesto por una glucosa y una fructosa hidrolizado por una enzima llamada invertasa que se encuentra en la pared celular), 2% de fructosa (monosacáridos con la misma forma de la glucosa pero con 5 carbonos) y, con un 23% de dextrinas (4 unidades de glucosa unidas), β -glucanos, pentosas, y oligosacáridos, que al no haber en la levadura enzimas que lo hidrolicen en azúcares más sencillos y por ende sean fermentadas por las levaduras, pasan a formar parte del azúcar no fermentable (Bamforth, 2005).

La mayor parte de las cepas de *S. cerevisiae* transportan y metabolizan primero la sacarosa, glucosa y fructosa (las primeras 24 a 48 horas), comenzando el transporte de maltosa sólo una vez que se ha metabolizado la glucosa (las siguientes 60 a 72 horas). De forma similar, la utilización de la maltotriosa empieza tarde durante la fermentación, cuando se ha consumido la mayor parte de la maltosa (después de las 72 horas). El pH del mosto suele ser de 4.7 a 5.2 y disminuye durante la fermentación hasta 3.8 a 4.0 sobre todo durante el periodo de crecimiento de las levaduras (Doyle y col., 1997).

Las fermentaciones en la elaboración de la cerveza difieren de la mayoría de las otras fermentaciones en que el oxígeno se suministra en un solo momento, normalmente con el mosto inicial. La principal función de la aireación del mosto no es el estímulo del crecimiento de las levaduras como tal, sino favorecer la biosíntesis de los lípidos que requieren para crecer (Varman y Sutherland, 1994). Finalmente se realiza la lupulación en el cual el mosto se deja hervir durante un par de minutos en presencia del lúpulo (Serna, 2001).



2.5.1.1 Lupulación

La lupulación significa introducir aceites esenciales, sustancias amargas típicas de la cerveza, como la humulona, la adhumulona y la cohumulona y taninos, lo que proporciona aroma y diversas cualidades a la cerveza, por otro lado también se agregan resinas (llamadas α -ácidos) durante el hervido cambian (isomerizan) a iso- α -ácidos, que dan amargor a la cerveza. Los aceites son compuestos muy volátiles, y si el lúpulo se añade a los inicios del hervido, entonces todo el aroma escapara en el vapor. Por esta razón una parte del lúpulo se añade al final del hervido, permitiendo que los aceites permanezcan en el mosto. A éste proceso se le llama lupulización tardía (Bamforth, 2005). Otras características de la lupulación, es, precipitar proteínas remanentes y esterilizar el líquido (Salinas, 1993). Una de las finalidades de agregar y hervir el lúpulo es aportar sustancias antisépticas (principalmente las α -resinas), éstas resinas son eficaces frente a las bacterias gram positivas (Frazier y Westhoff, 1993).

La composición típica del mosto cervecero, una vez que se ha macerado y se ha agregado el lúpulo, se detalla en la tabla 6 (Serna, 2001).

Tabla 6. Composición del mosto después del proceso de maceración y filtración

Componente	Cantidad (g/100ml de mosto)
Azúcares fermentables	7.87
Fructosa	0.21
Glucosa	0.91
Sacarosa	0.23
Maltosa	5.24
Maltotriosa	1.28
Maltotetriosa	0.26
Oligosacaridos	2.13
Dextrinas totales	2.39
Azúcares totales	10.26
Azúcares (% de extracto real)	91.10
pH del mosto; 5.4	

Fuente: Serna 2001



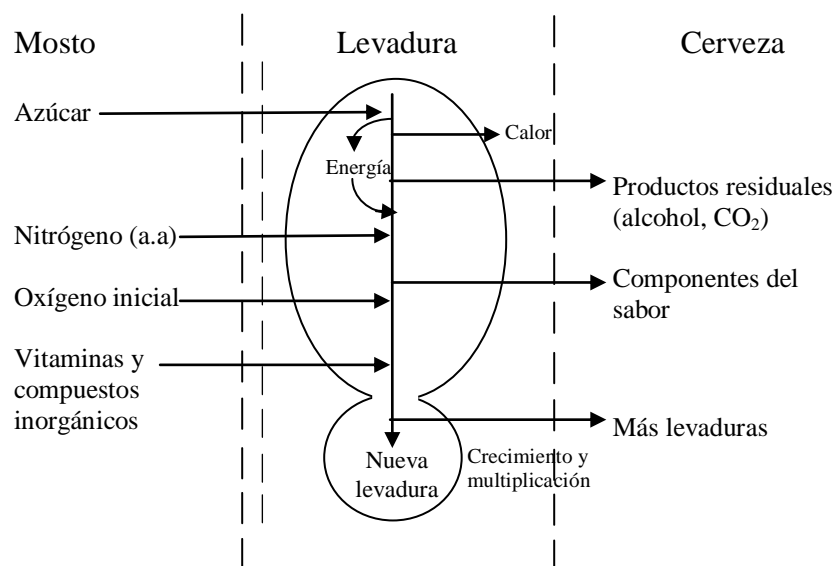
Después de la ebullición, se separa el lúpulo o de lo contrario la cerveza tendrá un sabor muy amargo y persistente, se enfría y se siembra la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, el mosto se inocula con 1.5 – 2.5 g de levadura/L (Serna, 2001), de esta forma se comienza la fermentación transformándose el azúcar en alcohol y CO₂ (Salinas, 1993).

2.5.2 Fermentación

Durante esta etapa las levaduras se multiplican 5 veces o más, produciendo entre ellos alcoholes diferentes al etílico como son amílico, isoamílico y el feniletílico en concentración de mg/L (Salinas, 1993).

Las levaduras usan azúcares del mosto en su crecimiento y multiplicación, mientras existe oxígeno en el mosto, la levadura crece y se multiplica. Cuando se acaba el oxígeno es cuando comienza la producción de alcohol y CO₂ (Madrid, 1994), transformando así el mosto en cerveza, como se observa en el diagrama 1.

Diagrama 1. Principales eventos bioquímicos durante la fermentación de la cerveza.



Fuente; Lewis 1995

Durante la fermentación principal, la cerveza atraviesa diferentes etapas que pueden ser identificadas por su apariencia (tabla 7. Etapas de la fermentación) (Callejo, 2002). Conforme el dióxido de carbono se desprende en mayor cantidad,



aumenta la formación de espuma, posteriormente cuando la fermentación ha terminado, la formación de espuma disminuye hasta desaparecer (Frazier y Westhoff, 1993).

Tabla 7. Etapas de la fermentación

ETAPA	APARIENCIA DE LA CUBIERTA
Inicial; bajo kräusen	La cerveza verde comienza a cubrirse por una fina cubierta de burbujas blancas. La fermentación ha comenzado
Medio kräusen	La fina espuma se hace más espesa y tiene remates marrones. La cubierta se hace uniforme y de color crema
Alto kräusen	La fermentación está en su etapa más intensa. Las crestas de la espuma se hacen más altas y las burbujas más grandes
Caída del kräusen	La fermentación ha encontrado una etapa menos vigorosa y las altas crestas van colapsando lentamente ya que no se adicione CO ₂ . La espuma se oscurece
Sedimentación	Finalmente, se reduce la espuma dejando una cubierta delgada y parda con sabor amargo, compuesta por resinas del lúpulo y proteínas

Fuente: Callejo, 2002

El desarrollo de la fermentación depende de las propiedades de la cepa de levadura elegida, de su estado fisiológico (elevada viabilidad), de las condiciones de siembra, aireación del mosto, tamaño del tanque de fermentación, temperatura de fermentación (Bourgeois y Larpent, 1989) y de la dosis (se refiere a millones de células por mL). En general la dosis media de levadura inyectada se aproxima a 20 millones de células/mL, aproximadamente 0.6 a 0.7 L de levadura/hL d mosto (Callejo, 2002).

2.5.2.1 Fases de la fermentación

Por otro lado, la fermentación se desarrolla en varias fases, a lo largo de las cuales se llevan a cabo diferentes procesos.

Fase de latencia

En esta fase, la levadura no se multiplica, si bien permanece activa; el oxígeno se limita y se agota rápidamente, la absorción de aminoácidos y péptidos comienza, las sales minerales se absorben y el pH desciende.

Todo esto tiene lugar sin que comience apreciablemente la fermentación, ni el crecimiento. Una buena aireación del mosto en la siembra reduce ésta fase.



Fase de crecimiento (fermentación)

El número de divisiones es muy reducido en cervecería, debido posiblemente a la baja tasa de sustancias nitrogenadas asimilables en relación al inóculo, a lo largo de ésta fase la fermentación se activa, la absorción de los aminoácidos continúa y el pH sigue descendiendo.

El inóculo se multiplica por un factor de 4-5, equivale a que cada una de las células se divide de 2 a 3 veces por gemación (Callejo, 2002).

Fase de fermentación sin crecimiento

La multiplicación cesa, pero la masa celular continúa creciendo debido a la acumulación de glucógeno. Los aminoácidos están prácticamente agotados, el pH se estabiliza, ésteres y alcoholes superiores aparecen al mismo tiempo que los azúcares se agotan lentamente degradados por la fermentación.

Fase de floculación

Al final de la fermentación se produce un fenómeno poco conocido, la floculación; las levaduras se agrupan en agregados y sedimentan.

La temperatura óptima de crecimiento de las levaduras es a 20°C y no hay duda de que una elevación de la temperatura acelera el crecimiento y la fermentación (Bourgeois y Larpent, 1989).

La producción de etanol, el principal producto de la fermentación, conlleva la formación en aerobiosis de piruvato a través de la ruta metabólica de Embden-Meyerhof y la descarboxilación del piruvato en anaerobiosis para rendir acetaldehído. Finalmente el acetaldehído se reduce a etanol con la consiguiente oxidación del NADH (Diagrama 3). De igual modo, se forma en menores cantidades CO₂ y glicerol, también se pueden formar cantidades significativas de ácido acético por acción de la piruvato descarboxilasa (Varman y Sutherland, 1994).

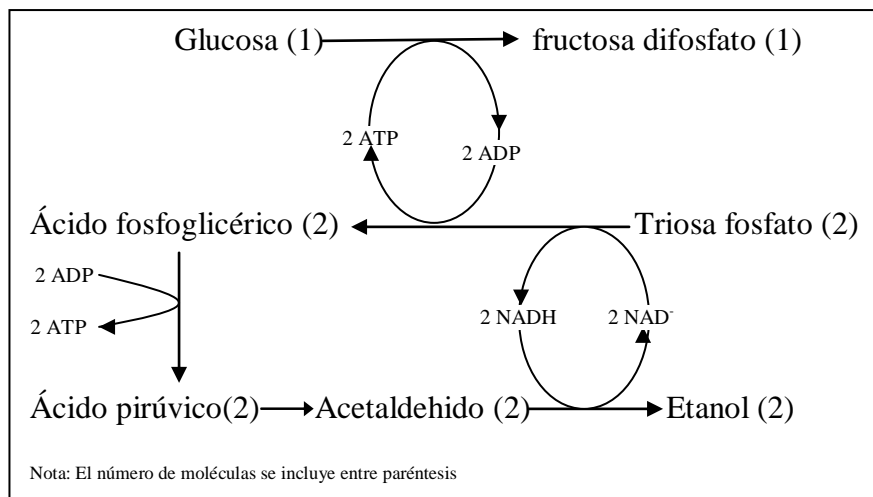
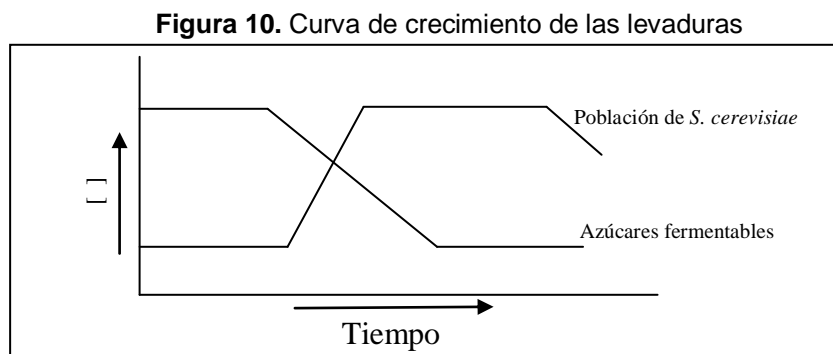


Diagrama 2. Vía metabólica simplificada de la fermentación alcohólica.
Fuente: Varman y Sutherland, 1994

Las fermentaciones cerveceras transcurren siguiendo las fases de latencia logarítmica y estacionaria de la curva de crecimiento de las levaduras, como se indica en la figura 10, (Doyle y col., 1997).



Fuente: Doyle y col., 1997

2.5.2.2 Tipos de fermentación

El tipo de fermentación depende de la levadura que se va a utilizar (ver apartado de levaduras 2.4.3)

2.5.3 Maduración o fermentación secundaria

Se refiere a las transformaciones que tienen lugar entre el final de la fermentación y el envasado, los objetivos son; clarificación, decantar las materias en



suspensión, partículas amorfas, complejos tanino-proteína y levaduras muertas (Callejo, 2002). La cerveza joven o verde se guarda, a temperaturas próximas de 0°C durante un periodo que oscila desde varias semanas a varios meses, tiempo en el cual la cerveza se vuelve transparente y se convierte en una cerveza madura (Frazier y Westhoff, 1993). Sin embargo, la cerveza no está lista aun para su consumo o comercialización, requiere ciertos tratamientos antes de ser expendida.

Las principales etapas posfermentación son: carbonatación (se aplica gas carbonatado o anhídrido carbónico directamente a la cerveza) (Callejo, 2002), modificación final de sabor (en algunos casos se adicionan adjuntos, que son pequeñas cantidades de jarabes y de extractos de lúpulo), clarificación (remoción de levadura por centrifugación o filtración por filtros de celulosa, carbón activado y/o tierra de diatomeas) y pasteurización que puede ser antes o después de ser envasada. Finalmente se realiza la maduración organoléptica.

La levadura es recuperada generalmente por centrifugación, lavada y reutilizada para fermentar nuevos lotes de mosto (Serna, 2001).

2.5.4 Adjuntos

En muchos países solo se permite utilizar los ingredientes antes mencionados (cebada, lúpulo, agua y levadura), pero también se le puede adicionar otras fuentes de carbohidratos fermentables (adjuntos) que reemplazan en parte a la cebada malteada. Los adjuntos utilizados pueden ser de dos clases; azúcares y jarabes de azúcares, y materias ricas en almidón. El azúcar de caña y el de remolacha se utilizan mucho menos que la glucosa y otros jarabes obtenidos del almidón de maíz por hidrólisis enzimática. Los adjuntos ricos en almidón son típicamente cereales sin maltear (Varman y Sutherland, 1994).

Los adjuntos líquidos (azúcares, jarabes) se añaden durante la fase de hervido del mosto. Los adjuntos sólidos pueden ser de otros cereales además de cebada como: trigo, maíz arroz, centeno y sorgo. Un aspecto clave de los adjuntos sólidos es la temperatura de gelatinización del almidón (tabla8).



Tabla 8. Temperaturas de gelatinización de los diferentes cereales

Fuente	Tem. de gelatinización °C
Cebada	61-62
Maíz	70-80
Avena	55-60
Arroz	70-80
Centeno	60-65
Sorgo	70-80
Trigo	52-54

Fuente: Bamforth, 2003

2.5.5 Envasado

El envasado de la cerveza se realiza en botellas, botes, cubas o barriles, generalmente se pasteuriza. Gracias al envasado, la cerveza llega al hogar con las mayores garantías de conservación, sabor y cuerpo, concluida la pasteurización se etiquetan las botellas para pasar al embalaje y almacenado y quedar lista para su salida al mercado (Serna, 2001).

2.6 La cerveza

Legalmente la cerveza, puede definirse como una bebida malteada resultante de la fermentación alcohólica del extracto acuoso de cebada malteada aromatizada con lúpulo con o sin otros granos de cereal (Lee, 1996). Por otro lado el término “beer” (en inglés cerveza) proviene de la palabra Latina *Bibere* (beber), es una bebida con una historia muy remota cuyo proceso se ha mantenido intacto durante centenarios.

Comparado con otras bebidas alcohólicas, la cerveza es de relativamente bajo contenido en alcohol. La graduación media más alta (el índice de porcentaje de alcohol por volumen indica los mililitros de etanol por 100ml de cerveza) es de 5.1% y la más baja del 3.0% (Bamforth, 2005).

La cerveza debe sus propiedades estimulantes y embriagadoras al etanol; las aromáticas al lúpulo, productos del tostado y a las numerosas sustancias aromáticas formados en la fermentación; su valor alimenticio al nada despreciable contenido de



sustancias secas sin fermentar (Carbohidratos y proteínas), y por último su acción refrescante al dióxido de carbono (Belitz y Grosch, 1997).

2.6.1 Tipos de cerveza

Aunque en el mercado podemos encontrar una enorme variedad de cervezas, con diferente grado alcohólico, sabor, color, etc., la mayoría de ellas se pueden incluir en uno de los siguientes grupos básicos: (Varman y Sutherland, 1994).

1. Cerveza lager, de origen alemán. la palabra “lager” significa almacén y aplicado a la cerveza indica que se le da un periodo de madurado en depósitos a baja temperatura para que se abrillante.
2. Cerveza ale, de origen inglés, ligera, con un aroma bastante fuerte a lúpulo.
3. Cerveza Porter; oscura, más dulce que las otras.
4. Cerveza Stout, aún más oscura y dulce que la anterior, con un gusto a azúcar quemada (Madrid, 1994).

2.6.2 Producción y consumo de cerveza

El consumo de cerveza en el mundo es bastante amplio en la Tabla 9, se mencionan datos referentes a la producción y consumo de cerveza a nivel mundial, siendo los Estados Unidos el mayor productor, teniendo un volumen de venta superior a los 20000 millones de dólares anuales.

Alemania es también uno de los mayores productores. En términos de consumo per cápita en 1990, Alemania ocupa el primer lugar con 288.6 L por persona al año, la mayoría de los países con consumos elevados son europeos. México ocupa el tercer lugar en el continente americano en producción de cerveza solo después de Estados Unidos y Brasil (Lee, 1996).



Tabla 9. Producción y consumo de cerveza (1990)

País	Producción (x1.000 hL)	Consumo (L/habitante)
EEUU	238,997	91
Alemania	104,271	289
Reino Unido	59,653	110
Brasil	58,000	-
URSS	50,000	32
México	39,743	22
Francia	21,398	42
Canadá	22,565	81
Italia	11,067	23
Venezuela	11,000	64

Fuente: Lee, 1996

2.6.3 Composición de la cerveza

Los constituyentes de la cerveza se clasifican en dos grupos, componentes volátiles y componentes no volátiles. Los primeros tienen una alta presión de vapor y son los responsables del aroma y “bouquet” de la cerveza y se forman fundamentalmente en la etapa de fermentación.

Componentes volátiles

Se encuentran concentrados en el espacio de cabeza de los envases de cerveza y están compuestos por alcoholes, ésteres, aldehídos, cetonas, ácidos orgánicos, compuestos azufrados, aminas, compuestos fenólicos volátiles, y algunos hidrocarburos y lactonas (Sendra y Carbonell, 1999).

Componentes no volátiles

Forman un conjunto más heterogéneo ya que incluye, compuestos inorgánicos (influyen sobre el sabor de la cerveza), hidratos de carbono (dan “cuerpo” a la cerveza), componentes nitrogenados (los cuales pueden afectar al aroma y sabor, color y estabilidad de la espuma), alcohol etílico, vitaminas (pequeñas cantidades de vitaminas del grupo B) y otros compuestos como son pequeñas proporciones de lípidos, procedentes de la malta, y lúpulo, así como resultantes del metabolismo de la levadura en el proceso de fermentación (Sendra y Carbonell, 1999).



La espuma

Una diferencia entre la cerveza y otras bebidas alcohólicas es la presencia de una espuma estable. Ésta se debe a la presencia de polipéptidos hidrofóbicos, derivados del cereal que se entrecruzan con las burbujas y contrarrestan las fuerzas de tensión de superficie que tienden a hacer colapsar la espuma (Bamforth, 2005).

2.6.4 Microorganismos alteradores de la cerveza

La cerveza es una bebida esencialmente segura desde un punto de vista sanitario. Como ya se mencionó, utiliza materias primas muy sencillas y fácilmente controlables (Varnamy, 1994). Sin embargo su producción conlleva un cierto riesgo de contaminación microbiana en todas las etapas del proceso. En la cebada, los contaminantes más importantes son los mohos, sin embargo rara vez son un problema. (Doyle y col., 1997).

Durante la ebullición del mosto de cerveza y el lúpulo se proporciona el suficiente calor para destruir todas las esporas bacterianas excepto las más termorresistentes, como son las de algunas especies de *Bacillus* o de *Clostridium*, mientras que la acción combinada del calor y de las sustancias antisépticas que contiene el lúpulo pueden destruir la mayoría de ellas e inhibir la gemación de las supervivientes. En cuanto al cultivo iniciador de levaduras que se utiliza como inóculo, éste debe ser puro y, por lo tanto no debe aportar microorganismos contaminantes (Frazier y Westhoff, 1993).

El alcohol producido durante la fermentación y el bajo pH reducen el riesgo de posibles contaminaciones microbianas (Varnamy, 1994), así mismo la baja temperatura en la cual se guarda en el periodo de almacén ayuda a la conservación de la cerveza (Frazier y Westhoff, 1993).

Aún así a pesar de todos los motivos citados por los cuales la cerveza debe estar exenta de microorganismos capaces de alterarla, ya que está expuesta no sólo a defectos por causas físicas y químicas si no también a defectos producidos por ciertos microorganismos, de los cuales algunos de ellos pueden ser los siguientes (Frazier y Westhoff, 1993);



Bacterias ácido acéticas (*Acetobacteraceae*)

Las bacterias ácido acéticas comprenden dos géneros principales, *Acetobacter* y *Gluconobacter*. Ambas producen acidez o avinagramiento debido a la oxidación del etanol a ácido acético, aunque *Acetobacter* puede además, oxidar el ácido acético a CO₂ y H₂O (Milman y col., 2004).

***Enterobacteriaceae*, (gram negativas)**

Los miembros de la familia *enterobacteriaceae* se pueden aislar del mosto en cantidades notables. A estas bacterias se les llama “bacterias del mosto” y normalmente sólo sobreviven durante las etapas iniciales de la fermentación. El crecimiento de *enterobacteriaceae* en el mosto puede producir diversos malos sabores y aromas, como los fenólicos (Varman y Sutherland, 1994).

Bacterias ácido lácticas (gram positivas)

Representantes de los géneros *Lactobscillus* (las cuales presentan forma de bastoncillos) y *Pediococcus* (generalmente son esféricas), son capaces de provocar turbidez y defectos de conservación provocados por bacterias del genero *Zymonas* (Bourgeois y Larpent, 1989). Éste tipo de bacterias son comunes y las más corrientes durante la fermentación (Varman y Sutherland, 1994). Las bacterias ácido lácticas representan una contaminación grave de la cerveza y producen cantidades importantes de productos indeseables, entre los que se halla el precursor del diacetilo, responsable del aroma y bouquet a mantequilla (Schaufler, 2006).

Por otro lado la cerveza puede presentar turbiedad debido a las proteínas inestables, a los complejos que forman las proteínas con el tanino, al almidón y a las resinas. También presenta sabores anómalos producidos por ingredientes en malas condiciones o por el contacto con metales y por condiciones físicas no apropiadas (Frazier y Westhoff, 1993).





3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar la factibilidad para elaborar cerveza a partir de la malta caramelo.

3.2 Objetivos específicos

- ④ Evaluar la calidad de la malta caramelo producida.
- ④ Determinar las temperaturas y tiempos óptimos a partir de malta caramelo y valorar la concentración de agua: malta caramelo, óptima para la elaboración del mosto.
- ④ Evaluar el contenido de azúcares reductores y azúcares totales del mosto obtenido a partir de la malta caramelo.
- ④ Determinar la proporción de mosto caramelo y mosto claro para obtener una concentración de azúcares fermentables ideal al elaborar cerveza.
- ④ Obtener las cinéticas de crecimiento de la levadura que se utilizará en la fermentación (*Saccharomyces cerevisiae*).
- ④ Llevar a cabo la fermentación del mosto elaborado con las mezclas a 6 L y realizar pruebas al producto (azúcares reductores, azúcares totales, densidad óptica y concentración de etanol).



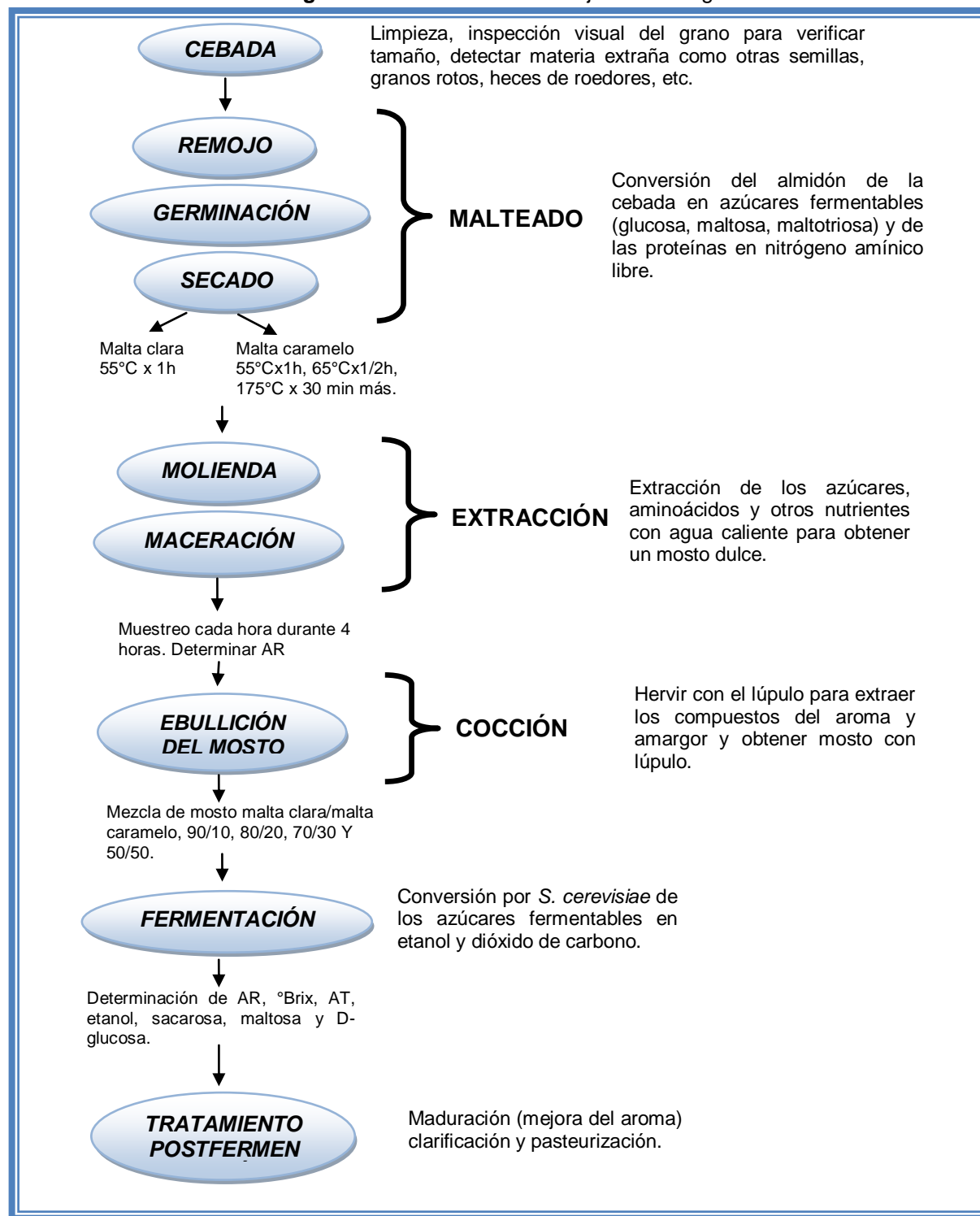
Material y métodos



4. MATERIAL Y MÉTODOS

En el diagrama 3. Se presenta un esquema general del desarrollo de éste trabajo de investigación.

Diagrama 3. Desarrollo del trabajo de investigación





4.1 Materia prima

Para la elaboración de la cerveza, se utilizó malta de la variedad Esperanza 2007, procedente del Bajío, la cual cumple con la norma NMX-FF-043-SCFI-2003, que establece los parámetros que debe cumplir la cebada para ser considerada cebada maltera. El inóculo empleado fue la levadura del género *Saccharomyces cerevisiae* (Nottingham®), la cual se inoculó a una concentración de 2 g/L. Se utilizó agua potable, lúpulo perteneciente a la variedad Rohhopfen Hops Hallertau Hersbrucker, en forma de hojas (1.5 g/L).

4.2 Análisis físico de la cebada

Dicho análisis se basa en el cumplimiento de la norma NMX-FF-043-SCFI-2003. Analizando el aspecto sensorial y temperatura, impureza y sanidad y por último el análisis selectivo (granos dañados y granos rotos). El análisis físico en los granos de cebada es necesario debido a que con ellos se determina su potencial y el comportamiento que tendrá durante su proceso industrial.

4.3 Proceso de malteado

Limpieza

La cebada se introdujo en una cubeta con agua limpia de la llave y se removió manualmente, con la finalidad de eliminar tierra, paja y hojas. Éste procedimiento se realizó en tres ocasiones.

Remojo

Esta etapa se llevó a cabo con el método tradicional (MT) reportado Ruíz, 2006.

Germinación

Finalizada la etapa de remojo, se retiró el exceso de agua contenida en los recipientes herméticos y la cebada húmeda se traspasó a un recipiente de plástico de forma rectangular con tapadera, formando una delgada capa para evitar entrecruzamientos de raicillas (figura 11), es importante mencionar que durante las 48 horas de la etapa de germinación la cebada se removió constantemente con una



pala de madera, para permitir la oxigenación del grano. La germinación se llevó a cabo a temperatura ambiente (19-20°C). Se considera que la germinación finaliza cuando la raíz ha alcanzado 1.5 veces el tamaño del grano. Se presenta también un considerable aumento de la actividad respiratoria del grano, proceso en el que el almidón o sus derivados se convierten en gas carbónico y agua (Kent, 1971).



Figura 11. Germinación

Secado

Para elaborar una cerveza a base de malta caramelo fue necesario obtener como primer paso malta clara y posteriormente malta caramelo (figura 12).

- ⦿ Malta clara: la cebada se sometió a 55 °C durante 58 h en una estufa para secado con recirculación de aire (FISHER SCIENTIFIC®).
- ⦿ Malta caramelo: De las maltas claras, se obtuvieron las maltas caramelo, sometiendo las muestras a una temperatura de 65°C por 1 h. Posteriormente se aumentó la temperatura a 77 °C por 30 min, transcurrido este tiempo se aumentó la temperatura del horno a 175 °C y se mantuvo durante 30 min.



Figura 12. Secado

Molienda y eliminación de raicillas

Las raíces originadas durante la germinación se eliminaron durante la molienda de la misma, aunque no se cuantificó el peso de raicillas eliminadas. Se realizó una molienda seca con un molino manual (figura 13), de manera que no hubiese una fragmentación excesiva de la cascarilla del grano, ya que éste sirve como medio filtrante al realizar el mosto.



Figura 13. Molino manual



4.4 Elaboración de mostos

La malta molida se mezcló con agua a una temperatura (ver tablas de mostos) cuidadosamente controlada, para la extracción e hidrólisis enzimática del almidón y otros componentes tales como, proteínas y β -glucanos (Linko y col, 1998).

Se realizaron diferentes métodos de elaboración del mosto a diversas concentraciones de agua: malta y a diferentes temperaturas, para saber en cual de ellos se obtenía un mejor rendimiento y una mayor cantidad de azúcares fermentables. El mosto se obtuvo utilizando parrillas simultáneas y vasos de precipitado de 4 L, así como termómetros y frascos de vidrio con tapa para guardar las muestras (figura 14). Es importante mencionar que a todos los mostos elaborados se les tomó 1 muestra por triplicado de 1 mL en el tiempo cero, a los 30, 60, 120, 180 y 240 min. Los diferentes mostos realizados se describen a continuación (todos los mostos se realizaron al menos por triplicado);



Figura 14. Elaboración de mosto

MOSTO 1 (relación malta:agua; 1:3)

Condiciones del mosto (el volumen no se mantuvo constante).				
Temperatura constante °C	Tiempo (h)	Volumen de Agua (mL)	% de malta clara (g)	% de malta caramelo (g)
50	4	225	-	67.5
60	4	225	-	67.5
70	4	225	-	67.5



MOSTO 2 (relación malta:agua; 1:3)

Condiciones del mosto (el volumen no se mantuvo constante).				
Temperatura gradual °C	Tiempo (h)	Volumen de Agua (mL)	% de malta clara (g)	% de malta caramelo (g)
50	2	225	-	67.5
60	1	-	-	-
70	1	-	-	-

MOSTO 3 (relación malta:agua; 1:7)

Condiciones del mosto (volumen constante).				
Temperatura constante °C	Tiempo (h)	Volumen de Agua (mL)	% de malta clara (g)	% de malta caramelo (g)
50	4	350	-	50
60	4	350	-	50
70	4	350	-	50

MOSTO 4 (relación malta:agua; 1:5)

Condiciones del mosto (volumen constante).				
Temperatura constante °C	Tiempo (h)	Volumen de Agua (mL)	% de malta clara (g)	% de malta caramelo (g)
50	4	250	-	50
60	4	250	-	50
70	4	250	-	50

MOSTO 5 (relación malta:agua; 1:7)

Condiciones del mosto (volumen constante).				
Temperatura constante °C	Tiempo (h)	Volumen de Agua (mL)	% de malta clara (g)	% de malta caramelo (g)
60	4	350	50	-

Una vez que se realizaron los 5 diferentes mostos con sus respectivas variantes, se analizaron los resultados de azúcares totales (AT), azúcares reductores



(AR) y grados brix ($^{\circ}$ Brix), para elegir el mosto que presentara las mejores condiciones para la levadura en el momento de fermentar.

El mosto se filtró con gasa estéril y se realizaron combinaciones de ellos para realizar la fermentación y elegir el que presentara, un porcentaje aceptable de etanol. Las mezclas se muestran a continuación.

MOSTO 6 (combinación de mosto 4 a 50 $^{\circ}$ C más mosto 5)

Mezcla	Volumen (ml)	% de malta clara a 60 $^{\circ}$ C relación 1:7	% de malta caramelo a 50 $^{\circ}$ C relación 1:5
1	100	90	10
2	100	80	20
3	100	70	30
4	100	50	50

La figura 15, muestra el mosto elaborado con malta clara y el mosto elaborado con malta caramelo antes de realizar la mezcla.

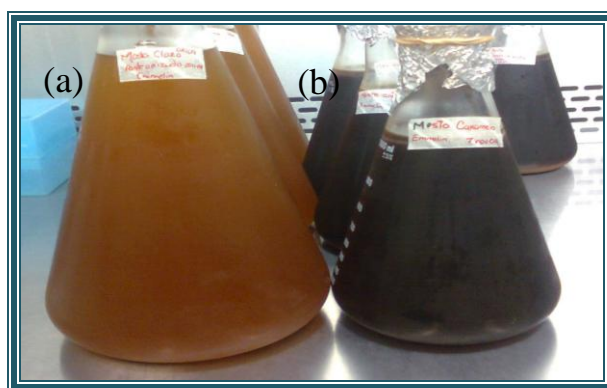


Figura 15. (a) Mosto malta clara, (b) Mosto malta caramelo

4.4.1 Análisis de calidad de los mostos

Con la finalidad de evaluar la calidad del mosto, se realizó una serie de análisis fisicoquímicos como determinación de azúcares fermentables, azúcares totales, grados brix, entre otros. Todas las determinaciones en mosto se realizaron al menos por triplicado.



4.4.1.1 Preparación de muestras

Para realizar los análisis mencionados en el apartado anterior (4.4.1), se hicieron diversas diluciones a las muestras como se observa en la tabla 10.

Tabla 10. Diluciones de las muestras

DILUCIÓN	PREPARACIÓN
1/10	100 μ L de muestra + 900 μ L de agua destilada
1/100	100 μ L de la dilución 1/10 + 900 μ L de agua destilada
1/200	500 μ L de la dilución 1/100 + 500 μ L de agua destilada
1/500	200 μ L de la dilución 1/100 + 800 μ L de agua destilada
1/1000	100 μ L de dilución 1/100 + 900 μ L de agua destilada

4.4.1.2 Azúcares reductores o fermentables

La determinación de la cantidad de azúcares reductores (AR), se llevó a cabo por el método del ácido 3,5-dinitro-salicílico (DNS) (Miller, 1959).

4.4.1.3 Azúcares totales

Para determinar la cantidad de azúcares totales (AT), se utilizó el método del fenol (Dubois y col., 1956).

4.4.1.4 Grados Brix

Se colocó una gota de muestra, en un refractómetro, el cual previamente fue ajustado a cero con agua destilada, de esta forma se leen los °Brix en escala del 0 al 32 (Figura 16).



Figura 16. Refractómetro



4.5 Propagación del inóculo de levadura

Una vez finalizada la mezcla de mostos, se inoculó la levadura para determinar en cual de ellas presentaba mayor crecimiento y de ésta forma, al fermentar, se tuviera el mayor porcentaje de alcohol.

La manera de inocular fue la siguiente:

Todo el material, fue previamente esterilizado en una autoclave (TOMY ES-315) a 121°C durante 15 min. Los matraces en los que se realizaron las mezclas se les puso un tapón de gasa y algodón, cubiertos con aluminio.

El material estéril se dejó enfriar, se realizaron 100 mL de las mezclas del mosto en cada matraz (mosto 6), para evitar contaminaciones se trabajó en campana de flujo laminar (ESCO), y en presencia de un mechero. Los matraces con las mezclas y tapón de gasa y algodón, se sometieron a un tratamiento térmico de 70 °C durante 15 min en un baño maría y se dejó enfriar (figura 17).

Una vez frío y nuevamente de forma estéril, se tomó una muestra de cada mezcla por duplicado, se inocularon 0.2 g de levadura *S. cerevisiae*/100 mL de mosto, en cada matraz con las diferentes mezclas, esta muestra se utilizó como blanco para determinar densidad óptica (D.O.), posteriormente se tomó muestra en el tiempo cero (al momento de inocular) y cada 2 h durante 24 h. Todas las muestras se diluyeron 1:10 y se leyó su absorbancia a 600 nm para determinar la D.O.. Los matraces fueron encubados con agitación constante a 32°C y a 200 rpm, en una incubadora C25-INCUBATOR SHAKER NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC.

Con los datos obtenidos se realizó una cinética de crecimiento de la levadura, para cada mezcla diferente (90/10, 80/20, 70/30 y 50/50), con los resultados de ésta cinética se determinó la fase exponencial de la levadura, momento en el cual se tomó una alícuota y se traspasó al fermentador.



Figura 17. Inoculación de la levadura en las diferentes mezclas de mosto

4.6 Etapa fermentativa

Lupulación

La fermentación se llevó a cabo en un matraz de 1 L, esterilizado y pasteurizado bajo las mismas condiciones que en la inoculación. Las diferentes mezclas de mosto se llevaron a ebullición agregando el lúpulo durante 30 min a una relación de 25 g/19 L de mosto. Añadiendo la mitad al inicio de la ebullición y la siguiente mitad 5 min antes de finalizar la ebullición, se dejó enfriar y posteriormente, se filtró con un paño estéril. El mosto filtrado fue aireado antes de comenzar con la fermentación a 200 rpm durante 30 min (figura 18).



Figura 18. Lupulación



Fermentación

De acuerdo al volumen final del mosto que se obtuvo finalizada la ebullición con el lúpulo, se le agregó el 5 % de inóculo en la fase exponencial de la levadura.

En este momento la fermentación comenzó y se mantuvo en reposo a 20 °C durante las 72 h que duró la fermentación, sólo se agitó cuando se muestreaba cada 12 h (Figura 19).



Figura 19. Fermentación

Finalizada la fermentación de la cerveza se mantuvo en refrigeración a 4°C durante 15 días.

4.6.1 Tratamiento de las muestras de la fermentación

Se tomaron 2 muestras, una de ellas para determinar el crecimiento de la levadura (absorbancia), por lo que se realizó una dilución 1:10 y se leyó a 600 nm tomando como blanco el mosto sin inocular con una dilución igual.

Posteriormente las dos muestras tomadas en cada mezcla se centrifugaron durante 15 min a 14000 rpm y a 4 °C, el sobrenadante se traspaso a otro eppendorf estéril, la biomasa se desechó. En este momento las muestras se trataron por separado de acuerdo a los diferentes análisis a realizar; muestra 1; se utilizó para determinar los diferentes azúcares y etanol, por lo que una vez separado el sobrenadante en la centrifugación, éste se colocó en baño maría durante 10 min a 80



°C, para inactivar enzimas (como la alcohol-desidrogenasa), que puedan estar presentes y afecten la lectura del porcentaje de alcohol producido.

La muestra 2; se utilizó para determinar AT y AR, ésta muestra se separó terminada la centrifugación, conservando el sobrenadante y desechando la biomasa. Ambas muestras se congelaron hasta realizar dichas determinaciones.

Finalizada la fermentación a las 72 h, el líquido se mantuvo en refrigeración durante 48 h a 4 °C, para posteriormente centrifugar todo el líquido en recipientes de plástico estériles y con tapa de rosca a 10000 rpm durante 15 min a 4°C. El sobrenadante se transfirió a frascos de vidrio con tapón, limpios y estériles.

Posteriormente la cerveza se mantuvo en refrigeración a 4 °C durante varios días para permitir su maduración.

4.6.2. Determinación de alcohol

Este método se llevo a cabo en base al método 9.2. Ethanol de la EBC, 2003. La cantidad de etanol presente en la muestra se determinó mediante método enzimático, utilizando el kit de etanol de Roche®. El etanol es oxidado a acetaldehído por nicotinamida-adenina dinucleótido (NAD⁺), generando acetaldehído, el cual es oxidado cuantitativamente a ácido acético en presencia de la enzima aldehído deshidrogenasa (AL-DH).

4.6.3 Determinación de almidón total

La cantidad de almidón presente en la muestra se determinó mediante el método enzimático utilizando el kit de almidón de Roche®; Boehringer Mannheim/R-Biopharm BioAnálisis Enzimáticos. Método UV: para la determinación de almidón ¹ nativo y parcialmente hidrolizado en productos alimenticios y otros materiales. El almidón es hidrolizado a D-glucosa en presencia de la enzima amyloglucosidasa, por su parte la D-glucosa es fosforilada a D-glucosa-6-fosfato y ADP, la D-glucosa-6-fosfato es oxidada a nicotinamida-adenina dinucleotido fosfato (NADPH). La cual es estequiométricamente a la cantidad de D-glucosa formada por hidrólisis del almidón.



4.6.4 Determinación de maltosa-sacarosa-D-glucosa

Para la determinación de maltosa/sacarosa/D-glucosa, se utilizó un análisis enzimático de Boehringer Mannheim/R-Biopharm BioAnálisis Enzimáticos. Método UV: para la determinación de maltosa, sucrosa y D-glucosa en productos alimenticios y otros materiales.

4.6.5 Análisis estadístico

Todas las determinaciones fueron realizadas al menos por triplicado, a partir de éstas se determinó un promedio y una desviación estándar, utilizando el programa Microsoft Excel para determinar si existían diferencias significativas entre las muestras.





5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 Análisis físico

En este apartado se muestran los resultados obtenidos de los análisis expuestos en el capítulo anterior, así mismo se discuten los resultados más relevantes.

Los resultados promedio del análisis sensorial y temperatura, como parte del análisis físico, fue la ausencia de alteraciones de olor y color anómalos de los granos, esto es una señal de que no existe contaminación por hongos o insectos (Dendy y Dobraszazyk, 2004).

En cuanto a la determinación de temperatura del grano, no mostró una variación mayor a 1°C entre la temperatura del grano y la temperatura ambiente. Por lo que de acuerdo a la norma NMX-FF-043-SCF1-2003 se encuentran dentro de los parámetros normales, ya que no sobrepasa el límite máximo de variación de temperatura de 5°C. Por lo tanto el grano presentó características de un grano seco y sano.

5.2 Malteado

5.2.1 Remojo

El remojo se realizó mediante el método tradicional (MT) durante 24 h, periodo en el cual, Ruíz (2006) asegura la humedad ideal del grano de cebada (40-45%) (EBC, 2003). Durante esta etapa “húmeda”, la cebada se hidrata, se hincha aumentando considerablemente su tamaño y comienza su metabolismo. A lo largo de este periodo el agua se cambió cada 6 h ya que durante éste lapso de tiempo, el agua disuelve componentes de los granos con lo que se torna amarillenta y espumosa, desarrollando un color típico, debido a que la cebada puede contener materiales solubles (tierra) y microorganismos que alteran el proceso de remojo (Dendy y Dobraszazyk, 2001). Por otro lado, al cambiar el agua periódicamente se permite la respiración del embrión y la aleurona. Si el grano es sumergido en exceso dentro del agua, se inhibe el acceso al oxígeno y esto conlleva a una deficiente



germinación. La aireación igualmente elimina el dióxido de carbono y etanol, los cuales son suprimidores de la respiración (Bamforth, 2005).

5.2.2 Germinación

La producción y actividad enzimática del grano de cebada se manifestó con la germinación del grano, lo cual implica un crecimiento de raicillas.

El porcentaje de germinación se relaciona directamente con la viabilidad de germinación del grano de cebada y de acuerdo a la norma NMX-FF-043-SCFI-2003 las muestras con 85% de germinación, son ideales para la elaboración de malta cervecera. En este caso el 95% de la cebada germinó sin ningún problema, obteniendo un tamaño de raicilla del 150% mayor, con respecto al tamaño normal del grano. Cuando el grano alcanza esta longitud, la germinación se detiene, ya que cuando el tamaño de raíz alcanza $\frac{3}{4}$ a 1.5 veces el tamaño del grano, las enzimas ya degradaron el almidón necesario para convertirlo en azúcares fermentables (Figueroa, 1985). Es importante que la raicilla no sobrepase el 150% del tamaño normal del grano ya que la excesiva hidrólisis del almidón determina un excesivo crecimiento del embrión (manifestado por una gran raíz) que proporciona extractos pobres para la cervecería (Hornsey, 2003).

5.2.3 Secado

Después de la fase de germinación, la cebada se sometió a un secado, se elaboró primero una malta clara y finalmente la malta caramelo, esto porque el secado debe comenzar a bajas temperaturas para asegurar la supervivencia de las enzimas sensibles al calor, después se aumenta la temperatura progresivamente produciendo cambios de sabor y color (Bamforth, 2005), ambos se obtienen mediante la reacción de Maillard entre los compuestos aminados, normalmente proteínas y los azúcares reductores, produciendo melanoidinas, las cuales juegan un papel importante en el sabor y el color (Varman y Sutherland, 1994).



Sensorialmente, con el tratamiento de secado se acentuaron colores más oscuros en la malta, así también hubo un cambio de olor notable y las raicillas perdieron humedad, lo que facilitó su eliminación.

5.3 Elaboración de mostos

En este apartado se presentan los principales resultados obtenidos de azúcares reductores, azúcares totales y grados brix para los mostos 1 y 2 elaborados de acuerdo a la metodología expresada en la sección anterior.

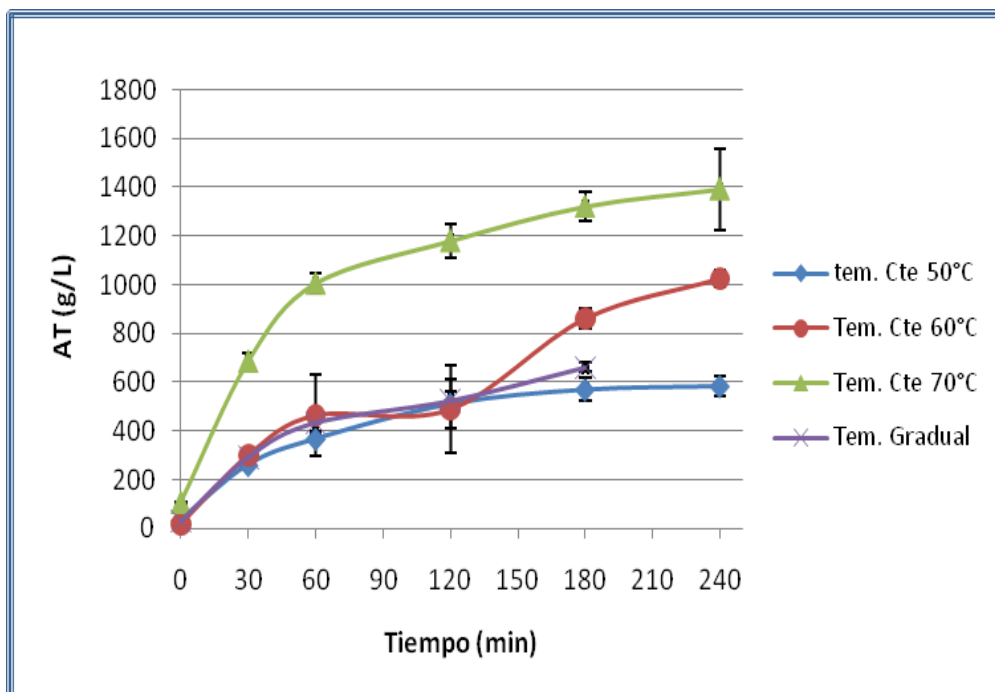
5.3.1 Azúcares totales (AT)

Los azúcares totales son la cantidad total de almidón que será degradando para poder convertirlo en azúcares reductores, los AT obtenidos deben ser altos ya que muestran el porcentaje de almidón degradado en el transcurso de la elaboración del mosto.

En el gráfico 1 se presentan las cinéticas de azúcares totales de los mostos 1 y 2. Los mostos fueron elaborados con la relación 1:3 malta:agua. Para las cinéticas de azúcares totales del mosto 1 se realizaron a tres diferentes temperaturas constantes, como se indica en el gráfico 1: Azul (50°C), Rojo (60°C) y Verde (70°C) durante 4 h. Para evaluar el efecto de la temperatura también se diseñó el mosto 2, el cual tiene la misma relación de malta: agua, pero se realizó con incremento de temperatura cada hora iniciándose con 50°C y terminado a las 3 h con 70°C.



Gráfico 1. Comparación de azúcares totales del mosto 1 y 2



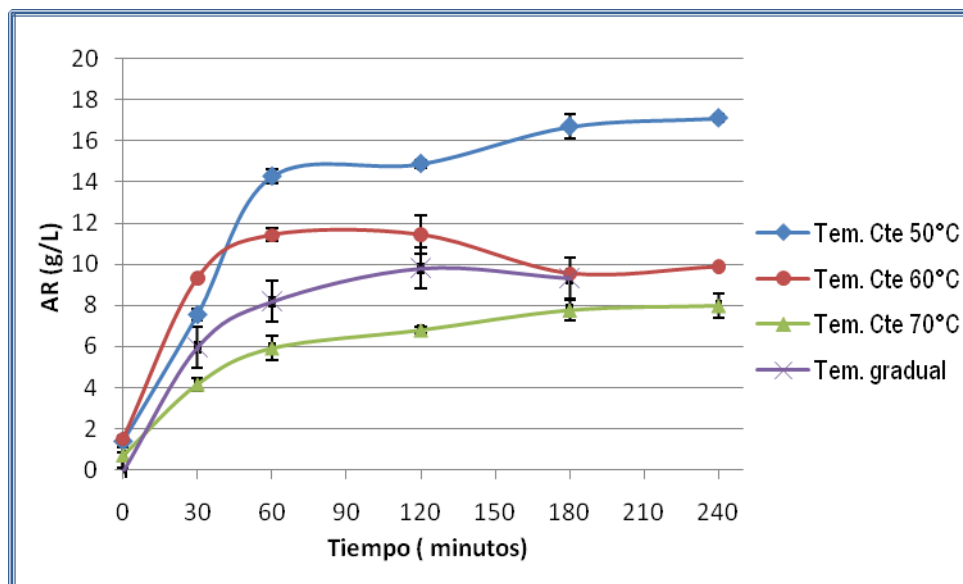
En la gráfica se observa que la mayor cantidad de AT, se obtiene a los 70°C, presentando 1391.87 g/L al finalizar las 4 horas de cocción del mosto. Este valor es justificable ya que la literatura indica que la α -amilasa presenta su temperatura máxima de actividad a 72-75°C (Callejo, 2002); así pues es capaz de un extensivo ataque al almidón hidrolizando enlaces $\alpha(1-4)$ entre amilosa y amilopectina, generando oligosacáridos (compuestos de 4 a más moléculas de maltosa), maltosa y glucosa (Bamforth, 2005). Mientras que la menor cantidad de AT se obtiene a 50°C con 584.64 g/L, una concentración muy similar a la obtenida en el mosto a temperatura gradual que fue de 660.54 g/L al finalizar las 3 horas de cocción.

5.3.2 Azúcares reductores (AR)

Los AR, son los que posteriormente serán utilizados por la levadura en el proceso de fermentación para poder producir alcohol. Estos azúcares se encuentran en mayor cantidad a temperaturas menores a los 70°C, como se observa en el gráfico 2, el efecto de la temperatura y tiempo afectan notablemente el incremento de los azúcares reductores. Para el mosto 2 se observa que al ir incrementado la temperatura se logra extraer los AR más lentamente.



Gráfico 2. Comparación de azúcares reductores de los mostos 1 y 2



Con lo que respecta al mosto 1 de 70°C a temperatura constante, como se muestra en el gráfico 2, tiene el porcentaje más bajo de extracción de AR (7.98 g/L) en cambio a una temperatura de 50°C se obtienen 17.10 g/L de AR. Esto se puede deber a que durante la maceración las enzimas β -amilasas tiene su intervalo óptimo de desdoblamiento a 62-65 °C y estas enzimas hidrolizan las cadenas laterales de la amilopectina y sobre la amilosa actúa llevándola a maltosa y glucosa fundamentalmente (Callejo, 2002).

Es importante remarcar que en este trabajo de investigación se trabajó con maltas caramelo. Esto significa que fueron sometidas a un segundo proceso de secado a temperaturas de 175°C durante 30 min. Las enzimas proteolíticas y amilolíticas son moderadamente termoresistentes y se van inactivando por acción de las temperaturas de secado superiores a los 70°C (Doyle y col, 1997).

Reyes (2008) reportó la cantidad de azúcares reductores para maltas: clara 1.85-3.93 g/L, caramelo 0.91 a 1.91 g/L, chocolate 0.001-0.008 g/L. Estos valores son válidos debido a que durante la maceración es cuando las enzimas actúan liberando los azúcares. En cambio Moctezuma (2008) reportó valores de 30.3 a 87.4 g/L en mostos obtenidos de maltas claras con maceración de 1 h y con diferentes rangos de temperatura de 40 a 86°C.

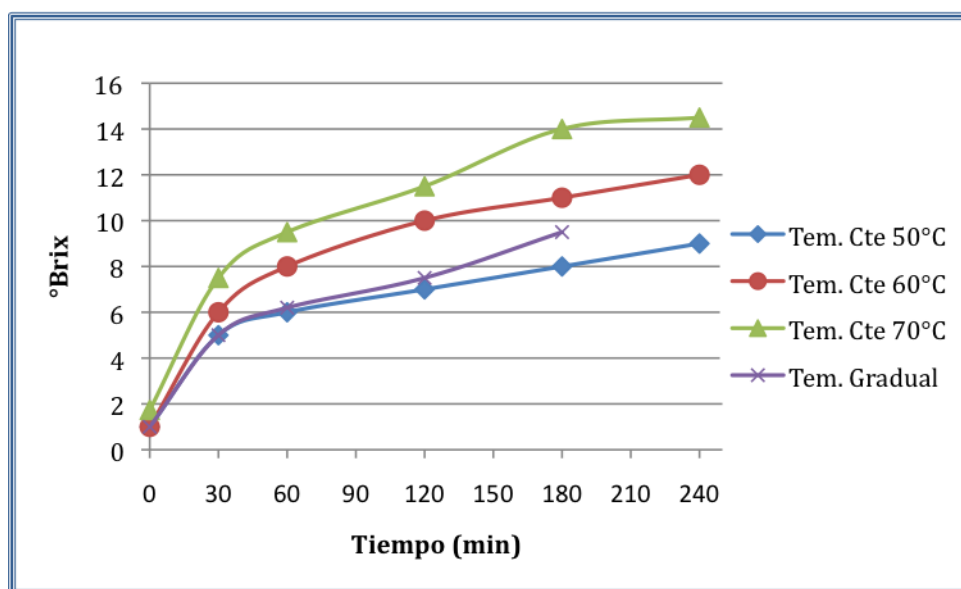


El mosto elaborado a una temperatura constante, presenta la mayor concentración de AR, principalmente a 50°C, teniendo al finalizar las 4 h de cocción una concentración de 17.10 g/L. Por otro lado, el mosto elaborado a una temperatura gradual presenta la más baja concentración de AR teniendo 9.32 g/L, solo por encima del mosto elaborado a 70°C con temperatura constante el cual tiene 7.98 g/L. se puede decir que se espera obtener un mayor crecimiento de la levadura a una temperatura constante, debido a que los AR sirven de sustrato a ésta.

5.3.3 Grados brix

Por otro lado, se midieron los °Brix presentes en el mosto, estos representan la concentración de azúcares en una solución acuosa, dichos grados se calculan en gramos de azúcar (sacarosa) en 100 g de la solución. Los °Brix obtenidos se muestran en el gráfico 3, donde se observa que a 70°C se obtiene mayor concentración de azúcares con 14°, mientras que a los 50°C se obtienen 9° Brix.

Gráfico 3. Comparación de los grados brix del mosto 1 y 2



La cantidad de grados brix obtenida a 70°C, es de esperarse ya que en el gráfico 1, se muestra que a dicha temperatura se obtiene la mayor cantidad de azúcares totales.



Al finalizar los mostos 1 y 2, y analizando sus valores de AR, AT y °Brix, se concluye que se obtienen valores mayores, para la fermentación a una temperatura constante, principalmente a 50°C (con respecto al mosto elaborado a una temperatura gradual), indicando que la temperatura constante hidroliza mejor el almidón que el aumento gradual de temperatura, de esta forma se eliminó la opción de elaborar el mosto a una temperatura gradual.

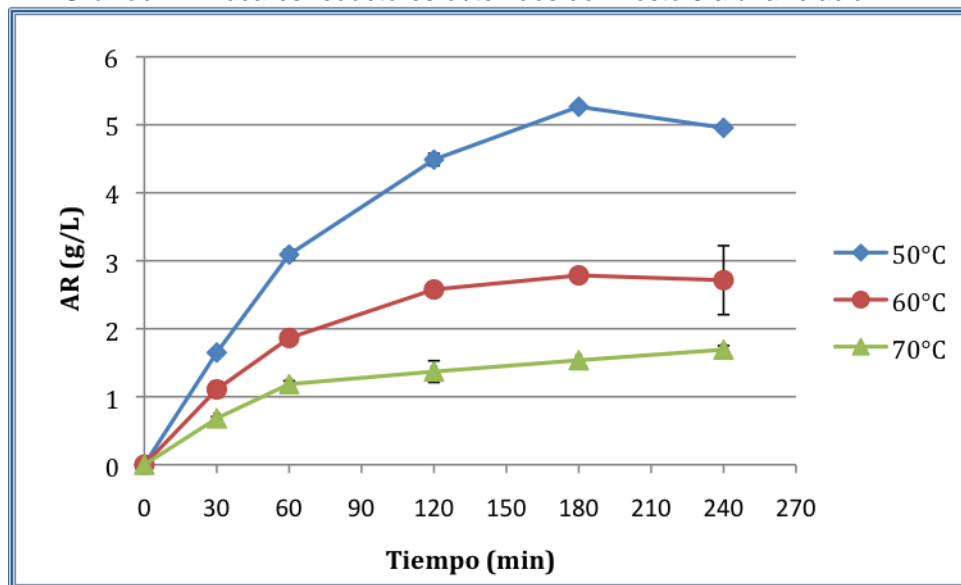
Los mostos 1 y 2, los cuales se elaboraron con una concentración de agua:malta (1:3), se obtuvo poco volumen de mosto final, con respecto al volumen empleado inicialmente, una consistencia muy espesa, además de que se emplea bastante materia prima, esto se debe a que el grano molido se hidrata y absorbe el agua dejando poco volumen.

5.3.4 Elaboración del mosto a una nueva concentración de malta/agua

Típicamente un macerado tiene un espesor de tres partes de agua por una parte de malta (Bamforth, 2005), como se elaboró el mosto 1 y 2. Sin embargo, por razones explicadas en el apartado anterior, se decidió elaborar mosto aumentando la concentración de malta/agua a, 1/5 y 1/7 respectivamente, sólo con temperatura constante, a los cuales se determinaron solamente los AR por su relevancia, ya que la cantidad de carbohidratos fermentables en el mosto en el momento de fermentar, afectan directamente el crecimiento de la levadura y la producción de etanol (Dewar y col., 1997). En el gráfico 4, se muestran los valores de AR obtenidos de un tercer mosto elaborado a una concentración de 1:7 (agua:malta) y a 3 diferentes temperaturas constantes.



Gráfico 4. Azúcares reductores obtenidos del mosto 3 a una relación 1:7



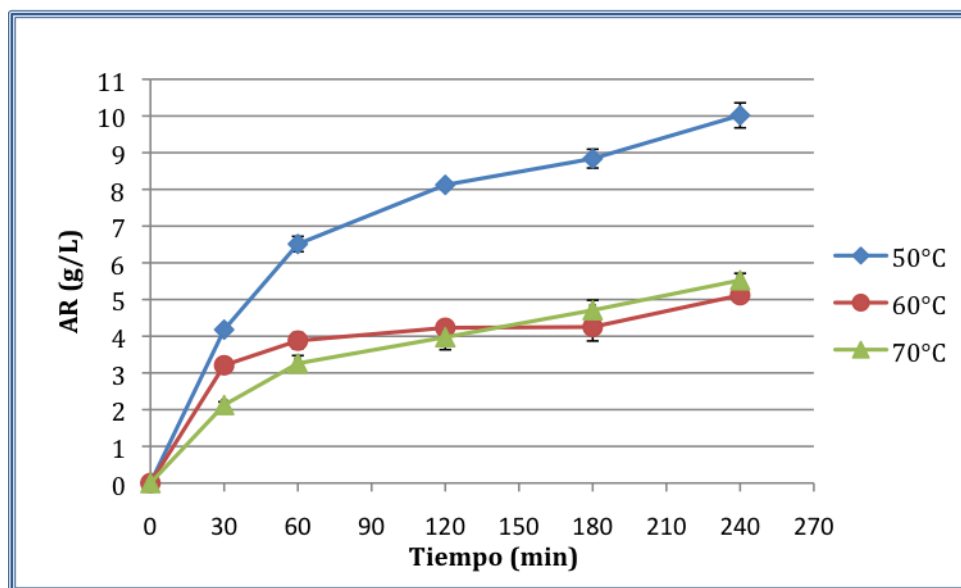
En dicho gráfico (4) se observa que para las tres diferentes temperaturas empleadas la cantidad de AR obtenido es bajo en comparación con el gráfico 1 donde la cantidad de agua era menor, esto debido a que se diluyó la concentración de AR al agregar mayor cantidad de agua. Sin embargo, la tendencia indica que la temperatura de 50 °C, es la óptima para obtener los AR con mayor concentración, obteniendo 4.96 g/L y como concentración más baja a 70 °C con 1.69 g/L.

Observando que en la relación 1:3 (malta:agua), se obtenía poco volumen de mosto final y en la relación 1:7 (malta:agua), la cantidad de azúcares reductores fue muy pobre para obtener un porcentaje de etanol final del 3%, se eligió una relación de malta/agua intermedia.

De esta manera se elaboró el mosto 5 con una relación de 1:5 (malta:agua), con la finalidad de que los AR no se diluyeran tanto, a esta nueva concentración se obtuvo 10.03 g/L de azúcares reductores a 50 °C, mientras que a temperaturas de 60 y 70 °C la cantidad de azúcares reductores obtenida es de 5.12 y 5.53 g/L respectivamente (gráfico 5).



Gráfico 5. Azúcares reductores obtenidos del mosto 4 con relación de 1:5



Por otro lado, el volumen obtenido a esta nueva concentración del mosto 4, es del 80% del volumen inicial. Un porcentaje de mosto viable en cuanto a volumen, en comparación con el mosto 1 y 2 que se obtenía un volumen del 20%.

Los resultados obtenidos en las prueba de maceración (gráfico 2, 4 y 5) a diferentes tiempos y temperaturas (50, 60, 70 °C), nos muestran un aumento en la concentración de azúcares reductores, dando un máximo de concentración en los 50°C en dichas gráficas al llegar a las 4 h debido a que el calentamiento del almidón a una temperatura de 50-65°C, rompe su ordenamiento molecular (proceso conocido como gelatinización) una vez que el almidón se ha roto, las moléculas de almidón son susceptibles a la digestión enzimática (Bamforth, 2005).

Por esta razón la relación de 1:5 a 50°C, es la que se eligió para realizar posteriores maceraciones de malta caramelo.

5.3.5 Elaboración del mosto a partir de malta clara

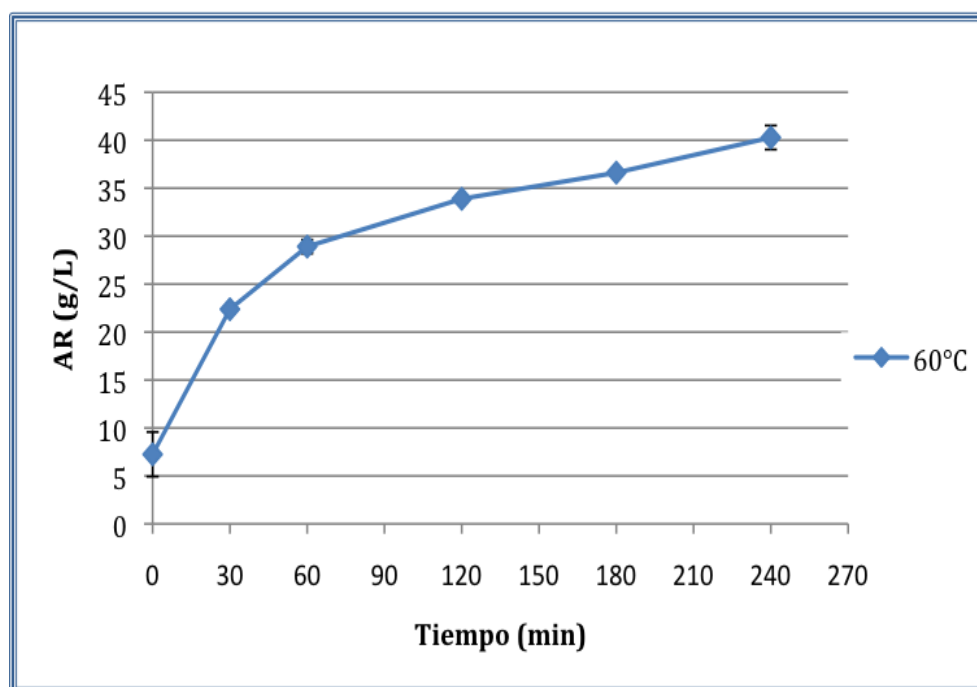
Teniendo un mosto con una concentración de AR de 10.03 g/L, como se obtuvo en el mosto 4 a 50°C, la concentración de etanol que se obtendría es aproximadamente de 0.5%, por lo que se realizó un mosto 6, elaborado a partir de malta clara con una relación de 1:7 (malta/agua).



Posteriormente se realizaron diversas mezclas de ambos, para disminuir el sabor y aroma del mosto caramelo y aumentar la cantidad de AR y poder obtener una fermentación adecuada.

El gráfico 6 muestra que del mosto obtenido de una maceración de malta clara a 60°C durante 4 horas la cantidad de AR obtenida es de 40.28 g/L. La literatura indica que con esta cantidad de AR, se obtiene aproximadamente 2.014% de etanol que mezclados con el mosto obtenido de malta caramelo se obtendrá un porcentaje mayor de etanol.

Gráfico 6. Concentración de AR del mosto 6 con una relación de 1:7 (malta clara:agua)



Reyes (2010), realizó una cinética de maceración con una relación de 1:7 (malta/agua) con un rango de temperatura de 55 a 70°C durante 8 h, reportando que la concentración máxima de azúcares reductores se presentó entre las temperaturas de 60 y 65°C, dentro de las primeras 5 h, mostrando una constante en las 3 horas posteriores. Obteniendo concentraciones de AR 45.651 g/L a 60°C durante 5 h y de 42.669 g/L a 65°C durante 4 h.



Observando la cantidad de AR obtenida de los mostos elaborados con malta clara y caramelo se decidió realizar mezclas de ambos mostos a concentraciones de malta clara/malta caramelo, 90/10, 80/20, 70/30 y 50/50.

5.4 Inoculación de la levadura

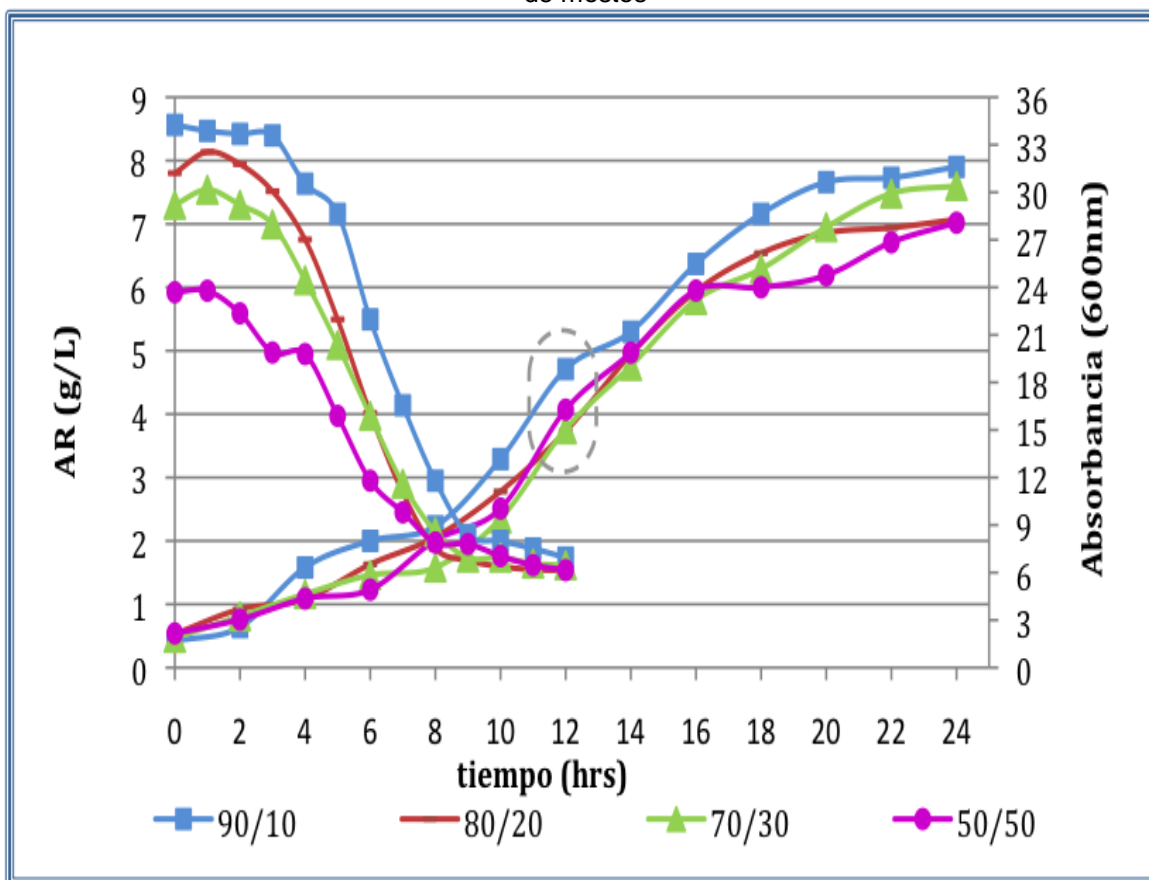
Se realizaron 4 mezclas de mosto caramelo y claro, a diferentes concentraciones (90/10, 80/20, 70/30 y 50/50 respectivamente). Antes de comenzar con la inoculación las mezclas se esterilizaron, ya que Linko y col., (1998) señala que el mosto es absolutamente vulnerable antes de la adición de la levadura. Al mosto estéril entonces se realiza la inoculación y la posterior fermentación.

Se incubó a 32°C a 200 rpm y se tomó muestra cada 2 h durante 24 h para observar el crecimiento de la levadura mediante la densidad óptica, de igual forma observar el consuno de los azúcares por parte de ésta.

De acuerdo a los resultados de la D.O. (gráfico 7) de la cinética de crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en las 4 mezclas diferentes de mostos, se observa que en la hora 12 de crecimiento, la levadura se encuentra en la fase exponencial, por lo que a esta hora se asegura una alta concentración de células de *Saccharomyces cerevisiae*, por lo que es el tiempo adecuado de comenzar la fermentación.



Gráfico 7. Cinética de crecimiento y consumo de azúcares reductores de *S. cerevisiae* en la mezcla de mostos



Por otro en el gráfico 7 se observa que al mismo tiempo que la levadura crece los AR se ven disminuidos. El mosto cubre las necesidades para el desarrollo global de las levaduras, utilizando como fuente carbonada de energía a los azúcares fermentables en el siguiente orden; sacarosa-glucosa-fructosa-maltosa-maltotriosa (Hornsey, 2003), de igual modo produce los atributos sensoriales característicos de la cerveza (aromas, sabores, CO₂, alcohol entre otros) (García y col, 2002). A partir de la hora 8 el consumo de azúcares reductores se torna constante porque se comienzan a producir metabolitos que inhiben el crecimiento de la levadura, otra razón es que el azúcar presente, no es fermentable para el microorganismo sin embargo se cuantifica por el extremo reductor que presenta pero es una cadena larga.



5.5 Fermentación

Las 4 mezclas de mosto lupulado que se ha de fermentar se sembraron con levadura lo antes posible, en este caso se agregó el 5% de la inoculación con respecto al volumen total del fermentado, este porcentaje asegura la viabilidad de las células, de acuerdo a reportes de laboratorio, el agregar el 5% asegura una proporción intermedia de células jóvenes las cuales cercioran su crecimiento y la posterior fermentación. Una tasa de inoculación insuficiente provoca una fermentación inicial lenta y una inoculación excesiva provoca una indebida competición por los nutrientes, determinando una pobre multiplicación de las levaduras y un aumento final de ciertos ésteres (acetaldehído) (Hornsey, 2003).

El mosto se fermentó a temperatura ambiente (20°C), monitoreando parámetros como consumo de AR y AT, crecimiento de la levadura (D.O), y concentración de etanol.

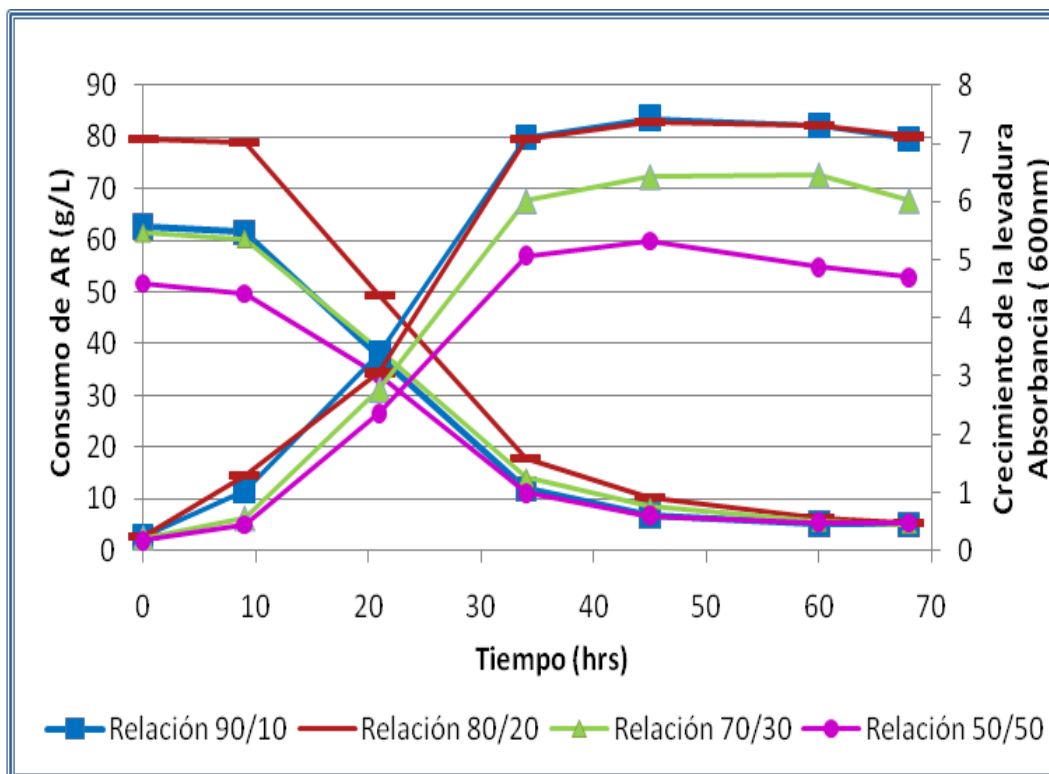
El mosto a fermentar, fue previamente oxigenado al filtrarlo y eliminar el lúpulo, ya que durante las primeras fases de fermentación, es importante que en el mosto exista oxígeno disuelto para permitir la síntesis de los esteroides y ácidos grasos de la membrana. Por lo tanto tiene que haber oxígeno para el rápido crecimiento celular inicial (Hornsey, 2003).

5.5.1 Crecimiento de la levadura

Durante la fermentación se evaluó el crecimiento de la levadura mediante la determinación de densidad óptica (D. O.), así como el consumo de los azúcares presentes en el mosto. El gráfico 8 muestra que la fase lag en las 4 mezclas, dura aproximadamente 10 horas, así mismo puede apreciarse que hay una fase en la cual experimenta el máximo crecimiento, conocida como fase logarítmica. El cual es el periodo en que las células alcanzan su máxima velocidad de duplicación y llevan a cabo el metabolismo fermentativo en el cual se produce etanol (Tortora y Case, 1986). Esta fase llega hasta las 35 h, y posterior a este proceso, se presenta un ligero decrecimiento debido a que la levadura se encuentra en la fase estacionaria, ocasionada por la muerte celular propiciado principalmente por la falta de nutrientes al finalizar la fermentación (Kobayashi y col., 2005).



Gráfico 8. Crecimiento de la levadura durante la fermentación



Teóricamente, la fermentación debe transcurrir mientras que prevalezcan las condiciones anaerobias y exista una fuente de azúcar en el mosto. Sin embargo, esto no sucede como se observa en el gráfico 8, donde a partir de la hora 45, la gráfica se mantiene constante con 5 g/L de AR, en las 4 mezclas hasta la hora 70. Esto se debe a varias razones, entre ellas esta que el crecimiento o multiplicación de las células de levadura durante la fermentación activa es por gemación, proceso que requiere plena síntesis de membrana y pared celular. Debido a las condiciones anaerobias que prevalecen, no puede ocurrir la síntesis de esteroles y ácidos grasos y en consecuencia, disminuye la formación de membrana alcanzando un punto en que el crecimiento cesa. Otra razón es que a medida que transcurre la fermentación, el nivel de etanol aumenta a tal cantidad, que resulta tóxico para el crecimiento de la levadura (Hornsey, 2003).

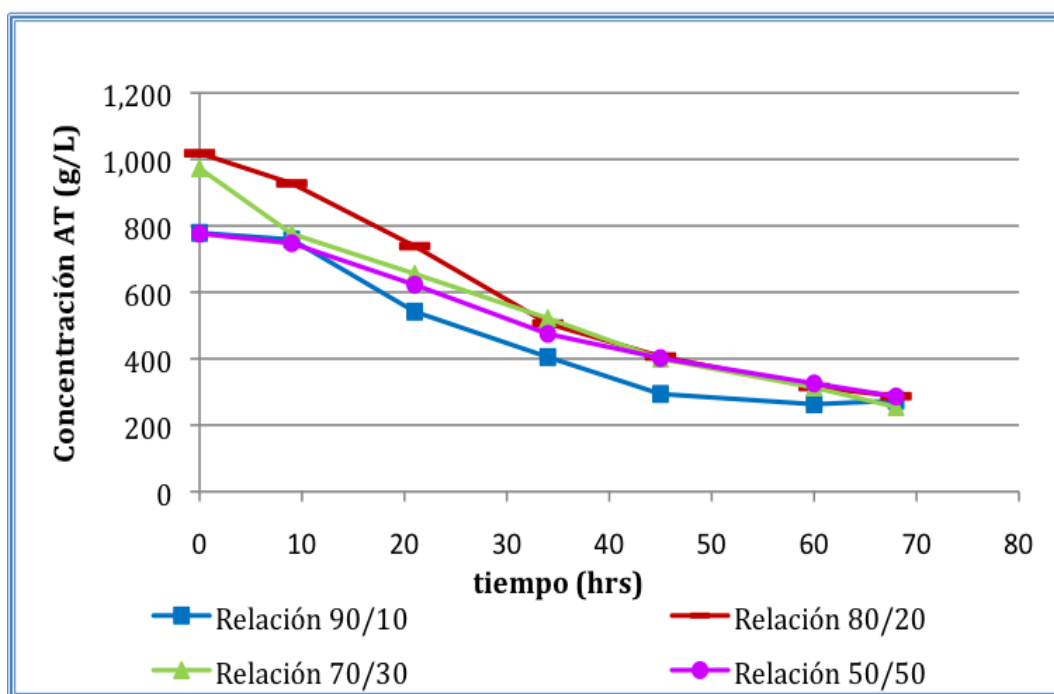
Por otro lado los azúcares totales son la cantidad de almidón que se estuvo degradando para poder convertirlo en azúcares reductores. Cabe mencionar que en



este parámetro, los resultados deben de ser mínimos ya que el almidón en el transcurso del malteado se degrada en su mayor porcentaje.

Al igual que durante la fermentación son consumidos por la levadura. El gráfico 9 muestra como los AT son consumidos por la levadura, las 4 mezclas tienen un comportamiento similar, la cantidad de AT que presenta al final de la fermentación es alrededor de 215 g/L para las diferentes mezclas, esto es debido a que en el mosto dulce existen cuatro fracciones de carbohidratos, dentro de los cuales se encuentran los oligosacáridos, que son principalmente dextrinas que representan los productos de la degradación parcial del almidón. Representan entre el 25 y 27% de los carbohidratos totales del mosto. Las dextrinas no son fermentables y contribuyen al valor calórico de la cerveza terminada (Salinas, 1993).

Gráfico 9. Consumo de azúcares totales durante la fermentación



5.5.2 Producción de etanol

La cantidad de etanol producida a lo largo de la fermentación está determinada mediante el método enzimático.

La tabla 11, muestra la producción de etanol producida a lo largo de la fermentación de las mezclas realizadas. Se tomó una muestra de las mezclas de



mostos en puntos específicos a la hora 48, 54 y 72 de la mezcla 90/10 y la hora 54 de fermentación de las mezclas 80/20, 70/30 y 50/50, se decidió evaluar la cantidad de etanol producida a la hora 54, ya que en el gráfico 8, se observa que a partir de la hora 50 el consumo de azúcares reductores se mantiene constante por lo que la producción de etanol a esta hora no es significativamente diferente al producido a la hora 72.

Se les determinó la cantidad de etanol producida, utilizando la ecuación de fermentación que propone Belitz y Grosch, (1997), según la cual 2 partes de azúcar dan lugar a 1 de alcohol (en peso), esto se realizó con la finalidad de elegir una mezcla que presentara un valor de etanol aproximado al 3%, y elaborar una fermentación a un volumen mayor.

Tabla 11. Etanol producido por las diferentes mezclas de mosto

T (hrs)	mezcla	[%v/v] de etanol
48	90/10	1.436
54	90/10	2.87
72	90/10	3.202
54	80/20	3.555
54	70/30	2.887
54	50/50	2.789

La determinación de etanol muestra que la mezcla de 80/20 presenta la mayor concentración de etanol a las 54 horas (3.55%v/v). Sin embargo, el aroma y el color, eran más agradables en la mezcla 70/30, en la cual se obtuvo la cantidad de 2.887%v/v de etanol que es bajo comparado con las cervezas comerciales que generalmente contienen un 4.5 % v/v de etanol, sin embargo, a diferencia de las cervezas comerciales a esta no se le agregó adjuntos por lo que sólo se utilizaron los azúcares presentes en el grano de cebada.

Reyes (2010), reporto 2.71%v/v de etanol obtenido de una fermentación llevada a cabo solo con malta clara, en un periodo de 80 horas. Por lo tanto, la



mezcla de mostos de 70/30 (mosto caramelo: mosto claro) presenta un mayor porcentaje de etanol, que el mosto elaborado solo con malta clara. Además de que el objetivo es realizar una cerveza a partir de malta caramelo el utilizar el 30% de ella es un porcentaje aceptable que permite cumplir con el objetivo.

Por esta razón se decidió elaborar la fermentación a mayor volumen con la mezcla 70_{malta clara} / 30_{malta caramelo}.

De acuerdo a los resultados anteriores puede concluirse que tanto la proporción de agua/malta para la elaboración del mosto como la cantidad de mosto claro y caramelo, afectan significativamente la producción de etanol durante el proceso de fermentación.

Las variaciones en cuanto a la cantidad de etanol producido de acuerdo a Boulton y col., (1995) se deben a variables como el método de elaboración del mosto, cantidades de oxígeno disuelto, la conversión de los azúcares fermentables en etanol; estos azúcares principalmente maltosa, dextrinas y glucosa. Además de nutrientes contenidos en el mosto como minerales y proteínas, así como a la tasa de inoculación y tipo de cepa de levadura.

5.6 Proceso fermentativo de la mezcla elegida

Antes de iniciar la fermentación, la mezcla de mostos 70:30 (mosto claro:mosto caramelo), presentó 9.3 grados brix. Y al finalizar la fermentación presentó 3.3 grados brix.

Por otro lado el pH del mosto antes de iniciar la fermentación fue de 5.51 y al finalizar la misma el pH registrado fue de 4.13. Este valor es aceptable ya que Madrid (1994), reporta que la cerveza terminada deberá tener un pH entre 4 y 5. Esta disminución es causada por la acidificación del medio, provocada por la producción de etanol (Mesones, 2000).

Una vez que se determinó que la mezcla elaborada con un 70% de mosto claro y un 30% de mosto caramelo, se realizaría a un volumen mayor. Se prosiguió a fermentar dicha mezcla a 20°C, de acuerdo a Bamfort, (2005) las cervezas ale fermentadas con levadura *S. cerevisiae* generalmente fermentan a temperaturas de 15 a 20°C, mientras que las cervezas lager fermentan a temperaturas de 6 a 13°C, la



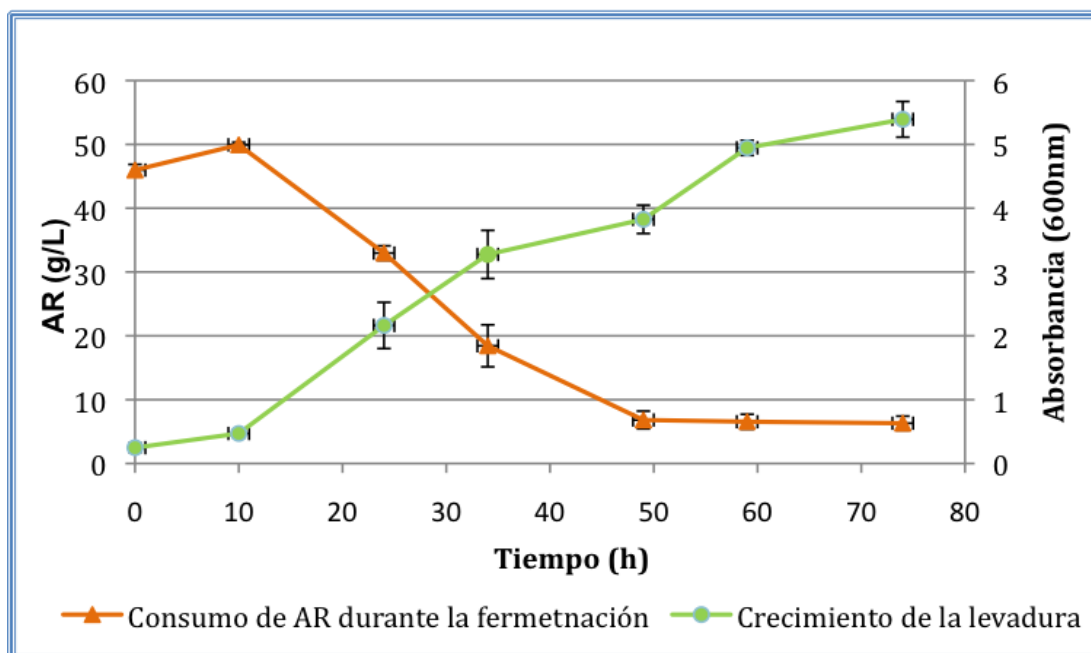
temperatura afecta sustancialmente el metabolismo de la levadura por esta razón es que se deben mantener a una temperatura constante.

Al igual que las fermentaciones anteriores, a ésta segunda fermentación, se le monitorea, el crecimiento de las células (Absorbancia), consumo de AR y AT, concentración de etanol, almidón y maltosa. La fermentación se realizó por triplicado, las graficas presentadas son un valor promedio de dichos datos.

En el gráfico 10 se observa el crecimiento de la levadura en la mezcla de 70 malta clara / 30 malta caramelo. Se puede apreciar que durante las primeras 9 horas de fermentación pareciera que no pasa nada, sin embargo Hornsey (2003), cita que durante las primeras horas que siguen a la inoculación no sucede nada visible en el fermentador. Esta es la fase de latencia del crecimiento, la cual puede durar de 6 hasta 15 horas y aunque no existan manifestaciones externas de la actividad metabólica, están ocurriendo diversos fenómenos fisiológicos y bioquímicamente importantes. En efecto, las levaduras se están adaptando al nuevo medio de crecimiento (mezcla de mostos). Posteriormente se presentan las siguiente etapas, exponencial la cual dura aproximadamente 50 horas y la estacionaria que se presenta justo después de la hora 59 (gráfico 10).



Gráfico 10. Crecimiento de la levadura durante la fermentación en la mezcla de 70/30



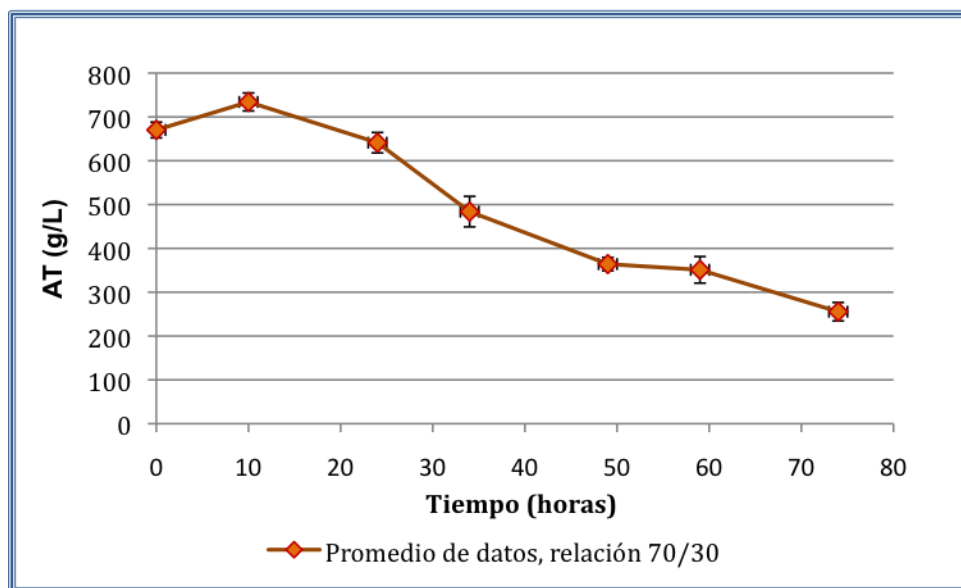
Podemos observar en el perfil de azúcares reductores (gráfico 10) el consumo de nutrientes que va asimilando la levadura durante el tiempo en que transcurre la fermentación.

El contenido de azúcares reductores comienza con 49.89 g/L y al finalizar la fermentación el contenido de AR es de apenas 6.31 g/L. La levadura consumió el 87.35% de los azúcares reductores, el 12.65 restante que no consumió, probablemente son dextrinas las cuales son infermentables.

Se observa que tanto el consumo de azúcares totales (gráfico 11) como los azúcares reductores, son directamente proporcional al crecimiento de la levadura. Vogel (1999), comenta que el azúcar se transforma en dióxido de carbono (que abandona la cerveza en forma de gas) y en alcohol.



Gráfico 11. Consumo de azúcares totales durante la fermentación en la mezcla de 70/30



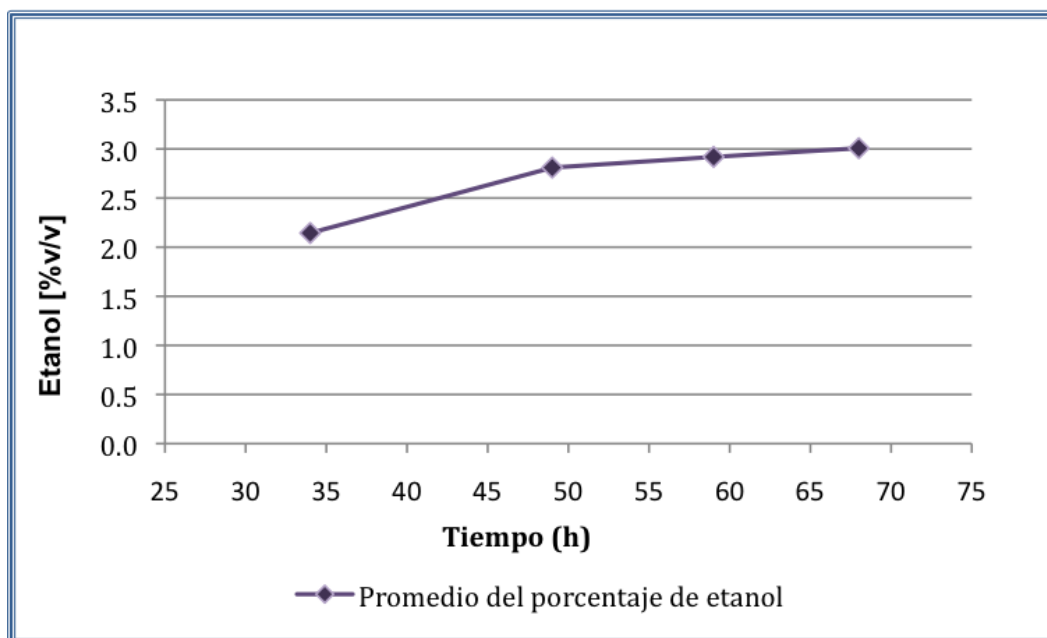
5.6.1 Producción de etanol

La producción de etanol, es el principal producto de la fermentación, conlleva la formación en aerobiosis de piruvato a través de la ruta metabólica de Embden-Meyerhor y la descarboxilación del piruvato en anaerobiosis para rendir acetaldrído. Finalmente el acetaldehido se reduce a etanol con la consiguiente oxidación del NADH (Varman y Sutherland, 1994).

El gráfico 12 presenta la cantidad de etanol producida durante la fermentación de la mezcla de mostos elaborada con un 30% de mosto caramelo y un 70% de mosto claro. Es importante mencionar que además de etanol, también se obtienen varios compuestos aromáticos importantes para el sabor final de la cerveza. Según la bibliografía de Gaver y col., (2003), la contribución de la fase alcohólica de la fermentación de la cerveza, depende de la composición del mosto, de la cantidad de la levadura y de las condiciones de fermentación secundaria.



Gráfico 12. Etanol producido en la mezcla de 70/30



Se observa en el gráfico anterior (gráfico 12) que la primer muestra se tomó a la hora 34, en el cual la fermentación presenta un 2.1%v/v de etanol, y al finalizar a la hora 68 el contenido de etanol fue de 3.0% v/v. Este porcentaje de etanol está por debajo del contenido de etanol de marcas de cerveza comerciales, las cuales reportan un porcentaje del 4.5, sin embargo Ramírez (2006), reporta que obtuvo un porcentaje de etanol ente 1.31 y 4.70, utilizando diferentes variedades de cebada y usando malta clara, considerando estos varoles el porcentaje de etanol obtenido en esta mezcla de mostos es aceptable .

5.6.2 Consumo de azúcares en la fermentación

El contenido de almidón en la muestra, así como el consumo de éste, se observa en el anexo I. Donde al inicio de la fermentación (hora cero), el mosto presenta 1.28 g/L de almidón y al finalizar la fermentación (hora 68) se encuentra en una cantidad de 0.41 g/L. Esto se debe a que la levadura consumió parte de este almidón que probablemente se encuentre en forma de dextrinas, ya que Hornsey, (2003) reporta que al agotarse la fuente de carbono (azúcares fermentables) del mosto, la levadura comienza a degradar moléculas más grandes.



Por otro lado, en el anexo II, se presenta el consumo de maltosa durante la fermentación, se observa que al inicio comienza con 0.744 g/L y al finalizar a la hora 68 presenta 0.0243 g/L de maltosa, una cantidad muy pequeña, lo que indica que la levadura la consumió casi en su totalidad.

Como ya se ha mencionado anteriormente, la maltosa es el principal azúcar del mosto teniendo un porcentaje aproximado del 50-60%, seguido de las dextrinas, maltotriosas y glucosa, esta última representa del 10-15% (Hornsey, 2003), en dicho anexo, se muestra el consumo de la maltosa, el cual presenta un pronunciado declive pasando las 20 horas, debido a que la levadura comienza la desaparición de la maltosa después de las 34 horas de fermentación (Bamforth, 2005). Al igual que la maltosa, la levadura consume la glucosa dentro de las primeras 24 horas de fermentación, lo cual se puede observar en el anexo III.

5.6.3 Rendimiento de Etanol

En cuanto a ésta fermentación de malta caramelo, los resultados obtenidos en el laboratorio son muy similares a los cálculos teóricos. Los cuales manifiestan que el rendimiento de etanol, es el siguiente; dos moléculas de azúcar dan lugar a una de alcohol (en peso) (Belitz y Grosch, 1997).

Esto es debido a que se inició la fermentación con azúcares reductores iniciales de 49.96 g/L, a la hora 0, y al finalizar la fermentación a la hora 68, se obtuvo la cantidad de 7.37 g/L. Dando con ello un consumo de 42.59 g/L en la fermentación. Los cuales fueron transformados en alcohol.

En esta fermentación elaborada con la mezcla 70_{mosto claro} /30_{mosto caramelo}, se determinó el rendimiento de etanol utilizando la siguiente fórmula:

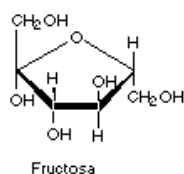
$$\gamma = \frac{\text{gramos de etanol}}{\text{gramos del sustrato consumido}}$$

$$\text{gramos del sustrato consumido} = AR_{\text{iniciales}} - AR_{\text{finales}}$$



Considerando que solamente se tomó muestra en los 4 últimos tiempos de fermentación, se obtuvieron los siguientes datos:

Tiempo (h)	Cantidad de AR	Rendimiento
0	49.96	-
34	20.48	0.564
49	7.73	0.591
59	7.45	0.542
68	7.37	0.539



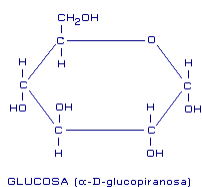
Fructosa

Fórmula empírica: $C_6H_{12}O_6$

Peso molecular: 180,16g/mol.

2

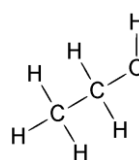
2



Glucosa

Fórmula empírica: $C_6H_{12}O_6$

Peso molecular: 180,16g/mol.



Etanol

Fórmula empírica C_2H_6O

Peso molecular: 46.07g/mol

Una molécula de un monosacárido, genera 2 moléculas de etanol, que al determinar su rendimiento se obtiene 0.5 de etanol como rendimiento teórico.





6. CONCLUSIONES

- ④ Para obtener las condiciones óptimas de maltas caramelo se realizan las maltas claras y posteriormente se vuelven a secar sometiendo las muestras a una temperatura de 65°C por 1 h. Y para maltas caramelo, una vez que se a obtenido la malta clara, aumentar la temperatura a 77°C por 30 minutos, aumentar la temperatura a 175°C por 30 min más.
- ④ De los métodos de elaboración de mosto caramelo, planteados en este trabajo de investigación, el elaborado a una concentración de 1:5 (malta caramelo: agua, respectivamente), presenta los mejores valores en cuanto a AR y AT.
- ④ A temperatura de 50°C durante un periodo de 4 horas de maceración se obtiene un mejor extracto de azúcares fermentables en mosto elaborado con malta caramelo.
- ④ Para elaborar mosto a partir de malta clara, la temperatura ideal es de 60°C durante 4 horas a relación de 1:7 (malta clara: agua).
- ④ Las maltas caramelo, presentan valores de AR y AT menores en comparación con las maltas claras.
- ④ Al elaborar una cerveza con un 100% de mosto proveniente de malta caramelo, se obtiene un porcentaje de etanol aproximadamente de 0.5% (v/v), debido a la escasa cantidad de AR presentes, por lo que es necesario mezclar con mostos con mayor cantidad de azúcares fermentables.
- ④ Por otro lado, de las múltiples mezclas que se elaboraron del mosto claro y del mosto caramelo, la elaborada a una relación de 70% malta clara y 30% malta caramelo, presenta un porcentaje de etanol aceptable, comparando con el contenido de etanol obtenido de cervezas elaboradas con malta 100% clara,



de igual forma se obtienen características de olor, sabor y color agradables para el consumidor.

- ④ El crecimiento de la levadura depende directamente de la tasa de inoculación empleada. En este trabajo de investigación al añadir 0.2 g de levadura a 100 mL de mosto, se asegura un crecimiento exitoso de la levadura.
- ④ Por otro lado la cantidad de inóculo añadido afecta directamente la producción de etanol. En este caso el añadir 5% de inóculo a las 12 horas de incubación al fermentador se asegura una cantidad de etanol del 3%v/v.
- ④ El elaborar una cerveza artesanal utilizando un 30% de mosto caramelo y un 70% de mosto claro, es viable ya que presentan niveles de etanol semejantes a la cerveza artesanal elaborada con 100% mosto proveniente de malta clara. De igual forma la cerveza elaborada presenta atributos como, aroma, color, cuerpo y sabor atractivos.





7. PERSPECTIVAS

Debido a que el agua representa como mínimo el 90% de la composición de la cerveza, es claramente un factor de gran efecto sobre esta. Particularmente en el sabor, características y composición final de la cerveza, por esta razón se propone realizar un análisis de los componentes del agua que se va a utilizar.

Se recomienda realizar un análisis sensorial a la cerveza, con catadores semi-entrenados para tener un dato sensorial preciso. Así como gasificarla adicionando CO₂ para poder comparar con marcas existentes en el mercado. De igual forma realizar fermentaciones a mayor escala y en fermentadores automáticos. Para verificar los resultados obtenidos de la cerveza elaborada de forma artesanal y a nivel matraz.

Por otro lado, se sugiere realizar un seguimiento bioquímico en todo el proceso de elaboración de cerveza, comenzando por el malteado, para observar como desde el grano las enzimas se activan para degradar el almidón y convertirlo en azúcares, que son los que posteriormente se transformaran el alcohol durante la fermentación.

Al elaborar el mosto, casi de inmediato se procede a realizar la inoculación y la fermentación, debido a que los azúcares están expuestos a ser metabolizados por cualquier microorganismo. Por esta razón se propone determinar la vida de anaquel del mosto elaborado no sólo con la malta caramelo, sino también con malta clara y chocolate.





8. BIBLIOGRAFÍA

- Ⓢ Bamforth, W., C. (2005). Food, Fermentation and Micro-organisms, 1 ed. Blackwell Science Oxford, UK.
- Ⓢ Bairgian, A., J. (2006). La cerveza en la Antigua Mesopotamia. Asociación de cerveceros artesanales de la República Argentina. Consultado en: www.cervezas-argentinas.com.ar/La_Cerveza_en_la_Antigua_Mesopotamia. Acceso el 03/12/09.
- Ⓢ Bairgian, A., J. (2006). Fermentación. Asociación de cerveceros artesanales de la República Argentina. Consultado en: www.cervezas-argentinas.com.ar/Las_levaduras_en_la_fermentacion. Acceso el 10/12/09.
- Ⓢ Belitz, H. D., Grosch, W., (1997). Bebidas alcohólicas, en; Química de los alimentos. Acibia, S.A. Zaragoza España, capítulo 20.
- Ⓢ Bourgeois, C. M., Larpent, J. P., (1989), Micribiología Alimentaria Volumen II, Fermentaciones alimentarias. Acibia S.A. Zaragoza España.
- Ⓢ Boulton, R. B., Singleton V. L., Bisson L. F. y Kunkee R. E., (1995). Teoría y Práctica de la elaboración del vino. Editorial Acibia S. A. Zaragoza, España.
- Ⓢ Callejo, G. M. J., (2002). Maltería en: Industria de cereales y derivados. Mundiprensa 1ra edición Madrid España.
- Ⓢ 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 Brewing & Distilling. pp. 50.
- Ⓢ Dendy, D. A., Dobraszzyk, B. J., (2001). Barley en; Cereals and cereal products chemistry and technology. Kluwer Academic/ Plenum Publishers. New York, New York. USA.
- Ⓢ Dewar, J., Taylor, J. R. N., Berjak, P., (1997). Determination of Improved Steeping Conditions for Sorghum Malting. Journal of Cereal Science. Vol. 26.
- Ⓢ Doyle, M. P., Beuchat, L. R., Montville, T. J. (1997). Beer en; Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers. American Society for Microbiology NW. Washington.
- Ⓢ Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F., (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28, 350-356.



-
- Ⓒ Dupin, H. (1985). Los Alimentos, Fondo de Cultura Económica, 1era Edición, México D.F.
 - Ⓒ EBC. European Brewery Convention. (2003). Published by Fachverlag Hans Carl Nürnberg. Germany.
 - Ⓒ Figueroa, C. J. D., (1985). Métodos de Para evaluar la calidad maltera en cebada. Secretaría de Ganadería y Recursos Hidráulicos. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. México D. F. Pp. 30-67.
 - Ⓒ Folch J., Garay A., Lledías A. (2004). La respuesta al estrés en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Revista Latinoamericana de microbiología. Vol. 46.
 - Ⓒ Frazier, W. C., Westhoff D.C., (1993). Microbiología de los alimentos 4ta edición, editorial Acribia, S.A., Zaragoza España capítulo 21, producción de cultivos para la fermentación de alimentos.
 - Ⓒ García, M., Revah, S., Gómez L. (2002). Biotecnología Alimentaria. Limusa, S.A DE C.V, México D.F.
 - Ⓒ González, A., Valenzuela, L. (N.D.). *Saccharomyces cerevisiae*. Departamento De Genética Molecular, Instituto De Fisiología Celular. UNAM. México D.F. consultado en http://www.microbiologia.org.mx/microbiosenlinea/CAPITULO_20/Capitulo20.pdf. Acceso el 15/09/09.
 - Ⓒ Hornsey, I. S. (2003). Elaboración de cerveza, microbiología, bioquímica y tecnología. ACRIBIA S. A. Zaragoza, España.
 - Ⓒ Hough, J.S., (1990). Biotecnología de la cerveza y de la malta. Acribia, S. A. Zaragoza España.
 - Ⓒ IICA: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (1999). Industria de la cerveza; guía para la aplicación del Sistema de Análisis de Riesgo y Control de Puntos Críticos (ARCPC). Consultado en: http://www.nutricion.org/publicaciones/pdf/haccp_cerveza.pdf. Acceso el 15/10/09.
 - Ⓒ Jay, J. M. (1992). Modern Food Microbiology 4ta ed. Editorial Van Nostrand Reinhold New York.
 - Ⓒ Kent, N. L. (1971). Barley en; Technology of Cereals, editorial Pergamon Press Ltd. Oxford, Inglaterra.
 - Ⓒ Lee, B. (1996). Fundamentals of Food Biotechnology, Editorial VCH Publisher, Inc.



-
- Ⓒ Linko, M., Haikara, A., Ritala, A. (1998). Recent advances in the malting and brewing industry. *Journal of Biotechnology*.
 - Ⓒ López, B. L., (1991). Cebada en: cereales Volumen I. Mundi-Persa, Madrid España pp.247-263.
 - Ⓒ Kobayashi, M., Hiroshima, T., Nagahisa, K., Shimizyu, H., Shioya, S. (2005). On-line estimation and control of apparent extract concentration in low-malt beer fermentation. *Journal of the institute of brewing*.
 - Ⓒ Madrid, A. V. (1994). Proceso de producción de la cerveza en; Nuevo manual de industrias Alimentarias. Mundi-Prensa libros, S.A. Madrid España Capitulo IX.
 - Ⓒ Mesones, B. (2000). Manual practico del cervecero. Derechos de autor reservados.
 - Ⓒ Milman N., Magano D., Elzaurdia I. (2004). Introducción a la Tecnología de los Alimentos, Facultad de Química (37- cerveza.pdf).
 - Ⓒ Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31, 426-428.
 - Ⓒ Moctezuma, H. A., (2008). Efecto del método de elaboración de mosto y la concentración del inóculo en la calidad de una cerveza. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca.
 - Ⓒ Normas Jurídicas de Nicaragua, Requisitos y Métodos que debe cumplir la cerveza, No.187, 03/10/09. *Hordeum vulgare L.* y *Hordeum distichum L.* Especificaciones y métodos de prueba.
 - Ⓒ NMX-FF-043-SCFI-2003, Norma Mexicana. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano-cereal-cebada maltera (*Hordeum vulgare* y *Hordeum distichum*). Especificaciones y métodos de prueba.
 - Ⓒ Olalla, J. (2002), la cerveza un alimento con propiedades funcionales Jornada Tematica "industria agroalimentaria seguridad y calidad alimentaria, Madrid España.
 - Ⓒ Ramírez, M. V. (2006). Valoración del potencial cervecero de maltas elaboradas con cebadas producidas en los estados de Hidalgo y Tlaxcala. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca.
 - Ⓒ Reyes, M. A. (2008). Comparación de tres métodos de malteado con diferentes variedades de cebada. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca.



-
- Ⓒ Reyes, M. A. (2010). Metodología para la obtención de cerveza artesanal a partir de cebada esperanza. Comunicación personal. Universidad Nacional Autónoma del México. México D.F.
 - Ⓒ Ruíz, S. Y. (2006). Elaboración y evaluación de maltas cerveceras de diferentes variedades de cebada (*Hordeum sativum jess*) producidas en los estado de Hidalgo y Tlaxcala. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca.
 - Ⓒ Salinas, D.R., (1993). Bebidas alcohólicas en; Alimentos y Nutrición. El Ateneo, 2da edición Argentina.
 - Ⓒ Sendra, J.M., Carbonrll, 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). p.p. 7-19, 23, 33.
 - Ⓒ Serna, S.S.R. (2001). Capitulo 11 malteado y producción de bebidas alcohólicas, en: Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. AGT Editor, S.A. México D.F.
 - Ⓒ Tortora, J. G., Case, L.C., (1986). Microbiology. Menlo Prak, CA, USA, Benjamin/Cummings Publishing Company Inc.
 - Ⓒ Varman, A. H. Sutherland J. P. (1994). Bebidas, tecnología, química y microbiología. Editorial acriaba, S.A. Zaragoza España.
 - Ⓒ Vogel, W. (1999). Elaboración casera de la cerveza. Ed. Aribia. S. A. Zaragoza, España.
 - Ⓒ Schaufler, H., W. (2006). Las levaduras. Asociación de cerveceros artesanales de la República Argentina. Consultado en: www.cervezas-argentinas.com.ar/Las_levaduras_algo_sobre_ellas. Acceso el 10/12/09.

Páginas de Internet consultadas



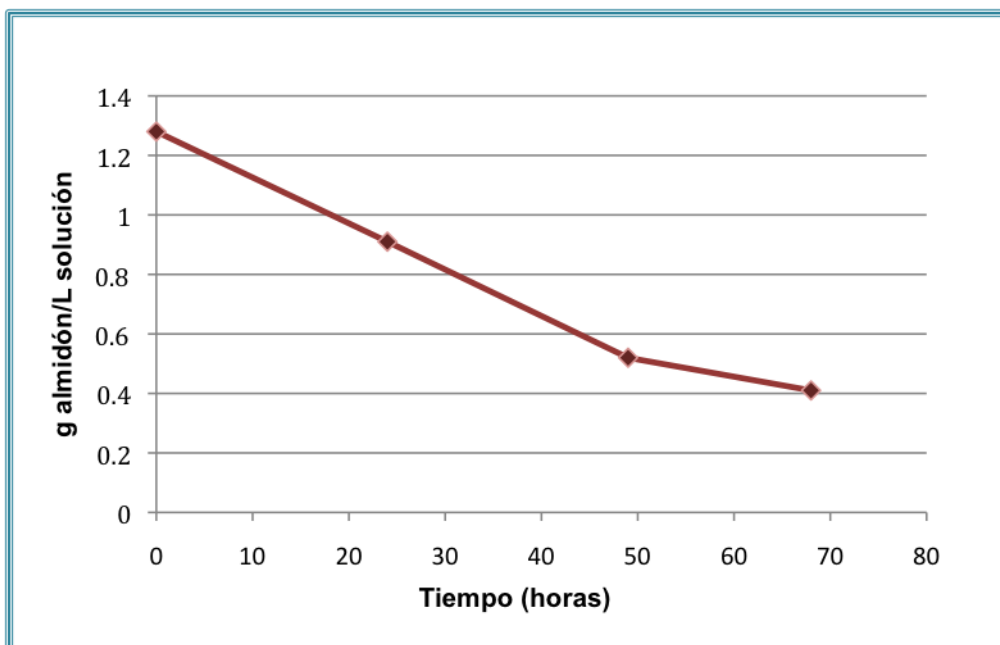
-
- Ⓢ <http://www.uam.es/departamentos/filoyletras/prearq/baex5.pdf>,. Acceso el 12/05/09.
 - Ⓢ http://www.clubplaneta.com.mx/bar/proceso_de_elaboracion_de_la_cerveza.htm,. Acceso el 10/05/09.
 - Ⓢ http://www.cervezas-argentinas.com.ar/Maltas_Cargill.htm. Acceso el 10/05/09.
 - Ⓢ http://www.cervezaysalud.com/estudio_3.pdf,. Acceso el 12/05/09.
 - Ⓢ http://www.clubplaneta.com.mx/bar/ingredientes_de_la_cerveza.htm, Acceso el 13/05/09.
 - Ⓢ http://www.clubplaneta.com.mx/bar/proceso_de_elaboracion_de_la_cerveza.htm,. Acceso el 10/05/09.
 - Ⓢ <http://www.florida.co.cr/historia2.htm>,. Acceso el 13/05/09.
 - Ⓢ <http://www.cervezas-argentinas.com.ar/>,. Acceso el 20/10/09.
 - Ⓢ <http://www.flupulo.es/>. Acceso el 02/02/10.
 - Ⓢ http://www.nutricion.org/publicaciones/pdf/haccp_cerveza.pdf. Acceso el 28/03/10.
 - Ⓢ <http://apan.blogia.com/2006/031201-la-historia-de-la-cerveza-en-mexico.php>. Acceso el 28/03/10.



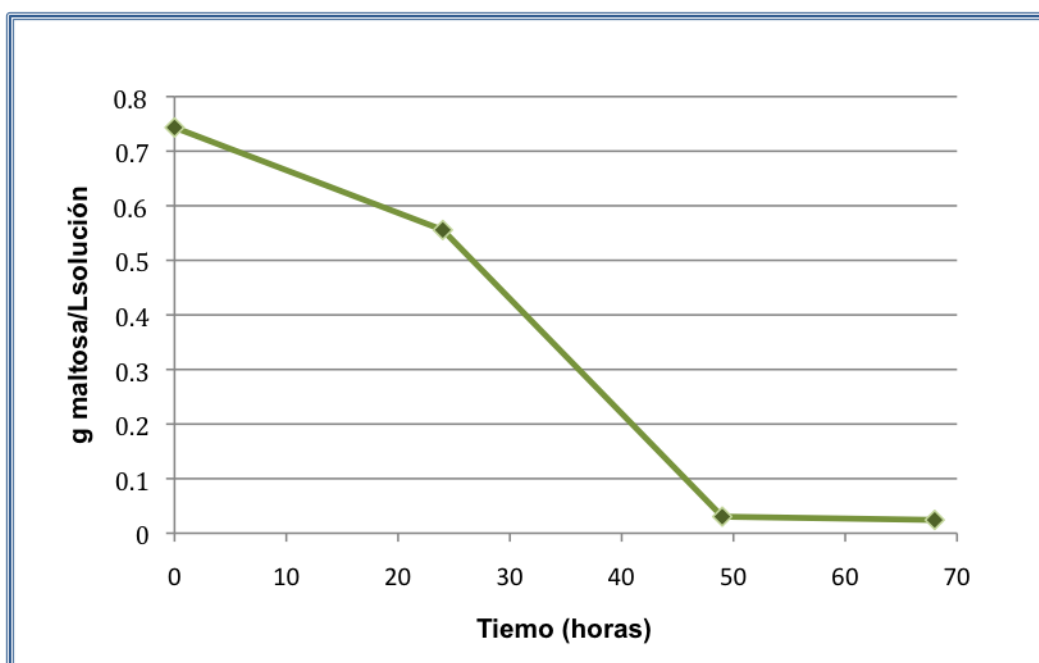


9. ANEXOS

Anexo I. Gráfico del almidón degradado en la fermentación de la mezcla 70/30



Anexo II. Consumo de maltosa durante la fermentación de la mezcla 70/30





Anexo III. Consumo de a D-glucosa durante la fermentación de la mezcla 70/30

