



BENEMÉRITA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
Colegio de Ingeniería en Alimentos

ELABORACIÓN DE UNA CERVEZA ARTESANAL 'ALE'
TIPO 'STOUT' CON SUERO DE LECHE COMO
SUSTRATO Y GRANOS DE KÉFIR COMO SUSTITUTO
DE LEVADURA.

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el Título de:
Ingeniero en Alimentos

Presenta:

BADILLO GONZÁLEZ SAYRA ITZEL

Directora de Tesis:
Dra. Ma. Elena Ramos Cassellis

Puebla, Pue. 2014



**C. BADILLO GONZÁLEZ SAYRA ITZEL
PASANTE
LICENCIATURA EN INGENIERÍA EN ALIMENTOS
PRESENTE:**

**Oficio No. FIQ/AC/1213/2013
Asunto: Registro de Tema de Tesis
Fecha: 14 de Noviembre de 2013**

Por medio del presente me permito informarle, de la aprobación del Registro de Tema de Tesis de la Licenciatura en Ingeniería en Alimentos cuyo título es el siguiente:

**“ELABORACIÓN DE UNA CERVEZA ARTESANAL “ALE” TIPO “STOUT” CON SUERO DE LECHE
COMO SUSTRATO Y GRANOS DE KÉFIR COMO SUSTITUTO DE LEVADURA”**

Con el siguiente contenido:

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1	ANTECEDENTES
CAPÍTULO 2	METODOLOGÍA
CAPÍTULO 3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**CONCLUSIONES
BIBLIOGRAFÍA**

Director de Tesis: Dra. María Elena Ramos Cassellis

Lo cual me permito comunicarle para su conocimiento y fines consiguientes aclarando que la vigencia de este tema será **ÚNICAMENTE POR UN AÑO.**

**ATENTAMENTE
“Pensar Bien, Para Vivir Mejor”**

**M.I.C. MA. GPE. TITA VÁZQUEZ E. DE LOS MONTEROS
SECRETARIA ACADÉMICA**

SECRETARIA
ACADÉMICA

C.c.p. Director de Tesis: Dra. María Elena Ramos Cassellis
Minutario Facultad de Ingeniería Química



Benemérita
Universidad Autónoma de Puebla
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
CIUDAD UNIVERSITARIA

LIC. Ma. Cristina Laura Gómez Aguirre.
Directora de la Administración Escolar
De la BUAP.
Presente

ASUNTO:
AUTORIZACIÓN
IMPRESIÓN DE TESIS

Por este conducto me permito presentar a Ud. al C. pasante de la carrera de Ingeniería en Alimentos

Badillo González Sayra Itzel

Quién presenta como tema de tesis:

ELABORACIÓN DE UNA CERVEZA ARTESANAL 'ALE' TIPO
'STOUT' CON SUERO DE LECHE COMO SUSTRATO Y GRANOS
DE KÉFIR COMO SUSTITUTO DE LEVADURA.

La cual ha sido debidamente revisada y se autoriza para su impresión correspondiente.

Sin otro particular y para los fines que se estimen conducentes reitero mi distinción.

ATENTAMENTE
"Pensar Bien, para Vivir Mejor"
H. Puebla de Z., a 1 de Julio de 2014

Director de Tesis
Dra. María Elena Ramos Cassellis

Agradecimientos

Antes que nada debo de agradecer a Dios y a la vida por estar donde estoy parada, cumpliendo uno de mis sueños que he tenido desde el día que me enamoré de la carrera 'Mi examen profesional'.

A mis padres Esteban y Celia que siempre me han inculcado y repetido hasta el cansancio que la educación es lo más importante que ellos me pueden heredar, que hay que aprovechar lo que ellos no consiguieron obtener por razones bizarras del destino, destino mismo que hizo que se topasen, enamoraran y tengan una vida feliz como los cuentos de hadas, porque con o sin decadencias ellos siempre han estado ahí para aconsejarme y apoyarme en mis decisiones estudiantiles, y con su clásico ¡ya vez, te dije que entrarás desde un principio a la BUAP!.

A mis hermanos Omar y David por quererme a su modo, su modo hermano, un día se está de buenas, otros de malas y otros de 'Mamáaaaaaaaaaaaa, mira a tu(s) hijo, me esta molestando'.

A María Alejandra, por estar siempre ahí al pie del cañón, desde el primer día de secundaria (2001) que me dijo ¡sentémonos juntas!, para después enterarme que no le gustaba hacer amigos, apoyándome y diciéndome los pros y las contras de mis decisiones, que no importando haber pasado 5 años separadas, nos volviéramos a juntar en la universidad porque el destino es necio y aferrado y porque le encanta juntar a las 'sin amigos' ¿qué se le va a hacer?, porque ninguna persona te sigue hasta llegar al punto de volver a empezar de 0 su amada Ingeniería Industrial, pero principalmente gracias por quererme tanto.

A Aurora porque sin ella tal vez me hubiera tardado otro medio año con la dichosa tesis, porque nadie te dice ¡va yo te ayudo!, así de la nada, de voluntad propia, por haberme enseñado mi lado malo, por aguantar mis berrinches y mi mal carácter, por quererme a su modo y por ser todo lo contrario a lo que soy, se que a veces no lo demuestro pero te quiero más de lo que aparento, sin ti esto tal vez no tendría ni pies ni cabeza.

A mi Directora de tesis la Doctora María Elena Ramos Cassellis, mamá Cassellis para los cuates, por haberme aceptado sin tener referencias de mí, no tuve la oportunidad de tomar alguna asignatura con ella, pero desde la primera vez que entre al laboratorio y la vi educar dije 'con ella haré mi tesis' y miré aquí estamos, gracias por haberme soportado tanto tiempo, porque por culpa de las prácticas 'la señorita parece patrona y viene cada que quiere', pero ahora que por fin se término esté proceso, no me queda más que agradecerle por sus sabios consejos y su apoyo, gracias a usted la vida profesional se ve desde otra perspectiva.

A mi sinodal el Doctor Héctor Ruiz Espinosa (con s, sí lo ponen con z los repruebo), porque le tengo un eterno amor-odio muy justificado, por ser el 'Rockstar' de la Ingeniería en Alimentos y que gracias a él el Colegio de Ingeniería en Alimentos esta muy bien parado, por su carácter, que ni en las correcciones dejó de ser curioso y gracioso, por sangrar en mis correcciones hasta el punto de provocarme un colapso de nervios 'colitis nerviosa' le llaman, por tenerme tanta paciencia por todo este tiempo de estar de molesta con la dichosa tesis, pero algo sí le prometo, regresaré en forma de fichas como Alf.

Al Maestro Jesús Morales Pérez, por estar aquí oportunamente y ayudarme en este proceso, créame cuando le digo que es uno de los más queridos y apreciados por los alumnos de la facultad, todos amamos a Chuchito.

A Ale Retamares por instruirme profesionalmente y haberme dado mi primera oportunidad. También muchas gracias a todas aquellas personas que siempre estuvieron preguntándome como iba con la tesis y diciéndome que todo iba a salir bien, a aquellas personas que lamento haber conocido hasta el final de la carrera y que me orientaron con su experiencia para la culminación del presente trabajo.

¡Gracias a todos por estar conmigo en este proceso profesional tan importante, porque sí algo aprendí es a conocer y reforzar los conocimientos obtenidos durante estos años, porque el título no sabe sino te esfuerzas, sino lloras, sino cambias de humor incontables veces en un solo día, sino aprendes en el camino y sin hacer tesis, porque sí pudiste con una tesis puedes contra el mundo!

Índice

Índice De Figuras	8
Índice de tablas	8
Introducción.....	9
1. Planteamiento del problema.....	11
2. Justificación.....	12
3. Objetivos	14
3.1 Objetivo General	14
3.2 Objetivos Específicos	15
4. Hipótesis	15
CAPITULO I	15
5. Marco teórico	15
5.1 Cerveza.....	16
5.2 Cebada.....	17
5.3 Agua.....	18
5.4 Lúpulo	19
5.6 Suero de leche	20
5.7 Kéfir.....	21
5.8 Investigaciones previas	21
CAPITULO II	24
6. Metodología	24
6.1 Proceso de elaboración de cerveza (Etapa IA)	25
6.1.1 Análisis de la materia prima	25
6.1.1.1 Suero de leche	25
6.1.1.2 Kéfir.....	26
6.2 Proceso de elaboración de cerveza (Etapa IB)	27
6.2.1 Diseño experimental	28
6.2.2 Macerado	29
6.2.3 Filtración.....	29
6.2.4 Cocción	30
6.2.5 Enfriado.....	30
6.2.6 Fermentación	30
6.2.7 Embotellado (Segunda fermentación)	31
6.3 Análisis Fisicoquímicos (Etapa II)	32

6.3.1 Sólidos solubles (°Brix)	32
6.3.2 pH	32
6.3.3 Densidad final	33
6.3.4 Acidez total.....	33
6.3.5 Acidez fija.....	34
6.3.6 Acidez volátil	35
6.3.7 Azúcares reductores	35
6.3.8 Turbidez	36
6.3.9 Colorimetría.....	36
6.3.10 Análisis fisicoquímicos de cervezas artesanales comerciales.....	37
6.4 Evaluación sensorial	38
CAPITULO III	39
7. Resultados y discusión	39
7.1 Sólidos solubles (° Brix)	40
7.2 pH	41
7.3 Densidad final	43
7.4 Acidez total.....	44
7.5 Acidez fija.....	46
7.6 Acidez volátil	47
7.7 Azúcares reductores	48
7.8 Análisis de Turbidez.....	49
7.9 Análisis de Colorimetría	50
8. Evaluación sensorial	51
8.1 Análisis de sabor.....	51
8.2 Análisis de Color	52
8.3 Análisis de Aroma	54
9. Conclusión	55
7. Bibliografía	57
ANEXOS	62
Anexo I. Código alimentario argentino	62
ANEXO II. Análisis estadístico	73
ANEXO III. Formato de evaluación sensorial.....	93
ANEXO IV. Resultados de evaluación sensorial.....	94

Índice De Figuras

Figura 1. Diagrama general de trabajo.....	25
Figura 2. Fermentadores.....	31
Figura 4. Segunda fermentación	32
Figura 3 Líquido obtenido de la decantación	31
Figura 5 Densímetro	33
Figura 6. Prueba de Acidez total	34
Figura 7. Prueba de acidez fija.....	35
Figura 8. Turbidímetro.....	36
Figura 9. Cervezas artesanales empleadas como control, B ₁ . Mexican imperial Stout, B ₂ Lágrimas negras	38
Figura 10 Sabor de cerveza tipo 'stout' empleando un análisis sensorial	52
Figura 11. Color de cerveza tipo 'stout' empleando un análisis sensorial	53
Figura 12 Aroma de cerveza tipo 'stout' empleando un análisis sensorial	54
Figura 13. Formato utilizado para el análisis de la evaluación sensorial.....	93

Índice de tablas

Tabla 1 Composición del lactosuero de requesón, determinado mediante Lactoscan LA50	26
Tabla 2 Maltas empleadas para la elaboración de una cerveza artesanal tipo 'stout'	27
Tabla 3 Formulaciones de la cerveza artesanal "stout" que se emplearon en este trabajo expresado en porcentaje (100%)	28
Tabla 4. Escala de valores de ΔE (Rivera, 2013).....	37
Tabla 5 Escala sensorial empleada modificada (Sancho, 1999).....	38
Tabla 6 Diferencia entre °Brix en cerveza artesanal tipo 'stout'	40
Tabla 7 Diferencia entre pH en cerveza artesanal tipo 'stout'	41
Tabla 8 Diferencia entre % Alcohol en cerveza artesanal tipo 'stout'	43
Tabla 9 Diferencia entre % Acidez total en cerveza artesanal tipo 'stout'	44
Tabla 10 Diferencia entre % de Acidez fija en cerveza artesanal tipo 'stout'	46

Tabla 11 Diferencia entre % de Acidez volátil en cerveza artesanal tipo 'stout'	47
Tabla 12 Diferencia entre % de Azúcares reductores en cerveza artesanal tipo 'stout'	48
Tabla 13 Diferencia entre Turbidez reductores en cerveza artesanal tipo 'stout' ..	49
Tabla 14 Diferencia entre colorimetría en cerveza artesanal tipo 'stout'	50
Tabla 18. Datos de evaluación de la formulación F _{125%} de la cerveza artesanal tipo 'stout' producida	94
Tabla 19. Datos de evaluación de la formulación F _{150%} de la cerveza artesanal tipo 'stout' producida	94
Tabla 20. Datos de evaluación de la formulación F _{225%} de la cerveza artesanal tipo 'stout' producida	95
Tabla 21. Datos de evaluación de la formulación F _{250%} de la cerveza artesanal tipo 'stout' producida	95

Introducción

La cerveza es una de las bebidas alcohólicas no destiladas más consumidas en México; el consumo promedio es de 54.8 L. Esto lo ubica en el segundo lugar de consumo en Latinoamérica. En 2006, las ventas de cerveza en México alcanzaron su nivel máximo y a partir de ese año FEMSA y Modelo, han tenido una baja marginal, perdiendo un 13.1% de mercado. Actualmente el mercado de la cerveza artesanal llega a menos del 1% de las ventas totales de cerveza en México, que acaparan en 56% Grupo Modelo y 43% Cuauhtémoc-Moctezuma, según Euromonitor (2010), dentro de este el 5% del mercado es para las cerveceras independientes y pequeños productores artesanales.

Se define a la cerveza artesanal como bebida elaborada con la intención de crear una bebida compleja, no se le agregan aditivos y se elaboran en pequeñas cantidades para evitar un almacenamiento prolongado. Generalmente son elaboradas con cebada malteada, lúpulo, agua y levadura, sin embargo se puede agregar otros adjuntos y especias siempre que el fin sea aumentar el sabor y no disminuirlo.

Para que una cerveza artesanal sea considerada como tal, requiere originarse de una cervecería independiente, sólo debe de contar con 25% de capital accionario de un grupo dominante del mercado. No debe de producir más de cien mil HL al año y no se debe de ocupar arroz ni maíz para abaratar la producción, más bien debe de estar 100% elaborada con malta de cebada (Acermex, 2012).

De acuerdo con Valencia et al. (2009), el suero de leche es un líquido remanente de la coagulación de la leche durante la elaboración de quesos, constituye el 90% del volumen de la leche. Las proteínas y la lactosa se transforman en contaminantes cuando el líquido es arrojado al medio ambiente sin ningún tipo de tratamiento, ya que la carga de materia orgánica que contiene permite la reproducción de microorganismos produciendo cambios significativos en el agua contaminada.

Además, el suero de leche puede emplearse como medio de conservación y propagación de cultivos lácticos, ideales para llevar a cabo la fermentación en este medio, por ello se emplearán granos de kéfir liofilizados, ya que contienen bacterias ácido lácticas heterofermentativas y levaduras capaces de resistir el etanol producido de una fermentación alcohólica, las cuales producen solamente 50% de ácido láctico. Estas fermentan 1 mol de glucosa para formar 1 mol de ácido láctico, 1 mol de etanol y 1 mol de CO_2 . 1 mol de ATP es generado por mol de glucosa. Este grupo de bacterias contiene la enzima fosfoacetolasa, pero carece de la aldosa y hexosa isomerasa; así que, en lugar de seguir la vía Emden-Meyerhoff, utilizan las vías de la hexosa monofosfato o la de la pentosa (Parra, 2010).

1. Planteamiento del problema

En México se produce alrededor de 1 millón de Ton anuales de suero de leche, del cual el 47% de este es descargado al drenaje llegando a ríos y suelos, causando un problema serio de contaminación (Valencia y Ramírez, 2009).

Se han planteado varias alternativas de tratamiento, de la cuales se destaca los procesamientos fermentativos, donde el suero de leche se puede emplear como sustrato para la producción de alcohol, por ello se plantea la opción de utilizarlos para la elaboración de cerveza artesanal. En el proceso de fermentación se emplearán granos de kéfir, ya que estos se alimentan de la lactosa, sufriendo dos fermentaciones, fermentación láctica y alcohólica; esto hace posible su uso para la producción de etanol en la elaboración de cerveza, empleándolo como levadura, ya que entre las levaduras que constituyen los granos de kéfir esta la *Saccharomyces cerevisiae*, la cual es resistente al etanol producido en la fermentación de la lactosa con la ayuda de *Candida kéfir*, que además produce etanol y CO₂, además de contener bacterias ácido lácticas como lo son *Lactobacillus casei*, *kéfir*, *brevis* entre otros.

Actualmente, el mercado de las cervezas especializadas alcanza solo 0.05% del total, con 50 marcas que representan la venta de 30 mil HL anuales; es decir, apenas 1 L por cada 20 mil que se fabrican en el país. Pero de acuerdo con Briseño (2012), esta bebida, cuya propuesta de valor es la fidelidad a las recetas originales, podría alcanzar hasta 5% del mercado en los próximos años.

Las cervecerías artesanales son un gran nicho para emprendedores en desarrollo. Se trata de una tendencia natural de promover estilos diferentes de cerveza y buscar más variedad para el consumidor.

2. Justificación

La cerveza artesanal se define como un producto que proviene de una cervecería independiente, elaborada con 100% malta, sin adjuntos que aligeren el sabor y sin aditivos, el filtrado es inexistente lo que le proporciona atributos como sabor, cuerpo, olor y color característicos. El proceso de elaboración de la cerveza artesanal es manual, desde la molienda de las maltas hasta el embotellado. Estas características hacen que sus costos y precio de ventas sean más altos que las cervezas comerciales.

El mercado de la cerveza artesanal esta en crecimiento, ya que han comenzado a surgir productos originales con recetas propias de autor como cervezas con maíz, flores, frutas, chile, extracto de bambú, hasta cervezas con sabor a nogada.

Dentro de la clasificación de la cerveza se encuentra la 'ale', la cual utilizan levadura de fermentación alta y manejan temperatura de 15° a 25°C; está en sí se subclasifica en Pale ale, Bitter, Brown ale, Mild ale y Stout o Porter. Una cerveza tipo 'stout' es aquella que es elaborada con cebada tostada (sin maltear), malta tostada para dar el color oscuro y las notas de café o chocolate típicas, además de un toque de malta caramelo, dependiendo del grado de dulzor que el cervecero busca en su receta.

Se ha optado por elaborar una cerveza tipo 'stout' debido a que es una de las únicas cervezas a la que se le adiciona lactosa para darle un toque más dulce, además de incrementar el cuerpo e incluso aumentar el contenido nutricional.

Debido a que se busca elaborar un producto con características únicas y originales se plantea la utilización de suero de leche como sustrato, debido a que este contiene un alto valor nutricional, como son: carbohidratos, minerales, vitaminas hidrosolubles y proteínas solubles. Asimismo, la utilización de granos de kéfir para la obtención de etanol y características propias de una cerveza, en compañía con *Saccharomyces cerevisiae* para activar las bacterias ácido lácticas heterofermentativas y las levaduras presentes en los granos de kéfir.

3. Objetivos

3.1 Objetivo General

Elaborar y evaluar una cerveza artesanal tipo 'stout' con suero de leche como sustrato y una mezcla de granos de kéfir con *Saccharomyces cerevisiae* como fuente de inóculo.

3.2 Objetivos Específicos

- 1) Determinar las cantidades de mezclas de cebada para obtener una cerveza tipo 'stout'.
- 2) Adoptar el proceso de fermentación de cerveza artesanal para emplear granos de kéfir como complemento de levadura.
- 3) Identificar el tiempo de fermentación de los granos de kéfir en suero para obtener el contenido de alcohol deseado y prevenir un desvío a otra ruta fermentativa.
- 4) Evaluar fisicoquímicamente el producto obtenido para determinar si entra en los parámetros dados con las normas adecuadas.
- 5) Realizar una evaluación sensorial descriptiva del producto y observar la aceptabilidad de dicho producto en el panel para hacer mejoras en el producto.

4. Hipótesis

Se podrá obtener una cerveza artesanal tipo 'stout' con características fisicoquímicas sensoriales deseables, a partir de una fermentación con suero de leche y una mezcla de granos de kéfir con *Saccharomyces cerevisiae* como agente de fermentación.

CAPITULO I

5. Marco teórico

La elaboración de la cerveza es un proceso de fermentación que el hombre aprendió desde épocas tempranas, donde solo crecían cereales y el clima era frío. Desde la Edad Media elaborar cerveza se ha consideraba todo un arte que debía ser resguardado por maestros cerveceros. La fabricación de la cerveza en gran

escala surgió entre los siglos XIV y XVI, en el norte y centro de Europa (Hough, 1990).

La producción en México está dominada por empresas transnacionales. Sin embargo, para 1995 comenzó la revolución de microcervecías y cervezas artesanales con la producción de Cosaco (México). Desde el 2002 han surgido compañías cerveceras artesanales como Cucapá (Baja California), Bayernbräu (Puebla), Beer lounge (Jalisco), Minerva (Jalisco), Jack (Estado de México), Cervecería Mexicana, Primus (Estado de México), Baja Brewing (Estado de Baja California sur), La Bru (Michoacán), Poe, Calavera (Estado de México), Revolución (Estado de México), Ramuri (Estado de Baja California Sur).

El movimiento de la cerveza artesanal en México comenzó un poco más de 10 años. Existen más de 20 microcervecías; se estima que la producción total es de 60,000 HL, una cantidad mínima comparada con los 93 millones de HL producidos por los dos grandes grupos cerveceros en el país (Ibáñez, 2010).

5.1 Cerveza

La cerveza es una bebida alcohólica producida por la fermentación de azúcares obtenidos de cebada malteada, donde el almidón ha sido parcialmente hidrolizado y el lúpulo proporciona el sabor característico.

Existen dos tipos de cervezas, clasificadas de acuerdo al tipo de levadura empleada en su elaboración. A la cerveza elaborada con levadura de 'fermentación baja' que fermentan lentamente en el fondo de la cuba, entre los 5-9°C se le conoce como 'Lager'. Esta cerveza se subclasifica en (a) Pilsener, Hell o Pale (elaborada con malta pálida, son carentes de sabor dulce y aromatizadas con lúpulo), (b) Munich, Dunkel o Dark (elaboradas con maltas oscuras, algunas veces ligeramente dulces y son más fuertes que las pálidas) y (c) Bock, Marzen o

Marzenbier (cervezas de gran fuerza elaboradas sólo en ciertas épocas del año). Por otra parte las cervezas tipo 'Ale' son elaboradas con levaduras de 'fermentación alta' es decir, aquellas que fermentan en la superficie del mosto en la fermentación. Las cervezas tipo 'Ale' fermentan a temperaturas de 15- 25°C y más rápido, las diferentes variedades de esta cerveza son (a) Pale ale (cervezas elaboradas a partir de maltas pálidas y fuertemente aromatizadas con lúpulo y poco dulces). (b) Bitter (amargas es un término usado para 'pale ale' de barril). (c) Brown ale (amargas elaboradas con maltas que proporcionan un color intenso, más dulces y con menor lúpulo que las pálidas). (d) Mild ale (suaves cerveza equivalente a la cerveza de barril). (e) Stout o Porter (cervezas muy oscuras, algunas intensamente amargas y otras muy dulces) y (f) Vinos de cebada generalmente muy pálidos. (Hough, 1990)

Los ingredientes utilizados para la elaboración de cerveza son: agua, malta de cebada, adjuntos, levadura y el lúpulo. (García, 1993), estos ingredientes se describirán a continuación.

5.2 Cebada

La cebada (*Hordeum spontaneum*), es el ingrediente principal de la cerveza. La calidad aromática de la cerveza depende de la cebada empleada durante el proceso de malteado. La cebada utilizada para la elaboración de malta destinada a la producción de cerveza es más rica en almidón; además contiene proteínas en cantidad suficiente para proporcionar aminoácidos necesarios para el crecimiento de la levadura y sustancias nitrogenadas. (Hernández et al., 2003)

El malteo un proceso donde se incrementa la actividad enzimática del grano, principalmente amilolítica, ya que, el grano de cebada tiene un contenido relativamente bajo de azúcares fermentables, el cual se aumenta durante el malteo, pero lo más importante es que durante éste se incrementa considerablemente el contenido de enzimas amilolíticas, las cuales en el proceso de elaboración de cerveza van a degradar el almidón del mosto, generando

cantidades necesarias de azúcares fermentables para llevar a cabo la fermentación.

La actividad enzimática de la malta es suficiente no sólo para hidrolizar los componentes de ésta durante la sacarificación en el proceso cervecero, sino además del material adicional de granos sin germinar que normalmente se utilizan con objeto de reducir costos. Estos granos sin germinar, o de hecho cualquier fuente de almidón o azúcares fermentables adicionales al mosto además de la malta, reciben el nombre de adjuntos, Éstos pueden ser los granos enteros molidos, o bien productos derivados de ellos como sémola, almidón granos precocidos, hojuelas o jarabes (Barbado, 2003). En la actualidad se usan enzimas industriales de origen microbiano como la β glucanasa, la α amilasa y la proteasa neutra de *Bacillus subtilis* para compensar la ausencia de enzimas en una cebada durante la fermentación. Las enzimas proteolíticas de la cebada en germinación y de la malta producen una mezcla de aminoácidos libres, caracterizada por una elevada proporción de aminoácidos prolina; no utilizado por la levadura de cerveza durante a fermentación. La cerveza fabricada a partir de cebada puede identificarse por su inferior contenido en prolina porque la proteína de la cebada no malteada se degrada más difícilmente que la proteína de la malta (Hough, 2002).

5.3 Agua

El agua es el componente mayoritario de la cerveza (85-90%). La composición del agua tiene una gran influencia en la calidad y el tipo de cerveza. Por eso, durante muchos años, varias cervezas de renombre atribuyen sus características a la calidad del agua que había en sus fábricas.

La concentración de bicarbonatos en agua debe vigilarse ya que al elevarse, incrementa el pH y podría ser desfavorable para la actividad de enzimas. Por otro

lado, los iones de calcio y magnesio tienen un efecto acidificador favorable para la maceración y la fermentación, por lo que es común adicionar cloruro de calcio o sulfato de calcio hasta alcanzar una concentración de 350 mg de CaO/L. Los iones magnesio son menos deseables que los de calcio, porque un exceso produce un deterioro de sabor. El contenido de nitratos debe oscilar entre 25 y 50 mg/L, si es superior, los nitratos son reducidos a nitritos, compuestos que causan daños a la levadura e interfieren en el proceso de fermentación (Hernández, 2003).

5.4 Lúpulo

El lúpulo es una planta trepadora perteneciente a la familia de las cannabaceas. Actualmente se utilizan las hojas de la planta, las cuales pasan por un proceso de molienda y deshidratación, son comprimidas en forma de cilindros de 1 cm aproximadamente por 4mm de ancho, a estos cilindros se les llama 'pellets'. Además, el lúpulo funciona como conservador, inhibiendo microorganismos patógenos e indeseables en la cerveza.

El principal componente amargo de la cerveza proveniente del lúpulo es el ácido α humulona. Es importante considerar que para su conservación se mantengan en lugares a 0°C donde el grado hidrométrico no pase de 70-75%, ya que el oxígeno, la temperatura y la humedad hacen que los ácidos se oxiden y polimericen rápidamente perdiendo su amargor.

5.5 Levadura

Las levaduras son hongos unicelulares, generalmente el genero *Saccharomyces* se han relacionado con la elaboración de bebidas alcohólicas, debido a su resistencia a la producción de etanol.

Para la elaboración de una cerveza, las cepas utilizadas dependen primordialmente del tipo de cerveza a producir. La cepa *Saccharomyces*

cerevisiae se utiliza como levadura de fermentación en superficie, para la elaboración de cerveza tipo 'ale', las cuales se realizan a una temperatura de 15 a 25°C; la forma de sus células puede ser esférica, elipsoidal, cilíndrica o sumamente alargada. Tienen la capacidad de fermentar y asimilar la glucosa, sacarosa, y galactosa. El nitrato no lo pueden emplear como medio de nitrógeno.

5.6 Suero de leche

El suero es un líquido remanente de la coagulación de la leche durante la elaboración de quesos. Se obtiene tras la separación de proteínas (caseínas) y de la grasa. El suero constituye aproximadamente el 90% del volumen de la leche y contiene la mayor parte de sus componentes solubles en agua: carbohidratos, minerales, vitaminas hidrosolubles y proteínas solubles (Valencia y Ramírez, 2009).

Existen 2 tipos de suero, suero ácido y suero dulce, el primero es el proveniente de la coagulación ácida y corresponde a la fabricación de quesos frescos o de pasta blanda y el segundo proviene de la coagulación enzimática (renina) y es conveniente para todas las utilizaciones o transformaciones.

En México se estima que se aprovecha sólo cerca el 10% del suero de leche. Las alternativas de aprovechamiento del suero de leche pueden ser: (a) Procesos fermentativos. El suero de leche puede ser utilizado como medio de cultivo para la producción de biomasa (proteína unicelular como la levadura para panificación), metabolitos (lípidos, pigmentos, alcoholes, ácidos orgánicos, biopolímeros) y enzimas. En este medio la lactosa es la principal fuente de carbono para los microorganismos, incluso se ha utilizado para células vegetales. (b)Elaboración de bebidas. También se ha estudiado la elaboración de bebidas o fórmulas lácteas con valor nutritivo similar al de la leche y con características agradables al consumidor. (c)Producción de biofertilizantes. Estos abonos nutren eficientemente los cultivos y se convierten en un restaurador de la flora microbiana del

ecosistema del cultivo, además el ácido láctico presente ayuda a eliminar bacterias patógenas. (d)Tecnología de empaques. El suero de leche se usa para producir por vía fermentativa un ingrediente antimicrobiano utilizado en la elaboración de empaques comestibles. De esta forma se obtienen películas biodegradables con actividad antibacteriana, esta película alarga la vida de anaquel, aumentando la caducidad y conservación de los alimentos. (Valencia, y Ramírez, 2009)

5.7 Kéfir

Los granos de kéfir o nódulos surgen de una simbiosis de microorganismos atrapados en una matriz de polisacáridos; el inóculo se encuentra inmóvil, los nódulos no se disuelven en la leche, continúan su crecimiento ya que se alimentan de ella, lo cual permite su reutilización por filtración de la leche fermentada producida. Los granos de kéfir miden 0,5 a 3,5 cm de diámetro, son de forma irregular, masas amarillentas semejantes en apariencia a las flores de coliflor. La matriz esta formada por un polisacárido de glucosa y galactosa que recibe el nombre de kefirano; 24% está constituido por carbohidratos y 13% por proteína. Existe consenso sobre la presencia de *Lactobacillus kéfir* y la levadura *Candida kefyr* como la flora dominante de los granos, aunque también se ha encontrado presencia de *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *L. mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Lactobacillus brevis*, *L. casei* subsp *casei*. *L. acidophilus* y con poca frecuencia *Lactobacillus lactis* subsp. *Lactis*, además de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Sólo entre el 5 y 10% de la población microbiana de los granos de kéfir son levaduras. (García et al., 1993)

5.8 Investigaciones previas

El suero de leche es un subproducto de la manufactura de quesos, caseínas y mantequilla; es un efluente de mayor impacto ambiental, principalmente al agua, ya que se considera un compuesto con una alta demanda bioquímica de oxígeno

(DBO) que oscila de 40,000 a 50,000 O₂ mg·L⁻¹. El vertido de 1 L de suero causaría la muerte de todos los peces contenidos en 10 Ton de agua. (Robinson, 1994).

Se han planteado alternativas para el aprovechamiento del suero de leche, donde destacan la elaboración de bebidas fermentadas. (Aguirre et al. 2009). Diversos trabajos han empleado el suero de leche como principal fuente de carbohidratos derivados de la lactosa presente.

Londoño (2008), elaboró una bebida de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*, a la cual se le realizaron pruebas fisicoquímicas y microbiológicas por triplicado, en los días 1, 7, 14 y 21 días, dentro de las cuales destaca una disminución de pH desde la inoculación de la cepa hasta el último día de prueba, que osciló de 3.73 a 3.51, un aumento del % (v/v) de acidez de 0.81 a 0.90 y un aumento de sólidos solubles de 14.0 a 14.30, el análisis microbiológico determinó que la bebida obtenida puede tener propiedades probióticas al tener una concentración de microorganismos mayor de 1·10⁷ por mL, además, se realizó una evaluación sensorial de escala hedónica, la cual arrojó una calificación de 'Me gusta mucho'.

Además se ha optado la utilización de suero de leche como sustrato para la extracción de ácido láctico. Sánchez y Ramírez (2007) realizaron una evaluación por medio de una fermentación extractiva con ayuda de *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus*, donde se utiliza una fase orgánica compuesta por hexano, heptano, iso-octano y tributil fosfato; y TBP como agente extractante, donde se obtuvo 3g/L de ácido láctico.

En países industrializados se ha estudiado la obtención de etanol a partir del suero de leche, donde se ha observado que a mayor concentración de suero de leche, menor será el rendimiento de la fermentación. Al emplearse concentraciones de lactosa de 20 a 25%, se pueden obtener caldos con 10 a 12% de etanol,

utilizándose levaduras resistentes al mismo y capaces de fermentar lactosa, como *Candida kefir* y *Saccharomyces cerevisiae* (García, 1993).

La obtención de bebidas alcohólicas a partir del suero de leche utilizado como sustrato es una posibilidad para su aprovechamiento. Asimismo, la utilización de los granos de kéfir, al contener levaduras con las características ideales para llevar a cabo un proceso de fermentación, es una alternativa que se ha explorado previamente.

La elaboración de bebidas a partir de granos de kéfir da como resultado ácido láctico, ácido acético, etanol y dióxido de carbono. Suriasih (2012), evaluó las propiedades químicas y microbiológicas de una leche fermentada con granos de kéfir, en la región de Bali, inoculada con 5% (p/v) de granos de kéfir distribuidas en botellas de vidrio selladas e incubadas a temperatura ambiente, donde se observó que el periodo de incubación de los granos es primordial, ya que a mayor tiempo, el aumento en el contenido de proteína y acidez valorable será mayor, pero disminuyendo el contenido de lactosa y el pH. Los resultados obtenidos fueron de 5.68 a 6.26% para proteína, 3.98 a 4.67% para lactosa, 0.89 a 1.73% de acidez valorable y 3.38 a 4.35 de pH. Los recuentos de bacterias ácido lácticas y levaduras fueron de 10⁸ a 10⁹ ufc/mL y 10⁵ a 10⁶ ufc/mL respectivamente, no existió presencia de coliformes ni *E. coli*.

Dornelles et al.(2006) realizó un estudio sobre la viabilidad para la obtención de etanol por medio de una fermentación con granos de kéfir en 50 mL de caldo de caña y realizándose una comparación con *Saccharomyces cerevisiae*., donde los análisis fisicoquímicos mostraron que °Brix, azúcar residual, pH, etanol y % de rendimiento, estaban en los rangos de 3-6°, 0.99-4.40 g/L, 2.96-3.21, 16-44 g/L y 20.80-37.59% para granos de kéfir respectivamente. 4-8°, 0.22-2.12 g/L, 3.84-4.48, 16.80-67-20 g/L y 21.27-56.29% para *Saccharomyces cerevisiae* respectivamente.

CAPITULO II

6. Metodología

En la Figura 1 se muestra el proceso que se llevó a cabo para la obtención de 24 unidades experimentales de cerveza tipo 'stout', dicho proceso se dividió en dos etapas.

La primera consta del proceso técnico de preparación del mosto para su transformación en cerveza, mediante la fermentación en tanques y fermentación en botella durante el embotellado. La segunda etapa muestra los análisis

fisicoquímicos cuyos resultados y discusión se muestran en el Capítulo III del presente trabajo.

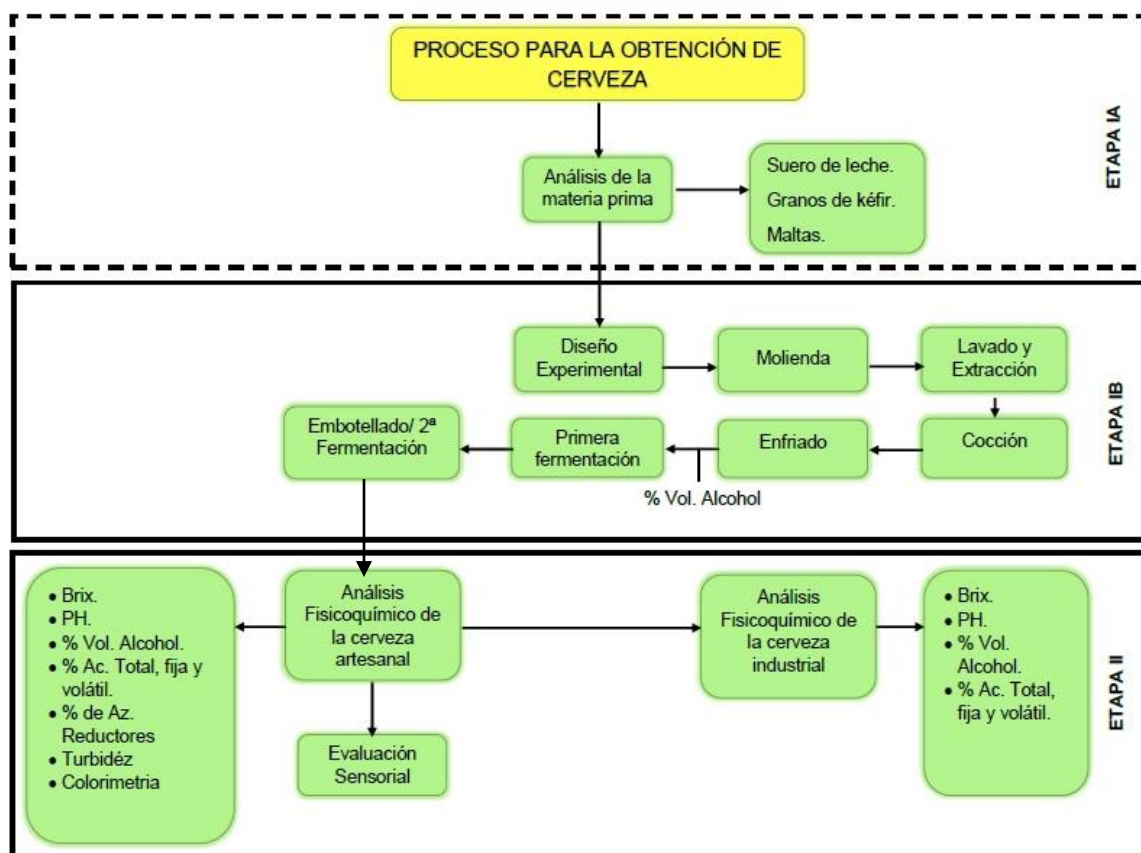


Figura 1. Diagrama general de trabajo

6.1 Proceso de elaboración de cerveza (Etapa IA)

6.1.1 Análisis de la materia prima

6.1.1.1 Suero de leche

El suero de leche empleado para la elaboración de la cerveza tipo 'stout' fue de requesón, el cual es una mezcla de suero dulce y ácido; la elección de este suero reside en que contiene una mayor cantidad de lactosa, ya que se incrementa proporcionalmente debido a que las proteínas han sido parcialmente removidas en la elaboración del requesón.

La materia prima fue obtenida con un proveedor local de lácteos ('La stala del nonno', Puebla, Pue).

Se determinaron las características fisicoquímicas del suero en un analizador ultrasónico Lactoscan LA50 (Milkoscan, Nova Zagora, Bulgaria); los parámetros analizados fueron: grasa, sólidos no grasos, lactosa, sólidos, proteína, agua agregada, densidad y punto de congelación.

Tabla 1 Composición del lactosuero de requesón, determinado mediante Lactoscan LA50

PARÁMETRO	SUERO DE LECHE (REQUESÓN) (%)
Grasa	0
Sólidos no grasos	12.09
Lactosa	5.43
Sólidos	0.89
Proteína	5.72
Agua agregada	0
Densidad	1.047 g/mL
Punto de congelación	-0.669 °C

6.1.1.2 Kéfir

Los granos de kéfir fueron obtenidos en el municipio de Amozoc de Mota, Puebla. 1 L de leche entera se trató térmicamente (95 °C, 15 min) y luego se enfrió inmediatamente a 25°C. Después se inoculó con 5% (p/p) de granos de kéfir, en un envase de 1 L, previamente sanitizado; se incubaron a temperatura ambiente durante 24 h, y se sometieron a repetidas inoculaciones por una semana para multiplicar los granos.

A la semana, los granos se sometieron a filtración y lavados sucesivos con agua purificada para eliminar residuos de leche. Se tomaron 15 g de granos de kéfir y

se colocaron en una caja petri para su posterior liofilización, la cual se realizó en un liofolizador Labconco®, (Missouri, EUA), a unas condiciones de 5 mbar a -55°C por 72 h.






6.1.1.3 Maltas

Las cebadas malteadas se obtuvieron en una tienda proveedora de ingredientes y materiales para la elaboración de cerveza casera, ubicada en el centro de la ciudad de Puebla.

Las maltas empleadas para la elaboración de una cerveza artesanal 'ale' tipo 'stout' fueron: malta base, malta caramelo, malta carapils, malta chocolate, cebada tostada (Briess, Wisconsin, EUA) (Tabla 2), las cuales se llevaron a un proceso de molienda, en una licuadora Osterizer (Oster, Nueva York, EUA) obteniendo para el primer tratamiento 1.36 Kg y para el segundo tratamiento 1.37 Kg.

La malta molida tuvo un 15% de cáscara, 45% de sémola y 15% de harina, ya que, a menor tamaño mayor será el contacto entre las enzimas y los sustratos, cuando la harina es más fina se reduce la cáscara que es uno de los principales constituyentes del residuo además que el proceso de separación se hará más difícil. (Higgins, 1996)

Tabla 2 Maltas empleadas para la elaboración de una cerveza artesanal tipo 'stout'

Malta base	Malta caramelo	Malta carapils	Malta chocolate	Cebada tostada
				

6.2 Proceso de elaboración de cerveza (Etapa IB)

De acuerdo a Hoggins (1996) se encontró que para la elaboración de 10 L de cerveza, se utilizan 2.72 Kg de malta. A partir de eso se elaboraron 5 L de cerveza para cada formulación (F₁ y F₂).

F₁ y F₂ se elaboraron con 25 y 50 % de suero de leche, asignándose F₁ 25%, F₁ 50% y F₂ 25%, F₂ 50% respectivamente, difiriendo en las formulaciones por el aumento del 10% en el contenido de malta en F₂.

Los porcentajes del inóculo (granos de Kéfir y *Saccharomyces cerevisiae*) se calcularon de acuerdo a la cantidad de mosto obtenido de la cocción, a una razón de 0.5 g por L.

6.2.1 Diseño experimental

Se realizó un diseño completamente aleatorio mediante un ANOVA con un nivel de confianza del 95% y con un $\alpha=0.05$, por medio del software estadístico Minitab 16, (BSA, Pennsylvania, EUA), en el que se obtuvieron 24 unidades experimentales, donde las variables de control fueron el porcentaje de malta (99.9 y 100.85 %), suero (25 y 50%) y agua (75 y 50%); y como respuesta °Brix, pH, Densidad final, Acidez total, Acidez fija, Acidez volátil, Azúcares reductores, Turbidez y Color.; como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3 Formulaciones de la cerveza artesanal 'stout' que se emplearon en este trabajo expresado en porcentaje (100%)

Variables independientes			Variables dependientes
Condición	Variables	Nivel (%)	
F ₁	% Malta	99.9	°Brix pH Densidad final
	Suero	25	
		50	
	Agua	75	

		50	Acidez total Acidez fija Acidez volátil
	Granos de kéfir	0.95	
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.5	
F ₂	% Malta	100.85	Azúcares reductores
	Suero	25	Turbidez
		50	Color
	Agua	75	Acidez total
		50	Acidez fija
		0.95	
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.5	

6.2.2 Macerado

La malta molida se remojó en 2.10 L de suero de leche a 78°C por cada formulación, lo cual hidrata la malta y activa las enzimas de la malta a solubilizar el endoespermo degradado de la malta molida.

Las maceraciones de las formulaciones se hicieron por separado por el método de infusión simple en recipientes de acero inoxidable (67°C, 90 min) para poder mantener dicha temperatura. (Carvajal, 2010)

6.2.3 Filtración

Se realizó la separación del mosto de las partículas sólidas, mediante lavados sucesivos con suero de leche y agua purificada a 76°C, donde se arrastraron todas las materias solubles residuales de las partículas sólidas que quedaron lavadas, deteniendo así la actividad enzimática. (Hernández, 2003)

6.2.4 Cocción

En la cocción se adicionó lúpulo Willamette (Hopunion LLC, Washington, EUA), el cual contiene 6% de α ácidos; se agregó 7.37 g de lúpulo, el cual proporcionó amargor requerido. Para proporcionar aroma se agregó 3.68 g de lúpulo Cascade (Hopunion LLC, Washington, EUA), con un contenido de alfa ácidos de 8% y se dejó en remojo durante los últimos 10 min del hervor.

Se llevó el mosto dulce a cocción a 92°C, a tapa abierta por una hora, para eliminar sabores no deseados y para la reducción de la carga microbiana, además de que se determina la coagulación de las proteínas que forman complejos de albúminas tánicas. Al final, se obtuvo un mosto lupulado y por consiguiente el lúpulo agotado, (Carvajal, 2010).

6.2.5 Enfriado

Se llevó a cabo introduciendo el extracto a inmersión en agua con hielos por un tiempo de 20 min para llegar a $T = 25^{\circ}\text{C}$. (Hernández, 2003)

6.2.6 Fermentación

Una vez reducida la temperatura de cada formulación, se trasvaso a fermentadores previamente desinfectados para evitar posible contaminación, se agregó 1.79 g de granos de kéfir liofilizados, agregándolos directamente al mosto. Para ayudar al proceso de fermentación se adicionó *Saccharomyces cerevisiae* activada previamente, en una razón de 0.5 g por L de formulación. A los fermentadores se les colocó su tapa, la cual, contaba con una trampa de aire para evitar que el dióxido de carbono escape y el alcohol permanezca en el mosto, como se muestra en la Figura 2.

El tiempo de fermentación fue de 14 días a 24°C, en depósitos de 5 L, una para cada formulación, respectivamente, de acuerdo con Dornelles (2006).



Figura 2. Fermentadores

6.2.7 Embotellado (Segunda fermentación)

Por medio de una decantación, se realizó un trasvase, para evitar el paso de residuos formados en la parte inferior durante la primera fermentación, donde se obtuvo un líquido color marrón como se muestra en la Figura 3.



Figura 3 Líquido obtenido de la decantación

El proceso se realizó en botellas de vidrio color ámbar, con capacidad de 355 mL, las cuales fueron lavadas y satinizadas con alcohol etílico al 70% previamente, como se muestra en la Figura 4. (Vignoli, 2006)

Para 7.5 L de cerveza se emplearon 46.4 g de azúcar para un rendimiento de 2.3 unidades de CO₂, con un tiempo de fermentación de 7 días (Carvajal, 2010).



Figura 4. Segunda fermentación

6.3 Análisis Fisicoquímicos (Etapa II)

Se realizaron los análisis fisicoquímicos descritos en el diagrama general de trabajo a la cerveza obtenida, donde se tomaron triplicados de cada una de las pruebas al finalizar los procesos de fermentación. Los cuales incluyen °Brix, pH, Densidad final, Acidez total, Acidez fija, Acidez volátil, Azúcares reductores, Turbidez y Color.

6.3.1 Sólidos solubles (°Brix)

Por medio de un brixómetro (ATAGO, Tokio, JPN), se realizó la medición de la concentración de sólidos solubles presentes en la cerveza; ya que por medio de la refracción de luz se tomó la lectura de los carbohidratos presentes. (Acevedo et al., 2009)

6.3.2 pH

Se realizó la medición del pH presente en la cerveza obtenida con un potenciómetro (Eutech, Illinois, EUA), el cual nos permitió medir el número de iones hidrógeno presentes en disolución, los cuales son un indicador de la acidez real o activa. (Sierra et al., 2007)

Se llevó la cerveza a temperatura del laboratorio; se introdujeron los electrodos previamente enjuagados en la muestra de cerveza y se leyó el pH. En condiciones normales, el resultado se expresó con una cifra decimal. (Acevedo et al., 2009)

6.3.3 Densidad final

La medición se realizó con un hidrómetro de triple escala, gravedad específica, °Brix y % de volumen de alcohol (Figura 5).

Para calcular el % de volumen de alcohol contenido se midió la gravedad específica antes y después de la fermentación, utilizando la Ecuación (1) que se muestra a continuación.

$$\% \text{ Alcohol contenido} = \text{Gravedad específica inicial} - \text{Gravedad específica final} \quad (\text{Ec.1})$$

La densidad final esperada para una cerveza 'American stout' está en un rango de 1.010 y 1.022 g/mL, con una graduación alcohólica de 5° a 7°. (Higgins, 1996)



Figura 5 Hidrómetro

6.3.4 Acidez total

Las muestras de cerveza acompañadas de una solución indicadora de fenolftaleína se sometieron a titulación con una solución 0.1N de NaOH, hasta detectar el primer tinte rosado durante 20 seg, como se observa en la Figura

5.



Figura 6. Prueba de Acidez total

De acuerdo al contenido de acidez en la cerveza se maneja una concentración de NaOH diferente para la cerveza obtenida y la cerveza artesanal existente en el mercado, empleándose la Ecuación 2, la cual es expresada en % ácido láctico (Madrid, 2003):

$$\% \text{Acidez total}_{\text{cerveza}} = \frac{(\text{Volumen usado}_{\text{mL}})([0.01\text{N}])(0.0901\text{meq})(100)}{\text{g}_{\text{muestra}}} \quad \text{(Ec.2)}$$

6.3.5 Acidez fija

Se determinó mediante la Norma Costarricense 113:1989. Norma de bebidas alcohólicas destiladas Determinación de la acidez total, acidez fija y acidez volátil, la acidez fija son los ácidos titulables presentes en el extracto seco que se determinan usando una base y fenolftaleína como indicador. Se realizó a baño maría, donde unas alícuotas de las cervezas se sometieron a repetidas evaporaciones con adiciones de agua, donde se obtuvo un residuo, al cual se le adicione fenolftaleína como indicador para ser sometido a una titulación de NaOH

al 0.01 N. Los valores obtenidos se expresan en % de ácido málico y láctico, como se muestra en la Figura 6.



Figura 7. Prueba de acidez fija

6.3.6 Acidez volátil

Está constituida por la parte de ácidos orgánicos, ácido acético expresa en meq/ L. La acidez volátil esta dada por la Ecuación (3):

$$\text{Acidez volátil} = \text{Acidez total} - \text{Acidez fija} \quad \text{(Ec.3)}$$

6.3.7 Azúcares reductores

Se realizó haciendo primero dos sub soluciones de Fehling, donde la solución A es de sulfato de cobre pentahidratado (II) disuelto en agua y la solución B contiene tartrato sódico potásico (sal de Rochelle) e hidróxido de sodio en agua. Las dos soluciones se suman en partes iguales para hacer la solución de la prueba final. La prueba es un método de detección de monosacáridos, específicamente aldosas y cetosas. Estos se detectan cuando el aldehído se oxida a ácido y forma un óxido cuproso. Al entrar en contacto con un grupo aldehído, se reduce a ión cuproso, que forma el precipitado rojo e indica la presencia de azúcares reductores. (AOAC 906.03) .Mediante la Ecuación (4) se determinó el % de azúcares reductores:

$$\% \text{Azúcares reductores} = \frac{F \cdot V}{m \cdot g} \times 100 \quad (\text{Ec.4})$$

6.3.8 Turbidez

La turbidez de la cerveza se realizó por triplicado, la cual se midió con un turbidímetro (Hach®, Colorado, EUA), como se muestra en la Figura 7. (Gallego, 2013)



Figura 8. Turbidímetro

6.3.9 Colorimetría

La medición de color se realizó por triplicado, con un colorímetro triestímulo Color Flex®, (Hunterlab, Virginia, EUA), en el cual, la escala de color dado será como CIE L*a*b*, donde:

L: recibe el nombre de luminosidad y se puede tomar valores de 0 y 100, dado que el 0 corresponde al color negro y el 100 al color blanco.

a*: define la desviación del punto aromático de claridad hacia el rojo y el verde.

b*: define la desviación hacia el amarillo y hacia el azul. (CIE 15., 2004)

Se empleó la Ecuación (6), para calcular la diferencia de color obtenidas durante la medición:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (\text{Ec.6})$$

Siendo:

$\Delta L = L$ muestra- L 'Lágrimas negras'
$\Delta a = a$ muestra- a 'Lágrimas negras'
$\Delta b = b$ muestra- b 'Lágrimas negras'

Los valores de ΔE se describen a continuación, Tabla 3.

Tabla 4. Escala de valores de ΔE (Rivera, 2013)

Valores de ΔE	Calidad
0 y 1	Excelente
1 y 2	Buena
2 y 4	Normal
4 y 5	Suficiente
Superiores a 5	Mala

6.3.10 Análisis fisicoquímicos de cervezas artesanales comerciales.

Se realizó un análisis fisicoquímico a dos cervezas artesanales existentes en el mercado, con el propósito de hacer una comparación de las cuatro formulaciones elaboradas en éste trabajo. Las pruebas fueron °Brix, pH, Densidad (% de Volumen de alcohol), % de Acidez total, % de Acidez fija y % de Acidez volátil.

Las cervezas utilizadas para estas pruebas fueron Mexican Imperial Stout (B₁) y Lágrimas negras (B₂), (Figura 8), está última se utilizó como referencia para medir el color, debido a su similitud con las cervezas experimentales.



Figura 9. Cervezas artesanales empleadas como control, B₁.
Mexican imperial Stout, B₂ Lágrimas negras

6.4 Evaluación sensorial

En la evaluación sensorial se empleó una escala de aceptación hedónica de 9 puntos, en el cual, se emplearon 30 jueces no entrenados, donde se otorgaron las cuatro muestras obtenidas en el presente trabajo, Figura 9 las cuales fueron evaluadas en color, sabor y aroma, la escala que se contempló se muestra en la Tabla 5. (Boan, 2008)

Tabla 5 Escala sensorial empleada modificada (Sancho, 1999)

9	Me gusta muchísimo
8	Me gusta mucho
7	Me gusta moderadamente
6	Me gusta un poco
5	Ni me disgusta ni me gusta
4	Me disgusta un poco
3	Me disgusta moderadamente
2	Me disgusta mucho
1	Me disgusta muchísimo

Con los datos obtenidos de los jueces, se realizaron tablas que se encuentran en el Anexo IV, con las cuales se elaboró un análisis de modelo lineal general para saber si existió diferencia significativa entre las muestras. (Schmidt-Hebbel, 2001).

CAPITULO III

7. Resultados y discusión

Después de haberse realizado adecuadamente la primera etapa de la metodología, Capítulo II, se obtuvieron 24 botellas de cerveza 'stout', 'American stout' por su denominación de origen, a partir de las 4 formulaciones, donde se obtuvieron muestras al finalizar la segunda fermentación en la botella, a las que se les realizó un monitoreo con el análisis fisicoquímico descrito anteriormente.

Tras realizar una investigación previa a normas mexicanas no se encontró ninguna información relacionada con cerveza artesanal, por lo cual se recurrió al Código Alimentario Argentino, Capítulo XIII, Bebidas fermentadas, ya que, los métodos analíticos de esta norma están basados en asociaciones internacionales oficiales de cerveceros artesanales, como son ASBC (Sociedad Americana de Químicos de Elaboración de la Cerveza) y ESBC (Convención Europea de Cerveceros).

7.1 Sólidos solubles (° Brix)

Empleando el método Tukey se obtuvieron los valores de la Tabla 6, donde se observan las medias de °Brix para cada tratamiento. Las medias con superíndices diferentes indican una diferencia significativa. (P=0.05)

Tabla 6 Diferencia entre °Brix en cerveza artesanal tipo 'stout'

Formulaciones	°Brix
F ₁ 50%	7.2±0.05 ^{A*}
F ₁ 25%	6.9±0.05 ^{B*}
F ₂ 50%	6.7±0.05 ^{C*}
F ₂ 25%	5.9±0.05 ^{D*}

* Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencia significativa (P=0.05)

En la Tabla 6 se muestran los promedios de los 4 tratamientos (medias de los tratamientos). Hubo una variación notable de sólidos solubles después de las fermentaciones, presentando un mínimo de 5.9 para la muestra F₂ 25% y un máximo de 7.2 para el tratamiento F₁ 50%.

Se realizaron pruebas a dos cervezas ya existentes en el mercado, la cuales pertenecen al mismo estilo de cerveza realizada en el presente estudio, estas presentaron valores de 12.6° y 11° respectivamente. Comparando estos valores de °Brix obtenidos para los cuatro tratamientos nos indica que el contenido de sólidos solubles difiere, esto puede deberse a que en el proceso de maceración se les añadieron mayores cantidades de malta e ingredientes extras.

Los valores de °Brix son aproximados a los obtenidos por Dornelles y Rodrigues (1995) (3 a 6) para la fermentación de caldo de caña con granos de kékfir y similares (4 a 8) para la fermentación de caldo de caña con *Saccharomyces cerevisiae*.

Por lo tanto los valores de °Brix indican que todas las formulaciones son diferentes entre sí, debido a que los carbohidratos presentes fueron degradados por los granos de kékfir liofilizados con ayuda de la levadura, durante la fermentación y el embotellado, ya que en este último los azúcares aún presentes se degradaron para dar lugar a el CO₂ presente en el producto final.

7.2 pH

Empleando el método Tukey, se obtuvieron los valores de la Tabla 7, donde se observan las medias de pH para cada tratamiento. Las medias con superíndice A y B resultaron tener diferencias significativas de pH. (p=0.05)

Tabla 7 Diferencia entre pH en cerveza artesanal tipo 'stout'

Formulaciones	pH
F₂ 50%	4.3±0.05 ^{A*}
F₁ 50%	4.3±0.05 ^A

F₁ 25%	4.0±0.05 ^{B*}
F₂ 25%	3.9±0.05 ^B

* Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencia significativa (P=0.05)

El pH de las muestras F₁ 25% F₁ 50% y F₂ 50% se encuentra en el rango de 4 y 5, que representan el pH ideal según el Código Alimentario Argentino (Anexo I). Y para la muestra F₂ 25% el pH resulto ser un poco menor a lo indicado por esta norma, esto puede deberse a que durante el proceso de cocción con el lúpulo añadido la acidez del mosto aumento y por lo tanto bajo su pH, además su contenido de alcohol (4%) contribuyó a la disminución del mismo.

Los valores obtenidos con el empleo de 50% de suero de leche son más altos que los obtenidos con el 25% de suero de leche para la maceración de la cerveza.

Se realizó un análisis con cervezas comerciales, la cuales presentaron pH de 5 y 5.1 respectivamente. La comparación de estos valores con los obtenidos de la Tabla 7, indica que el contenido de iones hidrógeno es mayor en las cervezas comerciales que en la de los tratamientos.

Los valores de pH obtenidos son similares a los de Ketut et al. () (3.38 a 4.35) para una bebida kefirada y menores a los de Londoño y Marciales (1999) (4.30 a 4.45) para una bebida fermentada con suero de queso fresco.

De acuerdo con los análisis realizados, se obtiene que los valores de pH de las formulaciones son diferentes en contenido de iones hidrógeno, ya que la disminución de la acidez durante el proceso de elaboración de las cervezas puede ser atribuible a la metabolización de la lactosa presente en el suero de leche a

ácido láctico como consecuencia del crecimiento y la actividad de los granos de kéfir en compañía de *Saccharomyces cerevisiae*.

7.3 Densidad final

Para esta prueba solo se realizó una única medición de densidad, antes de activar la levadura y después de haberse realizado la segunda fermentación.

Empleando el método Tukey, se obtuvieron los valores de la Tabla 8, donde se observaron las medias de densidad para cada tratamiento. Los superíndices diferentes representan una diferencia significativa ($P=0.05$)

Tabla 8 Diferencia entre % Alcohol en cerveza artesanal tipo 'stout'

Formulaciones	%Alcohol
F₁ 50%	6.0±0.216 ^{A*}
F₂ 50%	5.6±0.216 ^{AB}
F₁ 25%	5.3±0.216 ^{B*}
F₂ 25%	3.9±0.216 ^{C*}

* Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($P=0.05$)

Se realizó una comparación entre cervezas que pertenecientes al mismo estilo, ya existentes en el mercado y con los datos obtenidos para los cuatro tratamientos, las cuales presentaron un 8 % de volumen de alcohol, contenido mayor al obtenido. Esto puede deberse a que el contenido de adjuntos para su maceración fue mayor, además las características de las cervezas difieren por su denominación de origen, ya que, una cerveza denominada Imperial stout contiene mayor contenido de alcohol de 8 a 12% y una American stout de 5 a 7%.

Los valores obtenidos de % de Alcohol son similares a los obtenidos por Carvajal (2010) (4.49% a 5.27%) para una cerveza artesanal elaborada con cebada en compañía de yuca.

De acuerdo a los datos obtenidos en la Tabla 8, se considera al producto final de cada formulación como cerveza con alcohol o cerveza, ya que el contenido de alcohol es mayor al 0.5 % Vol., según lo dictado en el Código Alimentario Argentino, Capítulo XIII, Artículo 1080 para bebidas fermentadas (Anexo I).

Esto se debe a que se realizó una buena actividad proteolítica y una adecuada degradación de almidón durante el proceso de maceración, lo que dio lugar a hidratos de carbonos disponibles para su consecuente conversión a CO₂, ya que a mayor contenido de azúcares fermentables mayor será el CO₂ producido por las levaduras, obteniendo un alto % de volumen de alcohol, por lo que se categoriza como una cerveza American stout (5 a 7%).

El uso de granos de kéfir como sustituto de levadura en ayuda de la *Saccharomyces cerevisiae* producen alcoholes superiores y ésteres que cuando se utilizan levaduras de fermentación profunda.

7.4 Acidez total

Empleando el método de Tukey se obtuvieron los valores de la Tabla 9, donde se encuentran las medias de acidez total para cada tratamiento.

Tabla 9 Diferencia entre % Acidez total en cerveza artesanal tipo 'stout'

Formulaciones	Acidez total (meq/L **)
F₁ 50%	0.8±0.05 ^{A*}
F₂ 50%	0.7±0.05 ^{B*}
F₂ 25%	0.6±0.05 ^{C*}
F₁ 25%	0.5±0.05 ^C

*Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencia significativa (P=0.05) **AOAC 962.12

En la Tabla 9 se muestra la Acidez total titulable expresada como % del ácido láctico para las 4 muestras correspondientes, donde se presentan sus promedios, determinando un valor mínimo de 0.54 para F₁ 25% y un valor máximo de 0.8 para F₁ 50%, expresados en meq de ácido láctico por L. Sin embargo, los valores obtenidos por las cuatro formulaciones de cerveza se encuentran dentro del rango dictado por el Código Alimentario Argentino, Capítulo XIII, Artículo 1082 para bebidas fermentadas. Anexo I, el cual dicta que la acidez total no deberá exceder de 3 por ciento p/p referido al extracto del mosto original.

Comparando los valores de las cuatro formulaciones con los de cervezas utilizadas como referencia 0.466 meq/L, 0.575 meq/L, se observa que los valores son similares entre sí; esto se debe a que la acidez se originó adecuadamente durante la preparación del mosto y en la fermentación.

Los valores de acidez obtenidos para F₂ 50%, F₂ 25% y F₂ 50%, son menores a los expuestos por Londoño et al. (2008) (0.81% a 0.90%), correspondientes a una bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. Según Tamine y Robinson (1998) la vida útil del producto depende del contenido de ácido láctico (0.68%).

Las bacterias heterofermentativas de los granos de kéfir liofilizados contribuyeron a que en el proceso de fermentación se formaran ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico, a una velocidad conveniente para tener una fermentación consistente y exitosa. Además de que el ácido láctico obtenido ayudó a evitar la formación de flora contaminante y patógena.

Las BAL poseen actividades proteolíticas y lipolíticas, las cuales contribuyen en la formación de compuestos de sabor y aroma típicos de una cerveza 'stout', a la producción de alcohol y a la fijación del CO₂ en los procesos de fermentación. También ayudan a la formación y estabilización de la espuma; las burbujas de gas formadas durante la maduración de la cerveza están cubiertas de una envoltura de coloides proteícos y del lúpulo, estas a su vez impiden que en la

disminución de presión al abrir una botella de cerveza se produzca una salida rápida de CO₂, manteniéndose en las burbujas gaseosas.

7.5 Acidez fija

Al realizarse esta prueba se calcularon los promedios de cada tratamiento (Tabla 10. Se obtuvo el % de acidez fija presente en el extracto seco de las muestras, donde se presenta un valor máximo de F₁ 50% de 0.03 y un valor mínimo de 0.02, expresados en mili equivalentes de ácido acético por litro (meq/L), para las otras tres formulaciones, dado que éste es el ácido que se evapora espontáneamente.

Tabla 10 Diferencia entre % de Acidez fija en cerveza artesanal tipo 'stout'

Formulaciones	Acidez fija (meq/L **)
F₁ 50%	0.03±0.00 ^{A*}
F₁ 25%	0.02±0.00 ^{B*}
F₂ 50%	0.02±0.00 ^B
F₂ 25%	0.02±0.00 ^B

*Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencia significativa (P=0.05) ** Norma Costarricense 113:1989.

Empleando el método Tukey, se obtuvieron los valores de la Tabla 10, donde se localizan las medias de Acidez fija para cada tratamiento.

Comparando los valores obtenidos para las cuatro formulaciones con dos cervezas ya existentes en el mercado, las cuales presentaron % de acidez fija de 0.161 y 0.178 meq/L respectivamente, se obtiene que las formulaciones contienen menor porcentaje de ácidos orgánicos, provenientes de la fermentación, así como de los minerales que se encuentran en la composición de la cerveza.

Los valores obtenidos de % de Acidez fija son menores a los expuestos por Meza y Rodríguez (2013) (0.0753% a 0.099%) para la elaboración de una bebida tipo cerveza con cáscara de plátano macho.

7.6 Acidez volátil

Utilizando el método de Tukey, se obtuvieron los valores de la Tabla 11, donde se localizan las medias de Acidez volátil para cada tratamiento. Las medias con superíndice A, B y C representan diferencia significativa (P=0.05).

Tabla 11 Diferencia entre % de Acidez volátil en cerveza artesanal tipo 'stout'

Formulaciones	Acidez volátil (meq/L ^{**})
F₁50%	0.8±0.03 ^{A*}
F₂50%	0.7±0.03 ^{B*}
F₂25%	0.6±0.03 ^{C*}
F₁25%	0.5±0.03 ^C

*Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencia significativa (P=0.05) ** Norma Costarricense 113:1989.

Respecto a los resultados obtenidos en la Tabla 11 y dado que la acidez volátil es la diferencia entre la acidez total y la acidez fija, donde se obtuvo un valor máximo de 0.8 y un valor mínimo de 0.5 mili equivalentes de ácido acético por L, los valores obtenidos fueron mayores a 0.5 %, valor máximo indicado por el Código Alimentario Argentino, Capítulo XIII, Artículo 1082, Anexo I, esto puede deberse a un posible contaminación durante el almacenamiento, ya que el producto corre más riesgo de contaminación por levaduras cerveceras, levaduras 'salvajes' y a bacterias a más de cuatro semanas de almacenamiento. Asimismo, el proceso de fermentación se desvió a otra ruta metabólica.

Se realizó una comparación con dos cervezas presentes en el mercado, con un contenido de 0.305 y 0.397 meq/L, se encontró que estos valores son menores a

los obtenidos de los cuatro tratamientos, esto se debe a un correcto proceso de almacenamiento, lo que ayudo a preservar la concentración de ácidos libres presentes en las cervezas.

Los valores obtenidos de % de Acidez volátil son mayores a los expuestos por Meza y Rodríguez (2013) (0.086 % a 0.153%) para la elaboración de una bebida tipo cerveza con cáscara de plátano macho.

7.7 Azúcares reductores

Empleando el método Tukey, se obtuvieron los valores de la Tabla 12, donde se localizan las medias de azúcares reductores para cada tratamiento.

Tabla 12 Diferencia entre % de Azúcares reductores en cerveza artesanal tipo 'stout'

Formulaciones	% de Azúcares reductores (g/L ^{**})
F₁25%	6.6±0.24 ^{A*}
F₂25%	6.1±0.24 ^A
F₁50%	2.8±0.24 ^{B*}
F₂50%	2.3±0.24 ^B

*Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencia significativa (P=0.05)

** AOAC 906.03

Los resultados promedios determinados se muestran en la Tabla 12, donde se puede observar que la formulación F₁ 25% y F₂ 25% contienen una mayor cantidad de azúcares, esto puede deberse a una menor metabolización de la lactosa por los granos de kéfir en compañía de *Saccharomyces cerevisiae* con respecto a las formulaciones F₁ 50% y F₂ 50%, ya que la proporción de suero de leche fue menor. Asimismo, la cantidad de lactosa; sumado a ello, los carbohidratos presentes en la malta, como lo son la glucosa, sacarosa, fructuosa, maltosa y maltotriosa no fueron degradados en su totalidad.

Los valores obtenidos de % de Azúcares reductores son menores a los expuestos por Meza y Rodríguez (2013) (20.73% a 41.86%) para la elaboración de una bebida tipo cerveza con cáscara de plátano macho, debido a que en la maceración se utilizaron cantidades mayores de azúcares, como es el caso de la lactosa presente en el suero de leche.

7.8 Análisis de Turbidez

Empleando el método Tukey, se obtuvieron los valores de la Tabla 13, donde se localizan las medias de los valores de turbidez para cada tratamiento. Las medias son superíndices diferentes indican una diferencia significativa (P=0.05).

Tabla 13 Diferencia entre Turbidez reductores en cerveza artesanal tipo 'stout'

Formulaciones	Turbidez (NTU ^{**})
F₂ 50%	712.7±2.04 ^{A*}
F₁ 50%	482.0±2.04 ^{B*}
F₂ 25%	246.3±2.04 ^{C*}
F₁ 25%	119.0±2.04 ^{D*}

*Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencia significativa (P=0.05) **NTU Nephelometric Turbidity Unit

De acuerdo a los valores obtenidos de turbidez (Tabla 13) se puede observar que estos son muy altos, ya que, una cerveza 'stout' por denominación de origen es oscura debido a que son elaboradas con maltas oscuras que proporcionan extractos muy coloreados a causa de las melanoidinas producidas durante el tostado. Asimismo, un exceso de sustancias nitrogenadas de elevado peso molecular conduce al desarrollo de turbidez después del envasado, ya que, el contenido de aminoácidos pudo haber excedido las necesidades de la levadura durante la fermentación, lo que facilitó la contaminación en el proceso de almacenamiento.

Además, en el proceso de almacenamiento suele incrementarse la turbidez debido a la presencia de las levaduras derivadas de la biomasa producida durante la primera fermentación, la cual se retiró por decantación para el proceso de embotellamiento.

Los valores obtenidos de Turbidez son mayores a los expuestos por Meza y Rodríguez (2013) (24.3 NTU a 88 NTU) para la elaboración de una bebida tipo cerveza con cáscara de plátano macho, debido a que los adjuntos empleados para su maceración fue mayor.

7.9 Análisis de Colorimetría

Empleando el método Tukey, se obtuvieron los valores de Tabla 14, donde se encuentran las medias de los valores de colorimetría para cada tratamiento.

Tabla 14 Diferencia entre colorimetría en cerveza artesanal tipo 'stout'

Formulaciones	Colorimetría (ΔE **)
F₂50%	12.8±0.96 ^{A*}
F₁50%	9.8±0.96 ^{B*}
F₂25%	7.4±0.96 ^{BC}
F₁25%	4.9±0.96 ^{C*}

*Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencia significativa (P=0.05)

** CIE 15., 2004

Se realizó una comparación con una cerveza comercial, Lágrimas negras, la cual obtuvo un valor de ΔE de 7.8, es un aproximado de F₂ 25% cuyo valor fue de 7.4, por lo tanto, el color de este tratamiento fue el más parecido a de la cerveza de referencia.

Los valores obtenidos de Colorimetría son mayores a los expuestos por Meza y Rodríguez (2013) (1.637 ΔE a 3.93 ΔE) para la elaboración de una bebida tipo

cerveza con cáscara de plátano macho., esto se debe al que al ser una cerveza tipo 'lager' es más clara que una cerveza tipo 'stout'.

El color característico de esta cerveza se debe a que se emplean maltas tostadas, las cuales generan extractos muy coloreados a causa de las melanoidinas producidas durante el tostado a partir de carbohidratos y sustancias nitrogenadas. (Hough, 1990)

De acuerdo a la Tabla 3, Valores de ΔE del Capítulo II, Metodología, se observa un valor mínimo de 4.9 y un valor máximo de 12.8, tomando en cuenta el valor de referencia obtenida de una cerveza comercial, Lágrimas negras, se observa que los valores de ΔE son mayores a 5, lo cual indica que la calidad es mala. (Rivera, 2013).

8. Evaluación sensorial

Se realizó un análisis sensorial de la cerveza obtenida, de acuerdo a la escala indicada en el punto 6.4 del Capítulo II Metodología.

En el Anexo IV se muestran los resultados obtenidos de los jueces no entrenados para cada tratamiento, donde se obtuvieron:

8.1 Análisis de sabor

De acuerdo a los gráficos de la Figura 10, se puede observar los siguientes resultados:

F₁ 25%: el sabor se encontró dentro de la escala en me gusta moderadamente.

F₁ 50%: se localizó el sabor en la categoría de me gusta moderadamente.

F₂ 25%: el sabor predominante en la escala fue, me gusta mucho.

F₂ 50%: el sabor entró en la categoría de me gusta un poco.

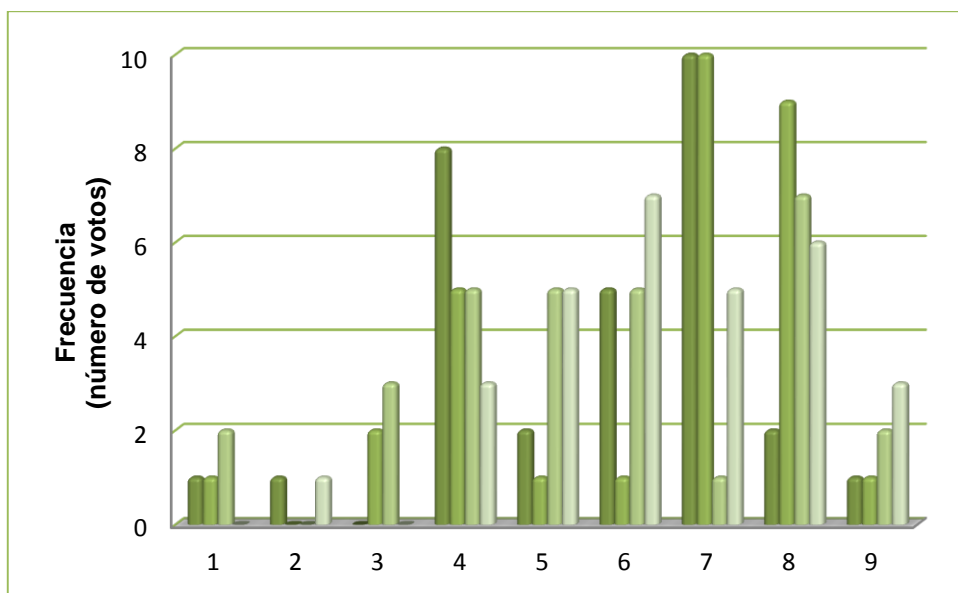


Figura 10 Sabor de cerveza tipo 'stout' empleando un análisis sensorial

Empleando el método de Tukey (Anexo II), se obtuvieron medias iguales de los valores de sabor en evaluación sensorial para cada tratamiento, asimismo superíndices iguales; lo que representa similitud en cuanto al sabor, por lo cual no representan diferencia significativa ($P=0.05$).

Las muestras F_1 25% y F_2 50% respectivamente, fueron las más aceptadas por los jueces no entrenados debido a que fueron más perceptibles los sabores a maltas tostadas, los sabores a café tostado molido y a que su contenido de alcohol no perjudicó las percepciones en boca. El sabor amargo característico de la cerveza fue aceptado y percibido por los jueces no entrenados, el cual surgió del lúpulo debido a su contenido de aceites esenciales y resinas amargas.

8.2 Análisis de Color

En base a los gráficos de la Figura 11, se obtuvieron los siguientes resultados:

F_1 25%: el color se encontró dentro de la escala en me gusta moderadamente.

F_1 50%: se localizó el color en la categoría de me gusta moderadamente.

F_2 25%: el color predominante en la escala fue, me gusta moderadamente.

F₂ 50%: el color entró en la categorías de me gusta mucho y me gusta moderadamente.

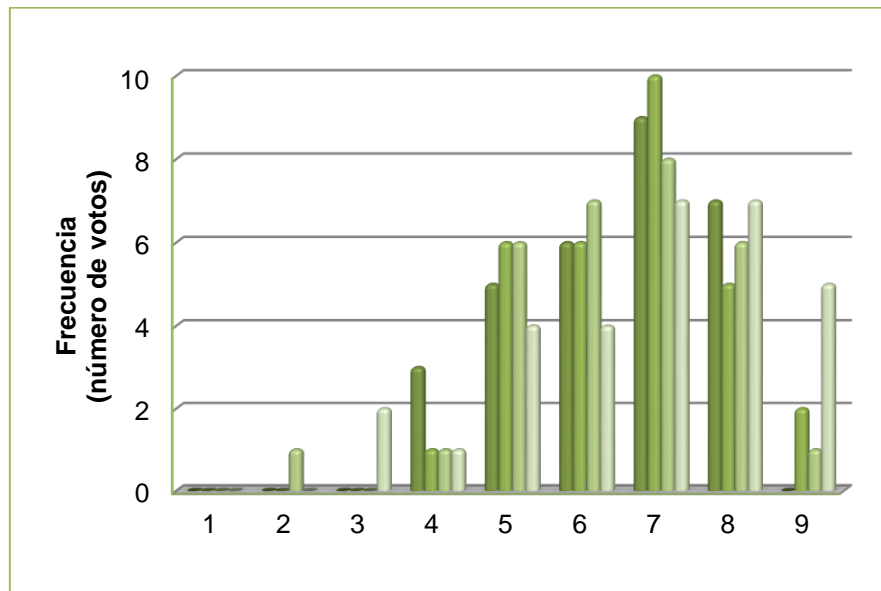


Figura 11. Color de cerveza tipo 'stout' empleando un análisis sensorial

Empleando el método Tukey, se obtuvieron medias iguales de los valores de color en evaluación sensorial para cada tratamiento, asimismo superíndices iguales; lo que representa similitud en cuanto al color, por lo cual no representan diferencia significativa ($P=0.05$).

En cuanto al color, F₁ 50% fue la muestra más aceptada por los jueces no entrenados; esto debido a que su color marrón oscuro fue más perceptible, los sabores a maltas tostadas, los sabores a café tostado molido y a que su contenido de alcohol no perjudicó las percepciones en boca.

El color de la cerveza se debió a las maltas que se utilizaron para su elaboración, el cuerpo, carácter y color de la cerveza fue producido por la cebada tostada, la malta caramelo y chocolate.

8.3 Análisis de Aroma

Se aprecia en el gráfico de la Figura 12 los siguientes resultados para aroma:

F₁ 25%: el color se encontró dentro de la escala en me gusta moderadamente.

F₁ 50%: se localizó el color en las categorías de me gusta mucho y me gusta moderadamente.

F₂ 25%: el color predominante en la escala fue, me gusta moderadamente.

F₂ 50%: el color entró en la categoría de me gusta un poco.

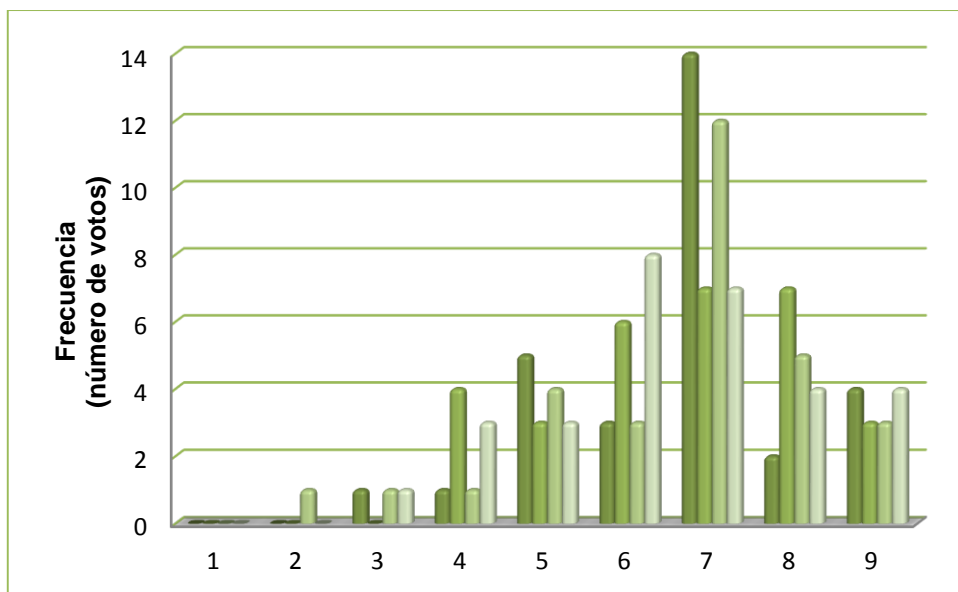


Figura 12 Aroma de cerveza tipo 'stout' empleando un análisis sensorial

Empleando el método de Tukey, Anexo II, se obtuvieron los valores de aroma en evaluación sensorial para cada tratamiento, donde las medias son iguales, asimismo los superíndices; lo que representa similitud en cuanto a aroma, por lo cual no existe diferencia significativa entre las muestras ($P=0.05$).

La muestra F₁ 25%, fue la más aceptada por el panel, esto puede deberse a que su contenido de compuestos volátiles fue más perceptible, ya que los aromas florales y cítricos del lúpulo resaltaron más. Las percepciones a café tostado y chocolate oscuro estuvieron presentes, además de un ligero aroma derivado del alcohol.

9. Conclusión

Se logró obtener una cerveza artesanal 'ale' tipo 'stout' con el suero de leche como sustrato y granos de kéfir con ayuda de *Saccharomyces cerevisiae*, ya que, el suero de leche al ser una fuente rica de lactosa, ayudó a que los granos de kéfir se pudieran adaptar al cultivo para poder desarrollar la fermentación

Se consiguió elaborar una cerveza que cumpliera con las características fisicoquímicas dadas por el Código Alimentario Argentino, ya que las mezclas de cebada que se determinaron para la obtención de las cuatro formulaciones y los tiempos de fermentación de 14 y 7 días para la primera y la segunda fermentación respectivamente, fueron óptimos para poder obtener una cerveza tipo 'stout', alcanzando las características de denominación de origen para una 'American stout', obteniendo % de volumen de alcohol de entre 5 a 7%, debido a la buena degradación de azúcares realizada por los granos de kéfir junto con *S. cerevisiare*.

El uso de los granos de kéfir como sustituto de levadura disminuyó la formación y estabilidad de la espuma de la cerveza al entrar en contacto con el oxígeno del medio ambiente, debido a que los coloides proteicos no fueron suficientes para evitar la salida rápida de CO₂ que mantiene las burbujas gaseosas.

Por medio de una escala hedónica de 9 puntos se determinó que la muestra F₁50%, fue la más aceptada en cuanto a color y sabor, debido a que el color marrón oscuro de la cerveza junto con los sabores a malta tostada y a café resultaron ser agradables para los jueces no entrenados sin dejar resabio en la boca.

En cuanto a aroma, la muestra F₁ 25% fue a la que más se percibieron los aromas florales y cítricos del lúpulo agregado.

Por lo tanto, entre más suero de leche como sustrato se emplee en las formulaciones para elaborar cerveza 'ale' tipo 'stout', más altas serán las características sensoriales percibidas por el consumidor, ya que, no se observó ninguna preferencia respecto a las formulaciones que contenían mayor % de maltas tostadas (F₂).

7. Bibliografía

Acevedo, I., García, O., Contreras, J. et al. (2009) Evaluación y evaluación sensorial de un yogurt de leche caprina con jalea semifluida de piña. Rev. Científica UDO, 9(2): 442- 448

Aguirre, E., Ramírez, A., Yañez, J. et. al. (2009) Producción de proteínas de biomasa probiótica de *Lactobacillus casei* liofilizadas a partir de suero de leche de cabra. Rev. Mexicana de Ingeniería Química, 8(1): 67-76

AOAC (1990). Official Methods of Analysis. 15th edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC

Arias, M., Henao, L., Castrillón, Y. (2009). Producción de ácido láctico por fermentación de mucílago de café con *Lactobacillus Bulgaricus* NRRL-B548. Rev. Dyna 158:147-153

Barbado, J. L. (2003). Secretos de la cerveza casera. Argentina: Albatros.

Boan, M. (2008). Evaluación Sensorial de Cerveza. Argentina.

Carbonatación en botella de azúcar. Obtenida el 13 de Diciembre del 2013, de <http://www.cervezadeargentina.com.ar/articulos/carbonatacionbotellaazucar.html>

BOE -A-1988-11256 (1988). Métodos oficiales de análisis de zumos de uvas. Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaría del Gobierno. 110: 13905 a 13920 (16 págs.)

Carvajal, L. (2010). Elaboración de cerveza artesanal utilizando cebada (*Hordeum vulgare*) y yuca (*Manihot Esculenta Crantz*). Ecuador.

Cerveza artesanal crece participación. Obtenida el 18 de 03 de 2013, de <http://www.eluniversal.com.mx/finanzas/88884.html>

CIE 15. (2004). Reporte técnico de colorimetría. Comisión International de L'Eclairage.

Código Alimentario Argentino, Capítulo XIII, Bebidas fermentadas. Obtenido el 04 de 06 de 2014, de http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/marco/caa/capitulo_13.htm

Definición de Cerveza y distintos tipos según el Código Alimentario Argentino. Obtenido el 12 de 11 de 2013, de <http://www.cerveceroscaseros.com.ar/infcerveza.htm>.

Dornelles, A., Rodrigues, S. (2006) Fermentación alcohólica de caldo de caña utilizando granos de kéfir, Rev. Ciencia agronómica, 37(3):386-390

Feoli, M., Escobar, C., Marín, R. (1995). Obtención de ácido láctico por fermentación con *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*. Rev. Colombiana de ciencias farmacéuticas. 23

Gallego, A., Garcinuño, R., Morcillo, M. (2013). Experimentación en química Analítica. España, UNED.

García, F. et al. (2003), Bebidas, España: Paraninfo.

García, M., Gil, M., García, P. (1993) Tecnología Alimentaria. México: Limusa.

Gil, A. (2010). Tratado de Nutrición: Composición y calidad nutritiva de los alimentos. Colombia: Medica Panamericana.

Gómez, R., González, A., Ramírez, A. (1999). Proceso biotecnológico para la obtención de una bebida refrescante y nutritiva. *Interciencia* 24 (2): 205-210.

Hernández, A., Alfaro, I., Arrieta, R. (2003) Microbiología industrial, Costa Rica: Euned.

Hernández, M. (1999). Tratado de Nutrición, Díaz de Santos.

Hidalgo, J., (2010). Enología I, Tratado de enología, España, Mundi- Prensa

Higgins, P. et al, (1996) La Guía de recetas del Cervecerero casero, USA.

Hough, J.S, (1990). Biotecnología de la cerveza y la malta, España: Acribia S.A.

Ibáñez, P. (2010). Guía de la cerveza en México 2010-2011, México: Culinary Art School.

Ketut, S., Aryanta, W., Mahardika, G., et al., (2012), Propiedades químicas y microbiológicas de kéfir hecho de leche de bovinos de Bali. *Rev. Ciencia de los alimentos y gestión de la calidad.* 6:1-12

Londoño, M., Marciales, B., (1999). Viabilidad del cultivo láctico en la elaboración de una bebida fermentada utilizando suero de queso fresco. Tesis Especialización en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de

Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 91 pág.

Londoño, M., Sepúlveda, J. U., Hernández, A., Parra, J. E., (2008), Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. 61(1): 4409- 4421.

Los ácidos del vino. Obtenido el 16 de 03 de 2014, de <http://www.verema.com/articulos/498255-acidos-vino>

Madrid, V., Madrid, J., Moreno, G. (2003). Análisis de vinos, mostos y alcoholes. Mundi prensa.

Meza, G., Rodríguez., K.D., (2013) Elaboración de una bebida tipo cerveza a partir del residuo orgánico de la cáscara del plátano macho (*Musa paradisiaca*). Tesis Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ingeniería Química. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Müller, Gunther. (1981). Microbiología de los alimentos vegetales. España. Acribia.

Oviedo, L., Lara, C., Mizger, M. (2009). Levaduras autóctonas con capacidad fermentativa en la producción de etanol a partir de pulpa de excedentes de plátano *Musa (AAB Simmonds)* en el departamento de Córdoba, Colombia. Rev. Colombiana de biotecnología. 11:40-47.

Parra, R. (2010) Bacterias ácido lácticas. Papel funcional en los alimentos. Rev. Facultad de ciencias agropecuarias. Universidad pedagógica y tecnológica de Colombia. 8:1

Peña, C., Flórez, I. (2001). Utilización del lactosuero de queso fresco en la elaboración de una bebida fermentada, con adición de pulpa de maracuyá (*Passifloras edulis*) y diferentes tipos de carboximetilcelulosa (CMC), enriquecida con vitaminas A y D. Trabajo de grado. Ingeniería Agrícola y de Alimentos. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 180 pág.

Sánchez, N., Ramírez, D., Zapata, A. (2007). Evaluación de un sistema de fermentación extractiva para la producción de ácido láctico utilizando suero de leche como sustrato. Rev. De la Facultad de Química Farmacéutica 14:27-34.

Sancho, J., Bota, E., De Castro, J. (1999). Introducción al análisis sensorial de los alimentos. España. Ediciones de la Universidad de Barcelona.

Sierra, M., Morante, S., Pérez, D. (2007) Experimentación en química analítica, España. Dykinson. S

Schmidt-Hebbel, H., Monckeberg, F. (2001) Evaluación Sensorial. Una metodología actual para tecnología de alimentos. Chile.

Valencia, E., Ramírez, M.L. (2009) La industria de la leche y la contaminación del agua. Rev. Elementos. 16 (73), 27.

Vignoli, R. (2006). Esterilización, desinfección y antisepsia. Temas de bacteriología y virología.

Vinos naturalmente ácidos. Obtenido el 16 de 03 de 2014, de <http://www.taninotanino.es/posts/vinos-naturalmente-acidos>

ANEXOS

Anexo I. Código alimentario argentino

CAPITULO XIII - BEBIDAS FERMENTADAS

CERVEZAS

Artículo 1080 - (Resolución Conjunta N° 63/02 y N° 345/02)

1. DESCRIPCIÓN

1.1 DEFINICIONES

1.1.1 Cerveza

Se entiende exclusivamente por cerveza la bebida resultante de fermentar, mediante levadura cervecera, al mosto de cebada malteada o de extracto de malta, sometido previamente a un proceso de cocción, adicionado de lúpulo. Una parte de la cebada malteada o de extracto de malta podrá ser reemplazada por adjuntos cerveceros.

La cerveza negra podrá ser azucarada.

La cerveza podrá ser adicionada de colorantes, saborizantes y aromatizantes.

1.1.2 Malta Líquida

Se entiende por malta líquida la bebida no alcohólica, resultante del mosto de cebada malteada o de extracto de malta y agua potable, sometido previamente a un proceso de cocción, adicionada o no con lúpulo, coloreada o no con colorante caramelo, carbonatada o no. Una parte de la cebada malteada o de extracto de malta podrá ser reemplazada por adjuntos cerveceros.

1.1.3 Cebada Malteada o Malta

Se entiende exclusivamente por cebada malteada o malta al grano de cebada cervecera sometido a germinación parcial y posterior deshidratación y/o tostado en condiciones tecnológicas adecuadas.

Cualquier otro cereal sometido a un proceso de malteo deberá denominarse "malta de...." seguido del nombre del cereal.

1.1.4 Extracto de Malta

Se entiende exclusivamente por extracto de malta al producto seco o de consistencia siruposa o pastosa, obtenido exclusivamente de malta o de cebada malteada.

1.1.5 Adjuntos cerveceros

Se entiende por adjuntos cerveceros a las materias primas que sustituyan parcialmente a la malta, o al extracto de malta en la elaboración de cerveza. Su empleo no podrá ser en su conjunto superior al 45% en relación al extracto primitivo.

Se consideran adjuntos cerveceros a la cebada cervecera y a los cereales, malteados o no, aptos para el consumo humano, a excepción de los productos definidos en los numerales, 1.1.3 y 1.1.4.

También se consideran adjuntos cerveceros a los almidones y azúcares de origen vegetal.

Cuando se trate de azúcares de origen vegetal distintos de los que provienen de cereales, la cantidad máxima de azúcar empleada en relación a su extracto primitivo deberá ser:

- a. cerveza clara, menor o igual al 10% en peso
- b. cerveza oscura, menor o igual al 25% en peso

1.1.6 Mosto

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

1.1.7 Extracto primitivo u original

Es la cantidad de sustancias disueltas (extracto) del mosto que dio origen a la cerveza y se expresa en porcentaje (%) en peso.

1.2 Clasificación de Cervezas

1.2.1 Respecto al extracto primitivo

1.2.1.1 Cerveza liviana

Es la cerveza cuyo extracto primitivo es mayor o igual al 5% en peso y menor que 10,5% en peso.

Podrá denominarse "light", a la cerveza liviana cuando también cumpla con los requisitos a) y b)

a. Reducción de 25% del contenido de nutrientes y/o del valor energético con relación a una cerveza similar del mismo fabricante (misma marca) o del valor medio del contenido de tres cervezas similares conocidas, que sean producidas en la región.

b. Valor energético de la cerveza lista para el consumo: máximo de 35Kcal/100 ml.

1.2.1.2 Cerveza

Es la cerveza cuyo extracto primitivo es mayor o igual a 10,5% en peso, y es menor de 12,0% en peso.

1.2.1.3. Cerveza Extra

Es la cerveza cuyo extracto primitivo es mayor o igual a 12,0% en peso y menor o igual a 14,0% en peso.

1.2.1.4 Cerveza Fuerte

Es la cerveza cuyo extracto primitivo es mayor a 14.0% en peso.

1.2.2 Respecto al grado alcohólico

1.2.2.1 Cerveza sin alcohol

Se entiende por cerveza sin alcohol a la cerveza cuyo contenido alcohólico es inferior o igual a 0,5% en volumen (0,5% vol.).

1.2.2.2 Cerveza con alcohol o Cerveza

Es la cerveza cuyo contenido alcohólico es superior a 0,5% en volumen (0,5% vol.)

1.2.3 Respecto al color

1.2.3.1 Cerveza clara, blanca, rubia o Cerveza

Es la cerveza cuyo color es inferior a 20 unidades E.B.C. (European Brewery Convention).

1.2.3.2 Cerveza oscura o Cerveza negra

Es la cerveza cuyo color es igual o superior a 20 unidades E.B.C. (European Brewery Convention).

1.2.4 Respecto a la proporción de materias primas.

1.2.4.1 Cerveza

Es la cerveza elaborada a partir de un mosto cuyo extracto primitivo contiene un mínimo de 55% en peso de cebada malteada.

1.2.4.2 Cerveza 100% malta o de pura malta

Es la cerveza elaborada a partir de un mosto cuyo extracto primitivo proviene exclusivamente de cebada malteada.

1.2.4.3 Cerveza de ... (seguida del nombre del o de los cereales mayoritarios).

Es la cerveza elaborada a partir de un mosto cuyo extracto primitivo proviene mayoritariamente de adjuntos cerveceros. Podrá tener hasta un 80% en peso de la totalidad de los adjuntos cerveceros referido a su extracto primitivo (no menos del 20% en peso de malta). Cuando dos o más cereales aporten igual cantidad de extracto primitivo deben citarse todos ellos.

1.2.5 Respecto a otros ingredientes

1.2.5.1 Cerveza coloreada

Es la cerveza a la que se le ha adicionado colorante/ s aprobado/s en MERCOSUR, (exceptuando cuando se usa colorante caramelo para estandarizar la coloración, natural propia de la cerveza) para modificar las coloraciones propias naturales de la cerveza. Esta clasificación debe tener el mismo realce que las clasificaciones definidas en los numerales 1.2.1, 1.2.2 y 1.2.4 Ejemplo: CERVEZA DE ARROZ LIVIANA COLOREADA.

Las siguientes clasificaciones deben tener el mismo realce que las clasificaciones definidas en los numerales 1.2.1, 1.2.2, 1.2.3, 1.2.4 y 1.2.5.1.

1.2.5.2 Cerveza con ... (seguido del nombre del vegetal) Es la cerveza a la que se le ha adicionado jugo y/o extracto de origen vegetal (referido a la concentración de jugo) hasta un máximo de 10% en volumen.

Ejemplo: cerveza de arroz LIVIANA con limón.

1.2.5.3. Cerveza sabor de... (seguido del nombre del vegetal) o cerveza con aroma de (seguido del nombre del vegetal).

Es la cerveza a la que se le ha adicionado aroma/ s aprobado/s en MERCOSUR. Ejemplo: CERVEZA DE ARROZ LIVIANA CON AROMA DE LIMON.

1.2.5.4 Cerveza oscura o negra azucarada o Malzbier.

Es la cerveza oscura negra a la que se le ha adicionado azúcares de origen vegetal hasta, un máximo de 50% con relación al extracto primitivo (incluyendo los azúcares de origen vegetal empleados como adjuntos cerveceros), para conferirle sabor dulce.

1.3 Designación (denominación de venta)

1.3.1. Cerveza

Se designa con el nombre de cerveza a la bebida definida en el numeral 1.1.1. y que cumple con las características establecidas en los numerales 1.2.1.2., 1.2.2.2., 1.2.3.1 y 1.2.4.1.

1.3.2. Cerveza liviana y Cerveza Light.

Se designa con el nombre de cerveza light a la cerveza que cumple con las características establecidas en el numeral 1.2.1.1.

1.3.3. Cerveza extra

Para designar una cerveza como cerveza extra la misma deberá cumplir con las características establecidas en el numeral 1.2.1.3.

1.3.4. Cerveza fuerte.

Para designar una cerveza como cerveza fuerte, la misma deberá cumplir con las características establecidas en el numeral 1.2.1.4.

1.3.5. Cerveza sin alcohol.

Se designa con el nombre de cerveza sin alcohol, a la cerveza que cumple con las características establecidas en el numeral 1.2.2.1.

1.3.6. Cerveza oscura o Cerveza negra.

Se designa con el nombre de cerveza oscura o cerveza negra a la cerveza que cumple con las características establecidas en el numeral 1.2.3.2.

1.3.7. Cerveza 100% malta o de pura malta.

Se podrá designar con el nombre de cerveza 100% malta o de pura malta a la cerveza que cumple con las características establecidas en el numeral 1.2.4.2.

1.3.8. Cerveza de ... (seguido del nombre del adjunto cervecero mayoritario).

Se designa con el nombre de cerveza de ... (seguido del nombre del adjunto mayoritario) a la cerveza que cumple con las características establecidas en el numeral 1.2.4.3.

1.3.9. Cerveza (seguida de la clase definida en 1.2.1., 1.2.2. y 1.2.4.) coloreada.

Se designa con el norma de cerveza ... coloreada a la cerveza que cumple con las características establecidas en el numeral 1.2.5.1. Ejemplo: Cerveza de Arroz Liviana Coloreada.

1.3.10. Cerveza (Seguida de la clase definida en 1.2.1., 1.2.2., 1.2.4. y 1.2.5.1.) con ... "seguida del nombre del vegetal).

Se designa con el nombre de cerveza ... con ... a la cerveza que cumple con las características establecidas en el numeral 1.2.5.2. Ejemplo: CERVEZA DE ARROZ LIVIANA CON LIMON COLOREADA

1.3.11 Cerveza (seguida de la clase definida en 1.2.1, 1.2.2, 1.2.4 y 1.2.5.1) sabor de ... (seguida del nombre del vegetal) o cerveza (seguida de la clase definida en 1.2.1, 1.2.2, 1.2.4 y 1.2.5.1) con aroma de ... (seguida del nombre del vegetal).

Se designa con el nombre de cerveza ... sabor de ... o cerveza ... con aroma de... a la cerveza que cumple con las características establecidas en el numeral 1.2.5.3. Ejemplo: CERVEZA DE ARROZ LIVIANA CON AROMA DE LIMÓN COLOREADA.

1.3.12 Cerveza oscura o negra azucarada o Malzbier

Se designa con el nombre de cerveza oscura o negra azucarada o Malzbier a la cerveza que cumple con las características establecidas en el numeral 1.2.5.4

1.3.13 Malta líquida o malta

Se designa con el nombre de malta líquida o malta a la bebida que cumple con las características establecidas en el numeral 1.1.2

2. REFERENCIAS

2.1 Para los métodos analíticos se toman como referencia las normas:

ASBC: American Society of Brewing Chemists ACBC ASBC: American Society of Brewing Chemists.

EBC: European Brewery Convention.

3. COMPOSICIÓN Y CARACTERÍSTICAS

3.1. Composición

1.1 Ingredientes obligatorios de la cerveza

3.1.1.1 Agua

El agua empleada en la elaboración de cerveza debe ser apta para el consumo humano.

3.1.1.2 Cebada malteada

Según definición del numeral 2.1.3

3.1.1.3 Lúpulo

Son los conos de la inflorescencia del *Humulus lupulus*, bajo su forma natural o industrializada, aptos para el consumo humano.

3.1.1.4 Levadura de cerveza

Son microorganismos cuya función es fermentar el mosto.

3.1.2 Ingredientes opcionales de la cerveza

3.1.2.1 Extracto de malta

Según definición del numeral 1.1.4.

3.1.2.2. Adjuntos cerveceros

Son los mencionados en el numeral 1.1.5.

3.1.2.3 Jugo o extracto de fruta Según lo definido en este Código.

3.1.2.4 Extractos o derivados

Son los extractos o derivados provenientes de los ingredientes obligatorios de la cerveza (numeral 3.1.1) y de la propia cerveza.

3.2 Requisitos

3.2.1 Características sensoriales

3.2.1.1 Aroma y sabor

Son los característicos y propios de la cerveza y de la malta líquida sin aromas y sabores extraños de acuerdo a su denominación de venta.

3.2.1.2 Aspecto

La cerveza debe presentar aspecto característico, siendo éste límpido o turbio, con o sin presencia de sedimentos, propios de la cerveza.

3.2.2 Características, fisico-químicas

La cerveza debe responder a los parámetros determinantes de su clasificación respecto al extracto primitivo, grado alcohólico y color.

4 ADITIVOS Y COADYUVANTES DE TECNOLOGÍA

Se utilizarán los autorizados en este Código para la Cerveza.

5 CONTAMINANTES

Los contaminantes microbiológicos, los residuos de pesticidas y demás contaminantes orgánicos e inorgánicos no deben estar presentes en cantidades superiores a los límites establecidos en este Código.

6 HIGIENE

Las prácticas de higiene para la elaboración de productos de cervecería deben estar de acuerdo con lo establecido en este Código.

7 PESOS Y MEDIDAS

Se aplica lo establecido en este Código.

8 ROTULACIÓN

8.1 Consideraciones generales

La rotulación debe estar de acuerdo con lo establecido en el presente Código referente a Rotulación de Alimentos Envasados.

8.2 Consideraciones específicas

8.2.1 Es obligatoria la declaración del contenido alcohólico (a excepción de la cerveza sin alcohol y de la malta líquida) expresándolo en porcentaje en volumen (% vol.) con una tolerancia $\pm 0,5$ vol. En el caso de la cerveza sin alcohol se autoriza a realzar esta característica.

En la designación de venta para la rotulación se debe seguir el siguiente orden:

- a. Numeral 1.2.4 (respecto a la proporción de materia prima)
- b. Numeral 1.2.1 (respecto al extracto primitivo)
- c. Numeral 1.2.2 (respecto al grado alcohólico)
- d. Numeral 1.2.3 (respecto al color)
- c. Numeral 1.2.5. (respecto a otros ingredientes)

8.2.2 El eventual uso de colorante caramelo para la estandarización de la coloración típica de la cerveza definida en el numeral 1.2.3.1 no requerirá su declaración en el rótulo.

8.2.3 Se podrá emplear en el rotulado, denominaciones de fantasía acompañando a las denominaciones de venta descriptas en el numeral 1.3.

8.2.4 La denominación de venta correspondiente a las diferentes clasificaciones de cervezas debe tener el mismo realce y tamaño de letra.

9 METODOS DE ANÁLISIS

Los métodos de análisis de rutina para la determinación de extracto primitivo, grado alcohólico y color que se utilizan son los de las normas ASBC y para análisis de referencia se aplican los métodos analíticos EBC.

10 MÉTODOS DE MUESTREO

De acuerdo a lo establecido en el presente Código"

Artículo 1081 - (Resolución Conjunta N° 63 y N° 345/02)

"En la elaboración de las cervezas, se autorizan y se prohíben determinadas prácticas según se expresa a continuación:

1. Prácticas permitidas:

a) El agua potable a utilizar en el braceado podrá ser modificada únicamente en su pH y dureza previamente a su utilización.

b) El tratamiento con sustancias tales como: tierra de infusorios, carbón activado, tanino albúmina, gelatina, bentonita, alginatos, gel de sílice y caseína.

Se admite el uso de poliamidas autorizadas y de polivinil polipirrolidona, siempre que los polímeros empleados respondan a las siguientes exigencias: no cederán más de 50 mg de productos solubles por kg en cada solvente cuando se mantenga en ebullición o reflujo durante tres horas en agua, ácido acético al 5% v/v y alcohol al 50% v/v.

c) La filtración con materias inocuas tales como papel, pasta de papel, celulosa, telas de algodón o fibras sintéticas, tierra de infusorios, perlita, carbón activado.

d) La adición de extracto de lúpulo a los mostos.

e) La adición de enzimas tales como amilasa, papaína, pepsina, gluconasas y amiloglucosidasas.

Las enzimas deben ser obtenidas por procesos que remuevan los organismos celulares vivos.

El agregado, como antioxidantes y estabilizantes, de ácidos ascórbico, isoascórbico, (eritórbico) o sus sales en la proporción máxima de 4 g x cada 100 litros.

- g) El refuerzo de la coloración de las cervezas con colorante caramelo obtenido exclusivamente con azúcar refinado o dextrosa y con extractos de malta tostados.
- h) La pasteurización o esterilización por medios físicos.
- i) La carbonatación con anhídrido carbónico que responda a las exigencias del Artículo 1066 del presente Código.
- j) El agregado de agua potable a fin de reducir el valor del extracto en el mosto original cuando se utilicen mostos concentrados en la elaboración.
- k) (Res MSyAS N° 294 del 14.04.99) "El sulfitado por métodos autorizados, admitiéndose una cantidad máxima en el producto de 20 mg/l, expresado como SO₂"

2. Prácticas prohibidas:

- a) Agregar cualquier tipo de alcohol, cualquiera sea su procedencia.
- b) Usar saponinas u otras sustancias espumígenas no autorizadas expresamente.
- c) Sustituir el lúpulo o sus derivados por otros principios amargos.
- d) Adicionar agua fuera de las fábricas o plantas embotelladoras habilitadas.
- e) Utilizar edulcorantes artificiales.
- f) Utilizar estabilizantes químicos no autorizados expresamente.
- g) Efectuar la estabilización/conservación biológica por medio de procesos químicos."

Artículo 1082 - (Res 2142, 5.9.83)

"Las cervezas deberán responder a las siguientes exigencias:

- a) Presentar aspecto límpido o ligeramente opalino, sin sedimento apreciable.
- b) La turbidez no será mayor a 3 unidades de formazina.
- c) Acidez total expresada como ácido láctico: no deberá exceder de 3 por ciento p/p referido al extracto del mosto original.
- d) Acidez volátil expresada como ácido acético: no deberá ser superior a 0,5% p/p referido al extracto del mosto original.
- e) Glicerina: no deberá exceder de 3% p/p referido al extracto del mosto original.
- f) Anhídrido fosfórico (P₂O₅) y nitrógeno total: mín. 0,40% p/p referido al extracto del mosto original para cada uno en el caso de las cervezas genuinas. Para el resto se admitirá un mín. de 0,35% p/p.

g) pH: deberá estar comprendido entre 4 y 5. En el caso de las cervezas sin alcohol y de malta líquida el valor máximo podrá ser 5,5.

h) Dióxido de carbono: deberá ser superior a 0,3% p/p.

i) Extracto primitivo (Ep) o extracto en el mosto original (calculado): debe corresponder a los límites fijados en el Artículo 1080 para cada tipo.

Se obtendrá empleando la siguiente fórmula:

$$Ep = \frac{(2,0665 \times A + E) \times 100}{1,0665 \times A + 100}$$

donde:

A = % de alcohol p/p

E = Extracto seco por ciento p/p

j) Grado de fermentación: no deberá ser inferior a 46%.

Esta disposición no rige para las maltas ni para las cervezas sin alcohol.

Se calculará con la siguiente expresión:

$$Ep - E \times 100$$

Ep

Artículo 1083 - (Resolución Conjunta N° 63/02 y N° 345/02)

"Las cervezas y productos de cervecería deberán ser envasados en recipientes bromatológicamente aptos de vidrio, hojalata, aluminio, acero inoxidable u otros autorizados por la autoridad sanitaria nacional.

Los productos a granel para venta al detalle en el lugar de expendio, se envasarán en barriles de madera inodora revestida de compuestos resinosos, píceos o sintéticos, libres de sustancias nocivas, que no cedan olor, sabor ni coloración al producto, o de acero inoxidable o aluminio convenientemente tratado para no alterar el contenido.

Todos los recipientes, tuberías, robinetes y cualquier otro elemento en contacto con la cerveza deberán encontrarse en perfectas condiciones de higiene.

ANEXO II. Análisis estadístico

Modelo lineal general: Ac total, pH, ... vs. formulaciones

Factor Tipo Niveles Valores
formulaciones fijo 4 1, 2, 3, 4

Análisis de varianza para Ac total, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC	Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
formulaciones	3	0.148967	0.148967	0.148967	0.049656	55.69	0.000
Error	8	0.007133	0.007133	0.000892			
Total	11	0.156100					

S = 0.0298608 R-cuad. = 95.43% R-cuad.(ajustado) = 93.72%

Término	Coef	SE Coef	T	P
Constante	0.665000	0.008620	77.15	0.000
formulaciones				
1	-0.12833	0.01493	-8.60	0.000
2	0.16833	0.01493	11.27	0.000
3	-0.06500	0.01493	-4.35	0.002

Análisis de varianza para pH, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC	Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
formulaciones	3	0.276667	0.276667	0.276667	0.092222	36.89	0.000
Error	8	0.020000	0.020000	0.002500			
Total	11	0.296667					

S = 0.05 R-cuad. = 93.26% R-cuad.(ajustado) = 90.73%

Término	Coef	SE Coef	T	P
Constante	4.11667	0.01443	285.21	0.000
formulaciones				
1	-0.11667	0.02500	-4.67	0.002
2	0.15000	0.02500	6.00	0.000
3	-0.18333	0.02500	-7.33	0.000

Análisis de varianza para °Brix, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC	Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
formulaciones	3	2.78000	2.78000	2.78000	0.92667	370.67	0.000
Error	8	0.02000	0.02000	0.00250			
Total	11	2.80000					

S = 0.05 R-cuad. = 99.29% R-cuad.(ajustado) = 99.02%

Término	Coef	SE Coef	T	P
Constante	6.70000	0.01443	464.19	0.000
formulaciones				

1	0.23333	0.02500	9.33	0.000
2	0.53333	0.02500	21.33	0.000
3	-0.76667	0.02500	-30.67	0.000

Análisis de varianza para Densidad, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC	Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
formulaciones	3	7.6833	7.6833	2.5611	54.88	0.000	
Error	8	0.3733	0.3733	0.0467			
Total	11	8.0567					

S = 0.216025 R-cuad. = 95.37% R-cuad.(ajustado) = 93.63%

Término	Coef	SE Coef	T	P
Constante	5.21667	0.06236	83.65	0.000
formulaciones				
1	0.1167	0.1080	1.08	0.312
2	0.8167	0.1080	7.56	0.000
3	-1.3167	0.1080	-12.19	0.000

Observaciones inusuales de Densidad

Obs	Densidad	EE de Ajuste	Residuo ajuste	Residuo estándar
12	5.20000	5.60000	0.12472	-0.40000

-2.27 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Análisis de varianza para Azúcares, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC	Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
formulaciones	3	45.376	45.376	15.125	269.42	0.000	
Error	8	0.449	0.449	0.056			
Total	11	45.825					

S = 0.236939 R-cuad. = 99.02% R-cuad.(ajustado) = 98.65%

Término	Coef	SE Coef	T	P
Constante	4.45676	0.06840	65.16	0.000
formulaciones				
1	2.1754	0.1185	18.36	0.000
2	-1.6654	0.1185	-14.06	0.000
3	1.6801	0.1185	14.18	0.000

Análisis de varianza para Color, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC	Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
formulaciones	3	102.664	102.664	34.221	36.79	0.000	
Error	8	7.441	7.441	0.930			
Total	11	110.105					

S = 0.964426 R-cuad. = 93.24% R-cuad.(ajustado) = 90.71%

Término	Coef	SE Coef	T	P
Constante	8.7435	0.2784	31.41	0.000
formulaciones				
1	-3.8010	0.4822	-7.88	0.000
2	1.0532	0.4822	2.18	0.060
3	-1.3547	0.4822	-2.81	0.023

Análisis de varianza para Volatilidad, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC	Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
formulaciones	3	0.139467	0.139467	0.046489	56.95	0.000	
Error	8	0.006531	0.006531	0.000816			
Total	11	0.145998					

S = 0.0285718 R-cuad. = 95.53% R-cuad.(ajustado) = 93.85%

Término	Coef	SE Coef	T	P
Constante	0.643875	0.008248	78.06	0.000
formulaciones				
1	-0.12778	0.01429	-8.94	0.000
2	0.16122	0.01429	11.29	0.000
3	-0.05920	0.01429	-4.14	0.003

Análisis de varianza para Turbidez, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC	Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
formulaciones	3	619977	619977	206659	49598.13	0.000	
Error	8	33	33	4			
Total	11	620010					

S = 2.04124 R-cuad. = 99.99% R-cuad.(ajustado) = 99.99%

Término	Coef	SE Coef	T	P
Constante	390.000	0.589	661.85	0.000
formulaciones				
1	-271.000	1.021	-265.52	0.000
2	92.000	1.021	90.14	0.000
3	-143.667	1.021	-140.76	0.000

Observaciones inusuales de Turbidez

Obs	Turbidez	EE de Ajuste	Residuo ajuste	Residuo estándar
10	709.000	712.667	1.179	-3.667

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Análisis de varianza para Ac fija, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC	Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
formulaciones	3	0.0002551	0.0002551	0.0000850	12.39	0.002	
Error	8	0.0000549	0.0000549	0.0000069			
Total	11	0.0003100					

S = 0.00261973 R-cuad. = 82.29% R-cuad.(ajustado) = 75.65%

Término	Coef	SE Coef	T	P
Constante	0.021125	0.000756	27.93	0.000
formulaciones				
1	-0.000555	0.001310	-0.42	0.683
2	0.007109	0.001310	5.43	0.001
3	-0.005798	0.001310	-4.43	0.002

Observaciones inusuales de Ac fija

Obs	Ac fija	Ajuste	EE de ajuste	Residuo estandar	Residuo
5	0.032670	0.028233	0.001513	0.004437	2.07 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0% para Ac total

formulaciones	N	Media	Agrupación
2	3	0.8	A
4	3	0.7	B
3	3	0.6	C
1	3	0.5	C

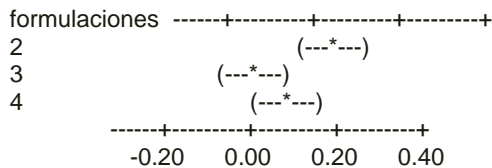
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95.0%

Variable de respuesta Ac total

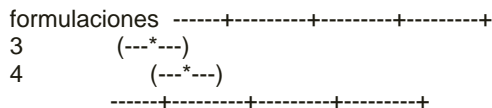
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de formulaciones formulaciones = 1 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
2	0.21857	0.29667	0.3748
3	-0.01476	0.06333	0.1414
4	0.07524	0.15333	0.2314



formulaciones = 2 restado a:

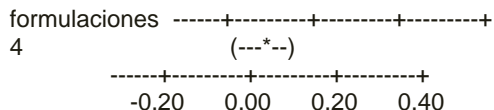
formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
3	-0.3114	-0.2333	-0.1552
4	-0.2214	-0.1433	-0.0652



-0.20 0.00 0.20 0.40

formulaciones = 3 restado a:

formulaciones Inferior Centrada Superior
4 0.01190 0.09000 0.1681



Pruebas simultáneas de Tukey

Variable de respuesta Ac total

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de formulaciones

formulaciones = 1 restado a:

	Diferencia	EE de	Valor P	
formulaciones	de medias	diferencia	Valor T	ajustado
2	0.29667	0.02438	12.168	0.0000
3	0.06333	0.02438	2.598	0.1173
4	0.15333	0.02438	6.289	0.0011

formulaciones = 2 restado a:

	Diferencia	EE de	Valor P	
formulaciones	de medias	diferencia	Valor T	ajustado
3	-0.2333	0.02438	-9.570	0.0001
4	-0.1433	0.02438	-5.879	0.0017

formulaciones = 3 restado a:

	Diferencia	EE de	Valor P	
formulaciones	de medias	diferencia	Valor T	ajustado
4	0.09000	0.02438	3.691	0.0253

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0% para pH

formulaciones	N	Media	Agrupación
4	3	4.3	A
2	3	4.3	A
1	3	4.0	B
3	3	3.9	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95.0%

Variable de respuesta pH

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de formulaciones

formulaciones = 1 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
2	0.1359	0.26667	0.39744
3	-0.1974	-0.06667	0.06410
4	0.1359	0.26667	0.39744

formulaciones	N	Media	Agrupación
2	3	7.2	A
1	3	6.9	B
4	3	6.7	C
3	3	5.9	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

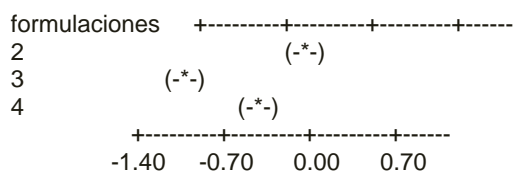
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95.0%

Variable de respuesta °Brix

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de formulaciones

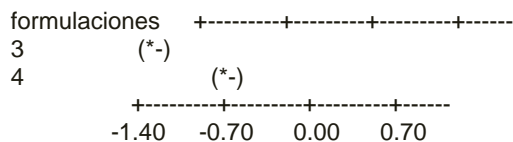
formulaciones = 1 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
2	0.169	0.300	0.4308
3	-1.131	-1.000	-0.8692
4	-0.364	-0.233	-0.1026



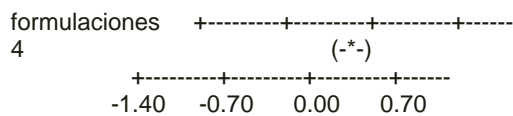
formulaciones = 2 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
3	-1.431	-1.300	-1.169
4	-0.664	-0.533	-0.403



formulaciones = 3 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
4	0.6359	0.7667	0.8974



Pruebas simultáneas de Tukey

Variable de respuesta °Brix

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de formulaciones

formulaciones = 1 restado a:

formulaciones	Diferencia de medias	EE de diferencia	Valor T	Valor P ajustado
2	0.300	0.04082	7.35	0.0004
3	-1.000	0.04082	-24.49	0.0000
4	-0.233	0.04082	-5.72	0.0020

formulaciones = 2 restado a:

	Diferencia	EE de	Valor P	Valor T	ajustado
formulaciones	de medias	diferencia			
3	-1.300	0.04082	-31.84	0.0000	
4	-0.533	0.04082	-13.06	0.0000	

formulaciones = 3 restado a:

	Diferencia	EE de	Valor P	Valor T	ajustado
formulaciones	de medias	diferencia			
4	0.7667	0.04082	18.78	0.0000	

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0% para Densidad

formulaciones	N	Media	Agrupación
2	3	6.0	A
4	3	5.6	A B
1	3	5.3	B
3	3	3.9	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

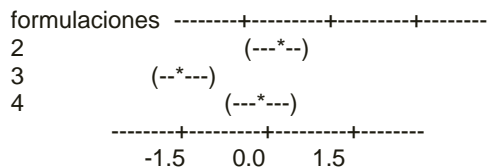
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95.0%

Variable de respuesta Densidad

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de formulaciones

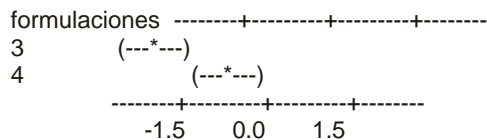
formulaciones = 1 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
2	0.135	0.700	1.2650
3	-1.998	-1.433	-0.8683
4	-0.298	0.267	0.8317



formulaciones = 2 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
3	-2.698	-2.133	-1.568
4	-0.998	-0.433	0.132



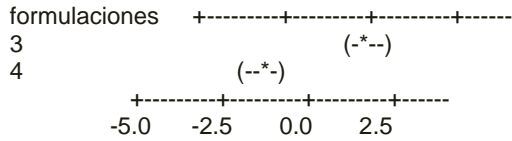
formulaciones = 3 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
3	-2.698	-2.133	-1.568
4	-0.998	-0.433	0.132

-5.0 -2.5 0.0 2.5

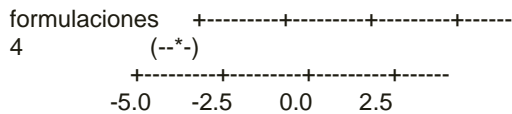
formulaciones = 2 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
3	2.726	3.3455	3.96523
4	-1.144	-0.5247	0.09503



formulaciones = 3 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
4	-4.490	-3.870	-3.251



Pruebas simultáneas de Tukey

Variable de respuesta Azúcares

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de formulaciones

formulaciones = 1 restado a:

formulaciones	Diferencia de medias	EE de diferencia	Valor T	Valor P ajustado
2	-3.841	0.1935	-19.85	0.0000
3	-0.495	0.1935	-2.56	0.1236
4	-4.366	0.1935	-22.57	0.0000

formulaciones = 2 restado a:

formulaciones	Diferencia de medias	EE de diferencia	Valor T	Valor P ajustado
3	3.3455	0.1935	17.293	0.0000
4	-0.5247	0.1935	-2.712	0.0999

formulaciones = 3 restado a:

formulaciones	Diferencia de medias	EE de diferencia	Valor T	Valor P ajustado
4	-3.870	0.1935	-20.01	0.0000

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0% para Color

formulaciones	N	Media	Agrupación
4	3	12.8	A
2	3	9.8	B
3	3	7.4	B C
1	3	4.9	C

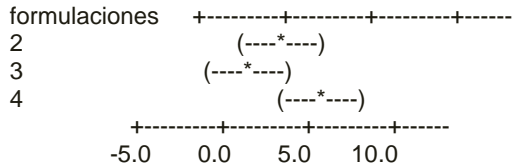
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95.0%

Variable de respuesta Color

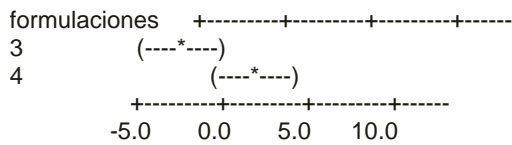
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de formulaciones formulaciones = 1 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
2	2.33182	4.854	7.377
3	-0.07609	2.446	4.969
4	5.38100	7.903	10.426



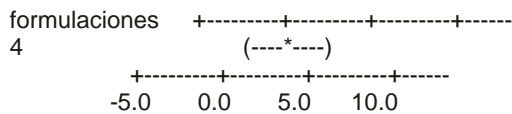
formulaciones = 2 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
3	-4.930	-2.408	0.1145
4	0.527	3.049	5.5715



formulaciones = 3 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
4	2.935	5.457	7.979



Pruebas simultáneas de Tukey

Variable de respuesta Color

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de formulaciones formulaciones = 1 restado a:

formulaciones	Diferencia de medias	EE de diferencia	Valor T	Valor P ajustado
2	4.854	0.7875	6.164	0.0012
3	2.446	0.7875	3.107	0.0572
4	7.903	0.7875	10.037	0.0000

formulaciones = 2 restado a:

formulaciones	Diferencia de medias	EE de diferencia	Valor T	Valor P ajustado
---------------	----------------------	------------------	---------	------------------

3	-2.408	0.7875	-3.058	0.0613
4	3.049	0.7875	3.872	0.0198

formulaciones = 3 restado a:

	Diferencia	EE de	Valor P	Valor T ajustado
formulaciones de medias				
4	5.457	0.7875	6.930	0.0006

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0% para Volatilidad

formulaciones	N	Media	Agrupación
2	3	0.8	A
4	3	0.7	B
3	3	0.6	C
1	3	0.5	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

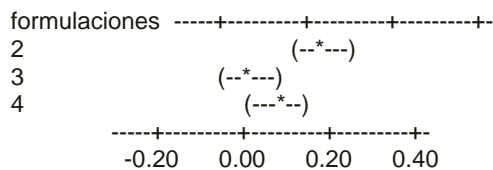
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95.0%

Variable de respuesta Volatilidad

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de formulaciones

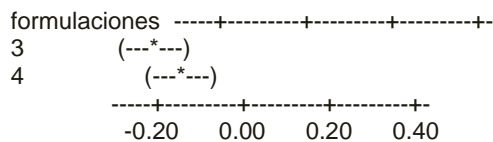
formulaciones = 1 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
2	0.214277	0.28900	0.3637
3	-0.006150	0.06858	0.1433
4	0.078808	0.15354	0.2283



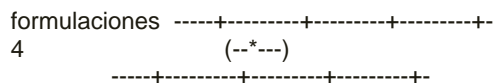
formulaciones = 2 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
3	-0.2952	-0.2204	-0.1457
4	-0.2102	-0.1355	-0.0607



formulaciones = 3 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
4	0.01023	0.08496	0.1597



-0.20 0.00 0.20 0.40

Pruebas simultáneas de Tukey

Variable de respuesta Volatilidad

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de formulaciones
formulaciones = 1 restado a:

	Diferencia	EE de	Valor P	Valor T	ajustado
formulaciones	de medias	diferencia			
2	0.28900	0.02333	12.388	0.0000	
3	0.06858	0.02333	2.940	0.0725	
4	0.15354	0.02333	6.581	0.0008	

formulaciones = 2 restado a:

	Diferencia	EE de	Valor P	Valor T	ajustado
formulaciones	de medias	diferencia			
3	-0.2204	0.02333	-9.449	0.0001	
4	-0.1355	0.02333	-5.807	0.0018	

formulaciones = 3 restado a:

	Diferencia	EE de	Valor P	Valor T	ajustado
formulaciones	de medias	diferencia			
4	0.08496	0.02333	3.642	0.0271	

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0% para
Turbidez

formulaciones	N	Media	Agrupación
4	3	712.7	A
2	3	482.0	B
3	3	246.3	C
1	3	119.0	D

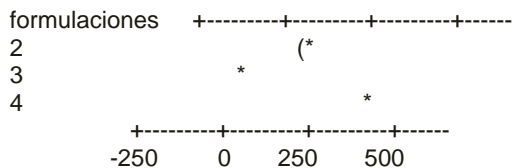
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95.0%

Variable de respuesta Turbidez

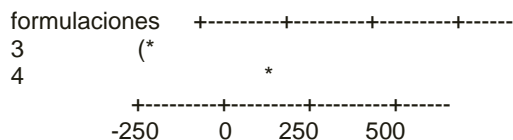
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de formulaciones
formulaciones = 1 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
2	357.7	363.0	368.3
3	122.0	127.3	132.7
4	588.3	593.7	599.0



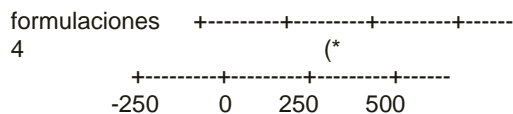
formulaciones = 2 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
3	-241.0	-235.7	-230.3
4	225.3	230.7	236.0



formulaciones = 3 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
4	461.0	466.3	471.7



Pruebas simultáneas de Tukey
Variable de respuesta Turbidez

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de formulaciones
formulaciones = 1 restado a:

formulaciones	Diferencia de medias	EE de diferencia	Valor T ajustado	Valor P
2	363.0	1.667	217.80	0.0000
3	127.3	1.667	76.40	0.0000
4	593.7	1.667	356.20	0.0000

formulaciones = 2 restado a:

formulaciones	Diferencia de medias	EE de diferencia	Valor T ajustado	Valor P
3	-235.7	1.667	-141.4	0.0000
4	230.7	1.667	138.4	0.0000

formulaciones = 3 restado a:

formulaciones	Diferencia de medias	EE de diferencia	Valor T ajustado	Valor P
4	466.3	1.667	279.8	0.0000

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0% para Ac fija

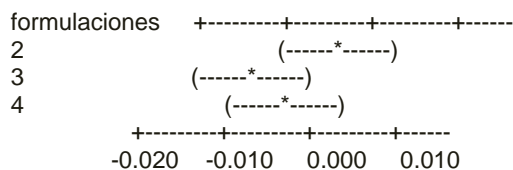
formulaciones	N	Media	Agrupación
2	3	0.0	A
1	3	0.0	B
4	3	0.0	B
3	3	0.0	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95.0%

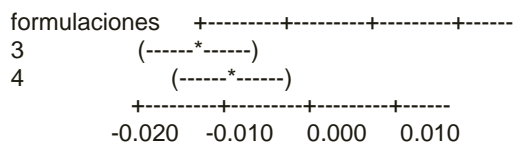
Variable de respuesta Ac fija
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de formulaciones
 formulaciones = 1 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
2	0.00081	0.007663	0.014515
3	-0.01209	-0.005243	0.001608
4	-0.00705	-0.000202	0.006650



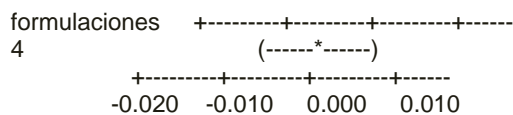
formulaciones = 2 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
3	-0.01976	-0.01291	-0.006055
4	-0.01472	-0.00787	-0.001013



formulaciones = 3 restado a:

formulaciones	Inferior	Centrada	Superior
4	-0.001810	0.005042	0.01189



Pruebas simultáneas de Tukey

Variable de respuesta Ac fija
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de formulaciones
 formulaciones = 1 restado a:

formulaciones	Diferencia de medias	EE de diferencia	Valor T	Valor P ajustado
2	0.007663	0.002139	3.583	0.0294
3	-0.005243	0.002139	-2.451	0.1438
4	-0.000202	0.002139	-0.094	0.9997

formulaciones = 2 restado a:

formulaciones	Diferencia de medias	EE de diferencia	Valor T	Valor P ajustado
3	-0.01291	0.002139	-6.034	0.0014
4	-0.00787	0.002139	-3.677	0.0258

formulaciones = 3 restado a:

	Diferencia	EE de	Valor P
formulaciones	de medias	diferencia	Valor T ajustado
4	0.005042	0.002139	2.357 0.1638

Modelo lineal general: sabor, colorsen, aroma vs. C13

Factor Tipo Niveles Valores
C13 fijo 4 1, 2, 3, 4

Análisis de varianza para sabor, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC	Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
C13	3	19.158	19.158	6.386	1.69	0.173	
Error	116	437.833	437.833	3.774			
Total	119	456.992					

S = 1.94279 R-cuad. = 4.19% R-cuad.(ajustado) = 1.71%

Término	Coef	SE Coef	T	P
Constante	6.0083	0.1774	33.88	0.000
C13				
1	-0.3417	0.3072	-1.11	0.268
2	0.2917	0.3072	0.95	0.344
3	-0.4417	0.3072	-1.44	0.153

Observaciones inusuales de sabor

Obs	sabor	EE de Ajuste	Residuo ajuste	Residuo estándar
30	1.00000	5.66667	0.35470	-4.66667 -2.44 R
32	1.00000	6.30000	0.35470	-5.30000 -2.77 R
62	1.00000	5.56667	0.35470	-4.56667 -2.39 R
66	1.00000	5.56667	0.35470	-4.56667 -2.39 R
120	2.00000	6.50000	0.35470	-4.50000 -2.36 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Análisis de varianza para colorsen, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC	Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
C13	3	1.425	1.425	0.475	0.21	0.887	
Error	116	258.567	258.567	2.229			
Total	119	259.992					

S = 1.49299 R-cuad. = 0.55% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Término	Coef	SE Coef	T	P
Constante	6.4917	0.1363	47.63	0.000
C13				
1	-0.0917	0.2361	-0.39	0.698

2	0.1083	0.2361	0.46	0.647
3	-0.1250	0.2361	-0.53	0.597

Observaciones inusuales de colorsen

Obs	colorsen	EE de Ajuste	Residuo ajuste	Residuo estándar
66	2.00000	6.36667	0.27258	-4.36667 -2.97 R
96	1.00000	6.60000	0.27258	-5.60000 -3.81 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Análisis de varianza para aroma, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC	Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
C13	3	0.758	0.758	0.253	0.10	0.962	
Error	116	305.233	305.233	2.631			
Total	119	305.992					

S = 1.62213 R-cuad. = 0.25% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Término	Coef	SE Coef	T	P
Constante	6.4917	0.1481	43.84	0.000
C13				
1	0.0417	0.2565	0.16	0.871
2	-0.0917	0.2565	-0.36	0.721
3	0.1083	0.2565	0.42	0.674

Observaciones inusuales de aroma

Obs	aroma	EE de Ajuste	Residuo ajuste	Residuo estándar
8	3.00000	6.53333	0.29616	-3.53333 -2.22 R
30	3.00000	6.53333	0.29616	-3.53333 -2.22 R
66	2.00000	6.60000	0.29616	-4.60000 -2.88 R
85	3.00000	6.60000	0.29616	-3.60000 -2.26 R
106	3.00000	6.43333	0.29616	-3.43333 -2.15 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0% para sabor

C13	N	Media	Agrupación
4	30	6.5	A
2	30	6.3	A
1	30	5.7	A
3	30	5.6	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95.0%

Variable de respuesta sabor

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de C13

C13 = 1 restado a:

C13	Inferior	Centrada	Superior	
2	-0.676	0.6333	1.942	-----+-----+-----+----- (-----*-----)

3	-1.409	-0.1000	1.209	(-----*-----)
4	-0.476	0.8333	2.142	(-----*-----)
				-----+-----+-----+-----
				-1.2 0.0 1.2

C13 = 2 restado a:

C13	Inferior	Centrada	Superior	-----+-----+-----+-----
3	-2.042	-0.7333	0.5755	(-----*-----)
4	-1.109	0.2000	1.5089	(-----*-----)
				-----+-----+-----+-----
				-1.2 0.0 1.2

C13 = 3 restado a:

C13	Inferior	Centrada	Superior	-----+-----+-----+-----
4	-0.3755	0.9333	2.242	(-----*-----)
				-----+-----+-----+-----
				-1.2 0.0 1.2

Pruebas simultáneas de Tukey

Variable de respuesta sabor

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de C13

C13 = 1 restado a:

	Diferencia	EE de	Valor P	
C13	de medias	diferencia	Valor T	ajustado
2	0.6333	0.5016	1.2626	0.5885
3	-0.1000	0.5016	-0.1994	0.9972
4	0.8333	0.5016	1.6613	0.3489

C13 = 2 restado a:

	Diferencia	EE de	Valor P	
C13	de medias	diferencia	Valor T	ajustado
3	-0.7333	0.5016	-1.462	0.4638
4	0.2000	0.5016	0.399	0.9784

C13 = 3 restado a:

	Diferencia	EE de	Valor P	
C13	de medias	diferencia	Valor T	ajustado
4	0.9333	0.5016	1.861	0.2508

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0% para colorsen

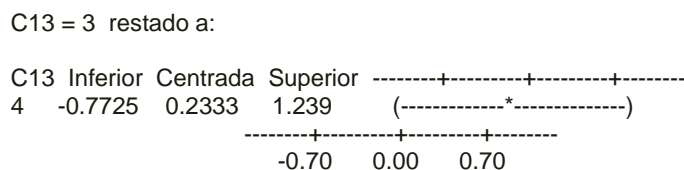
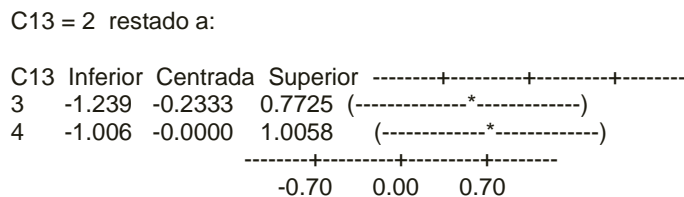
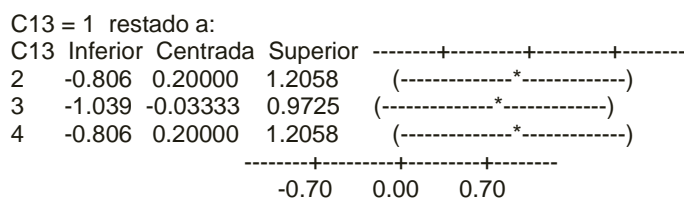
C13	N	Media	Agrupación
4	30	6.6	A
2	30	6.6	A
1	30	6.4	A
3	30	6.4	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95.0%

Variable de respuesta colorsen

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de C13



Pruebas simultáneas de Tukey
Variable de respuesta colorsen
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de C13
C13 = 1 restado a:

	Diferencia	EE de	Valor P	
C13 de medias		diferencia	Valor T	ajustado
2	0.20000	0.3855	0.51882	0.9544
3	-0.03333	0.3855	-0.08647	0.9998
4	0.20000	0.3855	0.51882	0.9544

C13 = 2 restado a:

	Diferencia	EE de	Valor P	
C13 de medias		diferencia	Valor T	ajustado
3	-0.2333	0.3855	-0.6053	0.9302
4	-0.0000	0.3855	-0.0000	1.0000

C13 = 3 restado a:

	Diferencia	EE de	Valor P	
C13 de medias		diferencia	Valor T	ajustado
4	0.2333	0.3855	0.6053	0.9302

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0% para aroma

C13	N	Media	Agrupación
3	30	6.6	A
1	30	6.5	A
4	30	6.4	A
2	30	6.4	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95.0%
 Variable de respuesta aroma
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de C13
 C13 = 1 restado a:

	Inferior	Centrada	Superior	
2	-1.226	-0.1333	0.9595	(-----*-----)
3	-1.026	0.0667	1.1595	(-----*-----)
4	-1.193	-0.1000	0.9928	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----
 -0.70 0.00 0.70

C13 = 2 restado a:

	Inferior	Centrada	Superior	
3	-0.893	0.20000	1.293	(-----*-----)
4	-1.059	0.03333	1.126	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----
 -0.70 0.00 0.70

C13 = 3 restado a:

	Inferior	Centrada	Superior	
4	-1.259	-0.1667	0.9262	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----
 -0.70 0.00 0.70

Pruebas simultáneas de Tukey
 Variable de respuesta aroma
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de C13
 C13 = 1 restado a:

	Diferencia de medias	EE de diferencia	Valor T	Valor P ajustado
2	-0.1333	0.4188	-0.3183	0.9888
3	0.0667	0.4188	0.1592	0.9986
4	-0.1000	0.4188	-0.2388	0.9952

C13 = 2 restado a:

	Diferencia de medias	EE de diferencia	Valor T	Valor P ajustado
3	0.20000	0.4188	0.47752	0.9639
4	0.03333	0.4188	0.07959	0.9998

C13 = 3 restado a:

	Diferencia de medias	EE de diferencia	Valor T	Valor P ajustado
4	-0.1667	0.4188	-0.3979	0.9786

ANEXO III. Formato de evaluación sensorial

SEXO _____	EDAD _____	FECHA: _____										
<p>Antes de realizar la prueba sensorial enjuaga tu boca con un poco de agua y pan blanco. Frente a ti tienes 4 muestras, degusta de izquierda a derecha enjuagando tu boca con agua y pan blanco entre muestra y muestra. En la siguiente tabla marca con un X la calificación que mejor represente tu grado de aceptación en cuanto a sabor, color y aroma de cada muestra:</p>												
	MUESTRA 257	MUESTRA 505	MUESTRA 752	MUESTRA 050								
	SABOR	COLOR	AROMA	SABOR	COLOR	AROMA	SABOR	COLOR	AROMA	SABOR	COLOR	AROMA
Me gusta muchísimo												
Me gusta mucho												
Me gusta moderadamente												
Me gusta un poco												
Ni me disgusta ni me gusta												
Me disgusta un poco												
Me disgusta moderadamente												
Me disgusta mucho												
Me disgusta muchísimo												

Figura 13. Formato utilizado para el análisis de la evaluación sensorial

Donde:

La muestra **257** es **F₁25%**

La muestra **505** es **F₁50%**

La muestra **752** es **F₂25%**

La muestra **050** es **F₂50%**

ANEXO IV. Resultados de evaluación sensorial.

Tabla 15. Datos de evaluación de la formulación F₁ 25% de la cerveza artesanal tipo 'stout' producida

Jueces	Sabor	Color	Aroma
1	4	5	5
2	4	7	9
3	7	8	8
4	8	7	9
5	6	4	7
6	7	8	5
7	4	5	6
8	4	4	3
9	4	6	7
10	4	6	7
11	6	7	7
12	7	7	7
13	4	5	5
14	7	5	6
15	5	7	6
16	6	7	7
17	7	8	8
18	4	7	4
19	6	5	7
20	8	4	7
21	6	7	7
22	7	6	7
23	7	8	5
24	7	6	7
25	5	6	5
26	9	7	9
27	7	8	9
28	2	8	7
29	7	6	7
30	1	8	3

Tabla 16. Datos de evaluación de la formulación F₁ 50% de la cerveza artesanal tipo 'stout' producida

Jueces	Sabor	Color	Aroma
1	4	5	4
2	1	6	5
3	8	9	9
4	9	5	8
5	7	5	7
6	8	7	4
7	8	8	8
8	7	7	8
9	7	6	7
10	3	7	6
11	7	7	6
12	8	7	7
13	7	7	7
14	4	5	4
15	8	5	7
16	4	7	6
17	8	8	7
18	7	6	6
19	3	6	4
20	4	5	5
21	8	9	8
22	7	8	9
23	7	8	6
24	8	7	7
25	4	4	4
26	5	7	5
27	8	8	8
28	7	7	6
29	7	6	8
30	6	6	6

Tabla 17. Datos de evaluación de la formulación F₂ 25% de la cerveza artesanal tipo 'stout' producida

Jueces	SABOR	COLOR	AROMA
1	4	5	6
2	1	7	5
3	8	9	9
4	4	5	8
5	5	4	5
6	1	2	2
7	8	6	8
8	6	6	7
9	8	7	7
10	8	5	7
11	6	7	7
12	5	7	7
13	8	6	7
14	3	6	5
15	4	8	5
16	5	7	8
17	4	8	6
18	7	6	7
19	5	6	7
20	9	5	7
21	6	7	9
22	6	8	9
23	8	7	6
24	6	8	7
25	3	5	3
26	4	5	4
27	9	8	7
28	8	7	8
29	5	6	7
30	3	8	8

Tabla 18. Datos de evaluación de la formulación F₂ 50% de la cerveza artesanal tipo 'stout' producida

Jueces	SABOR	COLOR	AROMA
1	5	5	6
2	6	7	5
3	9	9	9
4	6	5	5
5	6	4	4
6	6	1	4
7	4	4	6
8	7	7	8
9	8	8	8
10	9	6	4
11	8	8	7
12	7	7	7
13	6	6	6
14	5	5	4
15	5	7	6
16	4	7	3
17	7	8	6
18	5	5	6
19	6	4	7
20	6	7	7
21	8	9	9
22	8	8	9
23	8	9	7
24	9	8	8
25	6	6	5
26	8	7	7
27	8	9	9
28	7	7	8
29	6	7	6
30	2	8	7