



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

CARRERA AGROINDUSTRIAS

**TESIS PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL**

TEMA:

**EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE CERVEZA
ARTESANAL TIPO ALE CON ALMIDÓN DE PAPA COMO
ADJUNTO Y ESPECIAS**

AUTORES:

**GEMA JESSENIA CEDEÑO BRIONES
JOHAN ALEJANDRO MENDOZA ALONZO**

TUTOR:

ING. DENNYS LENÍN ZAMBRANO VELÁSQUEZ, Mg.

CALCETA, NOVIEMBRE 2016

DERECHOS DE AUTORÍA

Gema Jessenia Cedeño Briones y Johan Alejandro Mendoza Alonzo, declaran bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedemos los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su reglamento.

.....
GEMA J. CEDEÑO BRIONES

.....
JOHAN A. MENDOZA ALONZO

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Dennys Lenín Zambrano Velásquez certifica haber tutelado la tesis **EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE CERVEZA ARTESANAL TIPO ALE CON ALMIDÓN DE PAPA COMO ADJUNTO Y ESPECIAS**, que ha sido desarrollada por Gema Jessenia Cedeño Briones y Johan Alejandro Mendoza Alonzo, previa la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCER NIVEL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

.....
ING. DENNYS L. ZAMBRANO VELÁSQUEZ, Mg.

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaran que han **APROBADO** la tesis **EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE CERVEZA ARTESANAL TIPO ALE CON ALMIDÓN DE PAPA COMO ADJUNTO Y ESPECIAS**, que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por Gema Jessenia Cedeño Briones y Johan Alejandro Mendoza Alonzo, previa la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCER NIVEL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

.....
ING. EDITH M. MOREIRA CHICA, Mg.

MIEMBRO

.....
ING. RICARDO R. MONTESDEOCA PÁRRAGA, Mg.

MIEMBRO

.....
ING. ELY F. SACÓN VERA, Mg.

PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

Una gran obra no se construye con el esfuerzo de una sola persona, por ende hacemos énfasis en gratificar a aquellos que creyeron en nosotros y que sin su ayuda este logro académico no se hubiese hecho realidad, nuestros más sinceros agradecimientos van dirigidos hacia:

La Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que nos dio la oportunidad de una educación superior de calidad y en la cual hemos forjado nuestros conocimientos profesionales día a día.

Nuestros padres por ser los guías con sus palabras de ánimo en momentos de angustia, y por ese esfuerzo diario que realizaron para darnos la mejor herencia como lo es el estudio.

Nuestro tutor el Ing. Lenín Zambrano Velásquez, quien con sus sabios conocimientos fue de gran apoyo en la realización de este proyecto de vida académica.

Cervecería Gourmet Ecuatoriana, en especial a Andrés Erazo, fueron de gran ayuda sus consejos y sus valiosos conocimientos para llevar a cabo la ejecución y culminación de la presente investigación, siempre estuviste pendiente de nosotros, desde ya estamos en deuda contigo amigo.

Los docentes de la ESPAM MFL que han compartido sus conocimientos con nosotros, y de manera especial a la Ing. Katerine Loor Cusme quien fue muy paciente y supo comprendernos, siendo una guía para culminar este trabajo investigativo.

Los técnicos de los talleres agroindustriales, reconocemos la colaboración del Ing. Roberto Zambrano y el Ing. Nelson Mendoza del área de frutas y vegetales que siempre estuvo a disposición nuestra, a pesar de las largas jornadas de arduo trabajo.

El personal de los laboratorios agroindustriales, el Ing. Jorge Tecas, Ing. Eudaldo Loor, Lcda. Cruz Pinargote, todos ellos colaboraron en el desarrollo de los análisis fisicoquímicos y fueron muy amables con nosotros.

Los miembros del tribunal por todas las sugerencias impartidas y por su predisposición hacia la investigación científica.

AUTORES

DEDICATORIA

Siempre estuvimos firmes en el camino, nunca nos rendimos, aunque la adversidad se hizo presente supimos levantarnos, por esta razón nuestros esfuerzos los dedicamos a:

Dios por el don de la vida, para que hagamos de ella un ejemplo a seguir.

Nuestros padres que han sido el eje fundamental para formarnos como profesionales, y estuvieron en todos los momentos en que los necesitábamos.

Nuestra familia por creer en nosotros y todos aquellos que de una u otra forma hicieron posible la realización de este sueño.

Nuestros amigos que nos brindaron su confianza y nos motivaron con su apoyo incondicional, moral y también didáctico para que salgamos adelante.

AUTORES

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA.....	ii
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR.....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vii
RESUMEN	xii
PALABRAS CLAVE	xii
ABSTRACT.....	xiii
KEYWORDS	xiii
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	3
1.3. OBJETIVOS.....	5
1.3.1. OBJETIVO GENERAL	5
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
1.4. HIPÓTESIS.....	5
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	6
2.1. CERVEZA	6
2.2. TIPOS DE CERVEZA.....	7
2.3. CERVEZA ARTESANAL.....	9
2.4. MATERIAS PRIMAS UTILIZADAS EN CERVEZA.....	10
2.4.1. MALTA DE CEBADA (<i>Hordeum Vulgare</i>).....	11
2.4.2. ALMIDÓN DE PAPA (<i>Solanum tuberosum L.</i>).....	12
2.4.3. LÚPULO (<i>Humulus lupulus</i>).....	15
2.4.4. ESPECIAS, HIERBAS O VEGETALES USADOS EN CERVEZA....	16
2.4.5. AGUA.....	21
2.4.6. LEVADURA.....	22
2.5. FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	24
2.6. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LA CERVEZA.....	25
2.6.1. pH	26
2.6.2. ACIDEZ.....	26

2.6.3. DENSIDAD	27
2.6.4. GRADO DE ALCOHOL.....	27
2.7. EVALUACIÓN SENSORIAL DE LA CERVEZA	28
2.7.1. COLOR	29
2.7.2. OLOR.....	29
2.7.3. SABOR	30
2.7.4. CUERPO.....	30
2.7.5. AMARGOR	31
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	32
3.1. UBICACIÓN	32
3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	32
3.3. FACTORES DE ESTUDIO.....	32
3.3.1. FACTORES	32
3.3.2. NIVELES.....	32
3.4. TRATAMIENTOS	33
3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	34
3.6. UNIDAD EXPERIMENTAL.....	34
3.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO	35
3.7.1. DIAGRAMA DE PROCESO DE ELABORACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL.....	36
3.7.2. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL.....	37
3.8. VARIABLES A MEDIR Y MÉTODO DE EVALUACIÓN	40
3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	41
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
4.1. PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DE LA CERVEZA ARTESANAL...	42
4.2. PARÁMETROS SENSORIALES DE LA CERVEZA ARTESANAL	48
4.3. INCIDENCIA DE LOS FACTORES EN ESTUDIO SOBRE LAS VARIABLES FÍSICOQUÍMICAS.....	50
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	52
5.1. CONCLUSIONES	52
5.2. RECOMENDACIONES	52
BIBLIOGRAFÍA	54

ANEXOS	66
---------------------	-----------

CONTENIDO DE CUADROS

Cuadro 2.1. Energía y nutrientes aportados por 100 ml de cerveza.....	6
Cuadro 2.2. Composición química de varias fuentes de almidón.....	13
Cuadro 2.3. Valores máximos y mínimos adecuados de los iones en el agua cervecera.....	22
Cuadro 2.4. Requisitos de pH, acidez y grado de alcohol.....	26
Cuadro 2.5. Ácidos orgánicos de importancia en la cerveza.....	27
Cuadro 2.6. Alcoholes y otros compuestos producidos en la fermentación. ...	28
Cuadro 3.1. Tratamientos.....	33
Cuadro 3.2. Esquema del ANOVA en DCA factorial.....	34
Cuadro 3.3. Composición de la unidad experimental.....	35
Cuadro 4.1. Resultados de las variables fisicoquímicas de la cerveza artesanal.	42
Cuadro 4.2. Valores promedio de las características organolépticas de la cerveza artesanal.....	48

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 3.1. Diagrama de proceso de la cerveza artesanal.....	36
---	----

CONTENIDO DE GRÁFICOS

Gráfico 2.1. Producción de cerveza artesanal frente a la cerveza fabricada por las grandes industrias en EEUU de 2007 a 2012.....	10
Gráfico 4.1. Comparación del pH de los tratamientos con relación al testigo.	44
Gráfico 4.2. Comparación de la acidez total de los tratamientos con relación al testigo.....	45
Gráfico 4.3. Comparación de la densidad de los tratamientos con relación al testigo.....	46

Gráfico 4.4. Comparación del grado de alcohol de los tratamientos con relación al testigo.....	48
Gráfico 4.5. Diagrama de los resultados organolépticos.....	49
Gráfico 4.6. Incidencia del factor A sobre las variables fisicoquímicas en estudio.....	50
Gráfico 4.7. Incidencia del factor B sobre las variables fisicoquímicas en estudio.....	51
Gráfico 4.8. Incidencia de la interacción del factor A y B sobre las variables fisicoquímicas en estudio.	51

RESUMEN

El propósito de esta investigación fue evaluar los parámetros fisicoquímicos y sensoriales de la cerveza artesanal tipo ale con almidón de papa (*Solanum tuberosum* L.) como adjunto y especias, innovando en la incorporación de materias primas poco convencionales. Se determinó el comportamiento de dos factores: A. Mezcla de 80% malta de cebada con 20% almidón de papa (200 y 300 g/L) y B. Combinación de especias: 40% lúpulo, 10% tomillo, 48% romero y 2% ajeno (1, 2 y 3 g/L), que originaron seis tratamientos; conjuntamente, se incluyó un testigo (100% malta de cebada y lúpulo). Se analizaron las variables fisicoquímicas (pH, acidez total, densidad y grado de alcohol) aplicando un ANOVA AxB (2x3) con tres repeticiones y el contraste con Dunnett. Las características organolépticas (color, olor, sabor, cuerpo y amargor), se evaluaron con un panel de jueces semientrenados y se trataron por medio de la prueba de Friedman. Todos los tratamientos de la cerveza artesanal alcanzaron el rango permisible por INEN 2262 para la variable pH, siendo el T₁ (200 g/L de la mezcla malta de cebada con almidón de papa + 1 g/L de combinación de especias) quien además cumplió el porcentaje de acidez y grado de alcohol establecido en la norma. En el análisis sensorial los jueces no lograron determinar diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos y el testigo. El factor A incidió sobre el pH y grado de alcohol, mientras que el factor B sobre todas las variables fisicoquímicas.

PALABRAS CLAVE

Cerveza artesanal, almidón de papa, especias, características fisicoquímicas, análisis sensorial.

ABSTRACT

The purpose of this research was to evaluate the physicochemical and sensory parameters of craft beer type ale with potato starch (*Solanum tuberosum L.*) as an adjunct and spices, innovating in incorporating unconventional raw materials. The behavior of two factors was determined: A. Mix 80% malted barley with 20% potato starch (200 and 300 g/L) and B. Combination of spices: 40% hops, 10% thyme, 48% rosemary and 2% wormwood (1, 2 and 3 g/L), giving rise to six treatments; together, a witness was included (100% malted barley and hops). Physico-chemical variables were analyzed (pH, total acidity, density and degree of alcohol) applying an AxB ANOVA (2x3) with three repetitions and contrast with Dunnet. The organoleptic characteristics (color, odor, flavor, body and bitterness), were evaluated by a panel of semi-trained judges and treated by the Friedman test. All treatments of the craft beer reached the allowable range by INEN 2262 for pH variable, being the T₁ (200 g/L barley malt mixture of potato starch + 1 g/L combination of spices) which also fulfilled the percentage of acidity and alcohol content established in the standard. In sensory analysis the judges failed to determine significant differences ($p < 0.05$) between treatments and the control. Factor A influenced on pH and degree of alcohol, while factor B on all physicochemical variables.

KEYWORDS

Craft beer, potato starch, spices, physicochemical characteristics, sensory analysis.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

La cerveza, bebida alcohólica producida por la fermentación de cereales malteados o sin maltear, es una mezcla compleja, se han caracterizado en ella más de 400 componentes diferentes. Algunos de sus constituyentes son derivados de las materias primas y permanecen sin cambiar durante el proceso de fabricación, otros son el resultado de transformaciones químicas y bioquímicas durante la elaboración (Cerpa y Melo, 2012; Caballero *et al.*, 2012; Cerna, 2006). Alves y De Faria (2008) mencionan que las cervezas son clasificadas básicamente en dos tipos: lager (de fermentación baja) y ale (de fermentación alta). Baiano y Terracome (2013) establecen que las cervezas ales son fermentadas a temperaturas entre los 16 a 24°C y la levadura utilizada para su fermentación es la *Saccharomyces cerevisiae* que posee la característica de realizar este proceso en la superficie del mosto.

Niir Project Consultancy Services (NPCS) (2014) afirma que la cerveza se consume en países de todo el mundo y es incluso una parte de la cultura en muchas naciones. También es la bebida alcohólica más consumida y la tercera bebida más popular en general después del agua y el té. En el 2012 la producción mundial de cerveza llegó a 190.70 millones de kilolitros, con un incremento de alrededor de 1.77 millones de kilolitros (0.9%) respecto al año anterior.

En Ecuador el mercado de la cerveza según ProChile (2014) tiene gran acogida, ya sea por factores climáticos como por razones culturales. Un estudio realizado por el Instituto Ecuatoriano de Estadísticas y Censos (2013) ha señalado que 900 mil personas consumen alcohol en Ecuador y el 79.2% de este consumo corresponde al de cerveza. En cuanto a la cerveza artesanal de acuerdo con Enríquez (2014) en el país se producen mensualmente 60000 litros elaborados por 42 microcervecías, de las cuales el 50% se encuentran

ubicadas en la ciudad de Quito. Por su parte en Manabí según datos de la Asociación de Cerveceros del Ecuador (2012) existen dos cervecerías artesanales (Bonanza y Umiña).

Cinkmains *et al.*, (2014) aclaran que en elaboración de la cerveza, las materias primas que le otorgan su color específico, el sabor y el aroma son el lúpulo, malta de cebada, levadura y agua. Sin embargo, estas materias primas pueden ser reemplazadas parcial o totalmente con otros productos. Al respecto investigaciones como la de González *et al.*, (2013), Almeida (2009), Serna *et al.*, (2005) y Panda *et al.*, (2015) demuestran que se puede conseguir cerveza de calidad en base a parámetros sensoriales y fisicoquímicos, utilizando como adjunto un producto diferente a la cebada que proporcione almidón, y estableciendo un campo de estudio con materias primas cuyo uso no es común. Considerando que la cerveza no solamente se elabora a partir de cebada, se puede utilizar almidón de papa como adjunto en el proceso de producción.

Basanta (2009) puntualiza que desde el inicio de la fabricación de la cerveza se han buscado hierbas, frutas o especias que, añadidas al producto final o durante su elaboración, dieran lugar a cervezas con olores y/o sabores agradables. Hasta el siglo XV el romero y el tomillo formaban parte de los ingredientes de la cerveza, los cuales se utilizaban para evitar la descomposición y mejorar el sabor (Fisher y Fisher, 2016). Con la aparición del lúpulo los cerveceros aprendieron su utilidad como saborizante, con lo que aumentó su difusión, sustituyendo una mezcla de condimentos denominado "Gruit" en la que se incluía el ajeno (Hornsey, 2003). Como alternativa se puede rescatar el uso de las plantas que se empleaban antiguamente en la elaboración de cerveza.

Para Jackson y Mundy (2002) en la elaboración de cerveza, entre los parámetros más importantes que se evalúan se encuentran las propiedades fisicoquímicas, que son determinantes en la calidad. Entre las características sensoriales, Ghasemi-Varnamkhasti *et al.*, (2012) destacan el impacto de la

percepción del sabor, amargor, color, olor, etc., un defecto provocaría rechazo por parte del consumidor, siendo el sabor y olor los atributos más significativos a considerar.

Una vez analizados todos estos factores que componen la problemática, se llega a la siguiente interrogante.

¿De qué manera incide el almidón de papa y las especias (lúpulo, tomillo, romero y ajeno) en las características fisicoquímicas y sensoriales de la cerveza artesanal tipo ale?

1.2. JUSTIFICACIÓN

Esta investigación se enfoca en el análisis fisicoquímico y sensorial de la cerveza artesanal tipo ale, en la que se propone utilizar como materia prima además de la malta de cebada, el almidón de papa, que ha sido incorporado como fuente de azúcares fermentables en este tipo de bebida (Hernández, 2001). Aparte del lúpulo, se empleará el tomillo, romero y ajeno, debido a que sus hojas contienen propiedades aromáticas (Teruel, 2015; Shabnum y Wagay, 2011; Tulp y Bohlin, 2004).

La importancia de esta investigación radica en demostrar que se puede obtener un producto, innovando en lo que concierne a la incorporación de materias primas poco convencionales, que cumplan con los estándares de calidad necesarios para el proceso de elaboración.

Debido a que la cerveza posee un alto consumo por parte de la población, mediante su producción se puede dinamizar la economía, generando empleos y recursos económicos, procesando materias primas que se encuentren a disposición en el mercado nacional.

En cuanto al ámbito legal, en este trabajo se tomará como referencia la norma INEN 2262 vigente para cerveza, en la cual los parámetros fisicoquímicos que

se analicen (pH, acidez, grado de alcohol) deben estar comprendidos en el rango que indica la normativa.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar los parámetros fisicoquímicos y sensoriales de la cerveza artesanal tipo ale con almidón de papa (*Solanum tuberosum L.*) como adjunto y especias.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los tratamientos que cumplen los parámetros fisicoquímicos, de acuerdo con lo establecido en la norma INEN 2262.
- Establecer mediante análisis sensorial las características organolépticas de la cerveza artesanal tipo ale con un panel de jueces semientrenados.
- Inferir cuál de los factores tiene mayor incidencia sobre las características fisicoquímicas.

1.4. HIPÓTESIS

Al menos uno de los tratamientos adquiere las características fisicoquímicas y sensoriales inherentes de la cerveza artesanal tipo ale.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. CERVEZA

La cerveza es una bebida alcohólica fermentada, obtenida principalmente de la malta de cebada (Dos Santos *et al.*, 2014). Su proceso de elaboración es complejo y requiere el control de numerosos parámetros para asegurar la reproducibilidad de la calidad del producto final: una mezcla compleja de constituyentes que varían en naturaleza y nivel de concentración (Palacios *et al.*, 2012).

La cerveza contiene un gran número de componentes orgánicos, como proteínas, aminoácidos, polifenoles y azúcares, que provienen principalmente de los materiales empleados durante la elaboración y como subproducto del metabolismo de las levaduras durante la fermentación. Estos compuestos son los responsables de la mayoría de las características organolépticas de la cerveza y están también relacionados con su estabilidad (Palacios *et al.*, 2012). El consumo de 100 ml de cerveza proporciona las cantidades de nutrientes y energía que se observan en el cuadro 2.1.

Cuadro 2.1. Energía y nutrientes aportados por 100 ml de cerveza.

Energía y nutrientes	Aporte
Energía (kcal)	32
Proteínas (g)	0.3
Carbohidratos (g)	2.4
Alcohol (g)	3.1
Calcio (mg)	7
Hierro (mg)	0.1
Magnesio (mg)	6
Silicio (mg)	3.6
Zinc (mg)	0.02
Tiamina (mg)	Trazas
Riboflavina (mg)	0.03
Niacina (mg)	0.4
Ácido fólico (µg)	4.1
Vitamina B ₁₂ (µg)	0.14

Fuente: Alcázar (2001).

La composición cuantitativa de acuerdo con Alcázar (2001) varía considerablemente dependiente del tipo de cerveza, pero cualitativamente se puede decir que prácticamente es la misma en todas.

2.2. TIPOS DE CERVEZA

Según Alcázar (2001) hay varias formas de clasificar las cervezas: por el tipo de agua empleada, por el color, por los cereales utilizados para extraer azúcares, por la proporción y la calidad de los ingredientes básicos empleados, por la composición del mosto, por la tradición histórica en lo que se refiere a la selección de levaduras o el contenedor empleado en la maduración.

Alves y De Faria (2008) mencionan que las cervezas son clasificadas básicamente en dos tipos: lager (de fermentación baja) y ale (de fermentación alta). Las cervezas de tipo lager son fermentadas a temperaturas de 3.3 a 13°C y su maduración puede durar de 4 a 12 semanas. Debido a las bajas temperaturas usadas en el proceso, los sabores y aromas de las cervezas lager son más suaves en comparación con las ales.

Baiano y Terracome (2013) establecen que las cervezas ales son fermentadas a temperaturas entre los 16 a 24°C. La levadura utilizada para su fermentación es la *Saccharomyces cerevisiae* que posee la característica de realizar este proceso en la superficie del mosto. A su vez, la fermentación alta puede producirse con cepas de levadura controlada o con levaduras “salvajes”. En el primer caso se llama simplemente fermentación alta, y en el segundo, fermentación espontánea. (Alcázar, 2001).

Entre varias categorías de estilos, se encuentran las cervezas con especias, hierbas o vegetales (EHVs), de acuerdo a la clasificación de Beer Judge Certification Program (BJCP) (2008), cuya elaboración se la realiza sobre un estilo base (ale o lager). El carácter de las EHV's debe ser distintivo principalmente en propiedades como el olor.

Alcázar (2001) a continuación describe las características de las cervezas tipo ale y lager, así como sus diferentes estilos.

CERVEZAS ALES: Las ale son cervezas de fermentación alta en caliente, lo que hace que las cepas de levadura suban a la superficie. La fermentación en caliente proporciona al producto aromas afrutados, tonos muy variados y sabores complejos, por lo que la gama de cervezas ale es muy extensa. Es una cerveza tradicionalmente ligada a las Islas Británicas (Inglaterra, Irlanda y Escocia). La misma palabra “ale” proviene etimológicamente del sajón antiguo, y es la palabra que se utilizaba para designar a la cerveza.

El término ale define únicamente el método de fermentación, y no tiene nada que ver con los tipos de maltas o lúpulos empleados, ni con el color o contenido alcohólico del producto. Una ale puede tener el tono de color que el cervecero desee darle. Algunas variantes de este tipo son: Ale Mild, Bitter, Pale Ale, Brown Ale, Old Ales, Barley Wine y Altbier.

CERVEZAS LAGER: Lager es un término que en alemán significa guardar. La lager es una cerveza fermentada con una levadura controlada denominada *Saccharomyces carlsbergensis* o *Saccharomyces uvarum*, que trabaja a bajas temperaturas. El proceso de fermentación tiene lugar a lo largo de unas dos semanas. Una vez finalizado, el mosto es almacenado en tanques, en la cervecería, para su guarda, a una temperatura cercana a los 0°C. Este proceso es precisamente el que da el nombre a la familia lager. La duración de la guarda puede oscilar entre las tres semanas y los nueve meses, si bien algunas lager pueden requerir hasta un año de guarda. Durante este tiempo tiene lugar una segunda fermentación, el mosto va madurando, los restos de levadura se sedimentan y se produce la carbonatación del mosto de forma natural. Una vez filtrada y embotellada o puesta en barriles, no se prevé conservarla durante mucho tiempo. No mejora con el tiempo, e incluso puede deteriorarse.

Las cervezas de la familia lager se elaboran básicamente con malta de cebada y se caracterizan por ofrecer un aspecto limpio (sin partículas en suspensión) y ser bastante espumosas. Algunas de las variedades de este estilo son las siguientes: Pilsen, Dunkel, Dortmunder, Munich y Bock.

La Universidad del Pacífico (2011) considera, que los diferentes estilos de cervezas pueden ser elaborados de manera artesanal (tradicionales o personalizadas). La personalización consiste en darle a la cerveza el carácter individual que el consumidor desea en su elaboración y presentación.

2.3. CERVEZA ARTESANAL

Sancho (2015) justifica, que si se analiza el fenómeno de las cervecerías artesanales (en inglés craft breweries) a lo largo del mundo, se observa que en algunos países con una extensa tradición y cultura por la cerveza, todavía se encuentran activas pequeñas fábricas desde hace más de 200 años. En República Checa, Alemania, el norte de Francia, Bélgica, Holanda y Reino Unido existen algunas de ellas. La mayoría son establecimientos denominados brewpubs (bares y/o restaurantes con fabricación propia de cerveza). En los últimos 15 años, se han instalado en Europa numerosas micro-fábricas en dichos países y en otros como Italia, Suiza, Dinamarca, España, etc.

Otros países de gran trayectoria como EEUU, han experimentado un crecimiento muy importante a lo largo de los años en lo que a producción de cerveza artesanal se refiere. En aproximadamente 25 años han pasado a ocupar una cota de mercado del 1% al 6.5%, y la tendencia es que siga aumentando en los siguientes años. En el gráfico 2.1 Sancho (2015) revela el crecimiento de la producción de cerveza artesanal en EEUU.

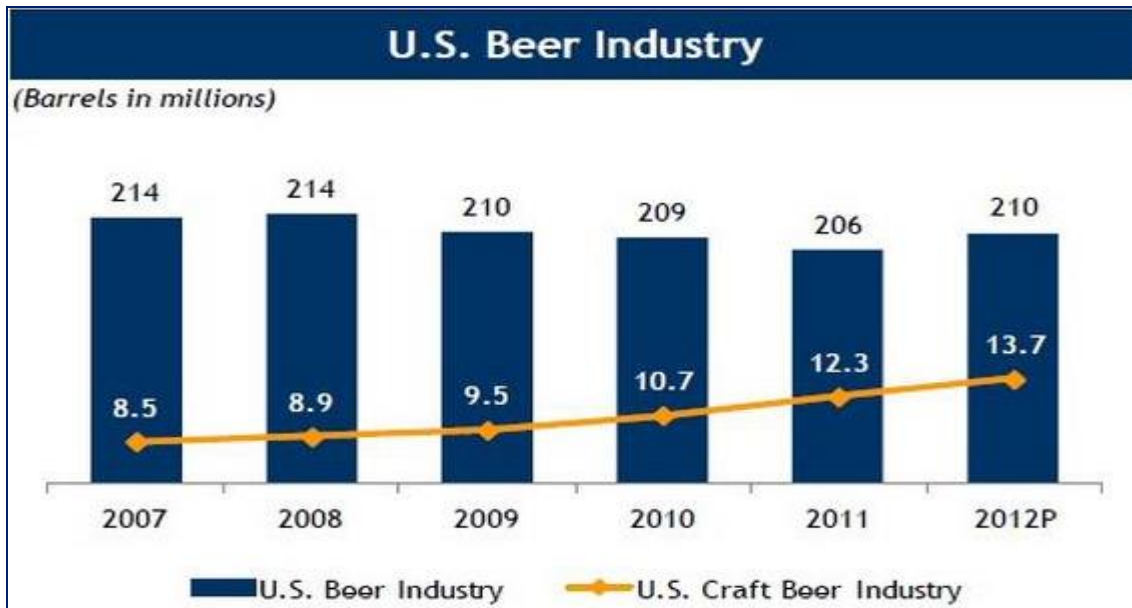


Gráfico 2.1. Producción de cerveza artesanal frente a la cerveza fabricada por las grandes industrias en EEUU de 2007 a 2012.

En la actualidad, existen craft breweries en todos los continentes. Es un sector muy exigente en el que solamente las fábricas que ofrecen productos de mucha calidad y se renuevan constantemente sobreviven. Sancho (2015) menciona que incluso se organizan campeonatos anuales tanto a nivel nacional, continental o mundial.

Es muy importante también obtener parámetros tanto cuantitativos como cualitativos de estas prácticas y del producto obtenido. Es por ello muy trascendental establecer una serie de protocolos durante la fabricación y el almacenamiento para poder garantizar la mayor estabilidad posible en estas cervezas especiales que pueden perder sus preciados aromas en cuestión de meses, horas e incluso días. Para poder elaborar una cerveza de gran calidad; tanto las materias primas, como los equipos de producción, así como las técnicas utilizadas en la fabricación son fundamentales (Sancho, 2015).

2.4. MATERIAS PRIMAS UTILIZADAS EN CERVEZA

Las materias primas fundamentales para la fabricación de cerveza de acuerdo con Alcázar (2001) son cuatro: malta de cebada, agua, levadura y lúpulo;

aunque se utiliza otra fuente de hidratos de carbono para sustituir parcialmente a la malta de cebada, habitualmente materias primas ricas en almidón o cereales no malteados como el arroz, el maíz o el trigo (Keukeleire, 2000; Bubacz *et al.*, 2013). Suárez (2013) reporta el uso de almidón de papa como adjunto cervecero. Merelo y Zúñiga (2013) mencionan que también se pueden utilizar especias, hierbas o vegetales en el proceso de elaboración de cerveza.

2.4.1. MALTA DE CEBADA (*Hordeum Vulgare*)

Echeverría y Gutiérrez (2010) argumentan que se da el nombre de malta a los granos germinados y secados de cebada. En teoría también pueden maltearse todos los cereales como por ejemplo el trigo, el centeno o el sorgo, pero las pruebas realizadas indican que, por diversas razones las demás clases de cereales no dan maltas adecuadas (Kunze, 2006; Vogel, 2003). De acuerdo con Hernández y Román (2010) el malteado tiene como función principal transformar las reservas alimenticias del grano, almidón insoluble y proteína, en un sustrato rico en azúcares fermentables.

Suárez (2013) manifiesta que en una maltería moderna la modificación se lleva a cabo en una sala de germinación-horno durante cuatro y seis días hasta llegar al nivel de modificación deseado en función de la longitud del brote; mientras que en una maltería tradicional se pone la cebada en el suelo formando una capa de veinticinco centímetros de espesor y se remueve para mantener la temperatura a 15°C y airearla. Cuando el grado de conversión es el deseado, la malta verde se seca y se tuesta a temperaturas diferentes durante distintos periodos según el proceso final deseado. Primero se seca lentamente a bajas temperaturas (35°C - 60°C) y se tuesta con mayor rapidez a temperaturas más altas (80°C - 105°C), según el tipo, para detener la actividad de las enzimas. Las maltas base, Pale, Pilsner o Lager, Mild Ale, Viena, Munich, y la malta de otros cereales que producirán la mayor parte de los azúcares, no pasan de esta fase para conservar su diastasa y evitar la caramelización de los azúcares. Los niveles de humedad al final del tueste van del 3% al 6%.

También hay maltas ahumadas (su uso es imprescindible para cervezas de tipo Rauchbier, y varias artesanas americanas), ácidas y que se tuestan una vez quitadas las cáscaras. Para elaborar malta ácida, se permite el cultivo de *Lactobacillus* en la malta verde antes de secarla y tostarla. Se recomienda añadir pequeñas cantidades (3% - 5%) a la Pilsner o la Lager Malt para bajar el pH del mosto para Pilsener y Lager claras, evitando las adiciones de minerales que no son aptas para estos estilos que exigen tener un paladar muy delicado. En cambio, en el caso de los estilos de cerveza oscura, las maltas tostadas bajan el pH sin ayuda. Algunos cerveceros alemanes utilizan ciertas maltas tostadas a las que se ha quitado la cáscara, de esta manera se conserva el color pero no se obtiene un sabor fuerte asociado a cervezas oscuras (Suárez, 2013). La malta clara es almacenada cuatro semanas como mínimo en silos o graneros, las maltas oscuras se llegan a almacenar hasta por dos o tres meses, esto debido a que en este periodo de tiempo se producen cambios en el perfil aromático, con lo que se obtiene cervezas de mayor estabilidad en sabor (Kunze, 2006).

2.4.2. ALMIDÓN DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.)

El almidón es un polímero cuya estructura molecular se basa en la asociación de moléculas de glucosa que están unidas entre ellas mediante enlaces -D-(1-4) y/o -D-(1-6), que forman sus dos macromoléculas principales, la amilosa y la amilopectina (Pineda *et al.*, 2010; Rodríguez *et al.*, 2001; Hernández, *et al.*, 2008; Sandoval *et al.*, 2005; Rodríguez *et al.*, 2006; Meneses *et al.*, 2007).

Algunos vegetales almacenan almidón en las semillas y raíces, es el caso de la papa que de acuerdo con Peatciyammal *et al.*, (2010) se compone de humedad ($80 \pm 2\%$), almidón ($18 \pm 2\%$), celulosa y hemicelulosa ($1.5 \pm 0.5\%$), glucosa ($0.4 \pm 0.3\%$) y proteínas ($2 \pm 1.5\%$). En el cuadro 2.2 Hernández *et al.*, (2008) reportan resultados de la composición química de varias fuentes de almidón, entre los que se encuentra la papa.

Cuadro 2.2. Composición química de varias fuentes de almidón.

Componentes (%)	Makal	Camote	Yuca	Sagú	Maíz	Papa
Humedad	8.99	9.83	9.48	10.5	9.9	19
Proteína cruda	0.16	0.22	0.06	0.64	0.10	0.06
Grasa cruda	0.19	0.31	0.20	0.36	0.35	0.05
Fibra cruda	0.35	0.28	1.01	0.06	0.62	NR
Cenizas	0.12	0.26	0.29	0.22	0.06	0.40
ELN	99.28	98.93	98.44	98.72	98.93	99.49
Amilosa	23.6	19.6	17.0	22.7	28.3	21.0
Amilopectina	76.4	80.4	83.0	77.3	71.7	79.0

Fuente: Hernández *et al.*, (2008).

Para Hasbún *et al.*, (2009) el almidón es el segundo componente más abundante en la papa, con alrededor de 60-80% de la materia seca. El contenido de almidón y sus características físicas y químicas están asociados con varios parámetros que influyen en la calidad y condicionan la operación de los procesos de industrialización de los tubérculos y la extracción del almidón (Vázquez *et al.*, 2012).

El almidón de papa presenta una gran diversidad de usos, principalmente en la industria alimentaria y farmacéutica, aunque también tiene usos en la industria textil, papelera, minera, petrolera y química (FAO, 2008). Peatciyammal *et al.*, (2010) reportan el uso del almidón de papa en la industria cervecera.

2.4.2.1. PRODUCCIÓN DE CERVEZA A PARTIR DE ALMIDÓN DE PAPA

En la producción de cerveza la hidrólisis del almidón se puede realizar de distintas formas: 1) hidrólisis enzimática, mediante el uso de enzimas α y β -amilasas; 2) hidrólisis enzimática con reforzamiento del sustrato, con adición de cebada maltera; 3) hidrólisis química, ya sea con ácido fosfórico o sulfúrico concentrado. Vázquez *et al.*, (2012) detallan a continuación el proceso de producción de cerveza a partir de almidón de papa.

- Después de la hidrólisis la mezcla se mantiene en reposo durante 30 min, tiempo suficiente para reducir la temperatura y retirar los sólidos

sedimentados. Los desechos obtenidos como bagazo, principalmente son los tejidos de la epidermis del tubérculo, representan un 10 % en peso húmedo de la cantidad de materia prima utilizada, conteniendo también una cantidad considerable de azúcares fermentables.

- Después de retirar el bagazo del mosto, se procede a subir el pH, según las condiciones de la levadura a un valor de 4.0-4.5, utilizando como base hidróxido de amonio para neutralizar el ácido fosfórico. Posteriormente se pasa a una primera filtración, para dejar el mosto libre de sólidos que están en suspensión, y en el caso del tratamiento con ácido sulfúrico se separa el sobrenadante (mosto), dejando la mayor cantidad posible de material precipitado en el fondo del recipiente.
- Después de someterse a ebullición, se adiciona la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*). El tipo de cerveza producido se determina como ale, ya que la levadura tiende a depositarse en el fondo del bioreactor y la temperatura para llevar a cabo esta fase se mantiene mayor a los 24 °C durante 4 a 7 días.
- En la clarificación, una baja temperatura (refrigeración) permite la precipitación de los sólidos, dejando un producto clarificado, aunque no en su totalidad, ya que al paso del tiempo se observa aún sedimentación de sólidos, con lo cual se determina que para obtener un producto totalmente cristalino es necesario aplicar otro método, como la centrifugación.
- Después de la fermentación se procede a la carbonatación o gasificación como la que caracteriza a esta bebida. A nivel industrial existe toda la tecnología para lograr la correcta carbonatación de esta bebida. El proceso consiste en inyectar el gas bajo presión a las bebidas ya envasadas y en cantidad preestablecida.

Vázquez *et al.*, (2012), además, mencionan las siguientes ventajas del uso de almidón de papa en la producción de cerveza:

- Comparando el proceso de producción de cerveza de papa con el de cebada, la ventaja de la papa es el menor contenido de proteína en la

materia prima (1.87%), la cual es alrededor de una tercera parte de la que se presenta en la cebada (7.5 a 15.6 %). La presencia en exceso de proteínas reduce el rendimiento de la producción de cerveza. Se puede presentar un descenso en los rendimientos de 0.5 a 0.6 % por unidad porcentual de proteína presentada en exceso, así como una turbidez mayor. Lo cual permite una mayor clarificación en la cerveza de papa durante la refrigeración sin necesidad de aplicar alguna sustancia, siendo esto contrario en el proceso a partir de cebada.

- Una ventaja a resaltar del proceso de la cerveza de papa vs el proceso de cerveza de cebada, es que el tubérculo no se maltea, mientras que la cebada pasa por un proceso de germinación y secado, el cual requiere más de 5 días para la obtención de los azúcares mientras que en el procesamiento de los tubérculos de papa se requiere solamente una hora para hidrolizar el almidón.

2.4.3. LÚPULO (*Humulus lupulus*)

Casas *et al.*, (2014) establecen que el lúpulo (*Humulus lupulus*) es una planta perenne de la familia de las cannabidaceas con flores masculinas y femeninas separadas en pies diferentes, con tallos caducos o trepadores, con los principios activos que contienen las inflorescencias femeninas (estróbilos) y las brácteas que las recubren. Estos componentes han sido utilizados en la industria cervecera para proporcionar sabor amargo a la cerveza y estabilidad.

Los principales componentes responsables del amargor refrescante y limpio de la cerveza son α -ácidos (Alcázar, 2001; Caballero *et al.*, 2012; Techakriengkrai *et al.*, 2004; Schönberger, 2006). Durante la cocción, los α -ácidos también llamados humulonas se isomerizan y reorganizan, resultando compuestos mucho más amargos (contribuyen en más del 85% de compuestos amargos en la cerveza) y solubles denominados isohumulonas o iso- α -ácidos (Alcázar, 2001; Kappler *et al.*, 2010). Otros compuestos presentes en el lúpulo, como terpenos, ésteres, aldehídos, cetonas, ácidos y alcoholes influyen tanto en el sabor como en el aroma de la cerveza.

La calidad del lúpulo se correlaciona sobre todo con la concentración de tres alfa ácidos (la humulona, la cohumulona y la adhumulona) (Casas *et al.*, 2014; Schönberger, 2009), cuyas proporciones son variables en función de la variedad de lúpulo y otros factores. Los alfa ácidos son muy susceptibles a la oxidación, por lo que su almacenamiento y conservación es un aspecto muy sensible, considerado por los cerveceros (Casas *et al.*, 2014).

Además de aromatizar y aportar el amargor a la cerveza Caballero *et al.*, (2010) indican que los iso- α -ácidos poseen otras propiedades:

- Mejoran la estabilidad de la espuma, debido a que poseen compuestos muy tensioactivos.
- Inhiben el desarrollo de los microorganismos en la cerveza, aumentando su estabilidad biológica. Sin embargo, no es una actividad bacteriostática lo suficientemente grande como para sustituir las medidas necesarias para la conservación del producto.

Suárez (2013) indica que el lúpulo puede clasificarse en tres clases: lúpulos de aroma, lúpulos de doble finalidad y lúpulos de amargor. Existen variedades que van estrechamente asociadas a ciertos estilos de cerveza, consecuentemente, se usan por razones geográficas, históricas y culturales.

2.4.4. ESPECIAS, HIERBAS O VEGETALES USADOS EN CERVEZA

Entre las especias más utilizadas en cervecería Merelo y Zúñiga (2013) destacan la pimienta de Jamaica, anís, comino, canela y clavo de olor; en cuanto a hierbas mencionan el vendaval dulce, brezo, hierba buena, menta verde, albahaca, orégano y romero.

Antes de la masificación del lúpulo, en Europa se empleaba una mezcla de hierbas denominada "Gruit", la composición de esta estaba sujeta a variaciones locales, en la cual se utilizaba el ajenjo (Gagliardi, 2008). Vicente (2013) hace

referencia que hasta el siglo XV se usaba el romero y tomillo en la cerveza para prevenir la descomposición y mejorar el sabor.

2.4.4.1. TOMILLO (*Thymus vulgaris* L.)

El tomillo (*Thymus vulgaris* L.) perteneciente a la familia *Lamiaceae* es un arbusto de olor perenne con una altura hasta de 40 cm, nativo de la región mediterránea occidental (Salmani *et al.*, 2015; Dogu-Baykut *et al.*, 2014; Nielsen *et al.*, 2015; Nielsen *et al.*, 2016; Linhart *et al.*, 2015). El género comprende alrededor de 300 especies, crece en las laderas de las montañas en altitudes hasta de 1200 m y es cultivado a lo largo de climas templados (Kohiyama *et al.*, 2015; Mancini *et al.*, 2015; Nikolić *et al.*, 2014; Stojković *et al.*, 2013). Las hojas y su aceite esencial han sido ampliamente utilizados en los alimentos por su sabor (Mardafkan *et al.*, 2015), aroma (Pirbalouti *et al.*, 2013) y su poder como preservante (Wang *et al.*, 2016; Nguéfack *et al.*, 2012).

El tomillo también posee varios efectos beneficiosos como propiedades antifúngicas (Horváthová *et al.*, 2015), antimicrobianas (Yáñez *et al.*, 2014), medicinales (Al Hashmi *et al.*, 2013) y antioxidantes (Roby *et al.*, 2013; Dal Bosco *et al.*, 2013; Rodríguez *et al.*, 2013). Los principales constituyentes del tomillo incluyen el aceite esencial de 2.17-4.73% (borneol, carvacrol, linalol, timol) (Capuzo *et al.*, 2013; Gerencsér *et al.*, 2014), principios amargos, taninos (Shabnum y Wagay, 2011), saponinas (Hossain *et al.*, 2013), ácidos triterpénicos (Horváthová *et al.*, 2015) y flavonoides (Fachini-Queiroz *et al.*, 2012). En la industria alimenticia ha sido utilizado como especia y en la producción de licores (Đorđević *et al.*, 2015; Karabegović *et al.*, 2012; Cerda *et al.*, 2013; Ronicely *et al.*, 2012).

Gorjanovic *et al.*, (2009) evaluaron la actividad antioxidante del extracto de tomillo junto con otras hierbas como ingredientes de la cerveza, tomando como control varias marcas de cervezas comerciales; las diferencias de los resultados obtenidos fueron poco significativos, lo cual relacionaron con la poca cantidad de extracto añadido.

Dorđević *et al.*, (2015) determinaron los compuestos fenólicos, antioxidantes y aceptabilidad sensorial de una cerveza comercial, a la que añadieron varias hierbas, entre las que utilizaron el tomillo. La dosis de extracto diluido fue de 0.50 mL/L de cerveza. La muestra de cerveza con extracto de tomillo consiguió una puntuación sensorial inferior, en relación con la cerveza dorada comercial, aunque desde el aspecto funcional se reportaron resultados superiores.

2.4.4.2. ROMERO (*Rosmarinus officinalis L.*)

El romero es una planta aromática de origen mediterránea, perteneciente a la familia de las lamiáceas. El nombre deriva del latín, que significa "rocío" (ros) y "mar" (marinus), o "rocío del mar". Ha sido ampliamente utilizado en las comidas tradicionales y posee varias aplicaciones alimenticias e industriales como antioxidante y flavorizante (Teruel, 2015; Afonso *et al.*, 2013; Pires *et al.*, 2013; Machado *et al.*, 2013).

En su composición química Muñoz (2002) destaca el aceite esencial de esta planta cuya proporción varía según la procedencia geográfica, parte de la planta y etapa de desarrollo en el momento de la recolección. Así se han diferenciado tres quimiotipos diferentes: cineoliferum (alto porcentaje de 1,8-cineol), camforiferum (con más de un 20% en alcanfor) y verbenoniferum (con más de un 15% en verbenona). En cuanto a características organolépticas el mismo autor señala olor fuertemente aromático, intenso, especiado, algo canforáceo; el sabor áspero, amargo y ligeramente picante.

En contraste Baño (2006) ha diferenciado tres grupos de compuestos mayoritarios: diterpenos, derivados del ácido caféico y flavonoides. Las hojas son el único órgano de la planta dónde están presentes simultáneamente los tres grupos de polifenoles y todos ellos presentan una máxima acumulación durante los estados más jóvenes del desarrollo de este órgano. Las concentraciones de estos compuestos van disminuyendo rápidamente con el desarrollo, debido a su dilución durante el crecimiento de la hoja. En su composición química se encuentran sustancias antioxidantes que se atribuyen

principalmente al ácido carnósico, carnosol y ácido rosmarínico (Zhang *et al.*, 2012), además el aceite esencial de esta planta posee actividad antimicrobiana (Erkan *et al.*, 2008; Gachkar *et al.*, 2007; Albu *et al.*, 2004), el cual ha sido utilizado en medicina, perfumería y licores (Pintore *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2012).

Antes del uso del lúpulo en la cerveza, Unger (2004) aclara, se empleaba una combinación de hierbas secas, el romero silvestre formaba parte de esta mezcla. Hamilton (2013) establece que la flor de romero posee su máximo poder aromático cuando está en los meses de invierno, esto se debe a que tiene una mayor concentración de aceites esenciales. Para aromatizar se puede usar romero seco, aunque los resultados no son tan buenos.

2.4.4.3. AJENJO (*Artemisia absinthium*)

Artemisia absinthium L. es una planta aromática de la familia *Asteraceae*, subfamilia *Asteroideae*, tribu *Anthemideae* y se conoce por el nombre de ajeno común (Reino Unido), ajeno (Francia), vermut (Alemania) y atantine (Irán) (Rezaeinodehi y Khangloli, 2008). Posee un tallo erecto (30-60 cm), de tamaño mediano con hojas verdosas y ramas blancas, es originaria de Europa, América del Norte y Asia, y comúnmente se cultiva en zonas de clima templado (Tariku *et al.*, 2015; Craciunescu *et al.*, 2012; Sahin *et al.*, 2013). El género *Artemisia* L., comprende más de 500 especies distribuidas en todo el mundo (Obistoiu *et al.*, 2014). La planta ha sido objeto de amplias investigaciones fitoquímicas que han revelado la presencia de una variedad de componentes tales como el ácido ascórbico, flavonoides, carotenoides, taninos, lignanos y aceites esenciales (0.2-1.5%) (Pellicer *et al.*, 2007; Bailen *et al.*, 2013; Kumar y Upadhyaya, 2013; Nalbantsoy *et al.*, 2013).

Las hojas aromáticas de muchas especies se utilizan para dar sabor. Amer *et al.* (2014) puntualizan que el aroma fuerte del ajeno se debe a los terpenoides, lactonas sesquiterpénicas y aceites esenciales, que según González *et al.*, 2012 son los compuestos que producen el amargor característico de esta

planta. Tulp y Bohlin (2004) reportan en el aceite esencial del ajeno como principio activo la tuyona, que está químicamente relacionado con el cineol.

Los miembros de este género tienen interés botánico, farmacéutico y debido a su aroma y sabor característico se utiliza en la industria de los licores (Fernández *et al.*, 2008; Lachenmeier y Walch, 2011; Shafi *et al.*, 2012; Pelkonen *et al.*, 2013; Kordali *et al.*, 2006; Sharopov *et al.*, 2012), *A. absinthium* también ha sido utilizado como antiséptico, antihelmíntico, tónico, diurético y antioxidante (Kordali *et al.*, 2005; González *et al.*, 2012; Judzentiene *et al.*, 2012).

El ajeno ha sido utilizado en la elaboración de la cerveza, en bebidas alcohólicas como el vermut (derivado de la palabra alemana Wermut) que es un vino aromatizado con hierbas (principalmente ajeno). El alcohol de absenta, también contiene ajeno (Matsumoto *et al.*, 2006; Lee, *et al.*, 2013).

Cinkmains *et al.*, (2014) en la elaboración de cerveza, sustituyeron el lúpulo por ajeno, por ser rico en sustancias amargas. Durante el proceso de cocción del mosto, el lúpulo fue reemplazado con 0.2 g/L de ajeno. De acuerdo con la evaluación de los catadores, la bebida de cerveza con ajeno tenía un sabor amargo excesivamente fuerte.

Kordali *et al.*, (2005) estipulan que el abuso de los licores de ajeno y de arcabuz produjo numerosas intoxicaciones durante el siglo XIX. Estos licores contenían numerosos aceites esenciales, cuya cantidad variaba según el fabricante. Los aceites esenciales de anís, de ajeno o de hisopo se acompañaban con frecuencia de esencia de salvia.

Con base en los resultados de un estudio realizado, Muto *et al.*, (2003) determinaron que el NOAEL (nivel sin efecto adverso observado) del extracto de ajeno aplicado a ratas Wistar Hannover, se estimó en 2% (equivalente a 1.27 g /kg/ día en machos y 2.06 g / kg / día en hembras) o más.

2.4.5. AGUA

Suárez (2013) hace referencia que el 95% del peso de la cerveza es agua. De acuerdo con Alcázar (2001) aporta sales y otros elementos al producto y contribuye a la distribución homogénea de los sabores. El agua es tan importante que las primitivas cervecerías se instalaban cerca de los ríos o arroyos debido a la necesidad de tener agua asegurada y de una calidad constante y, por extensión, las cervezas resultantes terminaron adoptando el nombre, bien de la localidad o del caudal de agua cercano, por ejemplo, las cervezas Pilsen, Munich, Ale. Suárez (2013) indica que el agua rica en bicarbonato cálcico (dureza temporal) resultaba excelente para la producción de las cervezas más oscuras, por lo que las de Munich, Londres y Dublín alcanzaron fama y renombre.

El agua según Hernández *et al.*, (2003) se encuentra integrada por sales; los aniones de estas sales son fosfatos, cloruros, bicarbonatos, carbonatos, sulfatos, silicatos, y los cationes son calcio, sodio, hierro, magnesio y amonio. La composición del agua tiene una gran influencia en la calidad y el tipo de cerveza.

Hernández *et al.*, (2003) afirman que actualmente, se posee el conocimiento que permite acondicionar el agua de acuerdo con los requerimientos necesarios para el tipo de cerveza deseado. Según los cerveceros, uno de los principales puntos que se debe vigilar es la concentración de bicarbonatos, ya que, al elevarse, incrementa el pH, y se puede llegar a alcanzar un valor de pH desfavorable para la actividad de las enzimas. Por otro lado, los iones 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 en el 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. En el

cuadro 2.3 a modo de resumen se muestran los valores máximos y mínimos de las concentraciones de los iones químicamente activos, adecuados para la elaboración de cerveza:

Cuadro 2.3. Valores máximos y mínimos adecuados de los iones en el agua cervecera.

Ion químicamente activo	Valor mínimo (ppm)	Valor máximo (ppm)
Calcio (Ca ⁺²)	50	150
Magnesio (Mg ⁺²)	10	30
Potasio (K ⁺)	5	10
Sodio (Na ⁺)	5	150
Bicarbonato/Carbonato	0	250
Cloruro (Cl ⁻)	0	250
Sulfato (SO ₄ ⁻²)	10	250

Fuente: Palmer y Kaminski (2013) citado por Sancho (2015).

2.4.6. LEVADURA

Alcázar (2001) plantea que las levaduras son hongos unicelulares con multitud de especies. Este ingrediente es el organismo que transforma el azúcar del mosto en alcohol y CO₂. De todas las levaduras existentes, en cervecería se emplean las del género *Sacharomyces* (nombre que significa “hongo del azúcar”). La variedad de levadura usada en la elaboración es lo que caracteriza a la cerveza, de forma que los productores guardan celosamente las variantes de levaduras conseguidas a fin de caracterizar a sus productos, que resultan de esta forma inimitables.

Suárez (2013) argumenta que sus hábitats naturales son variados (en simbiosis o como parásitos): frutas, hojas, flores y hasta la piel y el interior de los mamíferos. La característica interesante, es su habilidad para metabolizar azúcares. Además contienen diecisiete vitaminas, todas del grupo B, catorce minerales y 46% de proteínas.

Alcázar (2001) manifiesta que en la actualidad en cervecería se utilizan dos tipos pertenecientes a este género:

- Levadura de alta fermentación (*Saccharomyces cerevisiae*), activa a una temperatura de 18 a 25°C durante 4 a 6 días. Esta levadura se queda arriba durante y después de la fermentación.
- Levadura de baja fermentación (*Saccharomyces uvarum*), activa a una temperatura de 6 a 10 °C durante 8 a 10 días. La levadura baja al fondo de la cuba de fermentación.

Basanta (2009) establece las necesidades nutritivas para el crecimiento de las levaduras de cervecería a continuación:

1. Fuente de carbohidratos fermentables (por ej. glucosa, maltosa y maltotriosa) para la obtención de energía y carbono para la biosíntesis de su citoesqueleto.
2. Fuente de nitrógeno para la síntesis de proteínas. Los iones amonios son suficientes para el desarrollo normal de la levadura, no obstante, si se presentan junto con aminoácidos, el crecimiento de la levadura es más rápido.
3. Factores de crecimiento (vitaminas) e iones inorgánicos. La biotina es la vitamina más común empleada por las levaduras para su crecimiento. Las necesidades de minerales son semejantes a las de otros microorganismos y desempeñan un papel estructural y/o enzimático.
4. Oxígeno. La fermentación del mosto en la producción de cerveza es un proceso anaeróbico, no obstante, cuando se inocula o siembra la levadura en el mosto existe una necesidad precisa de oxígeno. La levadura, en ausencia de oxígeno, es incapaz de sintetizar esteroides y otros ácidos grasos insaturados que son esenciales como componentes de la membrana celular. A los 2-3 días del inicio de la fermentación el oxígeno está agotado y, a partir de este momento, el proceso es anaeróbico y la producción de etanol entra en fase exponencial.

Las levaduras cerveceras no sólo son responsables de la conversión de azúcares fermentables en etanol y dióxido de carbono, sino que también producen compuestos responsables del sabor, tales como los alcoholes superiores y ésteres, y pueden realizar otra serie de actividades que permitan

mejorar la producción de cerveza. Así pues, las propiedades tradicionales que se valoran en una buena levadura cervecera de acuerdo con Basanta (2009) son, entre otras, las siguientes:

1. Velocidad corta de fermentación sin un excesivo crecimiento celular.
2. Utilización eficiente de maltosa y maltotriosa con una buena conversión a etanol.
3. Capacidad para resistir el estrés provocado por la concentración de etanol y la presión osmótica de la cerveza.
4. Reproducibilidad de los compuestos responsables del aroma y sabor dentro de los niveles correctos que se dan en la cerveza.
5. Floculación adecuada según el proceso de elaboración de cerveza empleado.
6. Buena viabilidad de la levadura durante el almacenamiento y estabilidad genética.

Los hallazgos de Louis Pasteur demostraron que la levadura era el agente responsable de la fermentación alcohólica, lo que produjo un enorme desarrollo en la industria cervecera (Hernández *et al.*, 2003; Alcázar, 2001).

2.5. FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

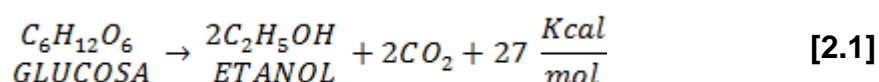
Godoy *et al.* (2003) mencionan que la fermentación alcohólica es el proceso anaerobio mediante el cual se hidroliza el azúcar para formar anhídrido carbónico y alcohol etílico. Los microorganismos utilizan como sustrato los hidratos de carbono (principalmente azúcares como la glucosa) presentes en el medio para transformarlos en etanol, dióxido de carbono y energía en forma de ATP. La producción de etanol se lleva a cabo a través de vía glucolítica.

Zambrano y Borbor (2014) definen las siguientes etapas en la fermentación:

- 1. Etapa aeróbica:** Durante las primeras horas de la fermentación y ante la presencia de oxígeno en el mosto, la levadura inicia una etapa aeróbica

donde se reproduce, generando calor y biomasa. Esta etapa finaliza una vez que la levadura ha consumido todo el oxígeno presente.

- 2. Etapa anaeróbica:** La levadura pasa entonces a una etapa anaeróbica donde se realiza la fermentación propiamente dicha (alcohólica). Aproximadamente el 1% de la fermentación es aeróbica y el 99% anaeróbica. Como se observa en la ecuación 2.1, de las 27 calorías generadas, aproximadamente 3 las utiliza la levadura para su metabolismo, el resto (24 kcal) se desprende como calor, por lo que es necesario contar con un sistema de enfriamiento para controlar la temperatura de fermentación en el valor especificado.



- 3. Etapa de enfriamiento:** Una vez la levadura ha consumido los azúcares fermentables, la fermentación termina y la levadura comienza a sedimentarse. La temperatura se disminuye a 3 – 5 °C en 48 horas, con el fin de incrementar la sedimentación de la levadura.

Zambrano y Borbor (2014) revelan que un cambio en la cepa de levadura es muy considerable en el proceso cervecero, ya que se pueden alterar tiempos de fases de fermentación que afectan en el tiempo de ocupación de los tanques de fermentación, como en el perfil sensorial del producto terminado y también las características físico-químicas de la cerveza.

2.6. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LA CERVEZA

Para Rodríguez (2003) las características físicoquímicas de la cerveza son los términos que se usan para definir requerimientos regulatorios, existen varios parámetros relacionados con la calidad de la cerveza, entre estos según Palacios *et al.*, (2012) se encuentran el pH, acidez, densidad y grado de alcohol. En el cuadro 2.4 se mencionan los requisitos que INEN (2003) establece para estos parámetros en la cerveza.

Cuadro 2.4. Requisitos de pH, acidez y grado de alcohol.

Requisitos	Unidad	Mínimo	Máximo
Ph	—	3.5	5.0
Acidez total, como ácido láctico	% (m/m)	—	0.3
Contenido de alcohol a 20°C	% (v/v)	2.0	5.0

Fuente: INEN (2003).

2.6.1. pH

Alcázar (2001) justifica que el pH es un parámetro recomendado por la A.O.A.C para evaluar la calidad de una cerveza. Tiene gran influencia sobre el sabor y los bajos valores de pH impiden, junto con otros factores, el desarrollo de microorganismos, garantizando así la calidad sanitaria del producto.

Rodríguez (2003) establece que el pH es un factor de importancia para las reacciones bioquímicas que se desarrollan durante el proceso; en todos los pasos de la fabricación hay disminución del pH y los amortiguadores minerales del agua contrarrestan en parte este cambio.

Suárez (2013) destaca la importancia del pH en la fermentación, debido al control que ejerce frente a la contaminación bacteriana así como en el crecimiento de las levaduras, la velocidad de fermentación y la producción de alcohol. La variación del pH durante el proceso de fermentación es debido a la transformación de los aminoácidos por pérdida de nitrógeno, pasando a ácidos, lo cual origina una disminución del pH del medio. Otro factor que puede originar una variación de pH es la producción de dióxido de carbono en la fase de fermentación aerobia.

2.6.2. ACIDEZ

Buiatti (2009) puntualiza que los componentes responsables de la acidez en la cerveza son los ácidos orgánicos y el dióxido de carbono. Estos ácidos son, básicamente, todos los subproductos metabólicos o productos intermedios

excretados por las células de levadura. La cantidad total es muy baja y el intervalo se encuentra desde 0.2 a 0.5 g/L (cuadro 2.5).

Cuadro 2.5. Ácidos orgánicos de importancia en la cerveza.

Ácido	Concentración (mg/L)	Ácido	Concentración (mg/L)
Acético	30-200	Succínico	16-140
Propanoico	1-5	Cafeico	1-10
Butanoico	0.5-1.5	Clorogénico	1-10
2-Metilpropanoico	0.1-2	Ferúlico	1-1.6
Pentanoico	0.03-0.1	Gálico	1-5
2-Metilbutanoico	0.1-0.5	Hidroxibenzoico	0.13
3-Metilbutanoico	0.1-2	Cinámico	0.5
Octanoico	2-12	Elágico	1-10
Láctico	20-80	Isoclorogénico	1-10
Pirúvico	15-150	Siringico	1-10

Fuente: Baxter and Hughes (2001) citado por Buiatti (2009).

Estos compuestos, en conjunto con el ácido carbónico son responsables de la sensación placentera de la acidez en la cerveza. La formación de los ácidos orgánicos se origina, principalmente a partir de los aminoácidos presentes en el mosto: la levadura utiliza el grupo amino $-NH_2$, porque lo necesita para sintetizar sus propias proteínas (Buiatti, 2009).

2.6.3. DENSIDAD

La densidad específica final se determina cuando la fermentación ha concluido. Cuanto más denso sea el mosto, más alcohol tendrá la cerveza acabada y mayor cantidad de lúpulo necesitará: en los mostos más densos el α -ácido es menos efectivo y se necesita más amargor para contrarrestar el dulzor de la malta. Además, los mostos densos requieren más tiempo para fermentar y mucho más tiempo de maduración (Suárez, 2013).

2.6.4. GRADO DE ALCOHOL

Se forma durante la etapa de fermentación del mosto (proceso anaeróbico), mediante el cual la levadura convierte la glucosa en etanol y dióxido de carbono. Los ácidos orgánicos, alcoholes y ésteres son especialmente importantes. Según Merelo y Zúñiga (2013) el grado alcohólico en parte

depende de la relación de azúcares fermentables y carbohidratos no fermentables conocidos como dextrinas. Rodríguez (2003) hace referencia a los principales alcoholes producidos en la fermentación en el siguiente cuadro.

Cuadro 2.6. Alcoholes y otros compuestos producidos en la fermentación.

Alcoholes	Otros
Etanol	Acetato de etilo
n-Propanol	Otros ésteres
Butanoles	CO ₂
Alcoholes amílicos	Acetaldehído
Feniletanol	Diacetilo
Glicerol	H ₂ S

Fuente: Brown *et al.*, (1989) citado por Rodríguez (2003).

Lorente *et al.*, (2012) puntualizan que además de los parámetros fisicoquímicos, como indicador de calidad en la cerveza, se toman en cuenta las propiedades sensoriales, que son de gran importancia, debido a que estas determinan su aceptabilidad.

2.7. EVALUACIÓN SENSORIAL DE LA CERVEZA

De manera tradicional, la evaluación sensorial ha estado dividida en metodologías analíticas, las cuales trabajan con individuos seleccionados y entrenados que evalúan objetivamente las características sensoriales de los productos y metodologías afectivas, que trabajan con consumidores y evalúan la percepción del producto de acuerdo a sus propios criterios (cuánto les gusta, si es el preferido, si lo comprarían) (Lorente *et al.*, 2012).

Para identificar cuáles son los atributos que afectan en mayor medida a la preferencia, consumo y la elección de un producto frente a otro, se utiliza la combinación de datos en relación a las características sensoriales de las cervezas aportadas por un panel de catadores y la aceptación de las mismas por los consumidores, mediante técnicas estadísticas multivariantes denominadas mapa de preferencias. Lorente *et al.*, (2012) indican que las principales características sensoriales que se evalúan en la cerveza son el color, olor, sabor, cuerpo y amargor.

2.7.1. COLOR

De acuerdo con Suárez (2013) son varios los compuestos responsables del color en las cervezas: melanoidinas, productos de caramelización y pirólisis, polifenoles oxidados, riboflavina, carotenoides, antocianinas, clorofilas y sus productos de oxidación así como también catalizadores de la oxidación como son los iones metálicos. De ellos, la fuente primaria de color son las melanoidinas. Estos compuestos poseen un espectro de color que va desde el amarillo al ámbar. Se generan por reacciones de pardeamiento no enzimático (reacciones de Maillard) durante el tratamiento térmico del malteado, la cocción, etc.

2.7.2. OLOR

Rodríguez *et al.*, (2012) resaltan que el olor representa uno de los principales atributos de calidad en la cerveza y tiene una gran importancia en las preferencias de los consumidores. La calidad de la cerveza y su olor dependen tanto de la materia prima (agua, levadura, malta, lúpulo), como del proceso de elaboración. Además, el perfil de la cerveza, puede evolucionar durante su conservación debido a diferentes reacciones de formación y degradación en las que intervienen muchos de los compuestos representativos de su fracción volátil, y que tienen como consecuencia una disminución general en la calidad.

En las cervezas de especias, hierbas o vegetales, el carácter de estos ingredientes debe ser perceptible en el olor. El carácter individual de EHV's no siempre puede ser identificable cuando se usan en combinación. Como con todas las cervezas especiales, una adecuada cerveza de EHV's debe ser un armonioso equilibrio/balance de las EHV's utilizadas con el estilo de cerveza de base. Los compuestos aromáticos del lúpulo, levadura y la malta de la cerveza de base no deben ser tan perceptibles cuando las EHV's están presentes. Si la cerveza de base es una ale entonces un carácter frutado no específico y/u otros componentes de la fermentación tales como el diacetil, pueden estar presentes como apropiados para fermentaciones de temperaturas más altas. Si

la cerveza de base es una lager, entonces sería apropiado menos componentes de la fermentación en general. Algunos compuestos aromáticos de malta pueden ser deseables, especialmente en estilos oscuros. El olor a lúpulo puede estar ausente o balanceado con las EHV's, dependiendo del estilo (BJCP, 2008).

2.7.3. SABOR

Zambrano y Borbor (2014) señalan que dentro de los métodos descriptivos el método de perfil de sabor es mucho más discriminante que cualquier test estadístico, además que también da información que puede ser útil cuando es necesario búsqueda de causas de problemas. Sirve también para medir el efecto de los cambios en ingredientes o en el proceso. Un perfil de sabor es un conjunto de términos que se asignan valores numéricos que definen el sabor de una marca.

El carácter distintivo del sabor asociado con las cervezas de especias, hierbas o vegetales en particular, debe ser perceptible y puede tener un rango en intensidad que va de lo sutil a lo agresivo. El carácter individual de EHV's no siempre puede ser identificable cuando se usan en combinación. El balance de las EHV's con la cerveza subyacente es vital y el carácter de las EHV's no debe ser tan artificial y/o inapropiadamente arrollador como para abrumar a la cerveza. El amargor del lúpulo, los sabores de la malta, el contenido de alcohol y los componentes producidos por la fermentación, tales como ésteres o diacetil, deben ser apropiados con la cerveza de base y ser armoniosos y equilibrados/balanceados con los sabores distintivos de las EHV's presentes (BJCP, 2008).

2.7.4. CUERPO

Kunze (2006) considera que el cuerpo de la cerveza se detecta al inicio del beber en forma tal que el consumidor obtiene una indicación respecto al contenido de la cerveza. La base para el cuerpo de la cerveza es la cantidad de

mosto original contenido. Cuanto más mosto contiene, tanto más cuerpo tiene su sabor. Esto se debe al contenido alcohólico y al contenido residual de extracto.

2.7.5. AMARGOR

El amargor de la cerveza es formado principalmente por el aporte del lúpulo, a parte compuestos como los taninos, proteínas y los subproductos de la levadura tienen un aporte que influye en menor grado sobre esta característica sensorial. El amargor de lúpulo es causado naturalmente en primer lugar por los compuestos amargos que contiene esta planta. En esto se le atribuye a la cohumulona un efecto de amargor más intenso. Pero también el efecto combinado de los compuestos amargos con los aceites de lúpulo cumple un papel en esto, en lo referente al toque justo del amargor. La influencia de la variedad de lúpulo sobre el amargor de la cerveza está por ello definida claramente (Kunze, 2006).

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

La investigación se ejecutó en el taller de frutas y vegetales, los análisis fisicoquímicos en el laboratorio de bromatología y el análisis sensorial en la carrera de Agroindustrias de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, ubicada en el sitio El Limón del cantón Bolívar, provincia de Manabí, Ecuador. La ubicación geográfica es 0°50'65" latitud sur y 80°10'05.87" longitud oeste, a una altitud de 21 msnm (Google Earth, 2016).

3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Los tipos de investigación que se realizaron en la tesis fueron bibliográfica porque se consultó en libros, revistas científicas, e internet, y experimental porque se realizaron varios ensayos en condiciones controladas con muestras que fueron evaluadas fisicoquímica y sensorialmente.

3.3. FACTORES DE ESTUDIO

3.3.1. FACTORES

En la investigación se determinaron los siguientes factores:

- Factor A: Mezcla de 80% malta de cebada con 20% almidón de papa.
- Factor B: Combinación de especias: 40% lúpulo, 10% tomillo, 48% romero y 2% ajeno.

3.3.2. NIVELES

En el factor A se empleó los niveles:

$$a_1 = 200 \text{ g/L}$$

$$a_2 = 300 \text{ g/L}$$

En la combinación de especias se trabajaron los siguientes niveles:

$$b_1 = 1 \text{ g/L}$$

$$b_2 = 2 \text{ g/L}$$

$$b_3 = 3 \text{ g/L}$$

3.4. TRATAMIENTOS

Como resultado de la combinación de los niveles de cada factor se establecen seis tratamientos con tres repeticiones y un testigo, los mismos que se detallan en el siguiente cuadro.

Cuadro 3.1. Tratamientos.

TRATAMIENTOS	CÓDIGOS	DESCRIPCIÓN
1	T ₁	200 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 1 g/L de combinación de especias.
2	T ₂	200 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 2 g/L de combinación de especias.
3	T ₃	200 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 3 g/L de combinación de especias.
4	T ₄	300 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 1 g/L de combinación de especias.
5	T ₅	300 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 2 g/L de combinación de especias.
6	T ₆	300 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 3 g/L de combinación de especias.
Testigo	T _R	Cerveza 100% malta de cebada y lúpulo.

3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

En la investigación se aplicó un Diseño Completo al Azar (DCA) bifactorial A x B con un total de seis tratamientos, que se ajustó al siguiente modelo.

$$y_{ijk} = \mu + a_i + b_k + ab_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad [3.1]$$

Donde μ es la medida general, a_i es el efecto de la mezcla malta de cebada más almidón de papa adicionado en la maceración, b_k es el efecto de las especias, ab_{ij} el efecto de la interacción entre ambos y ε_{ijk} es el valor individual k (parámetro fisicoquímico determinado en la cerveza) dentro de la combinación ij , es decir las posibles causas de error no controlables. El esquema del ANOVA se presenta en el cuadro 3.2.

Cuadro 3.2. Esquema del ANOVA en DCA factorial.

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD
Total	17
Factor A	1
Factor B	2
A x B	2
Error experimental	12

Para identificar diferencias significativas ($p < 0.05$) entre grupos vs el testigo se efectuó un ANOVA para tratamientos y para detectar diferencias entre las medias se realizó un contraste mediante la prueba de Dunnet.

3.6. UNIDAD EXPERIMENTAL

En la formulación de la unidad experimental se tomó de base cinco litros de agua para la adición de la malta más el almidón. En lo que respecta a las especias la cantidad añadida fue en función de los litros de mosto obtenido después de la cocción, de acuerdo a los niveles pertinentes a cada tratamiento. La composición de la unidad experimental se detalla a continuación.

Cuadro 3.3. Composición de la unidad experimental.

MATERIA PRIMA	TRATAMIENTO												TESTIGO	
	T1		T2		T3		T4		T5		T6		TR	
	%	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	g
Malta de cebada Pale Ale	13.33	800	13.33	800	13.33	800	18.46	1200	18.46	1200	18.46	1200	20	1250
Almidón de papa MERITENA 400	3.33	200	3.33	200	3.33	200	4.62	300	4.62	300	4.62	300	—	—
Agua Tesalia mineral sin gas	83.34	5000	83.34	5000	83.34	5000	76.92	5000	76.92	5000	76.92	5000	80	5000
TOTAL MEZCLA EN MACERACIÓN	100	6000	100	6000	100	6000	100	6500	100	6500	100	6500	100	6250
Mosto después de cocción	99.82	4000	99.72	4000	99.62	4000	99.82	4000	99.72	4000	99.62	4000	99.72	4000
Lúpulo Cascade (6.6% alfa ácidos)	0.040	1.6	0.080	3.2	0.12	4.8	0.040	1.6	0.080	3.2	0.12	4.8	0.10	8
Hojas verdes de romero	0.048	1.92	0.096	3.84	0.14	5.76	0.048	1.92	0.096	3.84	0.14	5.76	—	—
Hojas de tomillo seco	0.010	0.4	0.020	0.8	0.03	1.2	0.010	0.4	0.020	0.8	0.03	1.2	—	—
Hojas secas de ajeno	0.002	0.08	0.004	0.16	0.01	0.24	0.002	0.08	0.004	0.16	0.01	0.24	—	—
Levadura cervecera US-05	0.080	3.2	0.080	3.2	0.080	3.2	0.080	3.2	0.080	3.2	0.080	3.2	0.080	3.2
TOTAL MOSTO DESPUÉS DE COCCIÓN	100	4007.2	100	4011.2	100	4015.2	100	4007.2	100	4011.2	100	4015.2	100	4011.2

3.7. MANEJO DEL EXPERIMENTO

Para la obtención de la cerveza artesanal, se aplicó el siguiente diagrama de proceso (Figura 3.1.), posteriormente se describen las operaciones que se realizaron durante la ejecución de la investigación.

3.7.1. DIAGRAMA DE PROCESO DE ELABORACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL

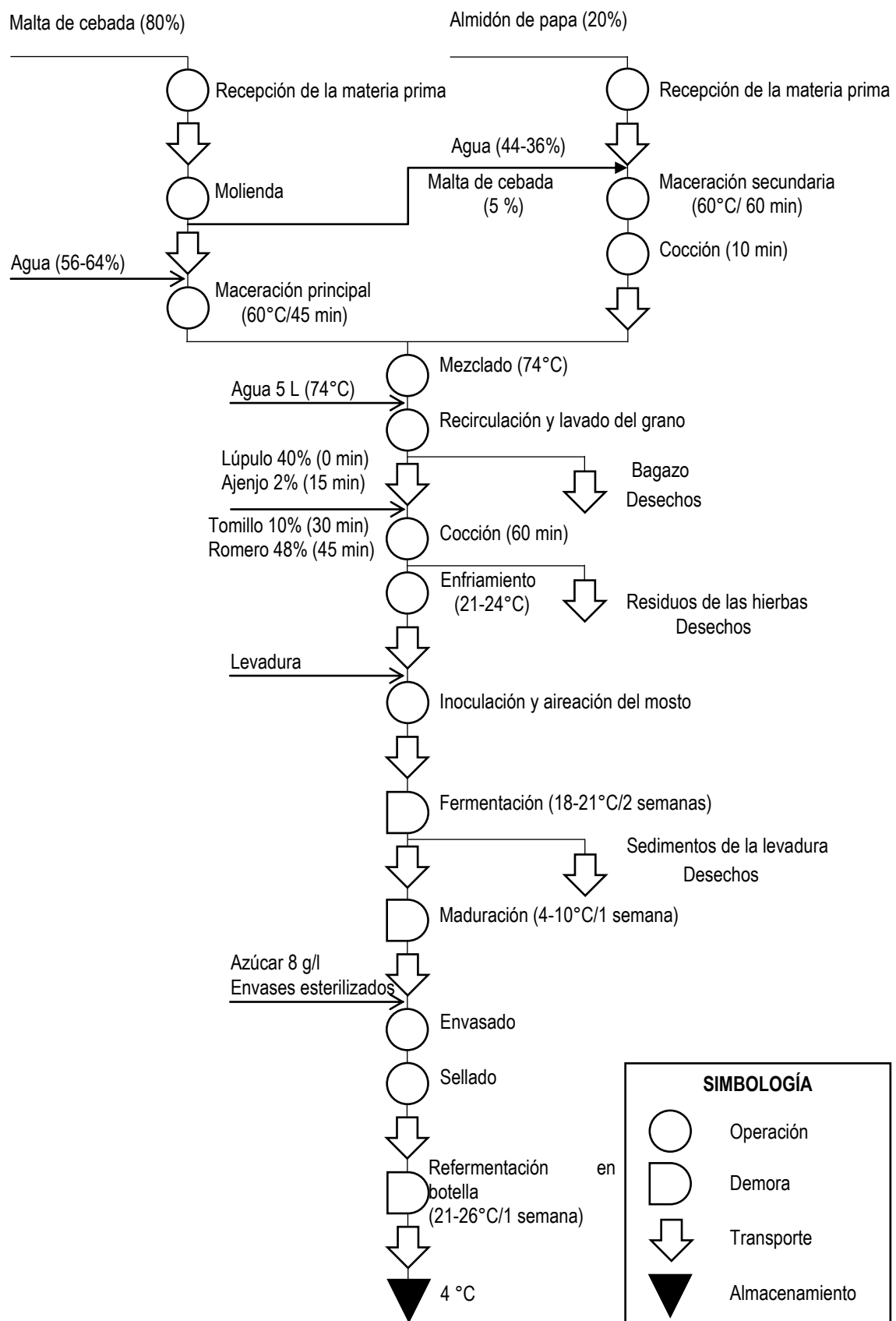


Figura 3.1. Diagrama de proceso de la cerveza artesanal.

3.7.2. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL

Recepción de la materia prima: Como materia prima se utilizó malta de cebada Pale Ale marca PatagoniaMalt, proveniente de la empresa BrauSupplies Cía. Ltda y almidón de papa denominación MERITENA 400 de la marca Tereos Syral distribuido por DELTAGEN S.A. Para el factor en estudio malta de cebada más almidón de papa, se pesaron 800 g + 200 g (1000 g) en una balanza digital para los tratamientos uno, dos y tres; mientras que para los tratamientos cuatro, cinco y seis se pesaron 1200 g + 300 g (1500 g). El testigo tuvo un peso de malta de cebada equivalente a 1250 g. Los tratamientos y el testigo se mezclaron con cinco litros de agua Tesalia mineral sin gas. Tanto el lúpulo en pellets variedad Cascade de la marca HopUnion, como la levadura US-05 de la marca Fermentis fueron adquiridos de la empresa BrauSupplies Cía. Ltda, el romero, tomillo y ajeno se obtuvieron del mercado central de la ciudad de Calcuta.

Molienda: Para esta operación se utilizó un molino manual marca Corona, procurando moler el grano sin triturarlo por completo, debido a que si se obtuviera un polvo muy fino esto ocasionaría que se tapone el macerador obstruyendo la salida del mosto.

Maceración principal y secundaria: Se puso en contacto la malta molida con el agua, lo que permitió que las enzimas degraden los constituyentes de la malta (carbohidratos y proteínas) a formas solubles y, entonces se originó el líquido que se va a fermentar, denominado mosto. La formulación se hizo en función de 5 litros de agua, de los cuales del 56 al 64% se emplearon para la maceración principal y del 44 al 36% para la secundaria. En la maceración principal se llevó el agua a 60°C, a la que se le añadió el 95% del grano molido, al realizar esta operación la temperatura del agua disminuyó $3 \pm 2^\circ\text{C}$, entonces se elevó hasta los 60°C nuevamente; después se apagó la llama de la cocina industrial por un lapso de 45 minutos para activar la enzima β -amilasa con el propósito de desdoblar el almidón de la malta a azúcares fermentables. Con

respecto a la maceración secundaria, se mezcló el almidón con el agua (cinco veces el peso de mezcla almidón-malta), a la que posteriormente se añadió el 5% de la malta de cebada restante. La temperatura se elevó hasta 60°C por una hora para conseguir la hidrólisis del almidón, y después se llevó a cocción por 10 minutos.

Mezclado: Una vez transcurrido el tiempo indicado en las maceraciones, se procedió a añadir el producto resultante de la maceración secundaria, al macerado principal, se elevó la temperatura los 74°C, dando por concluida la maceración.

Recirculación: El procedimiento de recirculación consistió en enviar progresivamente el mosto por gravedad a través de la válvula de salida de la olla de maceración, el cual se reincorporó nuevamente a la olla por la parte superior, con el objetivo de obtener un mosto más cristalino.

Lavado del grano y filtración: Se efectuó el lavado del grano con el propósito de extraer el mayor porcentaje de azúcares fermentables, para esto se añadió agua a 74°C de acuerdo a la misma cantidad con la cual se formuló la maceración (5 litros). Progresivamente en función del agua agregada, el mosto fue enviado a una olla de aluminio para efectuar el proceso de cocción.

Cocción: El mosto se sometió a temperatura de ebullición por una hora para los siguientes propósitos: inactivar las enzimas presentes, esterilizar el mosto y formar sustancias responsables del aroma y sabor en el producto final. Para los tratamientos se añadieron las especias: el lúpulo (40%) al iniciar la cocción, el ajeno (2%) a los 15 minutos, el tomillo (10%) al transcurrir 30 minutos, finalmente al minuto 45 se adjuntó el romero (48%). Para el testigo se realizó la adición de lúpulo en dos etapas, el 60% al iniciar la cocción para dar amargor, y el 40% restante al minuto 50, para aroma.

Enfriamiento: Con el fin de poder crear las condiciones necesarias para la levadura, se realizó un enfriamiento rápido del mosto, el mismo que fue

transferido a un recipiente de plástico grado alimenticio marca ReyPlast de 8 L de capacidad con llave de salida. El recipiente fue colocado dentro de una hielera térmica de la marca Thermopack de la empresa Plastro S.A, el mosto se enfrió mediante flujo de corriente estacionaria por intercambio de calor hasta una temperatura de 21°C, para lo cual se utilizó hielo. Posteriormente se trasvasó el mosto en una botella de plástico grado alimenticio de 6 litros de capacidad.

Inoculación y aireación del mosto: Luego de añadir la levadura se realizó la aireación, operación que consistió en agitar constantemente el envase por el lapso de un minuto para tratar de alcanzar una distribución homogénea de las moléculas de oxígeno en todo el mosto, con lo que se consiguió una correcta reproducción de las levaduras. Se procedió a realizar un sellado hermético con la colocación de una purga conectada mediante un agujero en la parte superior de la tapa del envase por medio de un equipo venoclis de la marca Nipro modelo IS-01A/A-21G/NV(LA) para permitir la salida del CO₂.

Fermentación: Una vez inoculado el mosto con la levadura, este se llevó a un cuarto climatizado a una temperatura de 21°C, donde permaneció durante un periodo de tiempo de dos semanas, para iniciar con el proceso de fermentación (primaria).

Maduración: Después de transcurrir la fermentación se trasvasó la cerveza a otro recipiente de plástico grado alimenticio desinfectado de 6 litros de capacidad mediante sifonado para eliminar la capa de residuos formada por la levadura. En este proceso se emplearon temperaturas de 4-10°C durante una semana, se realizó con el propósito de modificar el sabor y aroma de la bebida.

Envasado: Se preparó una solución de azúcar blanca marca Valdez mezclada con cinco veces su peso en agua, la misma que fue esterilizada a temperatura de ebullición y luego se dejó enfriar para añadirla a la cerveza con el objetivo de reactivar la levadura. La formulación de azúcar se realizó en una proporción de 8 gramos por litro de cerveza. De manera inmediata se dosificaron 330 ml

de cerveza por envase de material de vidrio color ámbar previamente esterilizado.

Sellado: Inmediatamente a los envases con el producto se le colocaron las tapas tipo corona, lo que brindó un sellado seguro y evitó el escape del CO₂ producido durante la reactivación de la levadura. Además se identificó cada muestra con su código pertinente.

Refermentación en botella: Durante este proceso que duró una semana a temperaturas de 21-26°C, la levadura se reactivó produciendo CO₂ que dio como resultado la carbonatación de la cerveza.

Almacenamiento: Una vez culminado el proceso de elaboración de la cerveza esta fue almacenada a una temperatura de $4 \pm 2^\circ\text{C}$ en un refrigerador, subsiguientemente se realizaron los análisis fisicoquímicos y sensoriales.

3.8. VARIABLES A MEDIR Y MÉTODO DE EVALUACIÓN

1) Los análisis fisicoquímicos que se realizaron fueron los siguientes:

- pH (NTE INEN 2325:2002)
- Acidez total expresada como ácido láctico (%) (NTE INEN 2323:2002)
- Densidad expresada en g/mL (NTE INEN 349:1978)
- Grado de alcohol expresado en %v/v (NTE INEN 2322:2002)

2) Análisis sensorial: Las características organolépticas de las muestras de cerveza artesanal, se determinaron mediante una escala hedónica de cinco puntos (1 = me desagradó mucho, 5 = me gustó mucho) (ver anexo 1). Las muestras fueron evaluadas por 13 jueces semientrenados (10 hombres y 3 mujeres) entre 21 y 26 años de edad. A cada panelista se le entregó siete muestras de cerveza a una temperatura de 10°C en vasos transparentes, conteniendo un volumen de 50 ml. Las muestras se codificaron con números aleatorios de tres dígitos. La evaluación tuvo lugar en horas de la mañana entre

las 9:30 y 10:00 h y se llevó a cabo en una sala a 21°C bajo luz blanca. Los parámetros que se evaluaron se detallan a continuación:

- Color
- Olor
- Sabor
- Cuerpo
- Amargor

3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de los análisis fisicoquímicos (ver anexo 2) fueron sometidos a: prueba de normalidad (Test de Shapiro Wilk) y homogeneidad de varianzas u homocedasticidad (Test Levene) (ver anexo 3). Posteriormente al cumplir los supuestos se determinó mediante ANOVA diferencias significativas y el contraste con la prueba de Dunnet. Por otra parte, el parámetro de densidad al no cumplir los supuestos se analizó con la prueba de Kruskall Wallis. Además, se determinó el coeficiente de variación (CV) de las variables fisicoquímicas.

El análisis de las características organolépticas se efectuó utilizando el método estadístico de Friedman. Los resultados de la evaluación fisicoquímica y sensorial, fueron sometidos a un análisis de datos, en el que se utilizó el programa estadístico SPSS 20 versión libre (2011).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DE LA CERVEZA ARTESANAL

Los valores promedio de los parámetros fisicoquímicos de la cerveza artesanal con almidón de papa y especias se presentan en cuadro 4.1, en donde se ilustran diferencias significativas (Dunnet $p < 0.05$ y Kruskal Wallis) entre los tratamientos y el testigo (T_R). Los datos obtenidos de los análisis cumplen los requisitos de la NTE INEN 2262 en la variable pH, parcialmente en acidez total y grado de alcohol, siendo únicamente el T_1 (200 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 1 g/L de la combinación de especias) aquel que cumplió todos los parámetros evaluados, tomados como referencia de la norma INEN (2003) para cerveza.

Cuadro 4.1. Resultados de las variables fisicoquímicas de la cerveza artesanal.

Tratamientos	Variable			
	pH	Acidez total como ácido láctico (%)	Densidad (g/mL)	Grado de alcohol (%v/v)
T_1	$3.75 \pm 0.040^*$	0.28 ± 0.010 NS	1.011 ± 0.001 b	$4.96 \pm 0.100^*$
T_2	$4.05 \pm 0.040^*$	$0.40 \pm 0.006^*$	1.021 ± 0.002 g	$5.43 \pm 0.025^*$
T_3	$3.87 \pm 0.025^*$	0.32 ± 0.026 NS	1.016 ± 0.002 e	$4.36 \pm 0.040^*$
T_4	$3.92 \pm 0.061^*$	0.28 ± 0.040 NS	1.015 ± 0.001 d	6.27 ± 0.153 NS
T_5	$4.06 \pm 0.061^*$	0.29 ± 0.458 NS	1.013 ± 0.004 c	$6.43 \pm 0.306^*$
T_6	$4.01 \pm 0.040^*$	$0.37 \pm 0.400^*$	1.020 ± 0.004 f	$5.77 \pm 0.038^*$
T_R	4.32 ± 0.153	0.25 ± 0.289	1.010 ± 0.005 a	6.22 ± 0.036
CV	4.36	18.46	0.39	12.90
Kruskal-Wallis	-	-	19.64	-
Sig	0.00	0.00	0.00	0.00

Los datos corresponden al promedio de las variables fisicoquímicas \pm desviación estándar.

* = Diferencias significativas (Dunnet $p < 0.05$), NS = No significativo.

a, b, c, d, e, f y g difieren estadísticamente según Kruskal-Wallis al 5% de probabilidades de error.

pH.- Mediante el análisis de varianza se establecieron diferencias significativas, entre tratamientos (ver anexo 4), al categorizar estas diferencias se encontró que el T_1 (200 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 1 g/L de la combinación de especias) obtuvo el menor valor de pH, cuyo promedio fue

3.75, mientras que el T₅ (300 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 2 g/L de la combinación de especias) alcanzó el nivel más alto correspondiente a 4.06. Similares resultados obtuvo Bandonill *et al.*, (2004) quienes utilizaron el arroz (*Oryza sativa L.*) germinado y sin germinar como adjunto en el proceso de elaboración de cerveza determinando valores de 3.6 a 4.0.

En la misma línea, en un estudio sobre sustitución de cebada por copos de camote (*Ipomoea batatas L.*) en proporciones de 30-100%, mediante análisis bioquímicos Panda *et al.*, (2015) reportaron valores más bajos en el parámetro de pH, registrando datos que fluctuaron entre 3.05 a 3.45. Por su parte Aka *et al.*, (2008) encontraron un promedio de 3.63 en la cerveza de sorgo elaborada de manera artesanal.

Los resultados obtenidos coinciden con lo que dispone la norma INEN 2262:2003, que indica que el pH en la cerveza debe estar comprendido entre 3.5 a 5. Sin embargo Vogel (2003) plantea que el pH de la cerveza de fermentación alta debe oscilar entre 4.1 a 4.8, mientras que Kunze (2006) establece que el valor óptimo se encuentra en 4.2-4.3.

De acuerdo con Kunze (2006) valores de pH por debajo de 4.4 refinan el sabor de la cerveza y es precondición para una mejor estabilidad biológica. Por el contrario por debajo de 4.1 conducen a un sabor más ácido de la cerveza y deben ser evitados. Consecuentemente la tendencia del tratamiento T₅ es considerado la mejor variante desde el punto de vista de Vogel (2003), al alcanzar un nivel de pH de 4.06.

Al comparar los resultados mediante la prueba de Dunnett (ver anexo 4), en donde se utilizó como control la cerveza artesanal 100% malta y lúpulo, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) presentándose un pH más bajo en los tratamientos (gráfico 4.1).

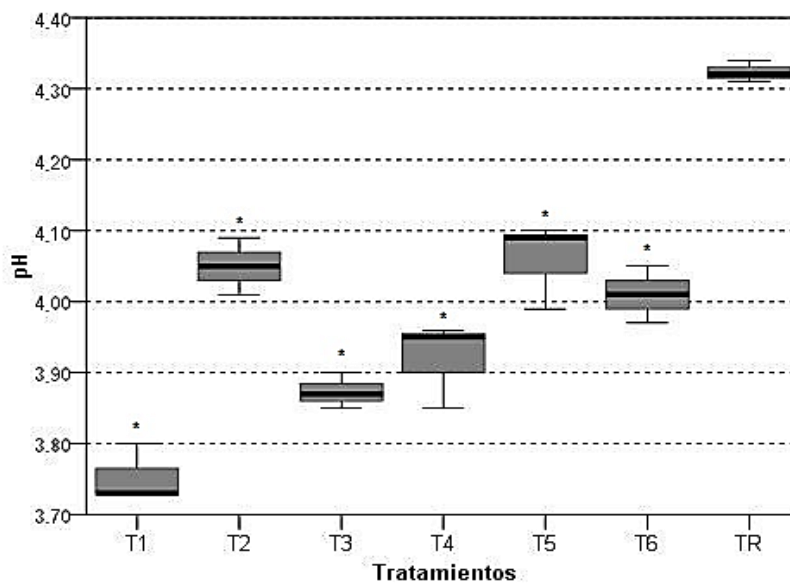


Gráfico 4.1. Comparación del pH de los tratamientos con relación al testigo.

Acidez total.- El análisis de varianza determinó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos (ver anexo 4). Los resultados difieren a los del estudio de Kayodé *et al.*, (2007), quienes reportaron en la cerveza a base de sorgo valores comprendidos entre 0.5 a 0.8 (expresada como ácido láctico). No obstante se encuentra en el rango de Baiano y Terracone (2013), quienes en cervezas comerciales determinaron datos que oscilan en el intervalo de 0.07 a 1.24.

Panda *et al.*, (2015) manifiestan que la fermentación alcohólica es un proceso bioquímico complejo, en la que un aumento de acidez se atribuye a una serie de conversiones que se producen en el medio; las levaduras organismos responsables de la fermentación excretan nucleótidos, ácidos orgánicos y dióxido de carbono, por lo que conducen a un incremento de la acidez media en la cerveza.

Con excepción del T₂ (200 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 2 g/L de la combinación de especias), T₃ (200 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 3 g/L de la combinación de especias) y T₆ (300 g/L de malta de cebada-almidón de papa + 3 g/L de la combinación de especias) la acidez se

encontró en el rango permisible por INEN 2262:2003 (≤ 0.3 expresado como ácido láctico).

El parámetro de acidez en comparación con el testigo muestra diferencias significativas con Dunnet (ver anexo 4) para el T₂ y T₆, que se ilustran en el gráfico 4.2, donde se evidencia que en T₄ (300 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 1 g/L de la combinación de especias) obtuvo el menor porcentaje de acidez con un promedio de 0.28%, mientras que el valor más alto correspondió al T₂ con 0.40%.

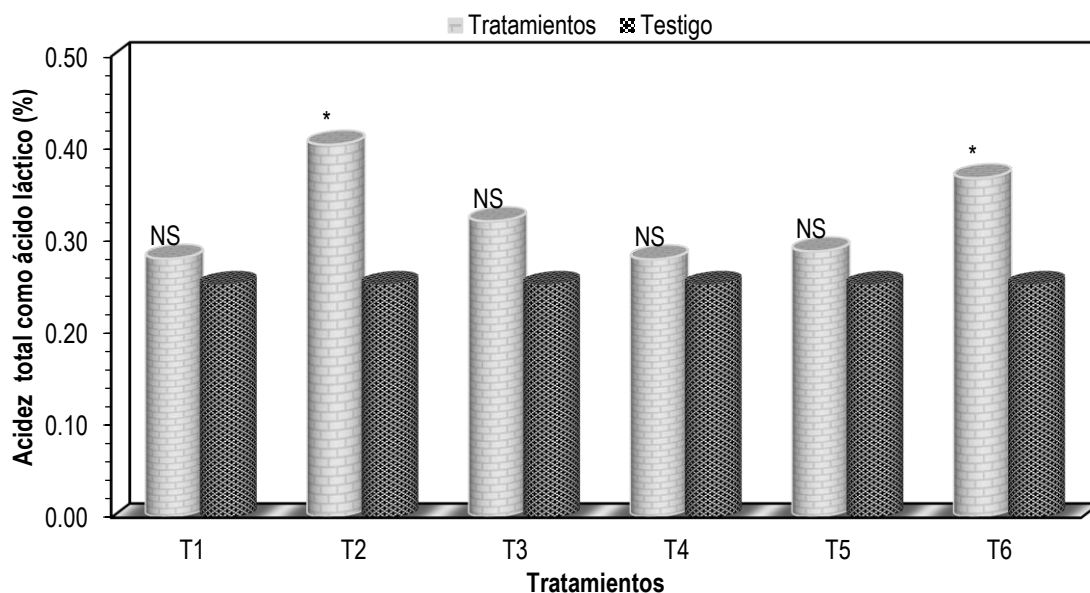


Gráfico 4.2. Comparación de la acidez total de los tratamientos con relación al testigo.

Densidad.- Los resultados de este parámetro muestran variaciones significativas de acuerdo con Kruskal-Wallis al 5% de probabilidades de error (ver anexo 6), cuyos valores oscilan entre 1.011 y 1.021 g/mL. Los datos encontrados en esta investigación se asemejan a los resultados presentados por Gutiérrez *et al.*, (2002) quienes reportan valores de 1.007 a 1.016 m/L en varias marcas de cerveza artesanal, mismos que son corroborados por Adenuga *et al.*, (2010) quienes obtuvieron resultados equivalentes a 1.014-1.023 g/mL. Además lo anterior se refuerza con un estudio realizado por Panda *et al.*, (2015) en el cual los investigadores obtuvieron valores promedio de

1.010-1.020 g/mL. No obstante contrastan con Luján y Vásquez (2010) al presentar en su estudio un valor de 0.98 g/mL.

Palmer (2006) indica que lo común es que la densidad final de la cerveza debiera ser de alrededor 1/4 o 1/5 de la densidad inicial, con ligeras desviaciones. Por lo tanto la tendencia del T₅ (300 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 2 g/L de la combinación de especias) se perfila como la mejor variante desde el punto de vista del autor mencionado anteriormente, al alcanzar un nivel de 1.012 g/mL, equivalente a 1/5 del valor en relación a su densidad inicial (1.061 g/mL).

Por otra parte en comparación con el testigo, el T₁ (200 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 1 g/L de la combinación de especias) obtuvo valores de densidad final similares, a diferencia del T₆ (300 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 3 g/L de la combinación de especias) y T₂ (200 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 2 g/L de la combinación de especias), en los cuales se detecta una tendencia elevada en lo referente a esta variable (gráfico 4.3). Con la excepción del T₂, T₃ y T₆, los datos de densidad hallados, se encuentran dentro del rango planteado por Strong y England (2015) para este tipo de cerveza artesanal, que comprende un valor de 1.010 a 1.015 g/mL.

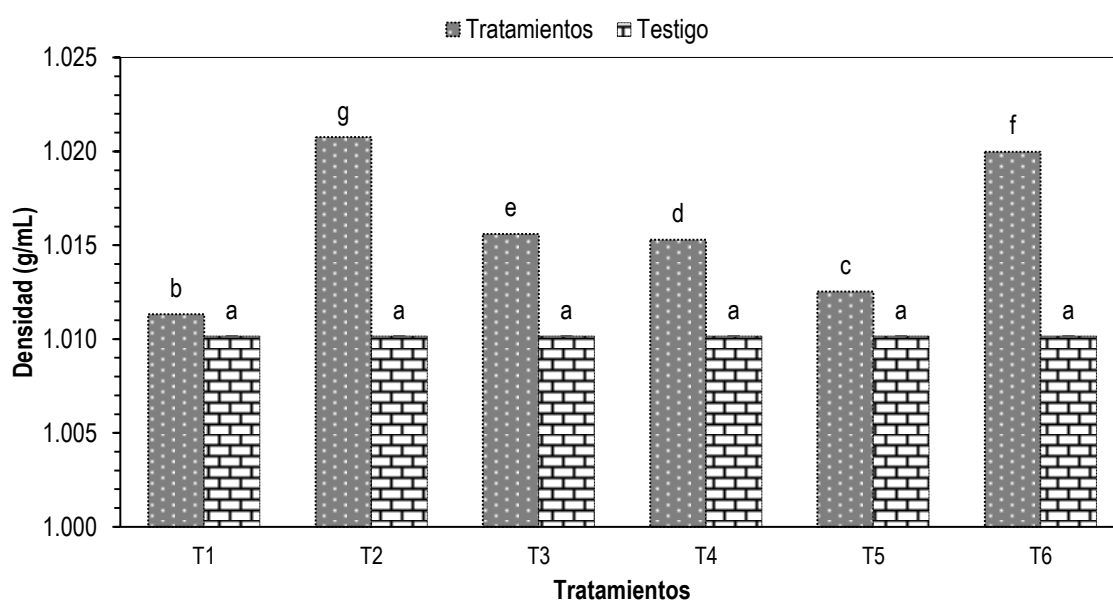


Gráfico 4.3. Comparación de la densidad de los tratamientos con relación al testigo.

Grado de alcohol.- Se determinaron diferencias significativas ($p < 0.05$) para los tratamientos (ver anexo 4). Los datos obtenidos fluctuaron entre 4.36-6.43% (v/v), por lo consiguiente concuerdan con los de Roger *et al.*, (2013) quienes establecieron en una cerveza a base de sorgo y maíz el porcentaje de alcohol entre 4.5 a 7.0% (v/v). Todos los valores encontrados en el presente estudio para este parámetro son superiores a los reportados por Kutyauro *et al.*, (2008) con un promedio de 3.52% (v/v).

El comportamiento de esta variable siguió la tendencia que plantea Suarez (2013), quien afirma que cuanto más denso sea el mosto, más alcohol tendrá la cerveza acabada, por lo consiguiente el T₃ (1.048 g/L) y T₁ (1.049 g/L) se vieron influenciados con un menor contenido de alcohol (4.36 y 4.96% v/v), a diferencia del T₄ (1.064 g/L) y T₅ (1.062 g/L) que obtuvieron los porcentajes más altos (6.27 y 6.43% v/v).

Cabe recalcar que los tratamientos en estudio, con excepción del T₁ (200 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 1 g/L de la combinación de especias) y T₃ (200 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 3 g/L de la combinación de especias) estuvieron por encima del rango permisible por la norma INEN 2262:2003, la cual establece que el grado alcohólico en la cerveza debe estar comprendido entre 2 a 5% (v/v). Por otro lado Strong y England (2015) plantean que el contenido alcohólico para este tipo de cerveza se sitúa entre 4.5 a 6.2% (v/v), por ende los tratamientos que no cumplieron esta condición fueron el T₄ (300 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 1 g/L de la combinación de especias) y T₅ (300 g/L de malta de cebada con almidón de papa + 2 g/L de la combinación de especias).

Al contrastar las medias de los tratamientos en comparación al testigo mediante Dunnet ($p < 0.05$) (ver anexo 4), con excepción del T₄, se presentaron diferencias significativas, además se observa que el T₄ y T₅ poseen un mayor contenido alcohólico que el testigo (6.22% v/v) como se ilustra en el gráfico 4.4.

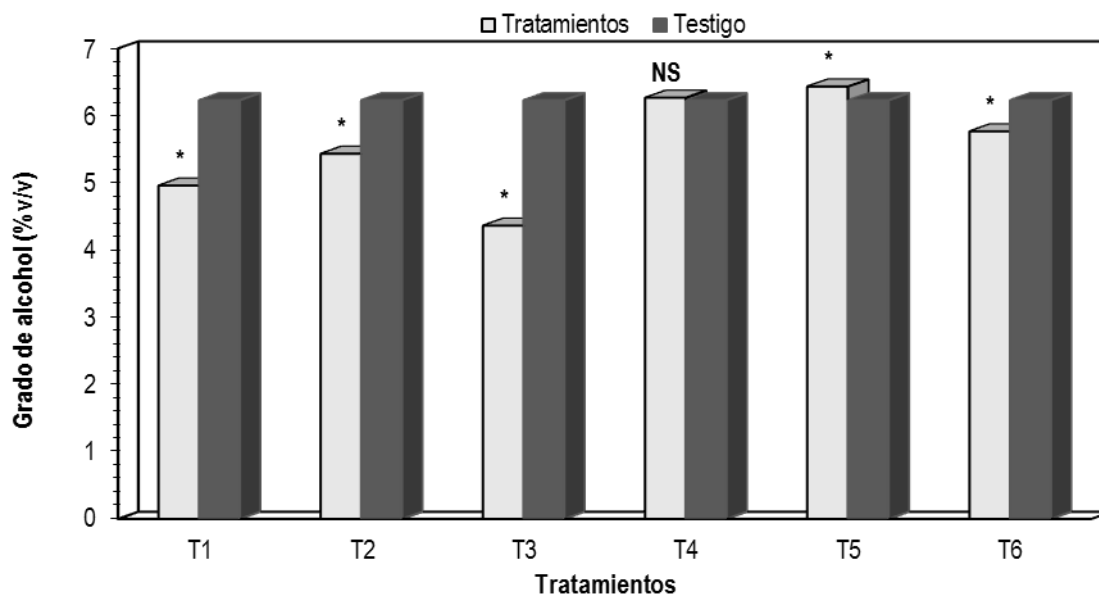


Gráfico 4.4. Comparación del grado de alcohol de los tratamientos con relación al testigo.

4.2. PARÁMETROS SENSORIALES DE LA CERVEZA ARTESANAL

Los datos obtenidos de la evaluación sensorial (cuadro 4.2) realizada por los jueces semientrenados, quienes valoraron con una categoría de uno (1) a cinco (5) puntos la cerveza artesanal con almidón de papa y especias, no presentaron diferencias significativas de acuerdo a la Prueba de Friedman ($p < 0.05$) para los atributos estimados (ver anexo 7).

Cuadro 4.2. Valores promedio de las características organolépticas de la cerveza artesanal.

Tratamientos	Atributos					Media
	Color	Olor	Sabor	Cuerpo	Amargor	
T ₁	3.38	3.00	2.46	3.46	2.92	3.05
T ₂	3.77	3.46	2.85	3.54	3.08	3.34
T ₃	3.92	3.46	2.77	3.31	2.92	3.28
T ₄	3.46	3.77	3.00	3.38	3.31	3.38
T ₅	3.69	3.46	3.23	3.38	3.08	3.37
T ₆	3.85	3.77	3.08	3.54	3.00	3.45
T _R	3.69	3.46	2.92	3.15	2.92	3.23
Chi cuadrado	5.48	6.28	5.07	2.15	3.87	—
P	0.48	0.39	0.53	0.90	0.69	—

Las medias de los atributos sensoriales evaluados (color, olor, sabor, cuerpo y amargor) se ilustran en el gráfico 4.5, donde se aprecian las áreas que logran los tratamientos y el testigo, con un promedio general de 3.05 a 3.45.



Gráfico 4.5. Diagrama de los resultados organolépticos.

Por lo anteriormente señalado la utilización de almidón de papa y especias no afectó significativamente la percepción sensorial de la cerveza artesanal, manteniendo sus características organolépticas. Del mismo modo Adenuga *et al.*, (2010) utilizaron plantas con principios amargos como sustitutos parciales del lúpulo en la cerveza a base de sorgo obteniendo resultados satisfactorios.

Por el contrario investigaciones como la de Cinkmains *et al.*, (2014) demostraron la poca aceptabilidad sensorial de la cerveza al agregar ajeno en dosis de 0.2 g/L, en la cual los catadores atribuyeron su desagrado debido a un sabor amargo excesivamente fuerte. Del mismo modo en el estudio de Đorđević *et al.*, (2015) se determinó la aceptabilidad sensorial de una cerveza comercial, a la que añadieron extracto de tomillo en dosis de 0.50 mL/L, los resultados demostraron una puntuación sensorial inferior, en relación con la cerveza dorada comercial.

4.3. INCIDENCIA DE LOS FACTORES EN ESTUDIO SOBRE LAS VARIABLES FISICOQUÍMICAS

Los resultados del análisis de varianza (ver anexo 5) determinaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor A (mezcla de 80% malta de cebada con 20% almidón de papa) sobre las variables pH y grado de alcohol, siendo esta última en la que se observó la mayor incidencia de este factor. Por el contrario la variable densidad no se ve influenciada tal como se observa en el gráfico 4.6, del mismo modo no se hallaron diferencias significativas para acidez total, presentándose un descenso de 0.34 a 0.31% (ver anexo 5 y 6).

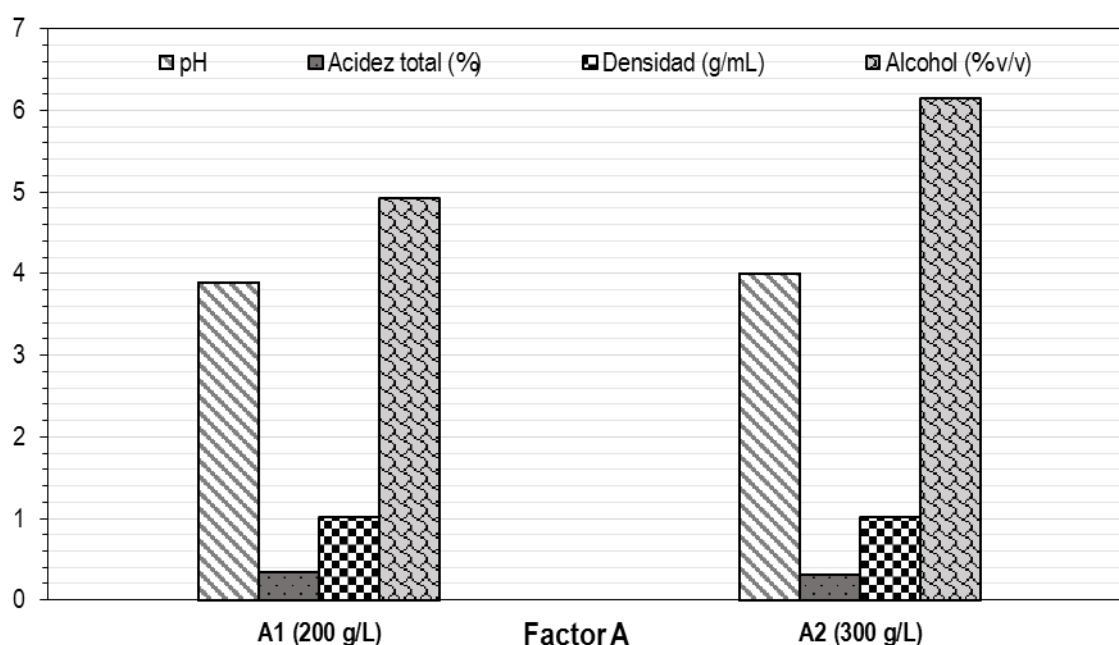


Gráfico 4.6. Incidencia del factor A sobre las variables fisicoquímicas en estudio.

En el factor B (combinación de especias: 40% lúpulo, 10% tomillo, 48% romero y 2% ajeno) se establecieron diferencias significativas ($p < 0.05$) para todas las variables fisicoquímicas (pH, acidez total, densidad y grado de alcohol) (ver anexo 5 y 6), mismas que se pueden corroborar al observar el gráfico 4.7.

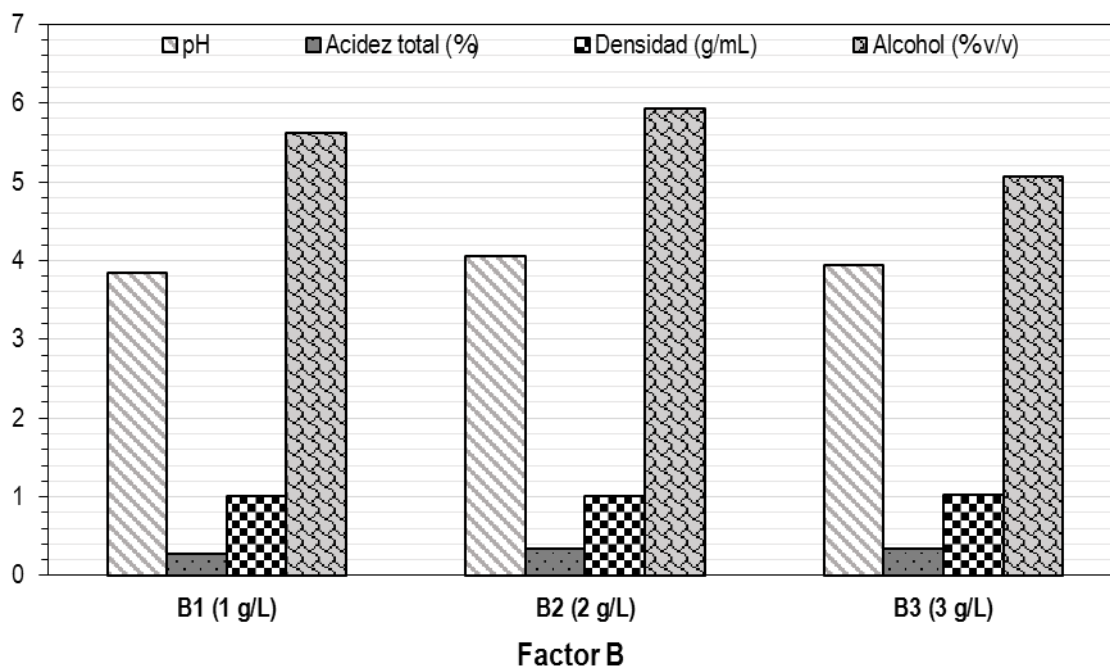


Gráfico 4.7. Incidencia del factor B sobre las variables fisicoquímicas en estudio.

De la misma manera la interacción de los factores en estudio presentó significación ($p < 0.05$) para todas las variables fisicoquímicas (ver anexo 5). En el gráfico 4.8 se ilustra la incidencia de la interacción del factor A y B sobre el pH, acidez, densidad y grado de alcohol.

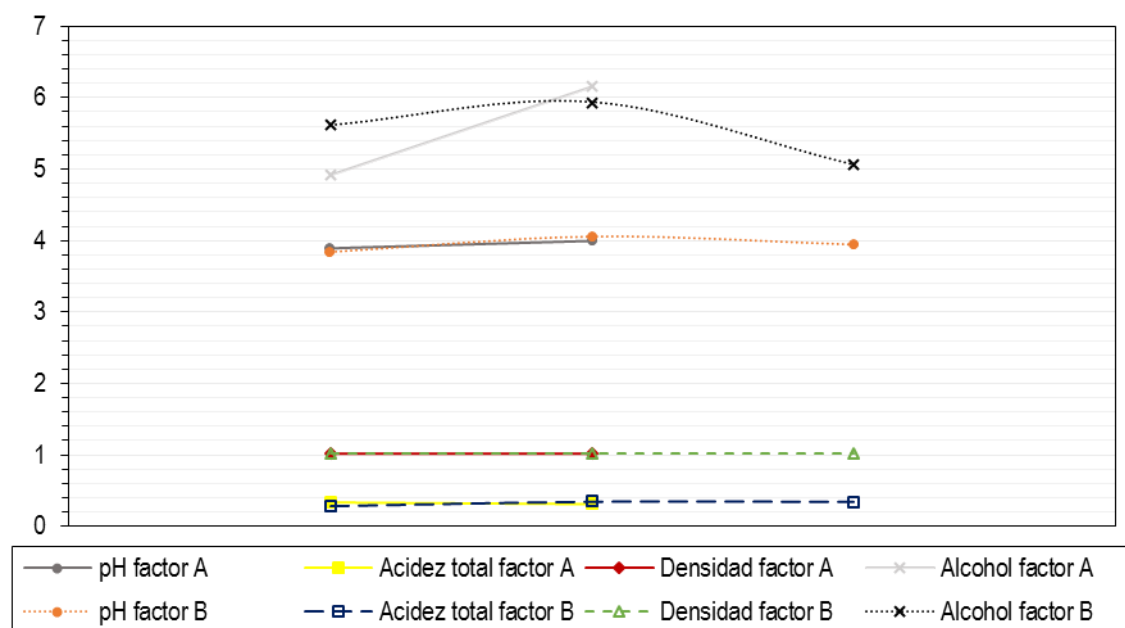


Gráfico 4.8. Incidencia de la interacción del factor A y B sobre las variables fisicoquímicas en estudio.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Todos los tratamientos de la cerveza artesanal alcanzaron el rango permisible por INEN 2262 para la variable pH, siendo el T₁ (200 g/L de la mezcla malta de cebada con almidón de papa + 1 g/L de combinación de especias) quien además cumplió el porcentaje de acidez y grado de alcohol establecido en la norma.
- Los resultados obtenidos del análisis sensorial por parte del panel de jueces semientrenados, revelaron que no existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las características organolépticas de los tratamientos y el testigo, presentando una media de 3.05 a 3.45.
- El factor A (mezcla de 80% malta de cebada con 20% almidón de papa) incidió sobre el pH y grado de alcohol, mientras que el factor B (combinación de especias: 40% lúpulo, 10% tomillo, 48% romero y 2% ajeno) sobre todas las variables, por lo consiguiente, este último presentó mayor incidencia en las características fisicoquímicas de la cerveza artesanal tipo ale.
- La dosificación más alta (300 g/L) de la mezcla malta de cebada con almidón de papa combinada con un nivel medio (2 g/L) de especias, logró obtener características fisicoquímicas y sensoriales similares a las del testigo.

5.2. RECOMENDACIONES

- Para la elaboración de cerveza artesanal con almidón de papa y especias, utilizar la formulación del T₅ (300 g/L de la mezcla malta de cebada con almidón de papa + 2 g/L de combinación de especias), que a pesar de no

cumplir el porcentaje de alcohol planteado por INEN (2003), obtuvo características fisicoquímicas y sensoriales idóneas.

- Incursionar en investigaciones en las que se aproveche como adjuntos fuentes significativas de almidón, e impulsar el uso de las especias en la elaboración de cerveza artesanal.
- Incorporar en la Normativa Técnica Nacional rangos que permitan porcentajes más altos en el parámetro grado de alcohol para cervezas artesanales.

BIBLIOGRAFÍA

- ACE (Asociación de Cerveceros Artesanales del Ecuador). 2012. Cervecerías artesanales en Ecuador. (En línea). EC. Consultado, 29 de oct. 2015. Formato HTML. Disponible en: <http://www.cervezaartesanaledcuador.com/>.
- Adenuga, W; Olaleye, O; Adepoju, P. 2010. Utilization of bitter vegetable leaves (*Gongronema latifolium*, *Vernonia amygdalina*) and *Garcinia kola* extracts as substitutes for hops in sorghum beer production. African Journal of Biotechnology. 9 (51). 8819-8823.
- Afonso, M; O Silva, A; Carvalho, E; Rivelli, D; Barros, S; Rogero, M; Lottenberg, A; Torres, R; Mancini, J. 2013. Phenolic compounds from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) attenuate oxidative stress and reduce blood cholesterol concentrations in diet-induced hypercholesterolemic rats. Nutrition & Metabolism. 10:19.
- Aka, S; Camara, F; Nanga, Y; Loukou, Y; Koffi, M. 2008. Evaluation of organic acids and sugars contents during the production of 'Tchapalo', a traditional sorghum beer in Côte d'Ivoire. J. Food Technol. 6(5). 189-195.
- Albu, S; Joyce, E; Paniwnyk, L; Lorimer, J; Mason, T. 2004. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. UK. Ultrasonics Sonochemistry. Vol. 11. p 261–265.
- Alcázar, A. 2001. Aplicaciones del análisis multivariante a la diferenciación de tipos de cerveza. Tesis. Doc. Ciencias Químicas. US. Andalucía, ES. p 6.
- Al Hashmi, L; Hossain, M; Weli, A; Al-Riyami, Q; AlSabahi, J. 2013. Gas chromatography–mass spectrometry analysis of different organic crude extracts from the local medicinal plant of *Thymus vulgaris* L. Asian Pacific journal of tropical biomedicine. Vol. 3 (1). p 69-73.
- Almeida, J. 2009. Arroz negro como adjunto en el proceso de elaboración de cerveza. MX. Biotecnología. Vol. 13, núm. 3.
- Alves, P. y De Faria, F. 2008. Avaliação da intensidade de amargor e do seu princípio ativo em cervejas de diferentes características e marcas comerciais. BR. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Vol. 28 (4). p 902-906.
- Amer, R; Shalaby, H; Hatem, A; Salem, M. 2014. Efficacy of two plant extracts *Pectin ophora gossypella* (Saunders) and affected biological aspects under laboratory conditions. Egyptian Journal of Biological Pest Control. Vol. 24. p 29-35.

- Baiano, A. y Terracome, C. 2013. Physico-chemical indices, iso- α -acid, phenolic contents and antioxidant activity of commercial beers. *Journal of Food Research*. Vol. 2, núm. 4. p 107-120.
- Bailen, M; Diaz, C; Sanz, J; Martínez, R; Cabrera, R; Burillo, J; Gonzalez, A. 2013. Chemical composition and biological effects of essential oils from *Artemisia absinthium L.* cultivated under different environmental conditions. *Industrial Crops and Products*. Vol. 49. p 102-107.
- Bandonill, E; Mamucod, H; Sanchez, P. 2004. Optimization of process parameters for rice (*Oryza sativa L.*) beer production in the Philippines. PH. *Philippine Journal of Crop Science*.
- Baño, M. 2006. Caracterización, distribución, biosíntesis y propiedades antioxidantes de los principales compuestos polifenólicos presentes en *Rosmarinus officinalis*. Tesis. Doc. UM. ES.
- Basanta, A. 2009. Evaluación de la enterocina L50 (L50 A y L50 B) de "*Enterococcus Faecium*" L50 como bioconservante de la cerveza: Producción y secreción heteróloga de las enterocinas L50 y L50 B en "*Sccharomyces cerevisiuae*" y "*Pichia pastoris*". Tesis. Doc. UCM. Madrid, ES. p 28-31.
- BJCP (Beer Jugde Certification Program). 2008. Programa para juzgar cervezas pautas de estilo. p 83-84.
- Buiatti, S. 2009. Beer composition: an oterview. *Beer in Health and Disease Prevention*. USA. Elsevier. p 213-225.
- Bubacz, M; McCreanor, P; Jenkins, H. 2013. Engineering of Beer: Hard work or too much fun? *American Society for Engineering Education*.
- Caballero, I; Blanco, A; Sancho, D. 2010. Determinación del contenido de iso- α -ácidos presentes en la cerveza lager mediante voltamperometría de redisolución catódica. Valencia, ES. Universidad de Valladolid.
- _____. Blanco, A; Porras, M. 2012. Iso-a-acids, bitterness and loss of beer quality during storage. *Trends in Food Science & Technology*. Vol. 20. p 1-10.
- Capuzo, A; Maffei, M; Occhipinti, A. 2013. Supercritical fluid extraction of plant flavors and fragrances. *Molecules*. Vol. 18. p 7194-7238.
- Casas, E; García, M; Montañés, J; Tornero, A. 2014. Extracción supercrítica de lúpulo: Cerveza y otras industrias. ES. *Cerveza y malta*. LI (1). N°201. p 35-38.
- Cerda, A; Martínez, M; Soto, C; Poirrier, P; Perez-Correa, J; Vergara-Salinas, J; Zúñiga, M. 2013. The enhancement of antioxidant compounds extracted

from *Thymus vulgaris* using enzymes and the effect of extracting solvent. Food chemistry. Vol. 139 (1). p 138-143.

- Cerna, R. 2006. Determinación del efecto tiempo-temperatura durante el proceso de pasteurización sobre el color, aroma y "flavor" de cerveza usando análisis sensorial. Tesis. Mg. Ciencias. UPR. PR. p 5.
- Cerpa, J. y Melo, O. 2012. Determinantes del precio en cervezas: aplicación del modelo de precios hedónicos. CH. Economía Agraria. Vol. 15.
- Cinkmains, I; Straumite, E; Cakste, I. 2014. Sensory evaluation of drink. Vol. 31. p 25-32.
- Craciunescu, O; Constantin, D; Gaspar, A; Toma, L; Utoiu, E; Moldovan, L. 2012. Evaluation of antioxidant and cytoprotective activities of *Arnica montana* L. and *Artemisia absinthium* L. ethanolic extracts. Chemistry Central Journal. 6:97.
- Dal Bosco, A; Gerencsér, Z; Szendrő, Z; Mugnai, C; Cullere, M; Kovács, M; Dalle Zotte, A. 2014. Effect of dietary supplementation of Spirulina (*Arthrospira platensis*) and Thyme (*Thymus vulgaris*) on rabbit meat appearance, oxidative stability and fatty acid profile during retail display. Meat science. Vol. 96 (1). p 114-119.
- Dogu-Baykut, E; Gunes, G; Decker, E. 2014. Impact of shortwave ultraviolet (UV-C) radiation on the antioxidant activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.). Food chemistry. Vol. 157. p 167-173.
- Dorđević, S; Popović, D; Despotović, S; Veljović, M; Atanacković, M. 2015. Extracts of medicinal plants-as functional beer additives. Belgrade, SR. Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly. p 44-65.
- Dos Santos; T; Moretzsohn, P; Camporese, E. 2014. Solid wastes in brewing process: A review. Journal of Brewing and Distilling. Vol. 5 (1). p 1-9.
- Echeverria, J. y Gutiérrez, R. 2010. Determinación de las características del mosto elaborado con malta caramelo para elaborar una cerveza artesanal. XII Congreso Nacional De Ciencia Y Tecnología De Alimentos. Guanajuato, MX.
- Enríquez, C. 2014. Las cervezas artesanales se multiplican. El Comercio, Guayaquil, EC, sep, 21.
- Erkan; N; Ayranci, G; Ayranci, E. 2008. Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chemistry. Vol. 110. p 76-82.
- Fachini-Queiroz, F; Kummer, R; Estevao-Silva, C; Carvalho, M; Cunha, J; Grespan, R; Cuman, R. 2012. Effects of thymol and carvacrol,

constituents of *Thymus vulgaris* L. essential oil, on the inflammatory response. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.

- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2008. Año internacional de la papa. (En línea). Consultado, 22 de feb. 2016. Formato HTML. Disponible en: <http://www.potato2008.org/es/>.
- Fernández, A; Mendiola, J; Scull, R; Vermeersch, M; Cos, P; Maes, L. 2008. In vitro anti-microbial activity of the Cuban medicinal plants *Simarouba glauca* DC, *Melaleuca leucadendron* L and *Artemisia absinthium* L. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. Vol. 103 (6): 615-618.
- Fisher, J. y Fisher, D. 2016. The homebrewer's garden: how to easily grow, prepare, and use your own hops, malts, brewing herbs. 2 ed. Storey Publishing. p 53-101.
- Gachkar, L; Yadegari, D; Bagher, M; Taghizadeh, M; Alipoor, S; Rasooli, I. 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Tehran, IR. Food Chemistry. Vol. 102 (3). p 898-904.
- Gagliardi, M. 2008. Gruit, amargor con hierbas. (En línea). AR. Consultado, 18 de dic. 2015. Formato HTML. Disponible en: <http://www.revistamash.com>.
- Gerencsér, Z; Szendro, Z; Matics, Z; Radnai, I; Kovács, M; Nagy, I; Dalle Zotte, A. 2014. Effect of dietary supplementation of spirulina (*Arthrospira platensis*) and thyme (*Thymus vulgaris*) on apparent digestibility and productive performance of growing rabbits. World Rabbit Science. Vol. 22 (1). p 1-9.
- Ghasemi-Varnamkhasi, M; Mohtasebi, S, Rodriguez-Mendez, M; Lozano, J, Razavi, S; Ahmadi, H; Apetrei, C. 2012. Classification of non-alcoholic beer based on aftertaste sensory evaluation by chemometric tools. Expert Systems with Applications. 39(4). 4315-4327.
- Godoy, A; Herrera, T; Ulloa, M. 2003. Más allá del pulque y el tepache. Las bebidas alcohólicas no destiladas indígenas de México. p 11.
- González, A; Bailen, M; Díaz, C; Fraga, B; Martínez, R; Zúñiga, G; Contreras, R; Cabrera, R; Burillo, J. 2012. Major components of Spanish cultivated *Artemisia absinthium* populations: Antifeedant, antiparasitic, and antioxidant effects. Industrial Crops and Products. Vol. 37. p 401-407.
- González, J; Carrizales, R; Martínez, J. 2013. Perspectiva de nuevos productos a base de amaranto: cerveza artesanal de amaranto. ES. TLATEMOANI. Núm. 14.
- Google Earth. 2016. Ubicación geográfica de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. (En línea). Consultado, 02 de feb. 2016. Disponible en: www.google.com.

- Gorjanovic, S; Novakovic, M; Potkonjak, N; Leskosek, I; Suznjevic, D. 2009. Application of a novel antioxidative assay in beer analysis and brewing process monitoring. Belgrade, SR. Agricultural and Food Chemistry. Vol. 30, núm. 20.
- Gutiérrez, A; Elizondo, A; Días, A. 2002. Cervezas Artesanales: características fisicoquímicas y microbiológicas-comparación con cervezas industriales. AR. Industrialización de Alimentos. p 1-2.
- Hamilton, A. 2013. Brewing Britan. Great Britain. CPI Group. p 139.
- Hasbún, J; Esquivel, P; Brenes, A; Alfaro, I. 2009. Propiedades físico-químicas y parámetros de calidad para uso industrial de cuatro variedades de papa. Agronomía costarricense: Revista de ciencias agrícolas. 33(1). p 77-89.
- Hernández, A; Alfaro, I; Arrieta, R. 2003. Microbiología industrial. p 113-130.
- Hernández, M. 2001. Aprovechamiento de la zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza*) como adjunto para la elaboración de cerveza tipo lager. Tesis. Ing. Alimentos. UTA. Ambato, EC. p 8.
- Hernández, M; Torruco, J; Chel, L; Betancur, D. 2008. Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Vol. 23, núm. 3. p 718-726.
- Hernández, N. y Román, A. 2010. Caracterización de mosto elaborado a partir de malta chocolate para determinar su viabilidad en la elaboración de cerveza artesanal. XII Congreso Nacional De Ciencia Y Tecnología De Alimentos. Guanajuato, MX.
- Hornsey, I. 2003. A history of beer and brewing. UK. RSC Paperbacks. p 534-537.
- Horváthová, E; Srančíková, A; Regendová-Sedláčková, E; Melušová, M; Meluš, V; Netriová, J; Kozics, K. 2015. Enriching the drinking water of rats with extracts of *Salvia officinalis* and *Thymus vulgaris* increases their resistance to oxidative stress. Mutagenesis. Vol. 56. p 1-9.
- Hossain, M; AL-Raqmi, K; AL-Mijizy, Z; Weli, A; Al-Riyami, Q. 2013. Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vulgaris*. Asian Pacific journal of tropical biomedicine. Vol. 3 (9). p 705-710.
- INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censo). 2013. Ecuador en cifras. (En línea). EC. Consultado, 18 de oct. 2015. Formato PDF. Disponible en: <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/>.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 1978. NTE INEN 349: Bebidas alcohólicas. Determinación la densidad relativa. Quito-Pichincha, EC.

- _____. 2002. NTE INEN 2322: Bebidas alcohólicas. Cerveza. Determinación de alcohol. Quito-Pichincha, EC.
- _____. 2002. NTE INEN 2323: Bebidas alcohólicas. Cerveza. Determinación de acidez total. Quito-Pichincha, EC.
- _____. 2003. NTE INEN 2262: Bebidas alcohólicas. Cerveza. Requisitos. Quito-Pichincha, EC. p 2.
- _____. 2003. NTE INEN 2325: Bebidas alcohólicas. Cerveza. Determinación del pH. Quito-Pichincha, EC.
- Jackson, G. y Mundy, A. 2002. Mejora del análisis químico, microbiológico y sensorial mediante el uso del esquema BAPS de comprobación de la capacitación. Cerveza y Malta. XXXIX (2). p 33-36.
- Judzentiene, A; Budiene, J; Gircyte, R; Masotti, V; Laffont, I. 2012. Toxic Activity and Chemical Composition of Lithuanian Wormwood (*Artemisia absinthium* L.) Essential Oils. Rec. Nat. Prod. 6:2. p 180-183.
- Kappler, S; Krahl, M; Geissinger, C; Becker, T; Krottenthaler, M. 2010. Degradation of Iso- α -Acids during wort boiling. J. Inst. Brew. Vol. 116 (4). p 332-338.
- Karabegović, I; Vukosavljević, P; Novaković, M; Gorjanović, S; Džamić, A; Lazić, M. 2012. Influence of the storage on bioactive compounds and sensory attributes of herbal liqueur. Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures. Vol. 7, núm. 4. p 1587-1598.
- Kayodé, A; Hounhouigan, D; Nout, M; Niehof, A. 2007. Household production of sorghum beer in Benin: technological and socio-economic aspects. International Journal of Consumer Studies. 31(3). 258-264.
- Keukeleire, D. 2000. Fundamentals of beer and hop chemistry. Química Nova. Vol 23 (1). p 108-112.
- Kohiyama, C; Yamamoto, M; Galerani, S; Bando, E; Bomfim, N; Nerilo, S; Machinski, M. 2015. Antifungal properties and inhibitory effects upon aflatoxin production of *Thymus vulgaris* L. by *Aspergillus flavus* Link. Food chemistry. Vol. 173. p 1006-1010.
- Kordali, S; Kotan, R; Mavi, A; Cakir, A; Ala, A; Yildirim, A. 2005. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential Oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 53. p 9452-9458.
- _____. Aslan, I; Calmasur, O; Cakir, A. 2006. Toxicity of essential oils isolated from three *Artemisia* species and some of their major components to

granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Industrial Crops and Products. Vol. 23. p 162-170.

- Kumar, A. y Upadhyaya, K. 2013. Preliminary phytochemical screening and physico-chemical parameters of *Artemisia absinthium* and *Artemisia annua*. India. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. Vol. 1, núm. 6. p 229-235.
- Kunze, W. 2006. Tecnología para cerveceros y malteros. 5 ed. VLB Berlín. Verlagsabteilung. Germany. p 110-181.
- Kutyaauripo, J; Parawira, W; Tinofa, S; Kudita, I; Ndengu, C. 2008. Investigation of shelf-life extension of sorghum beer (Chibuku) by removing the second conversion of malt. International journal of food microbiology. 129(3). 271-276.
- Lachenmeier, D. y Walch, S. 2011. The choice of thujone as drug for diabetes. Natural Product Research. Vol. 25, No. 20. p 1890-1892.
- Lee, Y; Thiruvengadam, M; Chung, I; Nagella, P. 2013. Polyphenol composition and antioxidant activity from the vegetable plant *Artemisia absinthium* L. Seul, KR. ACJS. Vol. 7, núm. 12. p 1921-1926.
- Linhart, Y; Gauthier, P; Keefover-Ring, K; Thompson, J. 2015. Variable phytotoxic effects of *Thymus vulgaris* (Lamiaceae) terpenes on associated species. International Journal of Plant Science. Vol. 176 (1). p 20-30.
- Lorente, M. y Sánchez, M. 2012. El análisis sensorial en el sector cervecero: algunas claves para el éxito. Valencia, ES. Cerveza y malta. XLIX (3). N°195. p 11-17.
- Luján, M. y Vásquez, V. 2010. Control automático con lógica difusa de la producción de cerveza artesanal en las etapas de maceración y cocción. Scientia Agropecuaria. Vol 1. p 125-137.
- Machado, D; Cunha, M; Neis, B; Balen, G; Colla, A; Bettio, L; Oliveira, A; Pazini, F; Dalmarco, J; Simionatto, L; Pizzolatti, M; Rodrigues, A. 2013. Antidepressant-like effects of fractions, essential oil, carnosol and betulinic acid isolated from *Rosmarinus officinalis* L. Food Chemistry. Vol. 136. p 999-1005.
- Mancini, E; Senatore, F; Del Monte, D; De Martino, L; Grulova, D; Scognamiglio, M; De Feo, V. 2015. Studies on chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of five *Thymus vulgaris* L. Essential Oils. Molecules. Vol. 20 (7). p 12016-12028.
- Mardafkan, N; Iranmanesh, M; Larijani, K; Mahasti, P; Nazari, F; Zojaji, M. 2015. Chemical components and antibacterial activities of essential oils obtained from Iranian local *Lavandula officinalis* and *Thymus vulgaris*

against pathogenic bacteria isolated from human. *Journal of Food Biosciences and Technology*. Vol. 5, núm. 1. p 31-36.

- Matsumoto, M; San Aye, S; Ogata, K. 2006. Characterization of rhizoctonia-like endophytes from wormwood (*artemisia capillaries*) roots using whole-cellular fatty acid analysis. Vol. 29, p 21-29.
- Merelo, G. y Zúñiga, J. 2013. Diseño y construcción de un equipo con adaptación de tecnología para elaboración de cerveza artesanal. Tesis. Ing. Química. UG. Guayas, EC.
- Meneses, J; Corrales, C; Valencia, M. 2007. Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. Medellín, CO. *Revista EIA*. Núm. 8. p 57-67.
- Muñoz, L. 2002. Plantas medicinales españolas. *Rosmarinus officinalis L.* (Romero). Salamanca, ES. Vol. 21. p 105-118.
- Muto, T; Watanabe, T; Okamura, M; Moto, M; Kashida, Y; Mitsumori, K. 2003. Thirteen-week repeated dose toxicity study of wormwood (*Artemisia absinthium*) extract in rats. *The Journal of Toxicological Sciences*. Vol. 28, núm. 5. p 471-478.
- Nalbantsoy, A; Baykan, S; Köksal, C; Göçmen, B; Zülfü, M; Ülkü, N. 2013. Viper venom induced inflammation with *Montivipera xanthina* (Gray, 1849) and the anti-snake venom activities of *Artemisia absinthium L.* in rat. *TR. Toxicon*. Vol. 65. p 34-40.
- Nguefack, J; Tamgue, O; Dongmo, J; Dakole, C; Leth, V; Vismer, H; Nkengfack, A. 2012. Synergistic action between fractions of essential oils from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against *Penicillium expansum*. *Food Control*. Vol. 23 (2). p 377-383.
- Nielsen, J; Whigham, P; Frew, R; Callaway, R; Dickinson, K. 2015. Thyme and space invasion: *Thymus vulgaris* decreases exotic plant species diversity in Central Otago, New Zealand. *Biological Invasions*. Vol. 17 (8). p 2261-2274.
- _____. Frew, R; Whigham, P; Callaway, R; Dickinson, K. 2016. Thyme travels: ¹⁵N isoscapes of *Thymus vulgaris L.* invasion in lightly grazed pastoral communities. *Austral Ecology*. Vol. 41 (1). p 28-39.
- Nikolić, M; Glamočlija, J; Ferreira, I; Calhelha, R; Fernandes, Â; Marković, T; Soković, M. 2014. Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum L.*, *Thymus algeriensis Boiss.* and *Reut and Thymus vulgaris L.* essential oils. *Industrial Crops and Products*. Vol. 52. p 183-190.
- NPCS (Niir Project Consultancy Services). 2014. India beer market. Industry size, trends, analysis and forecasts. p 5.

- Obistioiu, D; Romeo, C; Schmerold, I; Chizzola, R; Stolze, K; Nichita, I. 2014. Chemical characterization by GC-MS and in vitro activity against *Candida albicans* of volatile fractions prepared from *Artemisia dracuncululus*, *Artemisia abrotanum*, *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*. Chemistry Central Journal. 8:6.
- Palacios, A; Alcázar, A; Jurado, J; De Pablos, F. 2012. Reconocimiento del origen geográfico de cervezas basado en máquinas de vectores soporte aplicadas a descriptores químicos. Sevilla, ES. Cerveza y Malta. XLIX (1). N°193. p. 40-46.
- Palmer, J. 2006. How to brew. 3 ed. USA. Brewers Publications. p 205-220.
- Panda, S; Panda, S; Swain, M; Ray, R; Kayitesi, E. 2015. Anthocyanin-rich sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) Beer: Technology, biochemical and sensory evaluation. Journal of Food Processing and Preservation. Vol. 39 (6). p 3040-3049.
- Peatciyammal, N; Balachandar, B; Dinesh, M; Tamilarasan, K; Muthukumar, C. 2010. Statistical optimization of enzymatic hydrolysis of potato (*Solanum tuberosum*) starch by immobilized α -amylase. World Academy of Science, Engineering and Technology. Vol. 37. p 1048-1052.
- Pelkonen, O; Abass, K; Wiesner, J. 2013. Thujone and thujone-containing herbal medicinal and botanical products: Toxicological assessment. Regulatory Toxicology and Pharmacology. Vol. 65. p 100–107.
- Pellicer, J; García, S; Garnatje, T; Hidalgo, O; Yakovlev, S; Valles, J. 2007. Molecular cytogenetic characterization of some representatives of subgenera *Artemisia* and *Absinthium* (genus *Artemisia*, *Asteraceae*). Barcelona, ES. Collectanea Botanica. Vol. 27. p 19-27.
- Pineda, A; Coral, D; Arciniegas, M; Rorales, A; Rodríguez, M. 2010. Papel del agua en la gelatinización del almidón de maíz: estudio por calorimetría diferencial de barrido. Ingeniería y Ciencia. Vol. 6, núm. 11. p 129-141.
- Pintore, G; Usai, M; Bradesi, P; Juliana, C; Boatto, G; Tomi, F; Chessa, M; Cerri, R; Casanova, J. 2002. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. Flavour Frang. Vol. 15. p 15-19.
- Pirbalouti, A; Hashemi, M; Ghahfarokhi, F. 2013. Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. Industrial Crops and Products. Vol. 48. p 43-48.
- Pires, G; Rodrigues, N; Pillon, R; Dobrachinski, F; De Lima, R; Hinerasky, M; Lugokenski, T; Mundstock, G; Almeida, S. 2013. Protective action of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. in gastric ulcer prevention induced by ethanol in rats. Food and Chemical Toxicology. Vol. 55. p 48-55.

- ProChile. 2014. Estudio de mercado cerveza artesanal en Ecuador. (En línea). EC. Consultado, 18 de oct. 2015. Formato PDF. Disponible en: <http://www.prochile.gob>.
- Rezaeinodehi, A. y Khangloli, S. 2008. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* growing wild in Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. Vol. 11, núm. 6. p 946-949.
- Roby, M; Sarhan, M; Selim, K; Khalel, K. 2013. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*. Vol. 43. p 827-831.
- Rodríguez, E; Fernández, A; Lonso, A; Oapina, B. 2006. Reología de suspensiones preparadas con harina precocida de yuca. *Ingeniería y Desarrollo*. Núm. 19. p 17-30.
- Rodríguez, J; Muñoz, C; Martín, P; Pozo, M. 2012. Influencia de las condiciones de almacenamiento en la estabilidad del aroma y en las características sensoriales de la cerveza durante su vida útil. *Barcelona, ES. Cerveza y malta*. XLIX (3). N°195. p 20-27.
- Rodriguez, J; Melo, E; Mulet, A; Bon, J. 2013. Optimization of the antioxidant capacity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) extracts: Management of the convective drying process assisted by power ultrasound. *Journal of Food Engineering*. Vol. 119. p 793–799.
- Rodríguez, H. 2003. Determinación de parámetros fisicoquímicos para la caracterización de cerveza tipo Lager elaborada por compañía Cervecera Kunstmann S.A. Tesis. Ing. Alimentos. UAC. Valdivia, CH.
- Rodríguez, P; San Martín, M; González, G. 2001. Calorimetría diferencial de barrido y rayos-x del almidón obtenido por nixtamalización fraccionada. *MX. Superficies y Vacío*. Vol. 13. p 61-65.
- Roger, D; Venassius, L; Justin, E; Franccedil, E. 2013. Processing of Amgba: A sorghum-maize based beer, brewed in Cameroon. *Journal of brewing and distilling*. 4 (1). 11-18.
- Ronicely, P; Melo, E; Corbín, J; Berbert, P; Donzeles, S; Tabar, J. 2012. Cinética del secado de tomillo. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. Vol 16, núm. 6. p 675-683.
- Sahin, S; Aybastier, O; Isık, E. 2013. Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant compounds from *Artemisia absinthium* using response surface methodology. *Food Chemistry*. Vol. 141. p 1361-1368.
- Salmani, A; Kosari, A; Pirouzi, A; Mohsenzadeh, M. 2015. Protective effect of methanolic extracts of *Thymus vulgaris* against cyclophosphamide-

induced DNA damage in mouse bone marrow cells using the micronucleus test. Trends in Pharmaceutical Sciences. Vol. 1, núm. 4. p 243-250.

- Sancho, R. 2015. Diseño de una planta de micro-fabricación de cerveza y estudio de técnicas y procesos de producción. Tesis. Ing. Química. UPC. Barcelona, ES. p 22-26.
- Sandoval, A; Rodríguez, E; Fernández, A. 2005. Aplicación del análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC) para la caracterización de las modificaciones del almidón. Medellín, CO. Dyna. Vol. 72, núm 146. p 45-53.
- Schönberger, C. 2006. Bitter is better. Monatsschrift für Brauwissenschaft. Vol. 3, núm. 4. p 56-65.
- _____. 2009. Why cohumulone is better than its reputation. Brauwelt International. Vol 3. p 159-160.
- Serna, S; Urias, D; Pozo, D; Hernández, C. 2005. Efecto de la adición de amiloglucosidasa en las propiedades de cervezas lager producidas a partir de sorgo. Transferencia. MX. p 19-21.
- Shabnum, S. y Wagay, M. 2011. Essential oil composition of *Thymus Vulgaris* L. and their uses. Journal of Research & Development. Vol. 11. p 83-94.
- Shafi, G; Hasan, T; Syed, N; Al-Hazzani, A; Alshatwi, A; Jyothi, A; Munshi, A. 2012. *Artemisia absinthium* (AA): a novel potential complementary and alternative medicine for breast cancer. Molecular Biology Report. Vol. 39 (7). p 7373-7379.
- Sharopov, F; Sulaimonova, V; Setzer, W. 2012. Composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* from Tajikistan. Rec. Nat. Prod. Vol. 6, núm. 2. p 127-134.
- Stojković, D; Glamočlija, J; Ćirić, A; Nikolić, M; Ristić, M; Šiljegović, J; Soković, M. 2013. Investigation on antibacterial synergism of *Origanum vulgare* and *Thymus vulgaris* essential oils. Archives of biological sciences. Vol. 65 (2). p 639-643.
- Strong, G. y England, K. 2015. Beer Style Guidelines. BJCP (Beer Judge Certification Program). p 32-33.
- Suárez, M. 2013. Cerveza: Componentes y propiedades. Tesis. Mg. Biotecnología alimentaria. UO. Oviedo-Asturias. ES.
- Tariku, Y; Hymete, A; Hailu, A; Rohloff, J. 2011. In vitro evaluation of antileishmanial activity and toxicity of essential oils of *Artemisia absinthium* and *Echinops kebericho*. Chemistry & Biodiversity. Vol. 8. 614-623.

- Techakriengkrai, I; Paterson, A; Taidi, B; Piggott, J. 2004. Relationships of Sensory Bitterness in Lager Beers to Iso- α -Acid Contents. *J. Inst. Brew.* Vol. 110 (1). p 51-56.
- Teruel, M. 2015. Efecto del extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) y el proceso de fritura sobre la calidad y vida útil de aceite y productos pre-fritos. Tesis. Doc. UM. Murcia, ES. p 86.
- Tulp, M. y Bohlin, L. 2004. Unconventional natural sources for future drug discovery. Londres, UK. *Drug Discovery Today*. Vol. 9, núm. 10. p 450-458.
- Unger, R. 2004. Beer in the middle ages and the Renaissance. United States. p 32.
- UP (Universidad del Pacífico). 2011. Producción de cerveza artesanal. (En línea). PE. Consultado, 7 de ene. 2016. Formato PDF. Disponible en: <http://www.crecemype.pe/portal/>.
- Vázquez, M; Rubio, O; Salinas, Y; Ramos, D. 2012. Usos alternativos de la papa en el estado de México. No. 15. México. p 15-89.
- Vicente, F. 2013. Desarrollo de nuevos productos. Bebida fermentada a base de sorgo. (En línea). AR. Consultado, 18 de oct. 2015. Formato PDF. Disponible en: <http://www.alimentosargentinos.gob.ar>.
- Vogel, K. 2003. Elaboración casera de cerveza. 5 ed. España. Acribia. p 21.
- Wang, W; Li, N; Luo, M; Zu, Y; Efferth, T. 2012. Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main components. *Molecules*. Vol. 17. p 2704-2713.
- Wang, F; Li, Y; Zhang, Y; Zhou, Y; Li, S; Li, H. 2016. Natural products for the prevention and treatment of hangover and alcohol use disorder. *Molecules*. Vol. 21, núm. 64.
- Yáñez, P; Escoba, A; Molina, C; Zapata, G. Comparación de la actividad acaricida de los aceites esenciales de *Ocimum basilicum*, *Coriandrum sativum* Y *Thymus vulgaris* contra *Tetranychus urticae*. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*. Vol. 19 (1). p 21-33.
- Zambrano, J. y Borbor, K. 2014. Utilización de una nueva cepa de levadura en el proceso de fermentación en una industria cervecera en la ciudad de Guayaquil. Tesis. Ing. Alimentos. ESPOL. Guayas, EC. p 1-35.
- Zhang, Y; Smuts, J; Dodbiba, E; Rangarajan, R; Lang, J; Armstrong, D. 2012. Degradation study of carnosic acid, carnosol, rosmarinic acid, and rosemary extract (*Rosmarinus officinalis* L.) assessed using HPLC. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 60. p 9305-9314.

ANEXOS

ANEXO 1

FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL



TEST DE EVALUACIÓN SENSORIAL DE CERVEZA ARTESANAL

Nombre.....

Fecha.....

Las siguientes muestras están identificadas por medio de un código de tres dígitos. La escala que se utiliza es de 1 a 5 puntos, para medir las características sensoriales que encuentre en cada una de ellas marque con una X. Enjuagar su boca con agua después de beber cada muestra.

CÓDIGO:					
PARÁMETRO EVALUADO	PUNTUACIÓN				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta ni me disgusta	Me desagrada	Me desagrada mucho
Color					
Olor					
Sabor					
Cuerpo					
Amargor					

CÓDIGO:					
PARÁMETRO EVALUADO	PUNTUACIÓN				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta ni me disgusta	Me desagrada	Me desagrada mucho
Color					
Olor					
Sabor					
Cuerpo					
Amargor					

CÓDIGO:					
PARÁMETRO EVALUADO	PUNTUACIÓN				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta ni me disgusta	Me desagrada	Me desagrada mucho
Color					
Olor					
Sabor					
Cuerpo					
Amargor					

CÓDIGO:					
PARÁMETRO EVALUADO	PUNTUACIÓN				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta ni me disgusta	Me desagrada	Me desagrada mucho
Color					
Olor					
Sabor					
Cuerpo					
Amargor					

CÓDIGO:					
PARÁMETRO EVALUADO	PUNTUACIÓN				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta ni me disgusta	Me desagrada	Me desagrada mucho
Color					
Olor					
Sabor					
Cuerpo					
Amargor					

CÓDIGO:					
PARÁMETRO EVALUADO	PUNTUACIÓN				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta ni me disgusta	Me desagrada	Me desagrada mucho
Color					
Olor					
Sabor					
Cuerpo					
Amargor					

CÓDIGO:					
PARÁMETRO EVALUADO	PUNTUACIÓN				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta ni me disgusta	Me desagrada	Me desagrada mucho
Color					
Olor					
Sabor					
Cuerpo					
Amargor					

COMENTARIOS Y SUGERENCIAS

.....

.....

ANEXO 2

RESULTADOS DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

 ESPAMMFL ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ	
LABORATORIOS DEL ÁREA AGROINDUSTRIAL	
SEÑORES ESTUDIANTES:	JOHAN MENDOZA ALONZO – GEMA CEDEÑO
DIRECCIÓN:	CALCETA
FECHA DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS:	22/07/2016
FECHA DE ENTREGA DE LAS MUESTRAS:	29/07/2016
MUESTRAS ENVIADAS:	21 MUESTRAS DE CERVEZA ARTESANAL
EXÁMENES SOLICITADOS:	pH, ACIDEZ, DENSIDAD, GRADO DE ALCOHOL

RESULTADOS DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS					
MÉTODO		NTE INEN 2325:2002	NTE INEN 2323:2002	NTE INEN 349:1978	NTE INEN 2322:2002
MUESTRAS	REPLICAS	pH	ACIDEZ (% ÁCIDO LÁCTICO)	DENSIDAD (g/mL)	GRADO DE ALCOHOL (%v/v)
T1	1	3.80	0.27	1.011	4.97
	2	3.73	0.28	1.011	4.95
	3	3.73	0.29	1.011	4.96
T2	1	4.05	0.40	1.021	5.43
	2	4.01	0.41	1.021	5.41
	3	4.09	0.40	1.021	5.46
T3	1	3.90	0.34	1.016	4.40
	2	3.85	0.33	1.016	4.32
	3	3.87	0.29	1.016	4.37
T4	1	3.85	0.28	1.015	6.25
	2	3.96	0.32	1.015	6.28
	3	3.95	0.24	1.015	6.27
T5	1	3.99	0.28	1.012	6.44
	2	4.10	0.34	1.013	6.40
	3	4.09	0.25	1.013	6.46
T6	1	4.05	0.33	1.020	5.81
	2	3.97	0.37	1.020	5.75
	3	4.01	0.41	1.020	5.74
TR	1	4.34	0.27	1.011	6.22
	2	4.32	0.27	1.010	6.20
	3	4.31	0.22	1.010	6.27


 Lic. Cruz Pinargote Zambrano
 JEFE DE LABORATORIO


 Ing. Jorge Teca Delgado
 ANALISTA

ANEXO 3

**COMPROBACIÓN DE LOS SUPUESTOS DE LAS VARIABLES
FISICOQUÍMICAS**

TEST DE SHAPIRO WILK

Variables	Prueba de normalidad		
	Estadístico	gl	Sig.
pH	0.935	18	0.235
Acidez	0.923	18	0.147
Densidad	0.877	18	0.023
Grado de alcohol	0.909	18	0.830

TEST DE LEVENE

Variable	F	gl1	gl2	Sig.
pH	1.089	5	12	0.415
Acidez	2.495	5	12	0.090
Grado de alcohol	1.523	5	12	0.255

Contrasta la hipótesis nula de que la varianza error de la variable dependiente es igual a lo largo de todos los grupos.

ANEXO 4

**ANOVA PARA TRATAMIENTOS CON INCLUSIÓN DEL TESTIGO Y
CONTRASTE DUNNET DE VARIABLES pH, ACIDEZ TOTAL Y GRADO DE
ALCOHOL**

ANOVA PARA TRATAMIENTOS CON LA INCLUSIÓN DEL TESTIGO

Origen	Variable	SC	gl	CM	F	Sig.
Tratamientos	pH	0.582	6	0.097	51.837	0.000
	Acidez	0.053	6	0.009	8.903	0.000
	Grado_alcohol	10.563	6	1.761	1966.583	0.000
Error	pH	0.026	14	0.002		
	Acidez	0.014	14	0.001		
	Grado_alcohol	0.013	14	0.001		
Total corregida	pH	0.608	20			
	Acidez	0.067	20			
	Grado_alcohol	10.576	20			

CONTRASTE DE DUNNET

Variable dependiente	(J)Tratamientos	(I)Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Sig.
pH	TR	T1	-.5700*	0.000
		T2	-.2733*	0.000
		T3	-.4500*	0.000
		T4	-.4033*	0.000
		T5	-.2633*	0.000
		T6	-.3133*	0.000
Acidez	TR	T1	.0267	0.797
		T2	.1500*	0.000
		T3	.0667	0.090
		T4	.0267	0.797
		T5	.0367	0.545
		T6	.1167*	0.002
Grado_alcohol	TR	T1	-1.2700*	0.000
		T2	-.7967*	0.000
		T3	-1.8667*	0.000
		T4	.0367	0.496
		T5	.2033*	0.000
		T6	-.4633*	0.000

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 0.001.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

ANEXO 5

ANOVA FACTORIAL PARA pH, ACIDEZ TOTAL Y GRADO DE ALCOHOL

Origen	Variable	SC	gl	CM	F	Sig.
Factor_A	pH	0.049	1	0.049	22.891	0.000
	Acidez	0.002	1	0.002	1.962	0.187
	Grado_alcohol	6.882	1	6.882	8313.886	0.000
Factor_B	pH	0.143	2	0.072	33.360	0.000
	Acidez	0.017	2	0.009	8.484	0.005
	Grado_alcohol	2.314	2	1.157	1397.805	0.000
Factor_A *	pH	0.021	2	0.010	4.837	0.029
Factor_B	Acidez	0.021	2	0.011	10.277	0.003
Error	Grado_alcohol	0.133	2	0.067	80.356	0.000
	pH	0.026	12	0.002		
	Acidez	0.012	12	0.001		
	Grado_alcohol	0.010	12	0.001		
Total	pH	0.239	17			
	Acidez	0.530	17			
	Grado_alcohol	9.339	17			

ANEXO 6

RESULTADOS DE LA PRUEBA KRUSKAL WALLIS PARA DENSIDAD

Variable densidad				
Estadístico	Factor A	Factor B	Interacción	Tratamientos
Chi-cuadrado	0.1558	6.632	16.597	19.694
gl	1	2	5	6
Sig. asintót.	0.691	0.036	0.005	0.003

ANEXO 7

PRUEBA DE FRIEDMAN PARA VARIABLES SENSORIALES

RESULTADOS DE LA PRUEBA

Variables	Estadístico de contraste			
	N	Chi-cuadrado	gl	Sig. asintót.
Color	13	5.485	6	0.483
Olor	13	6.285	6	0.392
Sabor	13	5.072	6	0.535
Cuerpo	13	2.150	6	0.905
Amargor	13	3.871	6	0.694

RANGOS PROMEDIO DE LOS TRATAMIENTOS

Tratamiento	Rangos				
	Color	Olor	Sabor	Cuerpo	Amargor
T ₁	3.23	3.15	3.19	3.92	3.50
T ₂	4.27	3.77	3.73	3.92	4.27
T ₃	4.42	3.88	3.58	3.69	3.65
T ₄	3.27	4.85	4.23	4.15	4.69
T ₅	4.27	3.81	4.46	4.08	4.35
T ₆	4.35	4.54	4.46	4.58	3.73
T _R	4.19	4.00	4.35	3.65	3.81

ANEXO 8

REQUISITOS FISICOQUÍMICOS DE LA NORMA INEN 2262:2003

REQUISITOS	UNIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO	MÉTODO DE ENSAYO
Contenido alcohólico a 20°C	% (v/v)	2,0	5,0	NTE INEN 2 322
Acidez total, expresado como ácido láctico	% (m/m)	-	0,3	NTE INEN 2 323
Carbonatación	Volúmenes de CO ₂	2,2	3,5	NTE INEN 2 324
pH	-	3,5	5,0	NTE INEN 2 325
Contenido de hierro	mg/dm ³	-	0,2	NTE INEN 2 326
Contenido de cobre	mg/dm ³	-	1,0	NTE INEN 2 327
Contenido de zinc	mg/dm ³	-	1,0	NTE INEN 2 328
Contenido de arsénico	mg/dm ³	-	0,1	NTE INEN 2 329
Contenido de plomo	mg/dm ³	-	0,1	NTE INEN 2 330