

**UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA**

Facultad de Ingeniería



“Estandarización de condiciones de operación de la etapa de fermentación en el proceso de elaboración de cerveza IPA en la planta piloto de la Universidad del Valle de Guatemala”

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por  
Juan Pablo Nisthal Cardona  
para optar al grado académico de Licenciado en Ingeniería en Biotecnología Industrial

Guatemala  
2023



**UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA**

Facultad de Ingeniería



“Estandarización de condiciones de operación de la etapa de fermentación en el proceso de elaboración de cerveza IPA en la planta piloto de la Universidad del Valle de Guatemala”

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por  
Juan Pablo Nisthal Cardona  
para optar al grado académico de Licenciado en Ingeniería en Biotecnología Industrial

Guatemala  
2023

Vo. Bo.:

(f)   
Ing. Luis Ernesto Núñez González, M. Sc. & M. BA

Tribunal Examinador:

(f)   
Ing. Gamaliel Giovanni Zambrano Ruano, M. Sc.

(f)   
Ing. Carmen Alicia Ortiz Pineda, M. A.

(f)   
Ing. Luis Ernesto Núñez González, M. Sc. & M. BA

**Fecha de aprobación:** Guatemala 30 de octubre de 2023

## PREFACIO

El presente trabajo surgió a partir del gusto cervecero que tengo, además de la intención de hacer crecer la cultura cervecera en Guatemala, ya que, para explicar y enseñar, primero hay que aprender y entender. Por lo tanto, aproveché este trabajo como una oportunidad para resolver una problemática que existía en la UVG, además de expandir mi conocimiento sobre la producción de cerveza. Finalmente, luego de 5 años de esfuerzo y dedicación para completar pensum doy por concluida esta etapa llena de experiencias, aprendizajes, risas, desvelos y sobre todo crecimiento. Una etapa en donde estuve acompañado de amigos impresionantes que sin ellos no habría logrado esta aventura y catedráticos altamente calificados que a final de cuentas se convirtieron en amigos también y que, gracias a su pasión por los temas, hicieron más ameno todo tipo de aprendizaje. Asimismo, le doy un agradecimiento eterno a mi novia por haberme motivado, amado y apoyado en todo este trayecto, lo cual facilitó el cumplimiento de este logro.

Igualmente agradezco a mi asesor, Ing. Luis Núñez que no solo me acompañó en la elaboración de este trabajo, sino que también en muchos cursos a lo largo de la carrera, en donde aprendí y gané conocimiento acerca de lo amplia y útil que es la biotecnología en el mundo. Da mucho gusto aprender de temas con gente que tienen una vasta experiencia y conocimiento sobre ellos. Esto facilita mucho tanto la motivación para seguir aprendiendo, como la guía a seguir para desarrollar nuevos conocimientos y crecer.

Este logro se lo dedico a mis papás que sin ellos no estaría donde estoy hoy en día y específicamente por siempre haber creído en mí, por saber que soy mucho más capaz de lo que pienso y por el apoyo incondicional para que pudiera culminar esta etapa sin inconvenientes. Te lo dedico especialmente a ti papi, que lastimosamente partiste antes de tiempo y me habría llenado mucho que estuvieras conmigo presenciando este logro y muchos más. Sinceramente te agradezco por siempre haberme hecho saber que estabas orgulloso de mi, porque es algo que llevare conmigo para toda la vida hasta que nos encontremos nuevamente.

# ÍNDICE

PREFACIO .....	v
LISTA DE CUADROS .....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	x
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT .....	xiii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS.....	3
A. GENERAL .....	3
B. ESPECÍFICOS.....	3
III. JUSTIFICACIÓN.....	4
IV. MARCO TEÓRICO .....	6
A. Historia de la cerveza.....	6
B. Materia prima .....	7
C. Proceso de producción de cerveza .....	9
D. Estilos de cerveza.....	14
E. Cerveza India Pale Ale.....	15
F. Biotecnología de la cerveza .....	16
G. Balance de masa.....	20
H. Equipo utilizado de la UVG.....	21
I. Estadística .....	21
V. ANTECEDENTES .....	23
VI. METODOLOGÍA .....	24
VII. RESULTADOS .....	31
VIII. ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	41
IX. CONCLUSIONES.....	50
X. RECOMENDACIONES .....	52
XI. BIBLIOGRAFÍA.....	53
XII. ANEXOS .....	56
A. DATOS ORIGINALES.....	56
B. CÁLCULO DE MUESTRA .....	66

C.	ANÁLISIS DE ERROR .....	69
D.	DATOS CALCULADOS .....	72
E.	BALANCE DE MASA Y ENERGÍA.....	76
F.	FICHAS TÉCNICAS DE LOS INGREDIENTES UTILIZADOS .....	77
G.	FICHAS TÉCNICAS DEL EQUIPO UTILIZADO .....	84
H.	ESTANDARIZACIÓN DEL PROCESO.....	86
I.	IMÁGENES DEL PROCESO EXPERIMENTAL .....	87
XIII.	GLOSARIO.....	101

# LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Propiedades fisicoquímicas de interés del mosto preparado para medio de fermentación según cada ensayo a escala laboratorio .....	31
Cuadro 2. Propiedades fisicoquímicas de interés del mosto preparado para medio de fermentación según cada ensayo a escala industrial .....	32
Cuadro 3. Cantidad de azúcares presentes en el mosto preparado como medio de fermentación según cada ensayo a escala laboratorio obtenidos por medio de HPLC .....	32
Cuadro 4. Cantidad de azúcares presentes en el mosto preparado como medio de fermentación según cada ensayo a escala industrial.....	33
Cuadro 5. Prueba t de student para medias de dos muestras emparejadas para definir la influencia de la agitación en los ensayos .....	36
Cuadro 6. Análisis ANOVA de un factor de los resultados obtenidos de producción de etanol a escala laboratorio para el análisis de la sensibilidad de la temperatura en los diferentes ensayos .....	37
Cuadro 7. Parámetros cinéticos y rendimientos de los ensayos determinados por medio de Berkeley Madonna .....	37
Cuadro 8. Modelo cinético propuesto para el análisis del comportamiento de la fermentación de cerveza .....	39
Cuadro 9. Modelo cinético con los parámetros cinéticos determinados por medio del ajuste de Berkeley Madonna para el ensayo 5 .....	39
Cuadro 10. Propiedades de interés finales de la cerveza producida en los diferentes lotes industriales ....	39
Cuadro 11. Comparativa de rendimientos de producción de etanol por consumo de sustrato entre el mejor ensayo a escala laboratorio con los ensayos a escala industrial .....	40
Cuadro 12. Azúcares fermentables y etanol presente a lo largo de 7 días de fermentación del ensayo 1 (15°C) en triplicado con una hora de agitación obtenidos a partir de HPLC .....	56
Cuadro 13. Azúcares fermentables y etanol presente a lo largo de 7 días de fermentación del ensayo 2 (15°C) en triplicado con tres horas de agitación obtenidos a partir de HPLC .....	57
Cuadro 14. Azúcares fermentables y etanol presente a lo largo de 7 días de fermentación del ensayo 3 (17.5°C) en triplicado con una hora de agitación obtenidos a partir de HPLC.....	58
Cuadro 15. Azúcares fermentables y etanol presente a lo largo de 7 días de fermentación del ensayo 4 (17.5°C) en triplicado con tres horas de agitación obtenidos a partir de HPLC .....	59
Cuadro 16. Azúcares fermentables y etanol presente a lo largo de 7 días de fermentación del ensayo 5 (20°C) en triplicado con una hora de agitación obtenidos a partir de HPLC .....	60
Cuadro 17. Azúcares fermentables y etanol presente a lo largo de 7 días de fermentación del ensayo 6 (20°C) en triplicado con tres horas de agitación obtenidos a partir de HPLC .....	61
Cuadro 18. Propiedades fisicoquímicas de interés de los ensayos realizados a escala laboratorio .....	62
Cuadro 19. Peso seco de biomasa a lo largo de la etapa de fermentación de las muestras 1 y 2 .....	62
Cuadro 20. Peso seco de biomasa a lo largo de la fermentación de los ensayos 3 y 4.....	63
Cuadro 21. Peso seco de biomasa a lo largo de la fermentación de los ensayos 5 y 6.....	63
Cuadro 22. Cantidad de etanol y azúcares de los lotes industriales determinados por medio de HPLC en dilución 1/10.....	64
Cuadro 23. Propiedades fisicoquímicas de interés de los lotes producidos a escala industrial .....	64

Cuadro 24. Dureza del agua utilizada para la preparación del mosto .....	65
Cuadro 25. Grupos formados para el análisis estadístico de prueba t de Student para diferencia de medias .....	65
Cuadro 26. Grupos formados para el análisis estadístico ANOVA para determinar la sensibilidad de la temperatura durante la fermentación .....	66
Cuadro 27. Suavización del triplicado realizado de etanol y azúcares fermentables iniciales de cada ensayo a escala laboratorio .....	72
Cuadro 28. Corrección por dilución de los resultados de concentración de azúcares fermentables obtenidos por medio de HPLC de los ensayos 7, 8 y 9.....	72
Cuadro 29. Estadística descriptiva de los resultados obtenidos de producción de etanol a escala laboratorio según cada temperatura utilizada.....	73
Cuadro 30. Rendimientos de producción de etanol con consumo de sustrato de la escala industrial.....	73
Cuadro 31. Grado de amargor calculado por medio del método de Rager para cada lote producido a escala industrial .....	73
Cuadro 32. Densidad del mosto de cada ensayo producido .....	74
Cuadro 33. Concentración de biomasa durante la fermentación a escala laboratorio de los ensayos 1 y 2	74
Cuadro 34. Concentración de biomasa durante la fermentación a escala laboratorio de los ensayos 3 y 4	75
Cuadro 35. Concentración de biomasa durante la fermentación a escala laboratorio de los ensayos 5 y 6	75
Cuadro 36. Datos de placa de la caldera Chromalox Precision Heat and Control.....	84
Cuadro 37. Datos de placa Chiller ComfortStar .....	84
Cuadro 38. Datos de placa del agitador Leeson del tanque principal.....	85
Cuadro 39. Datos de placa del molino de rodillos .....	85
Cuadro 40. Condiciones de operación estandarizadas .....	86
Cuadro 41. Cromatograma del análisis de contenido de azúcares fermentables del mosto del Ensayo 7 realizado a escala industrial .....	94

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Compuestos glandulares de brácteas de lúpulo femenino .....	8
Figura 2. Etapas principales el proceso de elaboración de cerveza artesanal .....	9
Figura 3. Diferentes grados de tueste en granos de cebada desgerminados .....	10
Figura 4. Tanques de fermentación .....	12
Figura 5. Esterilización y embotellado de cerveza artesanal .....	14
Figura 6. Mapa de las variantes cerveceras .....	15
Figura 7. Fases de crecimiento celular .....	18
Figura 8. Descripción de las condiciones de cada ensayo realizado .....	24
Figura 9. Curva de contenido de etanol del Ensayo 1 y 2 a lo largo de 7 días de fermentación a 15°C ....	34
Figura 10. Curva de contenido de etanol del Ensayo 3 y 4 a lo largo de 7 días de fermentación .....	34
Figura 11. Curva de contenido de etanol del Ensayo 5 y 6 a lo largo de 7 días de fermentación .....	35
Figura 12. Ajuste del modelo cinético del comportamiento del ensayo 5 en Berkeley Madonna .....	38
Figura 13. Balance de masa y energía del fermentador en la etapa industrial .....	76
Figura 14. Ficha técnica de la malta base utilizada .....	77
Figura 15. Ficha técnica de la malta tipo Múnich utilizada .....	78
Figura 16. Ficha técnica de la malta tipo Caramel utilizada .....	79
Figura 17. Ficha técnica de la malta tipo Chateau Cara Blond .....	80
Figura 18. Ficha técnica del lúpulo Cascade utilizado .....	81
Figura 19. Ficha técnica de la levadura utilizada .....	82
Figura 20. Cebada malteada utilizada como materia prima para toda la experimentación .....	87
Figura 21. Molino de rodillos utilizado para la etapa de molienda .....	87
Figura 22. Cebada luego de la etapa de molienda .....	88
Figura 23. Maceración a escala laboratorio .....	88
Figura 24. Recuperación de mosto del grano húmedo .....	89
Figura 25. Cocción del mosto a escala laboratorio .....	89
Figura 26. Sistemas fermentativos en agitación al inicio de la etapa .....	90
Figura 27. Sistema fermentativo en la etapa de fermentación en un recipiente aislado .....	90
Figura 28. Tabla de conversiones de gravedad específica y °Brix .....	91
Figura 29. Curvas de calibración de azúcares fermentables .....	91
Figura 30. Representación gráfica de las curvas de calibración de azúcares fermentables .....	92
Figura 31. Curva de calibración de etanol .....	92
Figura 32. Representación gráfica de la curva de calibración de etanol .....	93
Figura 33. Cromatograma del análisis de contenido alcohólico del noveno día de fermentación del Ensayo 7 realizado a escala industrial .....	93
Figura 34. Maceración a escala industrial en dos recipientes de 40 L .....	94
Figura 35. Recuperación del mosto retenido en el grano por medio del uso de una prensa hidráulica .....	95
Figura 36. Reactor principal utilizado para la cocción y fermentación .....	96
Figura 37. Pasteurizado de botellas carbonatadas .....	97
Figura 38. Botellas de cerveza tipo IPA finales .....	97

Figura 39. Centrifuga utilizada para la preparación de muestras que se enviaron a HPLC .....	98
Figura 40. Centrifuga utilizada para la preparación de muestras de biomasa.....	98
Figura 41. Shaker con incubadora utilizado para la agitación inicial de los ensayos a escala laboratorio .	99
Figura 42. Horno secador utilizado para el secado de muestras de biomasa .....	99
Figura 43. Esquema de la planta de producción de cerveza utilizada .....	100

# RESUMEN

La cerveza es un producto biotecnológico que ha tenido un gran crecimiento en las últimas décadas, lo cual ha llevado a que se investigue cada vez más su naturaleza para lograr entender de la mejor manera como obtener los mejores productos. Buscando llevar a cabo la estandarización de las condiciones de operación de la etapa de fermentación la cual es el cuello de botella del proceso, en la producción de cerveza tipo IPA en la planta piloto del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad del Valle de Guatemala, se realizaron ensayos a escala laboratorio a diferentes temperaturas y tiempos iniciales de agitación para la determinación de las mejores variables que se aplicaron a escala industrial. Esto ya que actualmente no se cuenta con una estandarización en el proceso de producción de cerveza en esta planta. Los resultados a escala laboratorio fueron analizados por medio de métodos estadísticos y estudios cinéticos con el fin de replicar el mejor comportamiento a escala industrial, el cual resultó ser un ensayo realizado con una temperatura de 20°C de fermentación y se concluyó que la agitación no tiene una influencia en los resultados obtenidos, por lo que no se tomó en cuenta a escala industrial, indicando así que la única variable sensible analizada fue la temperatura. Finalmente, las condiciones de operación estandarizadas fueron replicadas en 3 lotes de 40 L de cerveza tipo IPA, llegando a obtener una cerveza con un contenido alcohólico de 10.28% v/v y grado de amargor de 67 IBU's, con propiedades organolépticas propias de una cerveza IPA.

# ABSTRACT

Beer is a biotechnological product that has had a great growth in the last decades, which has led to more and more research on its nature in order to better understanding on how to obtain the best products. To standardize the operating conditions of the fermentation stage, which is the bottleneck of the process, in the production of IPA type beer in the pilot plant of the Chemical Engineering Department of the Universidad del Valle de Guatemala, laboratory-scale tests were carried out at different temperatures and initial agitation times to determine the best variables to be applied on an industrial scale. This is due to the fact that there is currently no standardization of the beer production process in this plant. The results at laboratory scale were analyzed by means of statistical methods and kinetic studies in order to replicate the best behavior at industrial scale, which turned out to be a test carried out with a fermentation temperature of 20°C. It was concluded that agitation has no influence on the results obtained, which is why it was not taken into account at industrial scale, thus indicating that the only sensitive variable analyzed was temperature. Finally, the standardized operating conditions were replicated in 3 batches of 40 L of IPA type beer, obtaining a beer with an alcohol content of 10.28% v/v and a bitterness of 67 IBU's, with organoleptic properties typical of an IPA beer.

# I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la cerveza se ha caracterizado por ser un producto con alta aceptación en el mercado tanto nacional, como internacional. Junto con el vino, la cerveza es la bebida alcohólica más consumida en el mundo. En Guatemala, según la cifra gremial de licores se consume alrededor de 27.5 litros *per cápita* anuales entre destilados y cerveza, siendo esta última un 90% del consumo total (Bin, 2020). Existe una variedad infinita de estilos de cerveza gracias a la versatilidad que se puede crear con diferentes tipos de granos, lúpulos y procesos. En el presente se llevará a cabo la producción de una cerveza artesanal tipo India Pale Ale, que se caracteriza por su aroma y sabor amargo, con toques cítricos y alto contenido alcohólico. En este caso se considera una cerveza artesanal industrial, debido a que no cumple los requerimientos para ser considerada como una cerveza industrial como tal, pero si se producirá una cantidad considerable en la planta piloto de la Universidad del Valle de Guatemala.

En la industria, la estandarización de variables de procesos nos permite ahorrar tiempo y recursos. Dicha estandarización se refiere al ajuste o adecuación de procesos a un estándar o referencia (Morales, 2020). Es decir, optimizar la producción aprovechando al máximo los parámetros de operación y especificaciones de cada equipo, para producir lo mejor posible un producto de calidad, con la menor cantidad de recursos. Por lo general, esta metodología se aplica a una escala laboratorio cuando se está trabajando en un ámbito de ingeniería química para el posterior escalamiento del proceso que se desee estandarizar. Una vez conociendo las condiciones ideales de operación, parámetros de diseño y procedimientos estándares, se facilita el hecho de llevar un proceso de cierta escala, a una mucho mayor para cumplir con necesidades de producción más grandes (Anaya & Pedroza, 2008).

La elaboración de cerveza está compuesta por diferentes etapas que requieren cierto control de operación para obtener las mejores propiedades de la materia prima utilizada en cada una de ellas. La principal materia prima para producir cerveza es la malta o cebada que serán los granos que proporcionarán azúcares fermentables, cuerpo y sabor al mosto. Lúpulo, el cual brinda aroma, cuerpo y el amargor característico de una cerveza. Agua, la cual debe de tener cierto tipo de dureza para que el producto final se beneficie de los iones suspendidos en el medio y por último se utiliza levadura para fermentar el mosto y producir con ello el alcohol presente en la cerveza. Las condiciones de operación de las etapas pueden llegar a variar según el estilo de cerveza que se lleve a cabo, es decir, según los ingredientes que se utilicen y el producto final

que se desee. Específicamente en la fermentación se tienen que controlar diferentes variables como la temperatura del medio, la agitación del mosto, pH, concentración de azúcares fermentables en el mosto, concentración celular y el tipo de cepa que se utilice.

En el presente se estandarizó tanto la agitación del mosto, como la temperatura del medio para que la levadura presente una debida actividad enzimática, y con ello un buen rendimiento para la producción de etanol. Esto fue realizado primeramente a una escala laboratorio para un mejor control de las variables del proceso y los mejores resultados obtenidos fueron escalados a una escala industrial para comprobar la replicabilidad del método. Esta escala industrial involucró la producción de 3 lotes de 40 litros de cerveza IPA cada uno, elaborados en la planta de producción de cerveza del Departamento de Ingeniería Química de la UVG. En cuanto a la estandarización, esta fue llevada a cabo por medio de análisis estadísticos y estudios cinéticos que permiten definir sensibilidad de las variables en el funcionamiento de las levaduras y producción de cerveza tipo IPA.

## II. OBJETIVOS

### A. GENERAL

Llevar a cabo la estandarización de las variables de operación de la etapa de fermentación de cerveza en la planta piloto de la Universidad del Valle de Guatemala para mejorar el rendimiento de la planta.

### B. ESPECÍFICOS

1. Caracterizar fisicoquímicamente el mosto preparado para utilizarse como medio de fermentación.
2. Realizar una cuantificación de contenido alcohólico de los resultados obtenidos a microescala para determinar las variables con mejor rendimiento.
3. Realizar pruebas de sensibilidad de las variables de operación a escala laboratorio para evaluar su comportamiento durante la fermentación del mosto.
4. Escalar las variables sensibles e implementarlas en ensayos en la planta piloto de producción de cerveza en la Universidad del Valle de Guatemala.
5. Analizar fisicoquímicamente el producto final para establecer las características de la cerveza producida con las variables estandarizadas.

### III. JUSTIFICACIÓN

Actualmente, Guatemala es el importador más grande de cerveza en Centro América, llegando a cifras de \$20.9 millones en el primer trimestre del año 2021 y \$68 millones en todo el año 2020 (CAD, 2021). Esto demuestra la alta aceptación que tiene este producto en Guatemala, lo cual puede ser utilizado a favor por las empresas cerveceras nacionales. Según la revista Forbes CA, las cerveceras son un negocio que crece como “espuma”, de donde estas empresas en Guatemala producen alrededor de 36,000 litros de cerveza al año (Forbes, 2019). Por otro lado, en 2020 Guatemala exportó un total de \$10.7 millones en cerveza (OEC, 2021), lo cual puede llegar a incrementar en gran tamaño si se cuenta con una mayor demanda y producción de cervezas nacionales. Esto se podría conseguir con la fomentación de la cultura cervecera en Guatemala, ya que este proceso puede llegar a ser una herramienta educativa que desarrolla conocimientos científicos, empresariales y artísticos.

El proceso de elaboración de cerveza cuenta con diversos procesos que son necesarios para obtener el mejor producto posible. La fermentación del mosto puede ser considerado como la etapa más importante de la elaboración de cerveza en general. Esto es gracias a que se emplean microorganismos para la conversión de azúcares presentes en el mosto a etanol y CO<sub>2</sub>, lo cual brinda las características principales de una cerveza. Además, esta es una de las etapas más largas de todo el proceso de producción y donde más se pueden llegar a invertir recursos, por lo que es considerado como el cuello de botella del proceso. Entonces, el control de las condiciones de operación del proceso de fermentación es crítico para asegurar un debido funcionamiento de las levaduras del medio para la producción de la cantidad de alcohol deseada, y con ello, llegar a la calidad alta de producción, además del uso necesario y no excesivo de los recursos. Dicha estandarización se puede llevar a cabo por medio de diferentes pruebas a escala laboratorio en donde se determinan las variables con mejor rendimiento, para desarrollar una cadena de producción a una mayor escala, en donde se replique la calidad y un consumo de recursos constantes.

Realizando un esfuerzo académico para soportar las necesidades industriales, el Departamento de Ingeniería Química de la Universidad del Valle de Guatemala implementó una planta piloto de producción de cerveza en el 2019 cuyo estudio fue parte de un megaproyecto y trabajo de graduación. Sin embargo, hoy en día no existe estandarización en dicha planta, por lo que la implementación de esta metodología al proceso de producción es muy beneficiosa tanto para los parámetros técnicos, como para el aprovechamiento de los recursos que se emplean. Asimismo, dicha estandarización sirve como estándar para su replicación, lo cual puede ser una guía para el aprendizaje de distintos cursos que son impartidos en las instalaciones del

departamento como Laboratorio de operaciones unitarias 1 y 2, Bioingeniería, Microbiología industrial, Diseño de reactores, entre otros. Esto permite que exista un nuevo ámbito de investigación tanto para la estandarización de las otras etapas del proceso de producción, como para otros estilos de cerveza, al igual que un aprendizaje más acertado sobre la producción de cerveza en la industria. Dicha investigación tiene una gran relevancia para el aprendizaje de un proceso de producción con tanto impacto económico a nivel nacional.

Por lo tanto, la aplicación de esta metodología a procesos relativamente nuevos permite refinarlos y eliminar factores de error, para su debido funcionamiento y aprovechamiento de los recursos. Entonces, llegar a estandarizar los procesos o etapas de la producción de cerveza en la planta piloto de la Universidad del Valle de Guatemala, haría que se mejoren las condiciones de operación para obtener el mejor producto posible, con la menor cantidad de recursos en cada replicación del proceso. En el presente se estará llevando a cabo la estandarización de la etapa de fermentación del proceso de elaboración de cerveza, ya que esta es considerada como una de las etapas más influyentes en el producto final.

## IV. MARCO TEÓRICO

### A. Historia de la cerveza

La cerveza se ha convertido en uno de los productos biotecnológicos más vendidos a lo largo de las últimas décadas. Esto es gracias a la variabilidad que se presenta en los procesos de elaboración, la cual abre las puertas a muchas oportunidades para una gran gama de productos. Dichas variedades se pueden conseguir alternando los ingredientes como los tipos de cebada, el tipo de lúpulo, aditivos, la cepa de la levadura utilizada, o cambiando el proceso mismo de elaboración añadiendo etapas de fermentación o madurado. Por lo tanto, la producción de etanol por medio de levaduras y por consiguiente la elaboración de cerveza en este caso presenta la mayor efectividad económica en términos de costo/volumen (costo de producción/volumen producido), convirtiendo así al etanol como el producto más valioso para la industria biotecnológica (Thulasizwe T. Ngwenya, 2012; Verdú, s f.).

Este producto ha estado presente en la sociedad desde hace más de 7000 años. Comenzó en China y con el paso del tiempo se distribuyó a lo largo de todo el mundo hasta llegar a convertirse el día de hoy en una de las bebidas más consumidas mundialmente. Hoy en día, los principales productores y consumidores de cerveza son Estados Unidos, Alemania y Bélgica. Por lo que gracias a la variedad de ingredientes tan diferentes en estos tres países y en todo el mundo, se puede llegar a una infinidad de variantes cerveceras con atributos característicos. Es por ello que se ha convertido en un producto de alto impacto económico e interés social (Del Río, 2016).

Últimamente se ha escuchado mucho más hablar de las cervezas artesanales. Estas se diferencian de las industriales en distintos factores, pero principalmente en el proceso de elaboración. Las cervezas artesanales son elaboradas con ingredientes naturales y no llevan aditivos artificiales, ni conservantes como las cervezas industriales. Normalmente, las cervezas artesanales son elaboradas con equipo y procedimientos más rudimentarios, mientras que las cervezas industriales son elaboradas con maquinaria automatizada y muy poca mano de obra. Además, las cervezas industriales son producidas en mucha más cantidad en comparación a las cervezas artesanales por el mismo factor de la adición de conservantes. En general, las cervezas artesanales se realizan con mayor cuidado y calidad, lo que demuestra resultados únicos y con gran sabor (Martínez, 2015).

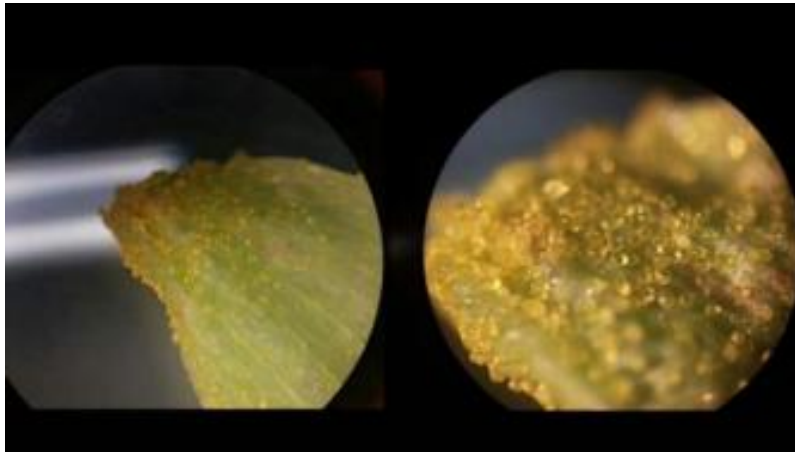
## B. Materia prima

La materia prima principal requerida para la elaboración de cerveza artesanal es: malta de cebada o cebada, lúpulo, levaduras y agua. La malta de cebada se refiere a los cereales o granos previamente tratados y desgerminados que se utilizan o aplican principalmente para proporcionar azúcares fermentables a la composición. Principalmente maltosa, sacarosa, glucosa y fructosa, mayoritariamente a partir de almidón (Hall & Harris, 1990). Sin embargo, dependiendo del tipo de cebada, se puede llegar a obtener diferentes sabores, olores, tonalidades, al igual que agregan valores nutricionales a la cerveza final. Una cebada más tostada puede presentar una coloración oscura en la cerveza final, mientras que una cebada poco tostada presentaría una tonalidad clara (Díaz, 2013). Toda la cebada es proveniente de la especie *Hordeum spontaneum* o de subespecies de esta (Del Río, 2016).

Generalmente, en la elaboración de cervezas, se pueden llegar a agregar otros productos a la cebada con el fin de proporcionar una mayor cantidad de azúcares fermentables o carbohidratos a la mezcla. Estos por lo general son: Trigo, arroz, maíz, remolacha azucarera, fécula de patata y almíbares derivados de caña de azúcar (Del Río, 2016; Díaz, 2013).

El lúpulo (*Humulus lupulus*) es una planta con altas propiedades aromáticas, perteneciente a la familia de las Cannabáceas. Este es conocido como el condimento de la cerveza debido a su alta contribución al amargor, sabor y aroma de la cerveza. El amargor es debido a la presencia de humulona y lupulona en su composición y el sabor es gracias a los aceites esenciales que presenta la planta. Además, añade antioxidantes naturales gracias a la presencia de polifenoles (Durello et al., 2019; Vera, 2017). La parte del lúpulo que se utiliza para la elaboración de cerveza es la flor hembra sin fecundar, ya que esta es la que cuenta con todo lo anteriormente destacado. Esta puede ser añadida en forma de flor, o en pellets previamente procesados para la conservación de los ácidos alfa y aceites esenciales. Como se puede observar en la Figura 1, las flores femeninas son las que conservan los compuestos. Por otro lado, las plantas masculinas del lúpulo se desechan para evitar que estas polinicen a las femeninas y se llenen de semillas, lo cual es un producto que no se quiere en la cerveza (Rossini et al., 2021).

Figura 1. Compuestos glandulares de brácteas de lúpulo femenino



Nota. Rossini et al., 2021.

Existen diferentes variedades de lúpulos que aportaran ya sea, amargor, aroma o ambos a la cerveza. Un ejemplo de los lúpulos amargos es el que se empleará para la producción de cerveza artesanal IPA, el cual es el lúpulo Cascade. Este le brinda a la cerveza tonos de cítricos y florales suaves (Distrines, 2021). Por otro lado, en los lúpulos aromáticos podemos encontrar el Saaz, el cual es un lúpulo que caracteriza a la cerveza Pilsener, que proporciona un gran aroma herbáceo al producto final (HopsList, 2018).

Las levaduras son las encargadas de brindar los grados de alcohol a la cerveza final. Estas son microorganismos unicelulares que metabolizan los carbohidratos presentes en el mosto y los convierten en etanol y CO<sub>2</sub>. Estas levaduras son las *Saccharomyces cerevisiae* y también levaduras como *Saccharomyces pastorianus*. Se dividen en levaduras tipo Ale y tipo Lager, las cuales se diferencian por el rango de temperatura en el que trabajan. Las Ale fermentan eficientemente en temperaturas de 18- 21°C, mientras que las Lager en temperaturas de 7-13°C (Pires, 2015; Díaz, 2013).

El agua es el componente más abundante en la cerveza, llegando a comprender hasta un 95% del producto final. Esta es de suma importancia para el proceso debido a las sales minerales que le brinda al medio para las levaduras. Dependiendo de las sales minerales más abundantes en ella, se puede elaborar un tipo de cerveza u otro. Sin embargo, esta debe de presentar una cierta calidad y condiciones para poder ser utilizada en la producción. Esto llega a tal punto que el agua utilizada para la limpieza del equipo presenta composiciones químicas diferentes a la utilizada para la producción. El magnesio y los sulfatos aumentan la percepción de amargor y son apropiados para estilos de cerveza con un perfil alto de lúpulo (Cano, 2019). El agua principalmente debe de estar libre de iones de metales pesados, contaminantes microbiológicos, un pH neutro o un poco menor a 7, presentar una composición mineral y dureza adecuadas (Vera, 2017).

## C. Proceso de producción de cerveza

Una vez teniendo claro cuales son las materias primas que se utilizan para la elaboración de cerveza y la importancia de su aplicación, procede entender como todas estas son manipuladas para llegar al producto final. Dicho proceso consta de las siguientes etapas principales: malteado del grano de cebada, molienda, maceración, filtración, cocción, fermentación, maduración, filtración, carbonatación y envasado. Dependiendo de la cerveza se pueden añadir o repetir etapas. Sin embargo, no se pueden quitar etapas, ya que cada una de ellas es de suma importancia para el sabor, aroma, consistencia, tonalidad, etc., del producto final.

Figura 2. Etapas principales el proceso de elaboración de cerveza artesanal



Nota. Actitud Saludable, 2021.

El proceso inicia con el malteado del grano de cebada. Esta etapa está comprendida por otras subetapas que se basan en el tratamiento del grano. Estas subetapas son la germinación de la cebada, en donde la cebada previamente almacenada en un lugar poco húmedo para evitar fermentaciones indeseadas se sumerge en agua oxigenada a 15°C hasta alcanzar una humedad del 45% y se deja reposar por 3 días. Luego, para que concluya la germinación, la cebada se coloca en un lugar aireado, en donde las proteínas del grano se descomponen en aminoácidos y las paredes de las células en almidón y  $\beta$ glucanos, alrededor de 5 días (Díaz, 2013; Boffill & Gallardo, 2014).

Posterior a esto se da la subetapa del tostado, en donde dependiendo de la cerveza será en mayor proporción o menor. En esta, la malta verde obtenida en la etapa de germinación se seca hasta llegar a una humedad entre el 2-5%. Por último, en la desgerminación se realiza el primer control de calidad, en donde se remueven raíces y tallos indeseados y solamente se guardan los granos funcionales. Esta etapa es realizada con el fin de que se active el sistema enzimático que dará lugar a la hidrólisis del almidón, el cual no es fermentable (Díaz, 2013; Boffill & Gallardo, 2014).

Figura 3. Diferentes grados de tueste en granos de cebada desgerminados



Nota. Maltas Cerveceros, 2021.

Una vez secos y tostados los granos, se procede a molerlo de modo que se pueda extraer la mayor cantidad de almidón contenido en la malta. Este proceso no es 100% eficiente por lo que es necesario llevar toda la mezcla de cáscara de cebada y azúcares al siguiente paso para el máximo aprovechamiento de la materia prima (González, 2017; del Río, 2016).

Posterior a la molienda, se tiene la etapa de maceración. En este proceso se da el desdoblamiento del almidón y de las proteínas contenidas en los granos de malta para dar lugar a azúcares fermentables como la maltosa y otras sustancias denominadas péptidos. Para lograr esto, se procede a mezclar los granos que fueron previamente molidos en agua a determinadas temperaturas. Es importante que la temperatura no disminuya de 62°C y no supere los 74°C, el cual es el rango de acción óptima de las amilasas. A temperaturas inferiores estas enzimas son mucho menos activas y en temperaturas mayores se desnaturalizan. Se debe tomar en cuenta que una maceración de 62-67°C ayudará a conseguir cervezas ligeras, puesto que actúan las beta-amilasas que producen azúcares más fermentables. En cambio, en el

rango 67-74°C las cervezas resultantes tendrán más cuerpo y serán más dulces (González, 2017; Díaz, 2013; Boffill & Gallardo, 2014).

Luego de la maceración se realiza una etapa de filtrado con el fin de remover los restos de cáscara de malta que se conocen como “bagazo”, por lo que se realiza una filtración y adicionalmente, se realizan lavados de agua varias veces de modo que se quede la mayor cantidad de azúcares en el mosto (González, 2017). Una vez filtrado el mosto, este se lleva a ebullición para añadir el lúpulo a la mezcla y que este libere todos los componentes de amargor y aroma deseados. El lúpulo es agregado en el inicio de la cocción para que gradualmente se libere el amargor característico. Este libera alfa-ácidos que se disuelven durante la ebullición. A medida que hierve el mosto, los alfa-ácidos del lúpulo se isomerizan, aumentando así su solubilidad con el agua, provocando el amargor y acidez de la cerveza. Esto proporciona el equilibrio necesario en el sabor de la cerveza, contrarrestando la dulzura de la malta.

La cocción también se encarga de la esterilización del mosto, evitando así contaminantes que puedan afectar el producto final. Poco antes de que finalice la cocción se agrega otra porción de lúpulo que será la encargada de brindar el aroma deseado. Luego este mosto se enfría por medio de intercambiadores de calor para prepararlo para la fermentación (González, 2017; Vera, 2017). Una vez enfriado el mosto, se añade la levadura al mismo para dar inicio al proceso de fermentación. En esta etapa, se fermentan los azúcares del mosto por medio de las enzimas de las levaduras, convirtiéndolos en etanol y CO<sub>2</sub>. Esto sucede en los tanques de fermentación o fermentadores, los cuales están diseñados para el control preciso de las temperaturas, que dependerán del tipo de cerveza (Figura 4). Este proceso puede llegar a durar de 4 a 15 días, dependiendo de la cepa de levadura utilizada, ya que unas fermentan a mayor velocidad que otras. El CO<sub>2</sub> producido debe ser extraído del tanque, pero este puede ser purificado y reutilizado posteriormente para la etapa de carbonatación (González, 2017; Boffill & Gallardo, 2014).

Figura 4. Tanques de fermentación



Nota. JAIK, 2021.

Existen cervezas de alta fermentación y de baja fermentación. Esto se refiere a la temperatura del medio para que las levaduras fermenten. Las cervezas de alta fermentación oscilan en un rango de temperaturas de 18-22°C (temperatura ambiente). Este rango promueve la formación de ésteres que pueden añadir tonos frutales al sabor de la cerveza final. Por otro lado, las cervezas de baja fermentación oscilan en un rango de temperatura de 7-14°C y pueden disminuir gradualmente hasta los 0°C. Esto provoca que su sabor sea más fino y dulce debido a la producción de diacetilo que se lleva a cabo en estas temperaturas (Díaz, 2013; González, 2017). En el rango de temperaturas de las cervezas de alta fermentación se propicia la producción de etanol y se limita la sobrepropagación y sobreproducción de subproductos no deseados en la cerveza final. Esto es gracias a que estas temperaturas mantienen la energía de activación necesaria para la fermentación alcohólica y no otras reacciones que se puedan dar en el medio, generando dichos subproductos. En altas temperaturas (>30°) se producen más ácidos volátiles, sulfuros o fuseloles, en temperaturas bajas (<20°C) se da más producción de ésteres frutales, mientras que trabajando en un rango medio (18-22°C) se presenta un equilibrio en la producción de etanol y compuestos aromáticos que aportan en la cerveza final (Deng, Wang, y Li 2023; Du et al. 2022).

Durante la fermentación alcohólica, las levaduras producen, además de etanol y CO<sub>2</sub>, diversos subproductos como ésteres, alcoholes superiores, aldehídos y compuestos azufrados que influyen directamente en el perfil sensorial de la cerveza. Los ésteres, como el acetato de isoamilo, aportan aromas frutales deseados en muchas cervezas tipo Ale, mientras que los alcoholes superiores enriquecen el sabor en bajas concentraciones, pero pueden generar notas ásperas o solventes si se acumulan (Pires et al., 2014; Molina

et al., 2007). Los aldehídos, como el acetaldehído, provocan sabores verdes o a manzana cruda, y los compuestos azufrados como H<sub>2</sub>S pueden producir defectos como olor a huevo podrido si no se controlan adecuadamente (Kunze, 2014; Boulton & Quain, 2006). Por ello, el manejo de variables como la temperatura, aireación y salud celular de la levadura es fundamental para garantizar la calidad sensorial de la cerveza.

Una vez concluida la fermentación, es necesario someterla a la etapa de maduración, ya que esta aún no está lista para el consumo. Esta se puede dar en los envases de cerveza, posterior a la carbonatación (también conocido como segunda fermentación), o también en el mismo tanque de fermentación y luego es sometida a la carbonatación. En la maduración una cerveza verde, o recién elaborada, equilibra su sabor y refina sus atributos. Además, se eliminan compuestos no deseados en el producto final como sulfuro de hidrógeno, aldehídos o el diacetilo, por medio de sedimentación y decantación (González, 2017; Vera, 2017).

En el caso de las cervezas que no fueron carbonatadas previo a la maduración, estas son sometidas a otro proceso de filtración para remover las levaduras presentes en el mosto, al igual que sustancias coloidales. Esto normalmente se lleva a cabo en filtros de tierras diatomeas con una alta capacidad de adsorción (Díaz, 2013; González, 2017). En esta etapa, la cerveza es saturada con dióxido de carbono previo al envasado. Esto es con el propósito de proteger la misma y añadirle el característico sabor carbonatado que presenta. Esto puede ser por medio de inyección directa del CO<sub>2</sub> al tanque de maduración o envases (carbonatación forzada), o también puede ser llevado a cabo por medio de la producción de CO<sub>2</sub> con las levaduras restantes en el mosto, por medio de la adición de una solución de almíbar o azúcares fermentables al mosto, conocida como carbonatación natural (González, 2017).

Por último, se tiene la etapa de envasado. En este la cerveza carbonatada ingresa a las líneas de envasado en diferentes formatos de presentación y en el caso de las botellas, se utiliza un color ámbar para evitar que la cerveza entre en contacto directo con la luz. Las cervezas pueden someterse a un proceso de pasteurización final para preservarla por mucho más tiempo. Las botellas se lavan y esterilizan previo al envasado, y posteriormente se procede a llenarlas y se sellan con la ayuda de un sellador de botellas. Luego de esto, la cerveza debe de madurar un mes aproximadamente en los envases para su consumo (González, 2017; del Río, 2016).

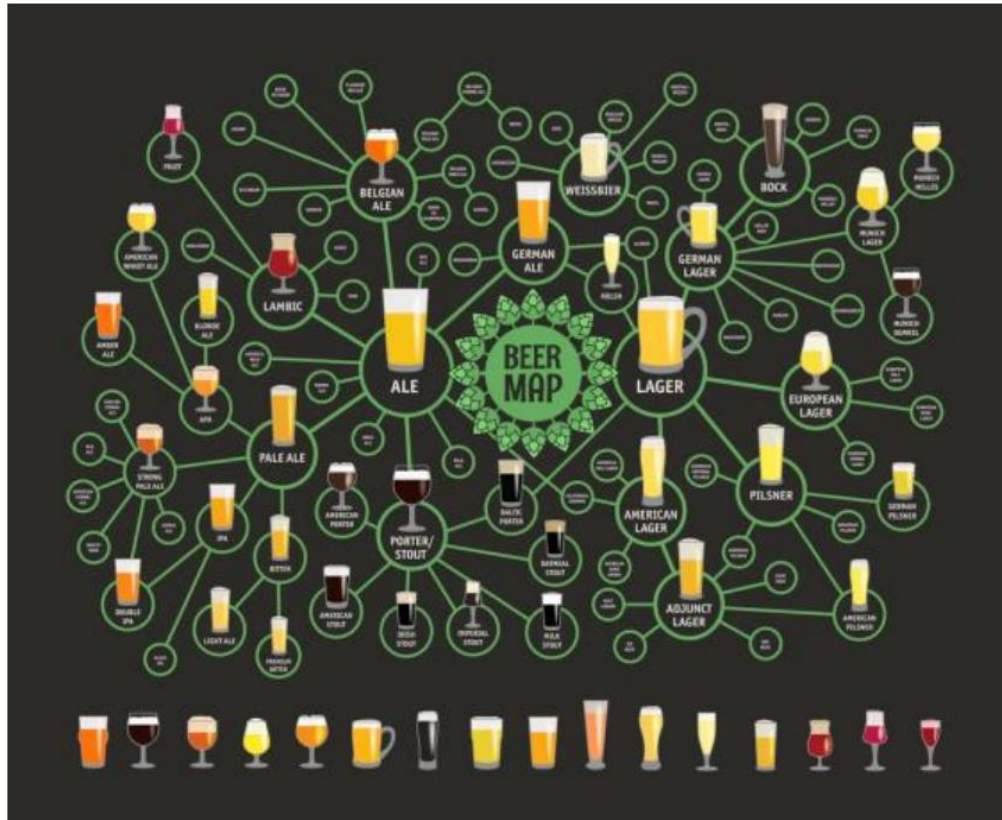
Figura 5. Esterilización y embotellado de cerveza artesanal



## D. Estilos de cerveza

Como se mencionó anteriormente, existen dos tipos de cerveza y a partir de estos, se crearon la infinidad de variantes que se encuentran hoy en día en todo el mundo. Estos son las cervezas tipo Lager o de fermentación baja y las cervezas tipo Ale o de fermentación alta. A pesar de que existan tantas variantes, todas presentan características en común según el estilo que sean. Por ejemplo, las cervezas Ale presentan un rango de temperatura de fermentación de 18 a 27°C y su período de fermentación es de aproximadamente 7 días. Estas alcanzan un porcentaje de alcohol más alto y el período de maduración es de 15 días en adelante. Por otro lado, las Lager presentan un rango de temperatura de fermentación de 0 a 14°C y este período dura 28 días. Estas no presentan un porcentaje de alcohol muy alto y su período de maduración es de 28 días en adelante (Vera, 2017).

Figura 6. Mapa de las variantes cerveceras



Nota. HCA, 2020.

Debido a que cada receta es diferente, las diferencias entre cada cerveza deben de ser cuantificables. Dicha cuantificación está dada principalmente por el grado IBU, la densidad de la cerveza final y el porcentaje de alcohol. Las IBUs o International Bitterness Units por sus siglas en inglés, son unidades que determinan el amargor de la cerveza en base a la cantidad de miligramos de iso-alfa ácidos que se contienen en un litro de cerveza (Vera, 2017; Díaz, 2013). Por ejemplo, las cervezas IPA presentan entre 40-60 IBUs (Naranjo, 2019).

## E. Cerveza India Pale Ale

La cerveza IPA (India Pale Ale) es un estilo de cerveza que se caracteriza por tener una mayor cantidad de lúpulo y un amargor más pronunciado que otros estilos de cerveza. Esta se originó en Inglaterra en el siglo XVIII cuando los cerveceros aumentaron la graduación de alcohol y añadieron más lúpulo para conservar

la cerveza durante su transporte a la India. Las cervezas IPA suelen tener una graduación alcohólica entre 5° y 7.5° y un sabor amargo inicial debido a la cantidad de lúpulo añadido en su elaboración. Han experimentado un auge en la industria cervecera artesanal en las últimas décadas y se han convertido en un favorito de los amantes de la cerveza, y la variedad de estilos y sabores ha crecido enormemente. Los lúpulos más utilizados en la elaboración de cervezas IPA son aquellos que aportan un sabor amargo y un aroma cítrico y floral. Algunos de los más utilizados son el lúpulo Citra, el cual se utiliza para dar sabor y aroma a la cerveza, aportando notas cítricas y aromas florales. Lúpulo Centennial, que contiene el doble de alfa-ácidos que el lúpulo Cascade, lo que hace que la cerveza sea más amarga, al igual que aporta aromas y sabores florales a limón. Lúpulo Chinook, el cual es uno de los lúpulos más complejos y que más sabor aporta, con notas a toronja, pino y especias ligeras; entre otros tipos de lúpulos (Aftyka, 2018 y González, 2017).

## F. Biotecnología de la cerveza

La cerveza representa uno de los productos más biotecnológicos que existe en el mercado, al igual que es uno de los más explotados industrialmente hablando. Gracias a que este producto ha tenido gran aceptación, se ha convertido en un objeto de estudio desde hace mucho tiempo. Iniciando con el hecho de que esta bebida se elabora a partir del aprovechamiento de microorganismos que llevan a cabo una reacción llamada fermentación alcohólica, en donde se produce etanol y dióxido de carbono a partir de la metabolización por parte de las levaduras de azúcares fermentables. Las levaduras, que son microorganismos unicelulares pertenecientes al grupo de los seres eucariotas, llevan a cabo el proceso de fermentación. Existe una amplia variedad de levaduras con diversidad en su tamaño, forma y color. Estos microorganismos son más grandes que las bacterias, con un diámetro que generalmente oscila entre 4µm y 5µm. Además de su contribución a la producción de cerveza, las levaduras también son empleadas en otros procesos de reacción microbiana, como la fabricación del pan, lo que destaca su versatilidad en aplicaciones biotecnológicas (Suárez, 2016).

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* se clasifica como una levadura de fermentación alta y es utilizada en la producción de cervezas tipo Ale, Porter y Stout. La denominación de "fermentación alta" se refiere al comportamiento de esta levadura, que tiende a permanecer en la parte superior del mosto durante el proceso de fermentación, formando una capa de espuma. Esta levadura funciona de manera óptima en un rango de temperatura que va desde los 15 °C hasta los 25 °C, lo que conduce a fermentaciones rápidas y resulta en cervezas finales que presentan aromas frutales intensos y notables. En cuanto al tiempo requerido para completar el proceso de fermentación, una "fermentación alta" generalmente lleva alrededor de dos semanas

para la fermentación primaria y luego una semana adicional para la maduración o fermentación secundaria (Suárez, 2016).

La forma de producir el etanol por parte de las levaduras es por medio de la vía glucolítica durante la fermentación alcohólica. Dicha vía está dada por la siguiente reacción:



En donde a partir del metabolismo de las levaduras, se degrada la glucosa, consumiendo 2 moléculas de fósforo y 2 moléculas de ADP, para producir 2 moléculas de etanol, 2 moléculas de dióxido de carbono y dos moléculas de ATP, liberando una cantidad de energía de 25.5 kcal. Las levaduras tienen la capacidad de reproducirse al mismo tiempo que producen otros productos metabólicos, como el ácido láctico, el glicerol y el ácido succínico, sin embargo, esto se evidencia en cantidades relativamente pequeñas. En el proceso metabólico de las levaduras, se producen principalmente aldehídos, ésteres y alcoholes secundarios o superiores, los cuales presentan un papel en las características organolépticas de la cerveza. Estos compuestos se originan a partir de oxo-ácidos, que a su vez se forman mediante el metabolismo de los carbohidratos (como el ácido pirúvico o el ácido oxoglutarico) o por la transaminación de aminoácidos con un oxo-ácido ya existente (Koolman, 2005).

Para que el proceso de producción de cerveza pueda ser escalado y explotado de la mejor manera, se tienen que conocer todos los aspectos de la cinética del crecimiento microbiano de las levaduras. Dichos aspectos parten de la base de que el crecimiento de un microorganismo puede ser modelado y predicho, ya que todos muestran una curva de crecimiento uniforme. Esta curva de crecimiento está compuesta por 6 fases, en donde se representa el crecimiento y decrecimiento del cultivo celular en cuestión. La primera es la fase lag o latencia, en donde se da la adaptación de las células al medio, por lo que no hay un crecimiento significativo del número de células. La segunda es la fase de aceleración, en donde la tasa de división celular llega a su punto máximo y se evidencia el inicio de la duplicación celular. Posteriormente se tiene la fase exponencial, en donde las células incrementan de manera exponencial, manteniendo la tasa de división celular, por lo que la concentración celular es proporcional a la densidad celular conforme el paso del tiempo, lo cual se ve representado por la siguiente ecuación.

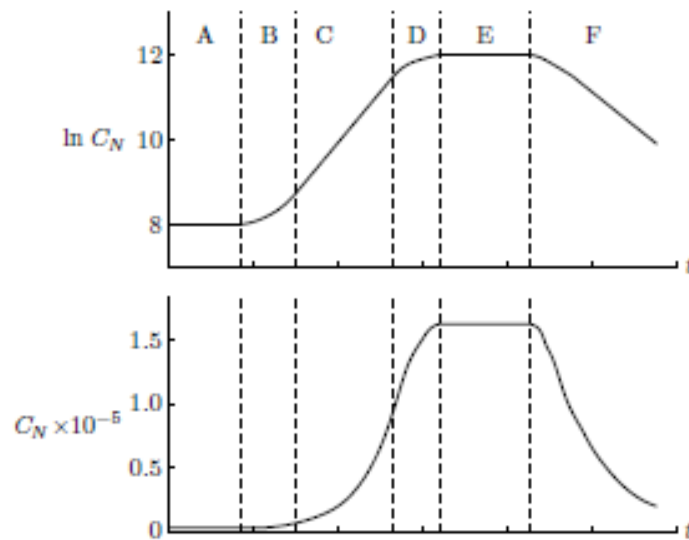
$$r_{C_N} = \frac{C_N}{dt} = \mu C_N$$

En donde  $C_N$  es la concentración celular,  $dt$  es el diferencial de tiempo y  $\mu$  es la tasa de crecimiento específica, la cual representa el aumento de la población conforme el paso del tiempo. La constante  $\mu$  está definida por la siguiente ecuación.

$$\mu = \frac{1}{C_N} \frac{dC_N}{dt} = \frac{d \ln C_N}{dt}$$

Posteriormente se tiene la fase de desaceleración, en donde la tasa de crecimiento llega a su máximo e inicia la muerte de cierta parte de la población celular. Luego de ello está la fase estacionaria, donde la tasa de crecimiento es igual a la tasa de muerte celular debido a la limitación de nutrientes en el medio. Por último, la población llega a una fase de muerte, en donde se agotan todos los nutrientes o se da una inhibición por producto, por lo que las células mueren y decrece la concentración celular. Todas las fases anteriormente mencionadas se pueden observar en la Figura 7.

Figura 7. Fases de crecimiento celular



Nota. Lee, 2009.

Una vez teniendo las constantes anteriormente mencionadas, se puede determinar un balance de masa para este tipo de comportamientos, el cual está dictado por la siguiente ecuación.

$$-\left(\frac{dC_S}{dt}\right) = mC_N + \frac{\mu C_N}{Y_{X/S}} + \frac{dC_P/dt}{Y_{P/S}}$$

En donde se demuestra que el diferencial de la concentración de sustrato con el tiempo es igual a la concentración celular corregida por una constante de mantenimiento, más la tasa de crecimiento específica por la concentración celular dividido el rendimiento de biomasa con sustrato, más el diferencial de

concentración de producto dividido el rendimiento de producto con sustrato. Relacionando estos factores se obtiene el comportamiento general del consumo de sustrato y producción tanto de producto como de biomasa en el medio (Lee, 2009).

La velocidad específica de crecimiento se puede ver afectada por diferentes factores, los cuales también pueden llegar a ser modelados. El efecto de la concentración del sustrato se puede determinar por medio del modelo de Monod, el cual se representa con la siguiente ecuación.

$$\mu = \frac{\mu_{m\acute{a}x}C_s}{K_s + C_s}$$

En donde  $C_s$  es la concentración del sustrato limitante en el medio y  $K_s$  es la constante de afinidad al sustrato. El valor de  $K_s$  es igual a la concentración del nutriente cuando la velocidad de crecimiento específica es la mitad de su valor máximo. Por otro lado, el efecto de la concentración de producto se evidencia con la presencia de productos o subproductos que inhiben el crecimiento celular debido a que convierten el medio en un medio tóxico para el microorganismo, por lo que tiene un efecto negativo para su crecimiento. Dicho impacto se puede determinar por medio de la siguiente ecuación.

$$\mu = \frac{\mu_{m\acute{a}x}C_s}{K_s + C_s} \frac{K_p}{K_p + C_p}$$

En donde se parte de la misma base de la ecuación inicial de Monod, añadiendo una constante de inhibición por producto, el cual corrige el comportamiento predicho por estos modelos, con una corrección por dicha inhibición (Lee, 2009).

Otros parámetros cinéticos que son de utilidad para el modelado de un sistema de microorganismos es el tiempo de duplicación, el cual se determina por medio de la integración de la ecuación de la constante de la tasa específica de crecimiento, indicando así cual es el tiempo requerido para que se duplique la concentración celular en el medio. Este se representa con la siguiente ecuación.

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu}$$

Asimismo, los factores de rendimiento de las especies reactivas en el medio son de utilidad para controlar el comportamiento de la fermentación. Estos se denotan con la letra  $Y$  y su respectivo subíndice dependiente de la relación a evaluar. El rendimiento de la cantidad de producto formado por sustrato consumido ( $Y_{p/s}$ )

y rendimiento de producto formado por biomasa en el medio ( $Y_{p/x}$ ), están dados por las siguientes ecuaciones.

$$Y_{p/s} = \frac{C_p - C_{p0}}{C_{s0} - C_s} \quad Y_{p/x} = \frac{C_p - C_{p0}}{C_x - C_{x0}}$$

En donde  $C_s$  es la concentración másica del sustrato, y  $C_{s0}$  y  $C_{x0}$  son los valores iniciales de  $C_s$  y  $C_x$ , respectivamente. Por otro lado, el rendimiento de biomasa con respecto al sustrato en el medio está dado por la siguiente ecuación.

$$Y_{x/s} = \frac{C_x - C_{x0}}{C_{s0} - C_s}$$

(Lee, 2009)

Existen otros modelos cinéticos que se adaptan a las necesidades de diferentes sistemas biológicos, donde se pueden tomar en cuenta factores de inhibiciones competitivas o ajustes según el medio utilizado. Los modelos más conocidos son el modelo cinético de Michaelis-Menten, modelo de Monod y el modelo de Lineweaver-Burk. Normalmente se realizan integraciones de los diferentes modelos para la determinación de los parámetros cinéticos, ya que con ellos se puede predecir el comportamiento de un sistema biológico el cual se desea aprovechar al máximo, conociendo sus rendimientos y puntos críticos.

## G. Balance de masa

En todos los procesos productivos es importante conocer los balances de masa y energía, ya que estos son muy importantes para la determinación de rendimientos. Este análisis se basa en la conservación de la materia y energía de un sistema en sistemas controlados. En el caso de una fermentación a escala industrial se cuenta con un sistema cerrado, en donde solamente se tiene la liberación de un subproducto, mientras que el resto de las especies reactivas se mantienen dentro del tanque principal. Por lo tanto, el balance de masa de un fermentador se basa en la siguiente ecuación.

$$\textit{Entradas} - \textit{Salidas} + \textit{Generación} - \textit{Consumo} = \textit{Acumulación}$$

En este caso como entradas se tiene el mosto inicial y el inóculo de levadura, mientras se tiene una generación constante tanto de dióxido de carbono, como de biomasa de levadura, al consumirse el sustrato presente en el mosto. Consecuentemente, se obtiene como salida el mosto que se convirtió en cerveza, que contiene el producto de interés, el cual es el etanol, mientras que el dióxido de carbono se libera

normalmente a una trampa de CO<sub>2</sub>. La generación de biomasa se cuantifica como una salida igualmente, ya que esta normalmente se filtra luego de una fermentación. Por lo general, en este tipo de sistemas fermentadores no existe acumulación debido a que la salida de los tanques se encuentra en la parte inferior central del sistema, por lo que, en el momento de vaciar el tanque, se recupera en su totalidad el medio, además de ser reactores intermitentes.

## H. Equipo utilizado de la UVG

Actualmente en las instalaciones del Laboratorio de Operaciones Unitarias del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad del Valle de Guatemala, se cuenta con una planta piloto de producción de cerveza que fue desarrollada a partir de diferentes trabajos de graduación de los últimos años. Dicha planta cuenta con diferentes equipos esenciales para la producción de cerveza, en donde se desarrollan las distintas etapas del proceso. Este sistema cuenta con dos tanques principales, uno siendo el fermentador/macerador de 60 L, mientras que el otro es el tanque sedimentador de 50L. Además de ello, se tiene un sistema de filtración que cuenta con dos filtros de 5 micrones y un filtro de 20 micrones, que se utilizan en diferentes etapas del proceso. Por otro lado, cuenta con dos dispositivos que se aprovechan para la transferencia de calor según sea conveniente, los cuales son un Chiller ComfortStar CSWMA-060-1N1 y una caldera Chromalox CKE-6.0A0031-241, ambos alimentados a la chaqueta del tanque principal.

## I. Estadística

Usualmente se utilizan distintos tipos de análisis estadísticos que ayudan a realizar conclusiones en base al comportamiento de los datos analizados. Uno de ellos es el ANOVA, el cual es una herramienta estadística muy útil para comparar múltiples grupos y determinar si existen diferencias significativas entre ellos en una variable dependiente. Para ello se plantean dos hipótesis: una nula que sugiere que no hay diferencias significativas y una alternativa que indica al menos una diferencia significativa, en donde se busca rechazar alguna de las dos para llegar a una conclusión. Existen varios tipos de ANOVA, los cuales son de un factor, dos factores y de medidas repetidas, dependiendo de la cantidad de factores y niveles. Se utilizan estadísticos F y p, donde F compara la variabilidad entre y dentro de los grupos, y p indica la significancia. El ANOVA tiene supuestos, como la homogeneidad de varianzas y la normalidad de los datos. Su proceso implica calcular sumas de cuadrados y obtener un valor F y un valor p. Si  $p < 0.05$ , se rechaza la hipótesis nula.

Otro análisis comúnmente utilizado es el de prueba t de Student de diferencia de medias, la cual es una herramienta estadística fundamental para comparar las medias de dos grupos y evaluar si las diferencias observadas son estadísticamente significativas. Igualmente se tienen que plantear dos hipótesis, con el fin de rechazar alguna de las dos para llegar a una conclusión sobre el comportamiento de los datos analizados. Para ello se determina el valor del estadístico t, que se calcula como la diferencia entre las medias de los dos grupos dividida por una estimación de la variabilidad en los datos. Cuanto mayor sea el valor absoluto de t, mayor será la evidencia de una diferencia significativa entre las medias. Se requiere que exista una normalidad entre las muestras, homogeneidad de varianzas e independencia entre cada grupo de datos. Una vez habiendo calculado el valor P que determina la significancia de la diferencia, se puede llegar a una conclusión. Si el valor p es menor que el nivel de significancia (generalmente  $\alpha=0.05$ ), se rechaza la hipótesis nula, lo que sugiere que existe una diferencia significativa entre las medias de los dos grupos. Un valor t más grande indica una mayor diferencia entre las medias.

## V. ANTECEDENTES

El proceso de producción de cerveza en la Universidad del Valle de Guatemala ha tenido dos acercamientos recientes, ambos de proyectos de graduación. El primero fue en 2019 en donde se realizó una investigación sobre la viabilidad de la implementación de una planta piloto de en el Departamento de Ingeniería Química para la elaboración de cerveza, realizando una propuesta de los equipos necesarios, parámetros de operación y logística en general para la producción de cerveza artesanal del estilo India Pale Ale. Este trabajo fue un megaproyecto titulado: “CONSTRUCCIÓN DE UNA PLANTA PILOTO PARA PRODUCCIÓN DE CERVEZA ARTESANAL EN EL LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS”. Dicho megaproyecto concluyó con la instalación de equipos necesarios para el proceso de producción de cerveza como el tanque principal o fermentador, al igual que la cámara de germinación de malta (Álvarez, et al. 2019).

Por otro lado, en 2021 se realizó otro trabajo de graduación en la modalidad de tesis titulado: “ADAPTACIÓN DEL SISTEMA DE MACERACIÓN, COCCIÓN, FERMENTACIÓN Y MADURACIÓN PARA PRODUCIR CERVEZA ARTESANAL TIPO LAGER EN LA PLANTA DE CERVEZA DEL LABORATORIO DE OPERACIONES UNITARIAS DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA”. En este trabajo se continuó con la estructuración de la planta de cerveza, añadiendo componentes y equipos de alta importancia para el proceso de producción de cerveza. Asimismo, se demostró que el equipo es apto para llevar a cabo diferentes estilos de cerveza, gracias a las adaptaciones realizadas. Finalmente, este proyecto concluyó en la implementación de una chaqueta al tanque principal para poder realizar procesos que requieran de altas temperaturas controladas como la maceración y cocción, así como la implementación de un agitador para promover la transferencia de calor, independientemente de la etapa (Avalos, 2021). Ambas investigaciones fueron altamente influyentes en el presente trabajo debido a que el equipo implementado es el utilizado en este proyecto para su estandarización, en donde se comprueban y corrigen ciertos aspectos mencionados en ambos trabajos.

## VI. METODOLOGÍA

La metodología de todo el trabajo se dividió en dos etapas, la etapa a escala laboratorio y la etapa a escala industrial. En la etapa laboratorio se realizaron 6 fermentaciones variando temperaturas (15, 17.5 y 20 °C) y agitación inicial (1 hora y 3 horas). En total se produjeron 2 L de cerveza en la etapa laboratorio. Las mejores variables obtenidas a microescala fueron empleadas en la etapa industrial en donde se realizaron lotes de 40L de cerveza.

Figura 8. Descripción de las condiciones de cada ensayo realizado

<b>Ensayo</b>	<b>Condiciones</b>
Ensayo 1	15 °C sin agitación inicial
Ensayo 2	15 °C 3 horas de agitación inicial
Ensayo 3	17.5 °C sin agitación inicial
Ensayo 4	17.5 °C 3 horas de agitación inicial
Ensayo 5	20 °C sin agitación inicial
Ensayo 6	20 °C 3 horas de agitación inicial
Ensayo 7	20°C sin agitación inicial
Ensayo 8	20°C sin agitación inicial
Ensayo 9	20°C sin agitación inicial

Materiales necesarios para etapa laboratorio:

- Malta Pale Ale (510 g)
- Malta Múnich (10 g)
- Malta Caraclair (18 g)
- Malta Caramel (13.5 g)
- Lúpulo Cascade (11.5 g)
- Lúpulo Citra (3 g)
- Levadura SafAle US-05 (2 g)
- Agua pura Salvavidas
- Gasas
- Embudo
- Varilla de agitación
- Estufa de casa
- Balanza analítica BOECO Germany
- Incubadora con shaker MaxQ Mini 4450
- Erlenmeyer de 250 mL con trampa de gas (2 unidades).

- Cromatógrafo líquido de alta resolución Agilent serie 1100 con detector Agilent serie 1200.
- Tubos de ensayo 10 mL
- Tubos Eppendorf
- Micropipeta 100-1000 $\mu$ L
- Horno secador Imperial III Lab-Line.
- Centrífuga 5415 D Eppendorf
- Centrífuga Fisher Scientific Centrific Model 228.

## I. Escala laboratorio

### 1. Molienda del grano

- a. Se acondicionó el área para trabajar con el molino de rodillos con una apertura de 1mm.
- b. Se adaptó un sistema de recepción con bolsas en la salida del equipo.
- c. Se ajustó la frecuencia del molino a 50Hz.
- d. Con la ayuda de una olla pequeña se dosificó periódicamente el grano al molino hasta haber molido todas las maltas.

### 2. Preparación del mosto (maceración y cocción)

- a. Se añadieron 1.7L agua pura salvavidas a una olla de 2 L y se llevó a 74°C.
- b. Se añadieron las cebadas previamente molidas para iniciar el proceso de maceración, manteniendo en agitación constante por 1 hora en un rango de temperaturas entre 63-68 °C.
- c. Se filtró el contenido para remover exceso de cáscara y recuperar el mosto en un colador y se trasvasó a una olla de 3 L.
- d. Una vez teniendo el mosto a temperatura ambiente se tomó una muestra que fue analizada con la ayuda de un refractómetro ocular para medir su densidad, al igual que con la ayuda de un potenciómetro marca Fisher Scientific Accumet AB15 Plus se llevó a cabo la medición del pH de las muestras.
- e. En olla de cocción, se llevó el mosto a hervor.
- f. Durante hervor, se añadió la primera porción del lúpulo Cascade (5.75g) cuidadosamente para evitar una ebullición abrupta.
- g. Transcurridos 30 minutos, se agregó la segunda porción del lúpulo (5.75g).
- h. Finalizando la hora de cocción, se dejó enfriar y sedimentar el mosto.

### 3. Fermentación con variación de temperatura y agitación

- a. Una vez enfriado, se transfirieron 250mL de mosto a Erlenmeyers de fermentación previamente esterilizados.

- b. Se inoculó cada Erlenmeyer con 0.25 g de Levadura y se sellaron los recipientes.
  - c. En agitador, se mantuvo la agitación de los Erlenmeyers según el tipo de cada ensayo (Agitación por una hora o agitación por 3 horas) a una temperatura de 30°C para la activación de las levaduras.
  - d. Luego de la agitación, se transfirieron a un contenedor hermético en donde se regulaba la temperatura del medio por medio de la adición de hielo según conveniencia para mantener los ensayos a sus respectivas temperaturas (15, 17.5 y 20°C).
  - e. Se llevó a cabo la fermentación durante 7 días tomando muestras de 5 mL en tubos de ensayo con la ayuda de una jeringa, cada dos días para la determinación de la curva de etanol y consumo de azúcares fermentables.
4. Análisis organoléptico
    - a. Una vez concluida la fermentación, se llevó a cabo un análisis organoléptico de sabor, aroma, textura y tonalidad de las muestras.
  5. Preparación de muestras para análisis
    - a. Se trasvasaron las muestras tomadas a lo largo de la fermentación a tubos de centrífuga y estos fueron centrifugados a 3400 rpm durante 10 minutos en la centrífuga Fisher Scientific Centrifug Model 228.
    - b. El sobrenadante se diluyó en tubos de ensayo de 10 mL estériles realizando una dilución de 1:10 con la ayuda de una micropipeta de 100-1000µL y puntas estériles.
    - c. Se tomó una muestra de 1mL de cada tubo de ensayo y este fue inoculado en Eppendorf's previamente pesados. Estos fueron centrifugados a 10000 rpm por 5 minutos en centrífuga 5415 D Eppendorf y posterior a ello se descartó el sobrenadante y fueron colocados dentro de un horno secador durante una hora. Finalmente se pesó nuevamente el eppendorf y por medio de diferencia de pesos se determinó la concentración de biomasa en las muestras.
  6. Cromatografía líquida de alta resolución
    - a. Para iniciar con el proceso de cuantificación de azúcares se prepararon soluciones madre o estándares de la curva de calibración de la especie que se necesitaba analizar, siendo estas etanol, maltosa, glucosa y fructosa. Dicha curva de calibración contaba con 5 datos conocidos de concentraciones.
    - b. Con la ayuda de un cromatógrafo líquido de alta resolución marca Agilent serie 1100 se realizaron lecturas de los estándares y por último de las muestras de interés para su determinación de azúcares presentes en el medio.
  7. Análisis estadístico

- a. Se realizó una prueba t de Student de dos muestras para diferencia de medias para determinar si la agitación fue un factor influyente o no.
- b. Se crearon 2 grupos a analizar correspondientes a los resultados obtenidos de producción de etanol de cada uno de los ensayos realizados a escala laboratorio, dividiéndolos en resultados obtenidos sin agitación inicial y resultados con 3 horas de agitación.
- c. Para el análisis se propuso que la hipótesis nula correspondía a que no existe diferencia significativa entre las medias de ambos grupos de datos, mientras que la hipótesis alternativa mencionaba que si existe diferencia significativa entre las medias de ambos grupos.
- d. Posterior a ello, con la ayuda de Excel se llevó a cabo el análisis estadístico de la prueba t de Student de dos muestras para diferencia de medias y con la ayuda del valor P se llegó a una conclusión.
- e. Por otro lado, se llevó a cabo un análisis ANOVA de un factor para determinar si la temperatura era influyente o no en los resultados finales.
- f. Se crearon 3 grupos de datos, correspondientes a los resultados obtenidos de producción de etanol a las diferentes temperaturas de fermentación (15, 17.5 y 20°C).
- g. Se propusieron ambas hipótesis a evaluar, en donde la hipótesis nula proponía que no existe diferencia significativa en las medias, mientras que la hipótesis alternativa afirmaba que existe diferencia significativa en las medias.
- h. Con la ayuda de Excel se llevó a cabo el análisis estadístico ANOVA de un factor, en donde se concluyó en base al valor F.

#### 8. Modelado cinético

- a. Se recolectaron los datos de biomasa, sustrato y producto de la mejor corrida realizada a escala laboratorio.
- b. En una hoja nueva de Excel se colocaron valores correspondientes al tiempo y biomasa, en las columnas A y B, respectivamente.
- c. Se repitió el paso anterior para los datos de sustrato y producto, guardando los archivos como CSV.
- d. En un nuevo documento de Berkeley Madonna, se escribieron las ecuaciones generales para la velocidad de formación de biomasa, velocidad de consumo de sustrato y velocidad de formación de producto, al igual que la ecuación de velocidad de reacción.
- e. Se importaron los archivos CSV preparados anteriormente.

- f. Se utilizó la función “fit curve” para que el software ejecutara una curva que se acoplara a los valores experimentales y se asignaron rangos específicos a los parámetros del modelo que se ajustaran a valores racionales para el modelo cinético.
- g. Se ejecutó el programa y utilizando el método de Runge-Kutta 4 para encontrar las soluciones a las ecuaciones planteadas.
- h. El software graficó la curva que se acoplaba a los valores experimentales.
- i. Se ajustaron los ejes, definiendo el eje principal para los valores de concentración de sustrato y producto, y el eje secundario para la concentración de biomasa.
- j. Posteriormente se ajustó la curva programando “sliders” que permitieran ajustar manualmente los valores numéricos de los parámetros del modelo planteado.

## II. Escala industrial

### Materiales y equipo necesarios para 1 lote industrial:

- |                                |   |
|--------------------------------|---|
| - Malta Pilsen (10.2 Kg)       | - Prensa hidráulica   |
| - Malta Múnich (200 g)         | - Cervecería del departamento de Ing. Química de la UVG.                                      |
| - Malta Caraclair (360 g)      | - Balanza analítica BOECO Germany   |
| - Malta Caraterra (270 g)      | - Botellas de 355 mL  |
| - Lúpulo Cascade (230 g)       | - Autoclave   |
| - Lúpulo Citra (60 g)          | - Sellador manual de botellas de vidrio   |
| - Levadura SafAle US-05 (23 g) | - Cromatógrafo líquido de alta resolución Agilent serie 1100 con detector Agilent serie 1200. |
| - Agua pura Salvavidas (55 L)  | - Tubos de ensayo 10 mL   |
| - Estufa                       | - Centrífuga Fisher Scientific Centrifug Model 228.   |
| - Ollas de peltre de 40 L      |   |
| - Termocupla Extech TM25       |   |
| - Paleta de madera             |   |
| - Molino de rodillos           |   |
| - Embudo industrial            |   |

### Procedimiento:

1. Molienda
  - a. Se acondicionó el área para trabajar con el molino de rodillos con una apertura de 1mm.

- b. Se adaptó un sistema de recepción con bolsas en la salida del equipo.
- c. Se ajustó la frecuencia del molino a 50Hz.
- d. Con la ayuda de una olla pequeña se dosificó periódicamente el grano al molino hasta haber molido todas las maltas.

## 2. Macerado

- a. Se pesaron las maltas utilizando una balanza analítica y una báscula.
- b. Se colocaron las maltas molidas en dos ollas.
- c. Se colocaron 45 L de agua pura salvavidas utilizando dos garrafrones completos y con una probeta se midió lo restante de un tercer garrafón.
- d. La maceración se realizó con las siguientes temperaturas: 51°C por 20 mins, 63°C por 30 mins y 70°C por 60 mins.
- e. Se agitó con una paleta de madera ocasionalmente para mantener homogénea la temperatura en el recipiente.
- f. Se dejó enfriar el sistema hasta llegar a temperatura ambiente y con la ayuda de una prensa hidráulica se recuperó el líquido retenido dentro del grano.
- g. Una vez a temperatura ambiente se cuantificó el pH y densidad con la misma metodología que a escala laboratorio.

## 3. Cocción

- a. Se trasvasó el mosto de las ollas al tanque principal de la cervecería, se ajustó la cantidad de agua a 40L y se encendió la caldera y se calentó a 100°C para elevar la temperatura del sistema.
- b. Se llevó el mosto a hervor y se añadió la primera porción del lúpulo Cascade (69g), manteniendo el sistema bajo agitación a 10 Hz y aproximadamente a 80°C.
- c. Transcurridos 30 minutos, se agregó el resto de lúpulo (161g).
- d. Finalizando una hora de cocción, se apagó la caldera y se dejó enfriar el sistema sin agitación.
- e. Se descartó lo sedimentado en el fondo del tanque.

## 4. Fermentación

- a. Una vez teniendo el sistema a 35-30°C se inoculó la levadura y se mantuvo el tanque bajo agitación durante 1 hora, para la activación de las levaduras.

- b. Con la ayuda del chiller incorporado a la cervecería se mantuvo la temperatura de fermentación a 20°C durante 7 días.
  - c. Cada día se tomó una muestra de 10 mL en un tubo de ensayo por medio del muestreador del tanque.
5. Maduración
  - a. Al finalizar el séptimo día, se redujo la temperatura a 10°C para llevar a cabo el aclaramiento de la cerveza durante 7 días.
6. Carbonatación y envasado
  - a. Al finalizar el séptimo día, se descartó lo sedimentado en el fondo del tanque.
  - b. Se añadieron 11.5 g de levadura SafAle US-05 y 250mL de una solución de almíbar al tanque mientras se agitaba a 10 Hz.
  - c. Se dejó agitar durante 20 minutos para homogenización de la cerveza y posterior a ello se realizó el llenado de botellas previamente autoclaveadas por medio de la salida lateral del tanque principal.
  - d. Se sellaron todas las botellas de cerveza con la ayuda del sellador manual de botellas y tapas de aluminio.
  - e. Se dejó carbonatar durante 5 días a una temperatura de 3°C.
7. Pasteurización
  - a. Concluidos los 5 días de carbonatación se colocaron las botellas en una olla a 90°C durante 20 minutos cada una para pasteurizar la cerveza.
  - b. Posterior a ello, se refrigeraron nuevamente.
8. Preparación de muestras para análisis
  - a. Se trasvasaron las muestras tomadas a lo largo de la fermentación a tubos de centrífuga y estos fueron centrifugados a 3400 rpm durante 10 minutos.
  - b. El sobrenadante se diluyó en tubos de ensayo de 10 mL estériles realizando una dilución 1/10 con la ayuda de una micropipeta 100-1000µL y puntas estériles.
9. Análisis de muestras
  - a. Se llevó a cabo un análisis organoléptico de sabor, aroma, textura y tonalidad de las cervezas.
  - b. Las muestras preparadas previamente fueron enviadas al laboratorio de Instrumentación Química Avanzada de la UVG y por medio de la utilización de un HPLC, se midió el contenido de maltosa, glucosa, fructosa y etanol de las mismas.
  - c. Se determinó la densidad de la cerveza con la ayuda de un refractómetro ocular.
  - d. Se determinó el grado de amargor de la cerveza por medio del método de Rager.

## VII. RESULTADOS

### A. Caracterización fisicoquímica del mosto

Cuadro 1. Propiedades fisicoquímicas de interés del mosto preparado para medio de fermentación según cada ensayo a escala laboratorio

Ensayos	Propiedades	
	pH ( $\pm 0.01$ )	Densidad ( $\pm 0.005$ g/cm <sup>3</sup> )
Ensayo 1 y 2 ( $15 \pm 0.5$ °C)	5.04	1.028
Ensayo 3 y 4 ( $17.5 \pm 0.5$ °C)	5.11	1.029
Ensayo 5 y 6 ( $20 \pm 0.5$ °C)	5.34	1.033

En el cuadro se aprecian las propiedades fisicoquímicas de interés en el ámbito cervecero del mosto posterior a la maceración, que cumplió su función como medio de fermentación. En este se detalla el promedio de los resultados obtenidos de pH y densidad de las corridas realizadas identificadas con la temperatura a la que se fermentaría el medio. Estos resultados fueron obtenidos a las temperaturas detalladas en la primera columna y 0.99 atm.

Cuadro 2. Propiedades fisicoquímicas de interés del mosto preparado para medio de fermentación según cada ensayo a escala industrial

Ensayos	Propiedades		
	Temperatura de fermentación ( $\pm 0.5$ °C)	pH ( $\pm 0.01$ )	Densidad ( $\pm 0.005$ g/cm <sup>3</sup> )
Ensayo 7	20	5.13	1.059
Ensayo 8	20	5.07	1.059
Ensayo 9	20	5.02	1.060

En el cuadro se aprecian las propiedades fisicoquímicas de interés en el ámbito cervecero del mosto posterior a la maceración, que cumplió su función como medio de fermentación. En este se detalla el promedio de los resultados obtenidos de pH y densidad de las corridas realizadas identificadas con la temperatura a la que se llevó a cabo la fermentación. Estos resultados fueron obtenidos a las temperaturas detalladas en la primera columna y 0.99 atm.

Cuadro 3. Cantidad de azúcares presentes en el mosto preparado como medio de fermentación según cada ensayo a escala laboratorio obtenidos por medio de HPLC

Ensayos	Azúcares fermentables presentes		
	Maltosa $\pm 0.00581\%$ (m/v)	Glucosa $\pm 0.00001\%$ (%m/v)	Fructosa $\pm 0.00001\%$ (%m/v)
Ensayo 1	8.30	1.45	0.23
Ensayo 2	8.37	1.39	0.23
Ensayo 3	8.13	1.44	0.24

Ensayo 4	8.20	1.43	0.25
Ensayo 5	8.00	1.44	0.25
Ensayo 6	8.05	1.46	0.24

En el cuadro se aprecian las concentraciones promedio en %m/v de los azúcares fermentables cuantificados por medio de HPLC para cada ensayo realizado a escala laboratorio. Estos representan el sustrato inicial para las diferentes fermentaciones realizadas.

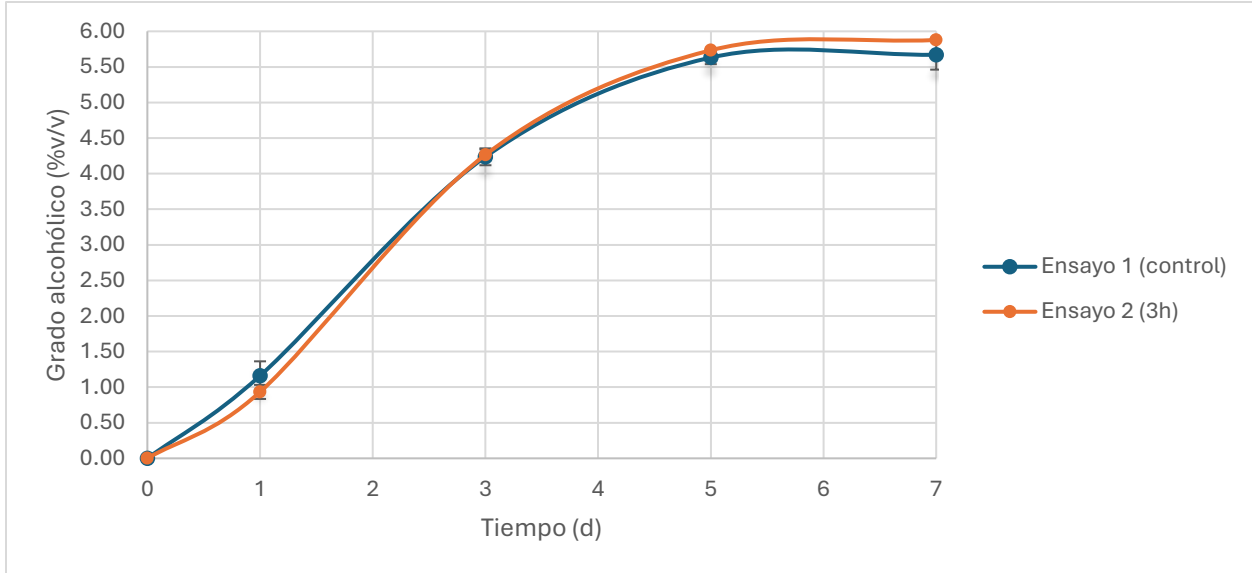
Cuadro 4. Cantidad de azúcares presentes en el mosto preparado como medio de fermentación según cada ensayo a escala industrial

Ensayos	Azúcares fermentables presentes		
	Maltosa (%m/v) ±0.00581%	Glucosa (%m/v) ±0.00001%	Fructosa (%m/v) ±0.00001%
Ensayo 7	16.1481	3.4261	0.5509
Ensayo 8	15.9449	3.5467	0.5753
Ensayo 9	14.2563	3.2862	0.5330

En el cuadro se aprecian las concentraciones promedio en %m/v de los azúcares fermentables cuantificados por medio de HPLC para cada ensayo realizado a escala industrial. Estos representan el sustrato inicial para las diferentes fermentaciones realizadas.

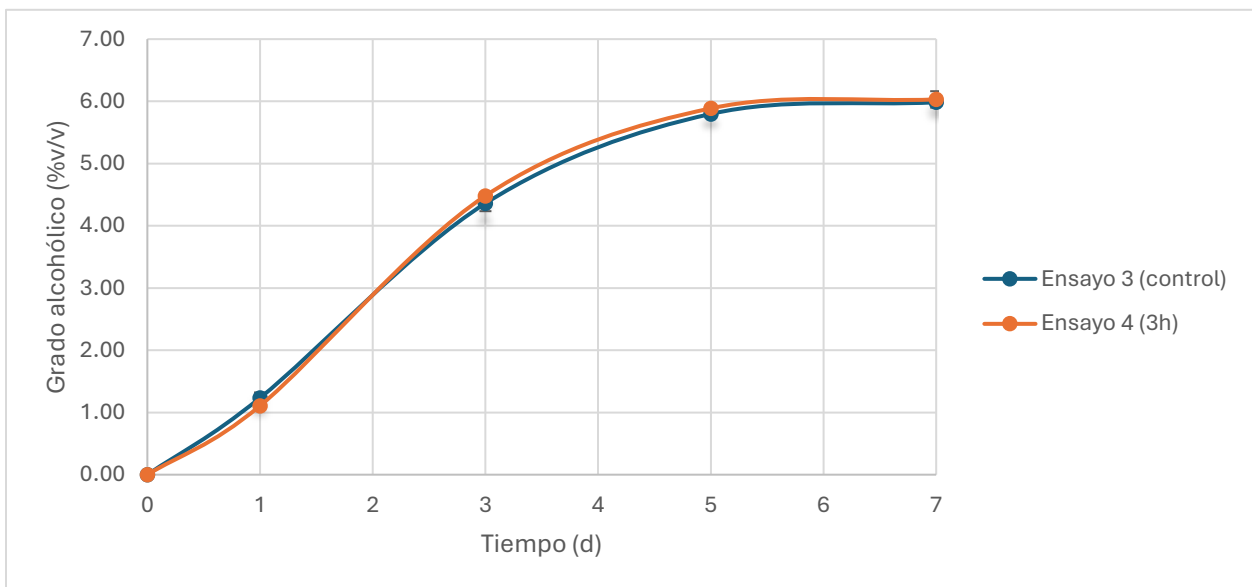
## B. Cuantificación del contenido alcohólico de ensayos a escala laboratorio

Figura 9. Curva de contenido de etanol del Ensayo 1 y 2 a lo largo de 7 días de fermentación a 15°C



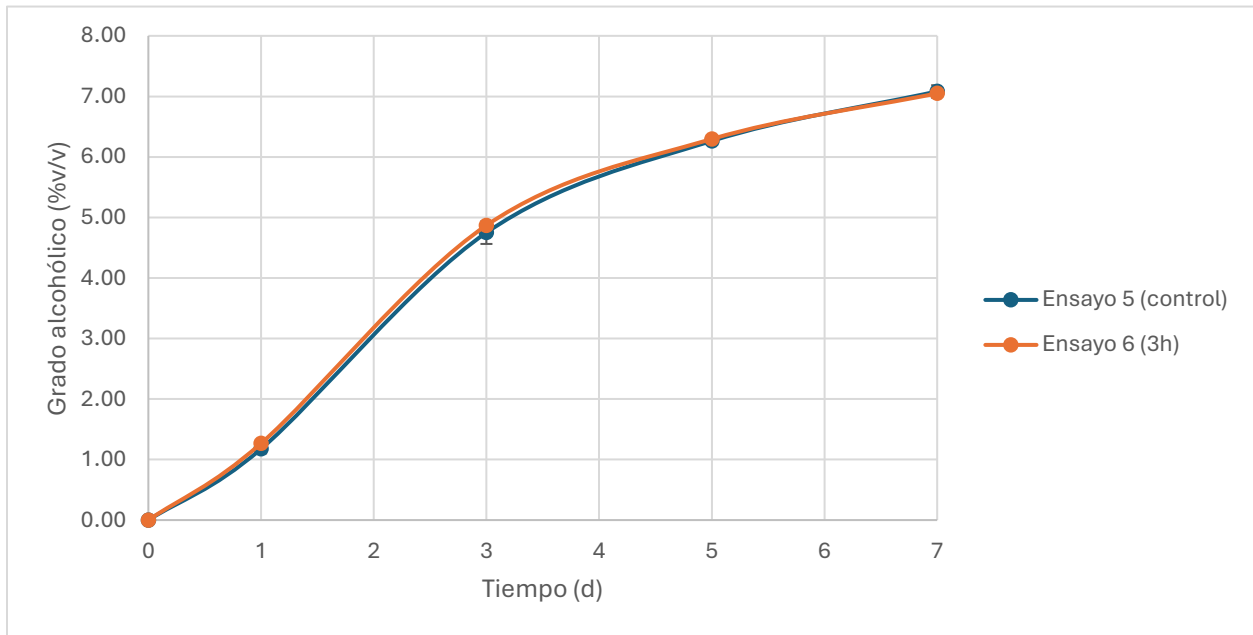
En esta figura se observa el comportamiento suavizado de la producción promedio de etanol a lo largo de los 7 días de fermentación de los ensayos realizados a 15°C, determinado por medio de Microsoft Excel.

Figura 10. Curva de contenido de etanol del Ensayo 3 y 4 a lo largo de 7 días de fermentación



En esta figura se observa el comportamiento suavizado de la producción promedio de etanol a lo largo de los 7 días de fermentación de los ensayos realizados a 17.5°C, determinado por medio de Microsoft Excel.

Figura 11. Curva de contenido de etanol del Ensayo 5 y 6 a lo largo de 7 días de fermentación



En esta figura se observa el comportamiento suavizado de la producción promedio de etanol a lo largo de los 7 días de fermentación de los ensayos realizados a 20°C, determinado por medio de Microsoft Excel.

### C. Análisis estadístico de sensibilidad de variables

Cuadro 5. Prueba t de student para medias de dos muestras emparejadas para definir la influencia de la agitación en los ensayos

	Sin agitación	3 horas de agitación
<b>Media</b>	6.24611	6.319888
<b>Varianza</b>	0.54968	0.40598
<b>Observaciones</b>	3	3
<b>Coefficiente de correlación de Pearson</b>	0.99558	
<b>Diferencia hipotética de las medias</b>	0	
<b>Grados de libertad</b>	2	
<b>Estadístico t</b>	-1.04223	
<b>P(T&lt;=t) una cola</b>	0.20336	
<b>Valor crítico de t (una cola)</b>	2.91998	
<b>P(T&lt;=t) dos colas</b>	0.40673	
<b>Valor crítico de t (dos colas)</b>	4.30265	

En este cuadro se aprecia inicialmente la estadística descriptiva de los resultados obtenidos de producción de etanol a escala laboratorio, tanto para las muestras fermentadas sin agitación inicial, como las muestras con 3 horas de agitación al inicio del proceso. Asimismo, se observan diferentes medidas estadísticas utilizadas para la determinación de la diferencia de las medias analizadas. Para este caso se propuso como  $H_0$ : No existe diferencia significativa entre ambos grupos de datos;  $H_1$ : Existe diferencia significativa entre ambos grupos de datos.

Cuadro 6. Análisis ANOVA de un factor de los resultados obtenidos de producción de etanol a escala laboratorio para el análisis de la sensibilidad de la temperatura en los diferentes ensayos

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.896294778	2	0.948147389	122.61 9	0.00132856	9.5520944 96
Dentro de los grupos	0.023197444	3	0.007732481			
Total	1.919492222	5				

En este cuadro se aprecian las medidas utilizadas por el modelo ANOVA para la determinación de la sensibilidad de la variación de la temperatura durante la fermentación. En este caso se analizaron 3 grupos de datos, correspondientes a los resultados obtenidos de producción de etanol a cada temperatura utilizada durante la escala laboratorio. Para este caso se propuso como  $H_0$ : No existe diferencia significativa entre las medias;  $H_1$ : Existe diferencia significativa entre las medias.

## D. Escalamiento de variables

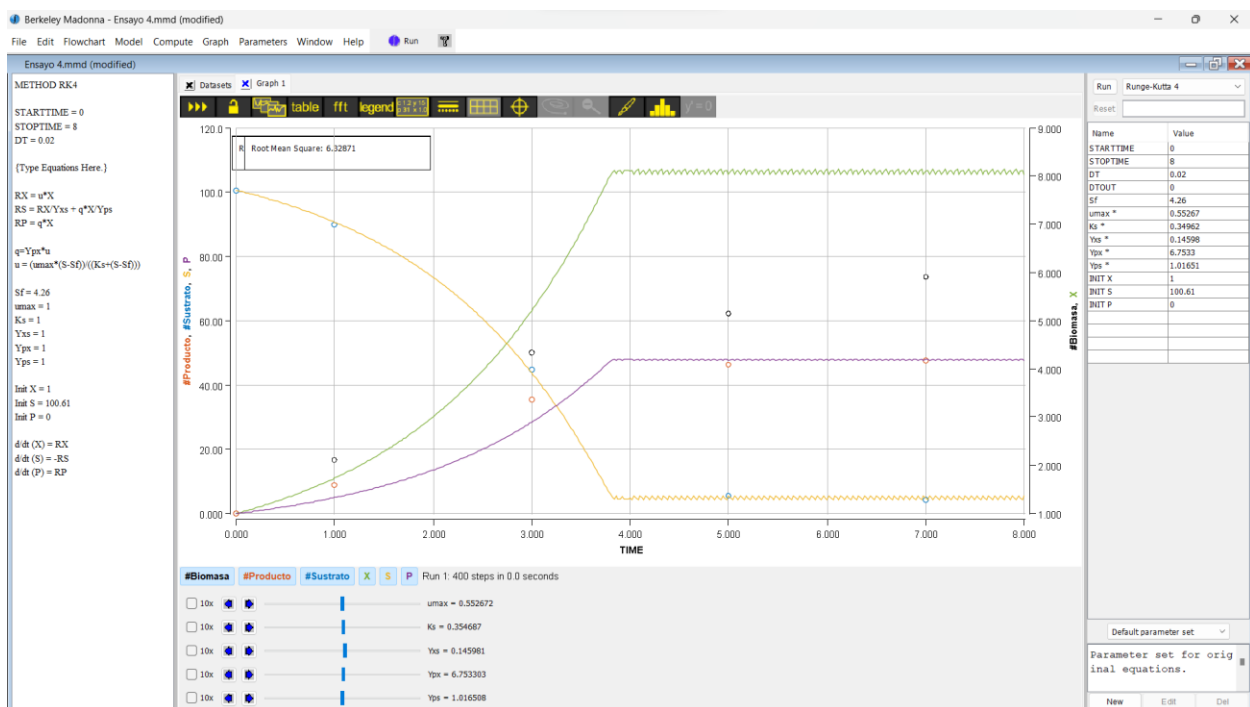
Cuadro 7. Parámetros cinéticos y rendimientos de los ensayos determinados por medio de Berkeley Madonna

	Parámetros cinéticos				
	$\mu_{m\acute{a}x}$ (d <sup>-1</sup> )	$K_s$ (g/L)	$Y_{x/s}$ (g/g)	$Y_{p/s}$ (g/g)	$Y_{p/x}$ (g/g)
<b>Ensayo 1</b>	0.462903	2.9413	1.040248	0.497108	11.4073
<b>Ensayo 2</b>	0.433442	3.68897	2.994543	0.492574	11.835063
<b>Ensayo 3</b>	0.472478	3.750991	0.613918	0.558138	9.95921

<b>Ensayo 4</b>	0.482608	6.433395	1.53945	0.63279	12.20024
<b>Ensayo 5</b>	0.552672	0.349622	0.145981	1.016508	6.753303
<b>Ensayo 6</b>	0.766538	45.713529	0.113406	1.007615	11.356551

Estos resultados fueron obtenidos por medio del suavizado de un modelo de Runge-Kutta 4 ajustando la velocidad máxima, constante de afinidad al sustrato y rendimientos para que se adapten los valores obtenidos experimentalmente a un modelado basado en la ecuación de Monod.

Figura 12. Ajuste del modelo cinético del comportamiento del ensayo 5 en Berkeley Madonna



Curvas de tendencia suavizadas del modelo cinético utilizado por medio de Berkeley Madonna de los datos obtenidos del ensayo 5. Los puntos que se observan son los datos experimentales obtenidos en donde los de color verde representan la biomasa producida conforme el paso del tiempo, los puntos morados representan la producción de etanol conforme el paso del tiempo y los puntos amarillos el consumo de sustrato a lo largo de los 7 días de fermentación.

Cuadro 8. Modelo cinético propuesto para el análisis del comportamiento de la fermentación de cerveza

Concepto	Ecuación
Consumo de sustrato	$rS = \frac{rX}{Y_{x/s}} + \frac{X * \mu * Y_{p/x}}{Y_{p/s}}$
Producción de biomasa	$rX = \mu * X$
Producción de producto	$rP = X * \mu * Y_{p/x}$
Velocidad específica de crecimiento	$\mu = \frac{\mu_{max} * (S - Sf)}{k_s + (S - Sf)}$

Cuadro 9. Modelo cinético con los parámetros cinéticos determinados por medio del ajuste de Berkeley Madonna para el ensayo 5

Concepto	Ecuación
Consumo de sustrato	$rS = \frac{rX}{0.1459 \text{ g/g}} + \frac{X * \mu * 6.7533 \text{ g/g}}{1.0165 \text{ g/g}}$
Producción de biomasa	$rX = \mu * X$
Producción de producto	$rP = X * \mu * 6.7533 \text{ g/g}$
Velocidad específica de crecimiento	$\mu = \frac{0.5526 \text{ día}^{-1} * (S - Sf)}{0.3496 \text{ g/L} + (S - Sf)}$

## E. Análisis de la cerveza final producida a escala industrial

Cuadro 10. Propiedades de interés finales de la cerveza producida en los diferentes lotes industriales

Ensayos	Propiedades de interés		
	%EtOH (%v/v)	Densidad final (g/cm <sup>3</sup> )	Grados IBU
Ensayo 7	10.28	1.016	67

Ensayo 8	10.15	1.016	67
Ensayo 9	9.08	1.019	67

En este cuadro se aprecian los resultados finales obtenidos de los lotes producidos a escala industrial, en donde se detalla el % de etanol presente en la bebida, la densidad final de esta y el grado de amargor IBU para cada lote.

Cuadro 11. Comparativa de rendimientos de producción de etanol por consumo de sustrato entre el mejor ensayo a escala laboratorio con los ensayos a escala industrial

Ensayos	Rendimiento de producción de etanol
	$Y_{p/s}$ (g/g)
Ensayo 5	0.56643
Ensayo 7	0.82988
Ensayo 8	0.88289
Ensayo 9	0.88293

En este cuadro se observan los resultados obtenidos del rendimiento de producción de etanol con consumo de sustrato tanto para el mejor ensayo obtenido a escala laboratorio, como para los ensayos producidos a escala industrial.

## VIII. ANÁLISIS DE RESULTADOS

La estandarización de condiciones de operación es una técnica sumamente efectiva para la regularización de una metodología funcional de un proceso en específico. Dicha técnica requiere de diferentes etapas previas para llegar a una metodología con resultados replicables de la manera más óptima posible. Esta metodología es observada en la implementación de nuevas cadenas de producción como lo es el caso de la cervecería de la planta piloto de la Universidad del Valle de Guatemala que se encuentra en el Laboratorio de Operaciones Unitarias del Departamento de Ingeniería Química. Actualmente no cuenta con dicha estandarización, por lo que este trabajo es dedicado a encontrar las mejores condiciones de operación de la etapa de fermentación para la producción de cerveza tipo IPA.

Inicialmente se tomaron ciertas decisiones para definir el rumbo de la investigación. Se eligió la etapa de fermentación del proceso ya que este es considerado como el cuello de botella de la cadena gracias a la cantidad de recursos que se invierten en esta. En cuanto a recursos se habla de tiempo y energía principalmente, ya que la fermentación suele durar de 7 a 10 días dependiendo de la receta o de los resultados esperados, sin embargo, este tiempo se puede extender hasta 15 días. Estos son días productivos en donde se debe de contar con algún sistema intercambiador de calor para mantener la temperatura ideal del medio para que las levaduras tengan un rendimiento óptimo, lo cual significa un consumo energético que puede ser elevado dependiendo de las condiciones ambientales. En este caso, la cerveza India Pale Ale es una cerveza de alta fermentación, lo que quiere decir que la temperatura del medio ronda entre los 15-25°C, por lo que no representa el mismo consumo energético a comparación de lo que tomaría llevar y mantener un medio de 40 L de mosto a 4-10°C como es el caso con cervezas de baja fermentación o también conocidas como Lager. Sin embargo, el consumo energético igualmente es un factor a tomar en cuenta. Asimismo, en esta etapa las levaduras se ven influenciadas por diferentes condiciones que pueden tornar por completo los resultados del producto final, por lo que un buen control de estas es indispensable para obtener resultados replicables.

Los rangos de temperatura seleccionados para la etapa de fermentación se definieron con base en los valores óptimos de crecimiento y actividad metabólica de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Esta especie presenta mayor eficiencia fermentativa entre 15°C y 22°C, en el cual mantiene una alta tasa de conversión de azúcares en etanol y CO<sub>2</sub>, así como una adecuada producción de compuestos secundarios responsables del perfil aromático de la cerveza (Walker & Stewart, 2016). Temperaturas inferiores pueden ralentizar el metabolismo y prolongar la fermentación, mientras que temperaturas superiores a 30 °C pueden provocar estrés térmico, generando subproductos no deseados como

alcoholes superiores y compuestos azufrados (Boulton & Quain, 2006; Narendranath & Power, 2005). Por esta razón, los valores experimentales elegidos se establecieron dentro de ese rango óptimo, con el objetivo de garantizar un desarrollo equilibrado de la levadura y obtener una fermentación controlada que favoreciera la calidad del producto final. Trabajando así tres diferentes temperaturas (15, 17.5 y 20°C) para definir con aún mayor precisión la temperatura ideal, la cual se mantuvo por medio del intercambiador de calor (chiller) integrado en el sistema de fermentación.

La segunda decisión se enfocó en qué variables se tomarían en cuenta para llevar a cabo la estandarización del proceso. La fermentación de cerveza se ve afectada por diferentes factores principales como pH, temperatura, agitación del medio, calidad y cantidad de la levadura. Como se ha explicado anteriormente tanto el pH, como la dureza del agua utilizada para la producción tienen un papel influyente en el resultado final. Sin embargo, en esta investigación se optó por descartar estas variables para la estandarización debido principalmente a que el sistema no cuenta con un regulador de pH como tal, por lo que realizar un control riguroso para una estandarización conllevaría la implementación de un sistema dosificador tanto de ácido como de base para mantener los parámetros óptimos, lo cual podría ser una investigación aparte. Asimismo, el pH se puede considerar como una variable independiente, ya que no suele verse afectada considerablemente en la producción de diferentes recetas de cerveza. Por lo tanto, para evitar que este fuera un factor influyente se utilizó Agua Pura Salvavidas que cuenta con una dureza de 107.16 ppm, lo cual significa que es agua medianamente dura y un pH neutro, por lo que los iones presentes en el medio fueron estándar para todos los ensayos, además de ser una alternativa práctica que es aceptable para cualquier estilo de cerveza. Por otro lado, el pH del mosto durante la fermentación es considerado óptimo para el metabolismo de *Saccharomyces cerevisiae*, el cual es ligeramente ácido y favorece la actividad enzimática, de las enzimas involucradas en la glucólisis, como la hexoquinasa y la piruvato descarboxilasa, lo que se traduce en una mayor eficiencia en la conversión de azúcares fermentables en etanol y dióxido de carbono (Narendranath & Power, 2005). Además, este pH ayuda a mantener la integridad de la membrana celular de las levaduras, favoreciendo la absorción de nutrientes y la resistencia a estrés osmótico o etanólico (Walker & Stewart, 2016).

Por otro lado, la levadura utilizada Saf Ale US-05 es una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* específica para cervezas tipo Ale, por lo que es considerada levadura de alta calidad con un rendimiento que no sería un factor variable e influyente para el resultado final. Asimismo, se optó por seguir un estándar existente en el gremio cervecero, el cual se basa en utilizar 1 gramo de levadura por cada litro de cerveza que se desee producir, igualmente para que la cantidad no fuera una variable, sino que una constante durante los diferentes ensayos. Por lo tanto, se decidió que la temperatura y la agitación del

medio al inicio de la fermentación, serían las variables a estandarizar durante esta investigación, buscando la mejor combinación entre estas variables para obtener como resultado calidad replicable. Por medio de esta agitación inicial a una temperatura constante de 30°C se llevó a cabo la activación de las levaduras, recuperando su metabolismo para que puedan iniciar con la degradación de azúcares en el medio.

Una vez teniendo definida la ruta de la investigación se procedió a realizar diferentes ensayos a escala laboratorio en donde se determinaría dicha combinación de variables. Buscando partir de una base similar para todos los ensayos, se propuso el primer objetivo, el cual se basó en la caracterización fisicoquímica de las propiedades de interés del mosto a fermentar. Como se observa en el Cuadro 1, dichas propiedades son el pH del medio, la densidad y la dureza del agua utilizada, las cuales son referencias utilizadas en procesos de producción de cerveza que marcan estándares para llegar a un producto deseado. El pH del mosto preparado en los tres ensayos estuvo dentro del rango estándar del mosto para fermentar el cual oscila entre 5 y 5.6 (Smith, 2017), obteniendo valores de 5.04, 5.11 y 5.34  $\pm 0.01$  para los Ensayos 1, 2 y 3 consecutivamente. Por otro lado, con la ayuda de un refractómetro ocular se determinó el total de °Brix de cada ensayo, el cual determinó la gravedad específica de la muestra con la ayuda de una tabla de conversiones. Dicha gravedad específica fue convertida a densidad para obtener el estándar utilizado por los productores de cerveza para determinar que la metodología se está ejecutando de la manera correcta. En este caso, se utilizaron los estándares de la receta de la cerveza IPA Lagunitas la cual cuenta con una densidad de 1.059 g/cm<sup>3</sup>, demostrando así diferencia con los resultados obtenidos en la preparación del mosto para los diferentes ensayos siendo de 1.028, 1.029 y 1.033  $\pm 0.005$  g/cm<sup>3</sup> consecutivamente. Esto indica que la etapa de la maceración de las maltas no fue llevada a cabo correctamente, ya que se utilizó equipo casero y en la extracción del líquido retenido en el grano solamente se logró extraer una pequeña cantidad, ya que no se contaba con un equipo de prensado para la mayor extracción posible.

A pesar de contar con los °Brix del mosto, se determinó la concentración de azúcares fermentables presentes en el mismo por medio de HPLC, con el fin de modelar el comportamiento de la fermentación para su escalado. Estas concentraciones se observan en el Cuadro 3, las cuales representan la concentración inicial de sustrato para la fermentación de las levaduras a escala laboratorio. Para todos los ensayos se obtuvo una concentración estándar de azúcares fermentables presentes, lo cual fue provocado por la metodología utilizada para la recuperación del líquido del mosto. En este caso se obtuvieron valores altos de maltosa y bajos, a comparación, de glucosa y fructosa, esto ya que la maltosa es el principal producto de la maceración. El hecho de que exista un valor tan bajo de fructosa para los 6 ensayos confirma la vaga cantidad de sacarosa en el grano de cebada, lo cual significa que la maltosa

es el principal azúcar fermentable en el mosto. Esto presenta relevancia posteriormente en el modelado cinético de la reacción de la fermentación, ya que se puede tomar en cuenta solamente como sustrato la cantidad de glucosa en el medio y no modelarlo como un comportamiento diaúxico, lo cual simplifica dicho modelo. Asimismo, no es acertado tomar en cuenta dicho comportamiento debido a que el consumo de diferentes azúcares fermentables es instantáneo y no depende de la concentración de uno para el consumo del otro.

Una vez teniendo la caracterización del mosto que se utilizó como medio de fermentación a diferentes temperaturas y tiempos de agitación al inicio de la fermentación, se recurrió al análisis de los resultados obtenidos en los 6 ensayos. Dicho análisis consistió en cuantificación de etanol a lo largo de la fermentación, al igual que un análisis organoléptico del resultado. En este caso el dióxido de carbono, no se cuantificó debido a que a escala laboratorio se dificultaba monitorear la trampa de gas la cual constaba de una manguera de 8 mm introducida en un tubo de ensayo de 10mL, por lo que a escala laboratorio se recurrió a determinar la concentración de subproducto por medio de relaciones estequiométricas. Sin embargo, el etanol producido se cuantificó por medio de cromatografía líquida de alta resolución, obteniendo los resultados observados en la Figura 9, Figura 10 y Figura 11. En la primera figura mencionada se observan los resultados de los ensayos realizados con una temperatura de fermentación de 15°C. Se obtuvo finalmente un grado de alcohol promedio de 5.67033 y 5.87833  $\pm 0.00001$  %v/v de los ensayos 1 y 2 consecutivamente. Este es un valor aceptable, sin embargo, en esta investigación se buscaba llegar a un porcentaje de etanol de 7-7.5 %v/v para obtener una cerveza de alto grado alcohólico, icónico de cervezas artesanales tipo IPA. Asimismo, se puede observar este comportamiento en los ensayos 3 y 4, correspondiente a la Figura 10 en donde se obtuvo una producción final de 5.98533 y 6.03100  $\pm 0.00001$  %v/v de etanol. Finalmente, en la Figura 11 se observa que el ensayo realizado a una temperatura de 20°C sí cumplió con el estándar buscado, obteniendo una concentración final de etanol de 7.08267 y 7.05033  $\pm 0.00001$  %v/v para los ensayos 5 y 6 consecutivamente. Esto indica que la temperatura ideal para el desempeño óptimo de las levaduras durante la fermentación es de 20°C, lo cual es conveniente por el hecho de que se consume menor cantidad de energía para mantener un medio a 20°C a comparación de un medio a 15°C. Por otro lado, este valor coincide con los estándares recomendados por el productor de la Levadura SafAle US-05, el cual menciona que el rango ideal es de 15-22°C (Fermentis, 2023).

Para el desarrollo experimental se establecieron nueve ensayos en total, definidos a partir de la combinación de tres condiciones de operación evaluadas por triplicado. El uso de triplicados permitió obtener una representación estadísticamente válida de cada condición. De esta forma, se calculó la media y la desviación estándar de los datos obtenidos, lo que facilitó la comparación entre tratamientos

mediante análisis de diferencia significativa. Este análisis se basó en la aplicación de pruebas estadísticas como la prueba t o ANOVA, que permiten determinar si las diferencias observadas entre los valores promedio de cada grupo fueron producto del efecto experimental real o del error de medición. Así, el diseño con triplicado no solo aumentó la confiabilidad de los resultados, sino que también aseguró que las conclusiones obtenidas de las pruebas estadísticas estuvieran debidamente sustentadas (Motulsky, 2014; Colegrave & Ruxton, 2018).

Como se menciona, se realizaron diferentes análisis estadísticos con el fin de determinar la influencia de las variables en base a los resultados discutidos anteriormente. En el caso de la agitación se optó por realizar un análisis de Prueba t de Student de diferencia de medias con el fin de determinar si la variación en la agitación del medio fermentativo al inicio de la etapa era influyente en el resultado final o no. Por lo tanto, se recurrió a analizar 2 grupos de muestras, el primero siendo los resultados obtenidos de producción de etanol que fueron control, es decir, sin agitación alguna, mientras que el segundo corresponde a los resultados obtenidos de las fermentaciones realizadas con 3 horas de agitación. Para ello se propuso como hipótesis nula el hecho de que no existe una diferencia significativa entre ambos grupos de datos, mientras que la hipótesis alternativa propone que si existe una diferencia significativa entre ambos grupos de datos. Esto bajo un porcentaje de error  $\alpha=0.05$ , el cual es el parámetro de aceptabilidad del ensayo. En el *Cuadro 5*, a simple vista se observa que ambas medias presentan alta similaridad, sin embargo, el valor de la probabilidad de error denominado  $P(T \leq t)$  dos colas, es de 0.40673172, el cual es mayor al alfa establecido de 0.05, por lo que se acepta la hipótesis nula propuesta. Esto concluye en que no existe diferencia significativa entre ambos grupos de datos, por lo que se puede confirmar que la agitación del medio al inicio de la fermentación es una variable que no tiene efecto alguno en el resultado final, por lo tanto, esta se puede obviar durante la experimentación para el ahorro de recursos como tiempo y energía.

Consecutivamente se recurrió a realizar un Análisis de Varianza o ANOVA de un factor con el fin de determinar si la influencia de la temperatura era significativa o no para la producción de etanol en los ensayos realizados a escala laboratorio. Por lo tanto, los tres grupos a analizar fueron los resultados obtenidos de etanol producido de las tres temperaturas (15, 17.5 y 20°C) utilizadas para la fermentación a escala laboratorio. Iniciando con estadística descriptiva como se observa en el Cuadro 29, las muestras no presentan varianza significativa, sin embargo, el valor que confirma la diferencia significativa es el valor F, el cual se basa en el cociente de las varianzas analizadas. Para ello se tiene la hipótesis nula la cual propone que no existe una diferencia significativa entre las muestras a diferentes temperaturas, mientras que la hipótesis alternativa propone que si existe diferencia significativa. Contemplando un error  $\alpha$  de 0.05 y contrastando el valor F con el valor crítico de F, se puede obtener

que el valor F de 122.619 es mayor al valor crítico de F de 9.55209, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula. Esto conlleva a la conclusión de que sí existe una diferencia significativa entre las muestras, lo que se traduce a que la variabilidad de la temperatura si es un factor influyente en el producto final, lo cual es lo esperado, ya que se conoce que los microorganismos metabolizan de forma óptima en ciertos rangos de temperatura.

Una vez obtenidas las mejores variables a utilizar, se analizó el comportamiento de la fermentación con el fin de realizar un modelado cinético de la misma. Dicho modelado permite predecir el comportamiento de la reacción bajo diferentes condiciones, a partir de las constantes cinéticas conocidas que determinan la velocidad de la reacción y sus rendimientos. Para la determinación de estas constantes se utilizó la glucosa como el sustrato principal, convirtiendo las concentraciones de maltosa a glucosa para simplificar el modelo. Se tomaron en cuenta variantes del modelo de Monod para determinar la existencia de una inhibición competitiva en el medio, sin embargo, el modelo base de Monod fue el que mejor resultados demostró. Como se observa en el Cuadro 7, se determinaron los parámetros cinéticos de todos los ensayos realizados a escala laboratorio, por medio del modelado de cada uno en el programa Berkeley Madonna, el cual permite determinar un ajuste suavizado de los datos experimentales. A partir de estos datos obtenidos se realizaron comparativas tanto de ensayos con las mismas condiciones, como de ensayos a diferentes condiciones con el fin de determinar el ensayo con el mejor rendimiento, el cual sería replicado a escala industrial.

Comparando las velocidades máximas de crecimiento entre ensayos bajo las mismas condiciones, se observa que no existe mayor diferencia entre los mismos a excepción de los ensayos 5 y 6, que igualmente presentan las velocidades más grandes de todos los ensayos. El ensayo 5 presentó una velocidad de  $0.5527 \text{ día}^{-1}$ , mientras que el ensayo 6 una velocidad de  $0.7665 \text{ día}^{-1}$ . Esta diferencia se debe a que el programa determinó un mejor ajuste con los datos experimentales obtenidos en el ensayo 6, al igual que una mayor diferencia entre el sustrato inicial y final, por lo que se dio esta pequeña variación en los resultados. En cuanto a la constante de afinidad al sustrato se observó variación entre todos los ensayos, siendo el mejor valor obtenido el del ensayo 5 ( $0.3496 \text{ g/L}$ ) y el peor el del ensayo 6 ( $45.7135 \text{ g/L}$ ). El valor del ensayo 5 evidencia que se consumió el sustrato en su gran mayoría, mientras que el valor del ensayo 6 evidenció que sobró mucho sustrato en el medio, por lo que no reaccionó en su totalidad.

Analizando los rendimientos, primero se determinó el rendimiento de producción de gramos de biomasa por cada gramo de sustrato consumido en donde igualmente existió mucha variabilidad entre ensayos. Inicialmente se ignoran los ensayos con rendimientos mayores a 1 debido a que no es posible

crear materia y eso es lo que representan estos rendimientos. Por lo general, en este tipo de reacciones en donde no se prioriza la producción de biomasa, sino que la de producto, los rendimientos suelen ser bajos como los evidenciados en los ensayos 5 (0.1460 g/g) y 6 (0.1134 g/g). En cuanto al rendimiento de gramos de producto producidos por cada gramo de glucosa consumida se esperaba un valor cercano a 1 siguiendo la relación estequiométrica de la reacción. En donde el resto de la producción corresponde al dióxido de carbono, el cual no fue cuantificado, debido a que no era de interés para este estudio. Nuevamente los ensayos 5 y 6 demostraron valores de 1.0165 y 1.0076 g/g, siendo estos los mejores resultados obtenidos de todos los ensayos. Finalmente se determinó el rendimiento de la producción de producto según la cantidad de biomasa presente en el medio. En este caso se evidenció que el ensayo 5 a pesar de tener el rendimiento más bajo (6.7533 g/g), produjo la mayor cantidad de etanol con la menor cantidad de biomasa, por lo que se confirma que estas fueron las mejores condiciones para el funcionamiento debido de las levaduras. Por lo tanto, condensando lo discutido previamente, se evidenció que el ensayo 5 tuvo una alta velocidad específica de crecimiento, indicando que en el primer día de fermentación la reacción entra a su tasa de crecimiento más alta, al igual que el ensayo 6. Sin embargo, el ensayo 5 evidenció una mejor constante de afinidad al sustrato, al igual que un rendimiento de producción de producto por consumo de sustrato a comparación del ensayo 6. Demostrando así que el ensayo 5 presentó mejores parámetros cinéticos, por lo que se decidió replicar estas condiciones a escala industrial.

Finalmente, luego de llevar a cabo 3 lotes industriales con las mejores condiciones determinadas a escala laboratorio, se analizaron los resultados obtenidos en estos 3 lotes. Como se observa en el Cuadro 4, el sustrato era mucho más elevado a comparación de la cantidad de azúcares fermentables presentes en el mosto a escala laboratorio. Esto fue debido a que se llevó a cabo otra metodología tanto de maceración, como de recuperación del líquido retenido por el grano luego de la maceración, utilizando una metodología de maceración escalonada al igual que una prensa hidráulica que provocó que se extrajera la mayor cantidad de azúcares posible para el mosto. Llegando así a obtener una concentración inicial de maltosa de 16.1481, 15.9449 y 14.2563  $\pm 0.00001$  %m/v, 3.4261, 3.5467 y 3.2862  $\pm 0.00001$  %m/v de glucosa y 0.5509, 0.5753 y 0.5330  $\pm 0.00001$  %m/v de fructosa para los ensayos 7, 8 y 9 respectivamente. Esto demuestra un mucho mejor rendimiento en las etapas previas a la fermentación, por lo que se obtuvo un medio fermentativo más adecuado. Esto se evidenció igualmente en el Cuadro 2, donde se obtuvieron densidades de 1.059, 1.059 y 1.060  $\pm 0.005$  g/cm<sup>3</sup> para los ensayos 7, 8 y 9 respectivamente. Estos datos son los esperados según los estándares de la receta utilizada como guía, por lo que se confirma nuevamente que la metodología empleada a escala industrial para la preparación del mosto fue la ideal.

Asimismo, se realizó una comparativa de los rendimientos de producción de etanol con consumo de sustrato de los ensayos realizados a escala industrial y el mejor ensayo de la escala laboratorio. Los resultados se observan en el Cuadro 11, donde a simple vista se denota una mejora en los rendimientos de la escala industrial a comparación de la escala laboratorio. El mejor ensayo obtenido a escala laboratorio demostró un rendimiento de 0.63279 g/g, mientras que los ensayos a escala industrial demostraron un rendimiento de 0.82988, 0.88289 y 0.88293  $\pm$ 0.00001 g/g para los ensayos 7, 8 y 9 consecutivamente. Se demostró un incremento en los rendimientos obtenidos debido a que a escala industrial se logró tener un control más preciso de la temperatura de fermentación, al igual que se trabajó en mejores condiciones gracias a la utilización del reactor de la planta piloto y no los Erlenmeyer adaptados, ya que la toma de muestras daba lugar a muchas fuentes de contaminación. Esto ya que se abrían los erlenmeyers y se introducía una jeringa desinfectada para la toma de muestras, sin embargo, el hecho de abrir el sistema ya da lugar a contaminación, a comparación de la toma de muestras en el reactor de la planta piloto, en donde se cuenta con un muestreador formal, donde solamente sale materia, mas no ingresa. Por lo tanto, las condiciones de operación se controlan de mejor manera a escala industrial, al igual que se contaba con una proporción de azúcares fermentables iniciales más grande, como se discutió anteriormente. Esta combinación de factores provocó el aumento en el rendimiento entre escalas. Igualmente, la experimentación se llevó a cabo en un sistema aislado bajo condiciones ambientales de aproximadamente 0.99 atm, correspondiente a la presión atmosférica local. Este valor se considera adecuado para procesos fermentativos abiertos o semiabiertos, ya que permite una liberación eficiente del CO<sub>2</sub> generado por la levadura, evitando su acumulación y posibles efectos inhibitorios sobre la actividad metabólica. Además, trabajar a una presión cercana a la atmosférica favoreció un entorno estable para *Saccharomyces cerevisiae*, sin inducir estrés por sobrepresión, lo que contribuyó a mantener una fermentación continua y controlada (Pires et al., 2014; Walker & Stewart, 2016).

En términos organolépticos, las cervezas artesanales suelen presentar una mayor complejidad sensorial que las cervezas industriales, resultado de procesos menos estandarizados y de una fermentación más influenciada por las condiciones específicas de cada lote. Las artesanales tienden a conservar más aromas y sabores derivados del lúpulo, la malta y la levadura, lo que se traduce en perfiles con notas frutales, florales o especiadas según el estilo (Rossini et al., 2021). En contraste, las cervezas industriales se elaboran bajo condiciones de producción altamente controladas y replicables, priorizando la uniformidad, suavidad y estabilidad del sabor, lo que da como resultado bebidas de menor intensidad aromática y con un amargor más equilibrado o moderado (González, 2017). En relación con la percepción del amargor, es importante destacar que no todas las cervezas son amargas,

ya que esta característica depende del tipo y la cantidad de lúpulo utilizado, así como del balance con los azúcares residuales provenientes de la malta. Estilos como las cervezas tipo Stout o Amber Ale pueden presentar notas dulces o tostadas que predominan sobre el amargor, mientras que otras, como las IPA, tienen un amargor marcado que forma parte esencial de su identidad (Naranjo, 2019; Durello et al., 2019). En conjunto, estas diferencias demuestran cómo el proceso artesanal promueve una mayor diversidad de características organolépticas, mientras que la producción industrial busca consistencia y aceptación general en el mercado.

Finalmente, en el Cuadro 10 se pueden observar las propiedades de interés de la cerveza final producida en cada uno de los lotes a escala industrial. El primer resultado que se observa es el porcentaje de etanol presente en la cerveza final, en donde se obtuvieron valores de 10.28, 10.15 y  $9.08 \pm 0.00001$  %v/v. A comparación de la escala laboratorio, se obtuvieron mucho mejores resultados para la producción de etanol, en el mismo periodo de tiempo, esto se debió a que el medio contaba con una mayor cantidad de azúcares fermentables, por lo que las levaduras demostraron una mayor afinidad al sustrato y con ello un mejor rendimiento de producción de etanol. Esto indica que en aproximadamente 5 días se puede obtener un porcentaje de etanol de 7 %v/v si se replica esta metodología, ahorrando así tiempo de fermentación y con ello, recursos. Por otro lado, se observa en el cuadro la densidad final de la cerveza, la cual es bastante cercana al estándar común para una cerveza terminada, la cual se encuentra en un rango de 1.005 y 1.015 g/cm<sup>3</sup>, y en este caso se obtuvieron densidades de 1.016, 1.016 y  $1.019 \pm 0.005$  g/cm<sup>3</sup> para cada lote consecutivamente. Esto indica que aún se contaba con cierta cantidad de azúcares en la cerveza final, lo cual aporta dulzor al sabor y equilibra de cierta forma el amargor de la misma. Asimismo, se determinó el grado de amargor IBU de la cerveza por medio del método de Rager, el cual permite calcular los Unidades Internacionales de Amargor (IBU) a partir de la concentración de iso- $\alpha$ -ácidos provenientes del lúpulo isomerizado durante la ebullición. Este método se basa en una ecuación empírica que relaciona la cantidad de lúpulo agregada, su porcentaje de alfa-ácidos, el volumen del mosto y la utilización del lúpulo en función del tiempo de hervor y la densidad del mosto. Obteniendo así un grado IBU de 67, el cual se encuentra dentro del rango estándar para cervezas tipo IPA, el cual es de 60-70. Si este aumentara se consideraría otro estilo de cerveza llamado Double IPA, el cual puede llegar hasta 100 grados de amargor. Los datos presentados en este cuadro indican que la metodología fue llevada a cabo con éxito al igual que la producción de 3 lotes de aproximadamente 40 litros de cerveza tipo IPA en la planta piloto del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad del Valle de Guatemala.

## IX. CONCLUSIONES

1. Se caracterizó el mosto preparado para utilizarse como medio de fermentación determinando las propiedades fisicoquímicas de interés para el ámbito cervecero. Obteniendo valores de 5.04 a 5.34  $\pm 0.01$  de pH para los ensayos a escala laboratorio y 5.02 a 5.13  $\pm 0.01$  para los ensayos a escala industrial. Valores de densidad de 1.028 a 1.033  $\pm 0.005$  g/cm<sup>3</sup> para los ensayos a escala laboratorio y 1.059 a 1.060  $\pm 0.005$  g/cm<sup>3</sup>, para los ensayos a escala industrial. Asimismo, se determinaron las concentraciones de azúcares presentes en el mosto, con valores de 8.00 a 8.37 %m/v de maltosa que es el sustrato principal y valores de 16.2563 a 17.5449 %m/v de maltosa. Valores de 1.39 a 1.46 %m/v de glucosa para los ensayos a escala laboratorio y 3.2862 a 3.5467 %m/v de glucosa. Finalmente, valores de 0.23 a 0.25 %m/v de fructosa a escala laboratorio y 0.5330 a 0.5753 %m/v de Fructosa para los ensayos a escala industrial.
2. Se representó gráficamente la cuantificación de la producción de etanol a lo largo de la fermentación llegando a valores finales de 5.67033, 5.87833, 5.98533, 6.0310, 7.08267 y 7.05033  $\pm 0.00001$  %v/v, correspondientes a los ensayos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 consecutivamente. Determinando así que los ensayos realizados a una temperatura de fermentación de 20°C fueron los que presentaron los resultados con mejor rendimiento para la producción de etanol.
3. Se realizaron pruebas de sensibilidad de variables de operación a escala laboratorio, correspondientes a la temperatura de fermentación y agitación del medio al inicio de esta etapa. Por medio de la Prueba t de Student, se obtuvo un valor P de 0.4067, por lo que se concluyó que no existe una diferencia significativa entre los resultados obtenidos de la producción de etanol variando la agitación inicial en esta etapa, por lo que se puede obviar para futuras metodologías. Por otro lado, realizando un análisis ANOVA se obtuvo un valor F de 122.619 el cual es mayor al valor crítico para F, por lo que se concluye que si existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos de producción de etanol a diferentes temperaturas. Indicando así que esta si es una variable sensible para la producción de etanol, por lo que su control es crítico para el rendimiento de la reacción.
4. Se realizó el escalamiento de las mejores condiciones obtenidas a escala laboratorio, en una escala industrial con la producción de 3 lotes de cerveza de 40 L. Para ello, se analizó el comportamiento del mejor ensayo realizado a escala laboratorio, el cual fue el ensayo 5, correspondiente a una fermentación a 20°C sin agitación inicial. Dicho comportamiento presentó una velocidad específica de crecimiento de 0.482608 día<sup>-1</sup>, una constante de afinidad al sustrato de 6.433395 g/L, un rendimiento de producción

de biomasa con relación al consumo de sustrato de 1.53945 g/g, un rendimiento de producción de producto con relación al consumo del sustrato de 0.63279 g/g y finalmente un rendimiento de producción de producto con relación a biomasa de 12.20024 g/g.

5. Se realizó un análisis físicoquímico de las propiedades de interés de la cerveza tipo IPA producida a escala industrial, en donde se obtuvieron valores de 10.28, 10.15 y 9.08 %EtOH, densidades finales de 1.016, 1.016 y 1.019 g/cm<sup>3</sup> y un grado de amargor de 67 IBU's para los tres lotes producidos.

## X. RECOMENDACIONES

2. Así como se realizó este proyecto, al igual que el proyecto encargado de la estandarización de las condiciones de operación de la etapa del macerado, se recomienda llevar a cabo la estandarización de las demás etapas del proceso, para obtener una metodología replicable que presente resultados de calidad y que abarque toda la cadena de producción.
3. Se recomienda llevar a cabo la evaluación de la implementación de un sistema de control de pH con dosificador, con el fin de llevar un control detallado del mismo durante la fermentación con el fin de estandarizar dicha variable.
4. Se recomienda realizar un estudio de la inhibición de rutas metabólicas que no son de interés con *S. cerevisiae* con el fin de producir solamente productos de deseados y con ello obtener mejores resultados, bajo las condiciones estandarizadas en el presente estudio.
5. Se recomienda llevar a cabo la estandarización para otros tipos de cerveza para explotar la versatilidad de este producto biotecnológico y promover el crecimiento de la cultura cervecera en Guatemala.
6. Se recomienda evaluar la readecuación del sistema de tuberías de la planta completa para que se pueda llevar a cabo la maceración en el tanque principal y así utilizar solamente la planta y no recurrir a otros equipos en donde se pueden dar pérdidas de materia.
7. Se recomienda evaluar la opción de la adición de productos preservantes para aumentar la vida útil de la cerveza, ya que normalmente las cervezas artesanales presentan una vida útil corta a pesar de ser almacenadas a bajas temperaturas.

## XI. BIBLIOGRAFÍA

Actitud Saludable. (2021). BENEFICIOS DE LA CERVEZA. Cerveza artesanal. <https://actitudsaludable.net/beneficios-de-la-cerveza/> Consultado el 26 de agosto de 2021.

Aftyka, R. (2018). *Pasión por la cerveza*. Argentina: Penguin Random House Grupo Editorial Argentina.

Anaya, A., & Pedroza, H. (2008). *Scaling-up, the art of chemical engineering: Pilot plants, the step between the egg and the hen*. Escalamiento. UNAM. México.

Anón. (2017). *Técnicas de cervecería artesanal: aprende a hacer tu propia cerveza*. Buenos Aires: Paulo Sebess.

Boulton, C., & Quain, D. (2006). *Brewing yeast and fermentation*. Wiley-Blackwell.

Cano, E. (2019). *Efecto del tratamiento del agua en la elaboración de la cerveza: aplicación en una microcervecería artesanal*. Universidad de Sevilla. España. <http://bibing.us.es/proyectos/abreproy/92442/fichero/TFG-2442-COLETO+CANO.pdf>

Central America Data. (CAD). (2021). *Cerveza: Guatemala mayor importador en el primer semestre 2021*. Área de inteligencia comercial. [https://www.centralamericadata.com/es/article/home/Cerveza\\_Guatemala\\_mayor\\_importador\\_en\\_el\\_primer\\_semestre\\_2021](https://www.centralamericadata.com/es/article/home/Cerveza_Guatemala_mayor_importador_en_el_primer_semestre_2021)

Colegrave, N., & Ruxton, G. D. (2018). Using biological insight to guide statistical practice: The case of replication. *Functional Ecology*, 32(7), 1628–1635. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13145>

Del Río, L. (2016). *Producción de cerveza y efectos de un consumo moderado sobre la salud*. Facultad de Farmacia Universidad Complutense de Madrid. <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/LAURA%20PILAR%20DEL%20RIO%20MORONA.pdf>

Deng, H., Wang, M., & Li, E. (2023). Continuous fed-batch strategy decreases acetic acid production and increases volatile ester formation in wines under high-gravity fermentation. *OENO One*, 57(1), 363–374. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2023.57.1.7238>

Díaz, M. (2013). *Cerveza: Componentes y propiedades. La malta y el proceso de malteado*. Universidad de Oviedo. España. [https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/19093/TFM\\_%20Maria%20Suarez%20Diaz.pdf](https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/19093/TFM_%20Maria%20Suarez%20Diaz.pdf)

Distrines. (2021). *Insumos de cerveza. Lúpulo Cascade*. Bogotá. Colombia. <https://distrines.com/lupulos/28/lupulo-cascade>

Du, G., Zhan, J., Li, J., You, Y., Zhao, Y., & Huang, W. (2012). Effect of fermentation temperature and culture medium on glycerol and ethanol during wine fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63(1), 132–138. <https://doi.org/10.5344/ajev.2011.11067>

- Du, Q., Ye, D., Zang, X., Nan, H., & Liu, Y. (2022). Effect of low temperature on the shaping of yeast-derived metabolite compositions during wine fermentation. *Food Research International*, 162, 112016. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112016>
- Durello, R., Silva, L., & Bogusz Jr., S. (2019). Química do lúpulo. *Química Nova*. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170412>
- Durello, R., Silva, L., & Bogusz Jr., S. (2019). Química do lúpulo. *Química Nova*.
- Fermentis. (2023). *Yeast SafAle US-05. Active dry yeast beer. Beer and Brewing solutions*. Extraído de: <https://fermentis.com/en/product/safale-us-05/> Consultado el 23 de mayo de 2023.
- Forbes Centro América. (2019). *Cerveceras. Un negocio que crece como “espuma”*. Forbes Staff. <https://forbescentroamerica.com/2019/06/24/cerveceras-un-negocio-que-crece-como-espuma>
- González, M. (2017). *Principios de elaboración de cerveza artesanal*. Estados Unidos: Editorial Lulu Enterprises.
- Hacer Cerveza Artesanal (HCA). (2020). *Tipos de cerveza. Tipos de cervezas artesanales*. <https://hacercervezaartesanal.com/tipos-de-cervezas/> Consultado el 26 de agosto de 2021.
- Hall, R. D., & Harris, G. (1990). Carbohydrates in malting and brewing v. further studies on the carbohydrates of barley, malt and wort. *Brewing Industry Research Foundation*, 232–233.
- JAIK Corp. (2021). *Fermentadores isobáricos unitank*. <https://jaiaktrade.com/fermentadores-isobaricos-unitank/> Consultado el 26 de agosto de 2021.
- Koolman, J. (2005). *Bioquímica: texto y atlas* (3ª ed.). España: Ed. Médica Panamericana.
- Kunze, W. (2014). *Technology brewing and malting* (5th ed.). VLB Berlin.
- Lee, J. M. (2009). *Biochemical Engineering*. Department of Chemical Engineering, Washington State University. Prentice-Hall.
- Maltas Cerveceros. (2021). *La cerveza artesana desde el interior. El grano*. <http://www.maltascerveceros.com/el-malteado/> Consultado el 26 de agosto de 2021.
- Martínez, A. (2015). *Análisis comparativo de compuestos bioactivos en cerveza artesanal y cerveza industrial*. Universidad de Lleida. España.
- Molina, A. M., Swiegers, J. H., Varela, C., Pretorius, I. S., & Agosin, E. (2007). Influence of yeast strain and fermentation conditions on the production of volatile aroma compounds in Chardonnay wine. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77(2), 393–407. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1154-3>
- Morales, F. (2020). *Estandarización. Definición técnica*. Economipedia. <https://economipedia.com/definiciones/estandarizacion.html>
- Motulsky, H. (2014). *Intuitive biostatistics: A nonmathematical guide to statistical thinking* (3rd ed.). Oxford University Press.

Narajno, D. (2019). ¿Qué son los IBUs en la cerveza? *IPA. Install Beer*.

Narendranath, N. V., & Power, R. (2005). Relationship between pH and medium dissolved solids in terms of growth and metabolism of *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(5), 2239–2243.

Ngwenya, T. T. (2012). An industrial perspective of factors affecting molasses fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Brewing and Distilling*, 3(2). <https://doi.org/10.5897/JBD12.002>

Observatorio de Complejidad Económica (OEC). (2021). *Actividad de cerveza en Guatemala. Exportaciones e importaciones*. <https://oec.world/es/profile/bilateral-product/beer/reporter/gtm?latestTrendsViewSelector=latestTrendsViewOption0>

Pires, E. (2015). *Biochemistry of beer fermentation*. Springer Briefs in Biochemistry and Molecular Biology.

Pires, E. J., Teixeira, J. A., Brányik, T., & Vicente, A. A. (2014). Yeast: The soul of beer's aroma—A review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(5), 1937–1949. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5470-0>

Rossini, F., Virga, G., Loreti, P., Iacuzzi, N., Ruggeri, R., & Provenzano, M. E. (2021). Hops (*Humulus lupulus* L.) as a novel multipurpose crop for the Mediterranean region of Europe: Challenges and opportunities of their cultivation. *Agriculture*, 11(6), 484. <https://doi.org/10.3390/agriculture11060484>

Suárez, C., Garrido, N. A., & Guevara, C. A. (2016). *Levadura Saccharomyces cerevisiae y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica*. ICIDCA.

Walker, G. M., & Stewart, G. G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. *Beverages*, 2(4), 30. <https://doi.org/10.3390/beverages2040030>

## XII. ANEXOS

### A. DATOS ORIGINALES

#### 1. Ensayos de fermentación de cerveza a escala laboratorio

Cuadro 12. Azúcares fermentables y etanol presente a lo largo de 7 días de fermentación del ensayo 1 (15°C) en triplicado con una hora de agitación obtenidos a partir de HPLC

Día	Etanol $\pm 0.00001$ %m/v	Maltosa $\pm 0.00001$ %m/v	Glucosa $\pm 0.00001$ %m/v	Fructosa $\pm 0.00001$ %m/v
0	0	8.461	1.441	0.220
	0	8.296	1.455	0.229
	0	8.135	1.450	0.233
1	1.447	7.337	1.068	0.733
	1.007	7.664	1.126	0.819
	1.027	7.278	1.188	0.827
3	4.402	3.704	0.066	0.175
	4.182	3.903	0.063	0.177
	4.127	3.770	0.061	0.175
5	5.612	0.723	0.070	0.165
	5.657	0.747	0.070	0.168
	5.629	0.789	0.070	0.166
	5.734	0.434	0.070	0.106

7	5.736	0.434	0.070	0.106
	5.827	0.436	0.070	0.105

Cuadro 13. Azúcares fermentables y etanol presente a lo largo de 7 días de fermentación del ensayo 2 (15°C) en triplicado con tres horas de agitación obtenidos a partir de HPLC

Día	Etanol $\pm 0.00001$ %m/v	Maltosa $\pm 0.00001$ %m/v	Glucosa $\pm 0.00001$ %m/v	Fructosa $\pm 0.00001$ %m/v
	0	8.461	1.444	0.231
0	0	8.044	1.334	0.244
	0	8.611	1.399	0.211
	0.947	7.293	1.311	0.835
1	0.942	7.307	1.238	0.828
	0.922	7.317	1.179	0.815
	4.365	3.835	0.067	0.176
3	4.183	4.202	0.065	0.172
	4.247	3.987	0.061	0.175
	5.743	0.449	0.074	0.172
5	5.732	0.447	0.075	0.171
	5.726	0.420	0.074	0.172
	5.865	0.360	0.075	0.073

7	5.870	0.386	0.074	0.073
	5.900	0.361	0.075	0.073

Cuadro 14. Azúcares fermentables y etanol presente a lo largo de 7 días de fermentación del ensayo 3 (17.5°C) en triplicado con una hora de agitación obtenidos a partir de HPLC

Día	Etanol $\pm 0.00001$ %m/v	Maltosa $\pm 0.00001$ %m/v	Glucosa $\pm 0.00001$ %m/v	Fructosa $\pm 0.00001$ %m/v
	0	7.968	1.434	0.225
0	0	8.145	1.441	0.267
	0	8.267	1.437	0.234
	1.097	7.246	1.249	0.843
1	1.113	7.345	1.296	0.846
	1.053	7.317	1.306	0.832
	4.532	4.389	0.079	0.231
3	4.478	4.134	0.067	0.189
	4.413	4.056	0.065	0.195
	5.901	0.468	0.073	0.123
5	5.869	0.493	0.074	0.094
	5.795	0.449	0.075	0.096
	6.046	0.326	0.073	0.073

7	5.976	0.356	0.074	0.073
	5.934	0.345	0.075	0.073

Cuadro 15. Azúcares fermentables y etanol presente a lo largo de 7 días de fermentación del ensayo 4 (17.5°C) en triplicado con tres horas de agitación obtenidos a partir de HPLC

Día	Etanol $\pm 0.00001$ %m/v	Maltosa $\pm 0.00001$ %m/v	Glucosa $\pm 0.00001$ %m/v	Fructosa $\pm 0.00001$ %m/v
	0	7.948	1.441	0.223
0	0	8.369	1.432	0.274
	0	8.272	1.428	0.241
	1.103	7.253	1.251	0.844
1	1.124	7.376	1.293	0.849
	1.096	7.326	1.301	0.836
	4.551	4.376	0.083	0.238
3	4.462	4.145	0.069	0.179
	4.433	4.068	0.058	0.186
	5.910	0.449	0.072	0.131
5	5.889	0.471	0.073	0.084
	5.864	0.462	0.072	0.089
	6.035	0.324	0.072	0.073

7	5.983	0.348	0.073	0.073
	5.991	0.337	0.072	0.073

Cuadro 16. Azúcares fermentables y etanol presente a lo largo de 7 días de fermentación del ensayo 5 (20°C) en triplicado con una hora de agitación obtenidos a partir de HPLC

Día	Etanol $\pm 0.00001$ %m/v	Maltosa $\pm 0.00001$ %m/v	Glucosa $\pm 0.00001$ %m/v	Fructosa $\pm 0.00001$ %m/v
	0	7.962	1.451	0.251
0	0	7.986	1.438	0.246
	0	8.046	1.439	0.249
	1.276	7.103	1.135	0.879
1	1.281	6.978	1.146	0.910
	1.285	6.899	1.151	0.891
	4.867	3.712	0.091	0.461
3	4.891	3.678	0.099	0.413
	4.858	3.681	0.103	0.398
	6.231	0.334	0.073	0.073
5	6.316	0.286	0.073	0.073
	6.245	0.313	0.073	0.073
	6.978	0.156	0.073	0.073

7	7.221	0.098	0.073	0.073
	7.049	0.134	0.073	0.073

Cuadro 17. Azúcares fermentables y etanol presente a lo largo de 7 días de fermentación del ensayo 6 (20°C) en triplicado con tres horas de agitación obtenidos a partir de HPLC

Día	Etanol $\pm 0.00001$ %m/v	Maltosa $\pm 0.00001$ %m/v	Glucosa $\pm 0.00001$ %m/v	Fructosa $\pm 0.00001$ %m/v
	0	8.124	1.453	0.236
0	0	7.967	1.470	0.244
	0	8.046	1.461	0.239
	1.264	7.097	1.151	0.868
1	1.283	6.993	1.131	0.893
	1.255	6.991	1.149	0.904
	4.866	3.703	0.087	0.489
3	4.873	3.684	0.096	0.475
	4.869	3.697	0.093	0.736
	6.263	0.346	0.073	0.073
5	6.349	0.279	0.073	0.073
	6.274	0.320	0.073	0.073
	7.013	0.136	0.073	0.073

7	7.144	0.121	0.073	0.072
	6.994	0.117	0.073	0.073

Cuadro 18. Propiedades fisicoquímicas de interés de los ensayos realizados a escala laboratorio

Ensayos	Propiedades	
	pH ( $\pm 0.01$ )	° Brix a 20°C ( $\pm 0.05$ %)
Ensayo 1 y 2 (15°C)	5.04	7.7
Ensayo 3 y 4 (17.5°C)	5.11	7.8
Ensayo 5 y 6 (20°C)	5.34	8.9

Cuadro 19. Peso seco de biomasa a lo largo de la etapa de fermentación de las muestras 1 y 2

Día	Peso seco biomasa ( $\pm 0.001$ g)
0	0.001
1	0.0024
3	0.00293
5	0.00486
7	0.00565

Cuadro 20. Peso seco de biomasa a lo largo de la fermentación de los ensayos 3 y 4

Día	Peso seco biomasa ( $\pm 0.001$ g)
0	0.001
1	0.00212
3	0.00434
5	0.00516
7	0.00591

Cuadro 21. Peso seco de biomasa a lo largo de la fermentación de los ensayos 5 y 6

Día	Peso seco biomasa ( $\pm 0.001$ g)
0	0.001
1	0.00242
3	0.00471
5	0.00543
7	0.00617

## 2. Ensayos de fermentación realizada a escala industrial

Cuadro 22. Cantidad de etanol y azúcares de los lotes industriales determinados por medio de HPLC en dilución 1/10

Ensayo	Etanol $\pm 0.00001$ %m/v	Maltosa $\pm 0.00001$ %m/v	Glucosa $\pm 0.00001$ %m/v	Fructosa $\pm 0.00001$ %m/v
Ensayo 7	10.2813	0.87026	0.0613	0.04989
Ensayo 8	10.1519	0.83426	0.0289	0.01416
Ensayo 9	9.0768	0.74338	0.0257	0.00411

Cuadro 23. Propiedades fisicoquímicas de interés de los lotes producidos a escala industrial

Ensayos	Propiedades		
	pH ( $\pm 0.01$ )	° Brix a 20°C iniciales ( $\pm 0.05$ %)	° Brix a 20°C finales ( $\pm 0.05$ %)
Ensayo 7	5.13	14.9	4.08
Ensayo 8	5.07	15	4.08
Ensayo 9	5.02	15.2	4.83

Cuadro 24. Dureza del agua utilizada para la preparación del mosto

Muestra	Propiedad
	Dureza ( $\pm 8.93$ ppm $\text{CaCO}_3$ )
Agua pura salvavidas	107.16

Cuadro 25. Grupos formados para el análisis estadístico de prueba t de Student para diferencia de medias

	Grupos	
	Cantidad promedio de etanol obtenida en ensayos sin agitación inicial ( $\pm 0.00001$ %m/v)	Cantidad promedio de etanol obtenida en ensayos con 3 horas de agitación inicial ( $\pm 0.00001$ %m/v)
Ensayo 1 y 2	5.67	5.88
Ensayo 3 y 4	5.99	6.03
Ensayo 5 y 6	7.08	7.05

Este cuadro presenta los grupos realizados para llevar a cabo el análisis de prueba t de Student de diferencia de medias para la determinación de la sensibilidad de la agitación para la producción de etanol.

Cuadro 26. Grupos formados para el análisis estadístico ANOVA para determinar la sensibilidad de la temperatura durante la fermentación

	Grupos		
	Grupo 1 (Temperatura de fermentación 15 °C)	Grupo 2 (Temperatura de fermentación 17.5°C)	Grupo 3 (Temperatura de fermentación 20°C)
Cantidad promedio de etanol producida (±0.00001 %m/v)	5.67033	5.98533	7.08267
	5.87833	6.03100	7.05033

En este cuadro se presentan los grupos formados por la cantidad de etanol producida a diferentes temperaturas con el fin de la aplicación de un análisis estadístico ANOVA, para la determinación de la sensibilidad de la temperatura en la producción de etanol.

## B. CÁLCULO DE MUESTRA

Determinación del sustrato presente en cada ensayo en diferentes unidades de medida.

Cálculo 1. Corrección por dilución de sustrato en el medio

$$C_s = \frac{\text{Concentración de muestra}}{\text{Corrección por dilución}}$$

Utilizando los datos originales de los cuadros 12 al 17 y 22 de la sección de anexos, se obtiene:

$$C_s = \frac{1.6148 \% m/v}{\frac{1 mL}{10 mL}} = 16.148 \%m/v$$

Cálculo 2. Determinación de concentración de azúcares fermentables en el mosto en g/L por medio de la conversión de %m/v

$$\left(\frac{16.148g \text{ maltosa}}{100 ml}\right) * \left(\frac{1000ml}{1 L}\right) = 161.48g \text{ maltosa/L}$$

Este cálculo se utilizó para realizar la conversión de %m/v a g/L de todas las muestras de azúcares fermentables.

Cálculo 3. Conversión de concentración de azúcares fermentables en g/L a mol/L

$$\left(\frac{161.48g \text{ maltosa}}{1 L}\right) * \left(\frac{1 \text{ mol}}{342.3 g \text{ maltosa}}\right) = 0.4718 \text{ mol maltosa/L}$$

Este cálculo se utilizó para realizar la conversión de g/L a mol/L de cada azúcar fermentable según su peso molar.

Cálculo 4. Conversión de concentración de maltosa a concentración de glucosa

$$0.4718 \frac{\text{mol maltosa}}{L} * \left(\frac{2 \text{ mol glucosa}}{1 \text{ mol maltosa}}\right) = 0.9435 \text{ mol glucosa/L}$$

Cálculo 5. Conversión de concentración de glucosa en mol/L a g/L

$$0.9435 \frac{\text{mol glucosa}}{L} * \left(\frac{180.156 g \text{ glucosa}}{1 \text{ mol glucosa}}\right) = 169.9782 g \text{ glucosa/L}$$

Cálculo 6. Concentración total de azúcares fermentables en términos de glucosa para su utilización como sustrato general

$$C_s = [\text{Glucosa prov. de maltosa}] g/L + [\text{glucosa}]g/L = [\text{Sustrato}]g/L$$

$$C_s = 169.9782 \frac{g}{L} + 34.2610 \frac{g}{L} = 204.2392 \frac{g}{L} \text{ de sustrato}$$

Estos cálculos se utilizaron para determinar las concentraciones de sustrato presentes en las muestras a lo largo de la experimentación.

### XIII. Determinación de densidades del mosto.

Cálculo 7. Conversión de gravedad específica a densidad en g/cm<sup>3</sup>

$$\rho_{\text{sustancia}} = GE * \rho_{H_2O} = (1.031) * \left(0.998 \frac{g}{cm^3}\right) = 1.029 \frac{g}{cm^3}$$

Este cálculo se utilizó para determinar las densidades del mosto en cada ensayo. Las gravedades específicas fueron determinadas por medio de la tabla de conversiones de °Brix a gravedad específica anexada.

### XIV. Determinación de los grados IBU

Cálculo 8. Factor de corrección según densidad

$$Fc = 1 + \frac{\frac{Di}{1000} - 1.05}{0.2} = 1.06$$

Cálculo 9. Grados IBU de amargor por medio del método de Rager

$$IBU = \frac{Plu * \%AA * \%U}{Lm * Fc * 10}$$

En donde:

Plu: Peso de lúpulo utilizado en g

%AA: Porcentaje de ácidos alfa del lúpulo utilizado

%U: Porcentaje de utilización del lúpulo según su presentación y tiempo de cocción

Lm: Litros de mosto

Fc: Factor de corrección según densidad

$$IBU = \frac{230g * 8 * 19}{50L * 1.05 * 10} = 67 IBU's$$

Este cálculo se utilizó para determinar los grados IBU de los lotes industriales producidos.

Cálculo 10. Determinación de peso seco de biomasa por medio de diferencia de pesos

$$\begin{aligned} \text{Peso Eppendorf biomasa seca (g)} - \text{Peso Eppendorf vacío (g)} &= \text{Peso seco biomasa (g)} \\ 0.932 \text{ g} - 0.9382 &= 0.00617g \end{aligned}$$

Este cálculo se utilizó para determinar el peso seco de biomasa de todas las muestras analizadas a escala laboratorio.

Cálculo 11. Determinación de la concentración de biomasa

$$\left(\frac{0.00617g}{mL}\right) * \left(\frac{1000mL}{1L}\right) = 6.17 \text{ g/L}$$

Este cálculo se utilizó para realizar la conversión de peso seco por mililitro a concentración de biomasa en gramos por litro.

## C. ANÁLISIS DE ERROR

**Cálculo 12.** Media de una serie de datos

$$X = \frac{\sum x}{n}$$

- $x$  = dato de la serie
- $n$  = total de datos en la serie

$$X = \frac{5.648 + 5.936 + 5.427}{3} = 5.67 \% \frac{v}{v} \text{ Etanol}$$

Este cálculo se utilizó para determinar el promedio de valores de pH, %EtOH y %Azúcares fermentables.

**Cálculo 13.** Desviación estándar de una serie de datos

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - x)^2}{(n - 1)}}$$

- $x_i$  = media de los datos de una serie
- $x$  = dato de la serie
- $n$  = total de datos de la serie

$$S = \sqrt{\frac{(5.67 - 5.648) + (5.67 - 5.936)^2 + (5.67 - 5.427)^2}{(3 - 1)}} = 0.2084$$

Este cálculo se utilizó para determinar la desviación estándar de los valores de pH, %EtOH y %Azúcares fermentables.

#### **Cálculo 14.** Propagación de error de suma y resta

$$\Delta y = \sqrt{(\Delta a)^2 + (\Delta b)^2 + (\Delta c)^2}$$

- $\Delta y$  = Propagación de error
- $y$  = Resultado final
- $\Delta a, \Delta b, \Delta c$  = incertidumbres de los instrumentos
- $a, b, c$  = datos obtenidos con los instrumentos

Este mismo cálculo se realizó para determinar las incertidumbres de los resultados obtenidos para propagación de error en sumas y restas.

#### **Cálculo 15.** Propagación de error por multiplicación y división

$$\Delta y = y \left( \sqrt{\left(\frac{\Delta a}{a}\right)^2 + \left(\frac{\Delta b}{b}\right)^2 + \left(\frac{\Delta c}{c}\right)^2} \right)$$

- $\Delta y$  = Propagación de error
- $y$  = Resultado final
- $\Delta a, \Delta b, \Delta c$  = incertidumbres de los instrumentos
- $a, b, c$  = datos obtenidos con los instrumentos

Este mismo cálculo se realizó para determinar las incertidumbres de los resultados obtenidos para propagación de error en multiplicación y división.

## D. DATOS CALCULADOS

Cuadro 27. Suavización del triplicado realizado de etanol y azúcares fermentables iniciales de cada ensayo a escala laboratorio

<b>Ensayo</b>	Etanol $\pm 0.00001$ %m/v	Maltosa $\pm 0.00001$ %m/v	Glucosa $\pm 0.00001$ %m/v	Fructosa $\pm 0.00001$ %m/v
1	5.67033	8.3	1.45	0.23
2	5.87833	8.37	1.39	0.23
3	5.98533	8.13	1.44	0.24
4	6.0310	8.2	1.43	0.25
5	7.08267	8.00	1.44	0.25
6	7.05033	8.05	1.46	0.24

Cuadro 28. Corrección por dilución de los resultados de concentración de azúcares fermentables obtenidos por medio de HPLC de los ensayos 7, 8 y 9

Ensayo	Maltosa $\pm 0.00001$ %m/v	Glucosa $\pm 0.00001$ %m/v	Fructosa $\pm 0.00001$ %m/v
Ensayo 7	16.148	3.4261	0.5509
Ensayo 8	15.949	3.5467	0.5753
Ensayo 9	14.256	3.2862	0.5330

Cuadro 29. Estadística descriptiva de los resultados obtenidos de producción de etanol a escala laboratorio según cada temperatura utilizada

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Temperatura 1	2	11.549	5.774	0.02163
Temperatura 2	2	12.016	6.008	0.00104
Temperatura 3	2	14.133	7.067	0.00052

Cuadro 30. Rendimientos de producción de etanol con consumo de sustrato de la escala industrial

Ensayos	Rendimiento de producción de etanol
	$Y_{p/s}$ (g/g)
Ensayo 7	0.82988
Ensayo 8	0.88289
Ensayo 9	0.88293

Cuadro 31. Grado de amargor calculado por medio del método de Rager para cada lote producido a escala industrial

Ensayo	Grados de Amargor (IBU)
Ensayo 7	67
Ensayo 8	67

Ensayo 9	67
----------	----

Cuadro 32. Densidad del mosto de cada ensayo producido

<b>Ensayo</b>	<b>Densidad (<math>\pm 0.005 \text{ g/cm}^3</math>)</b>
Ensayo 1 y 2	1.028
Ensayo 3 y 4	1.029
Ensayo 5 y 6	1.033
Ensayo 7	1.059
Ensayo 8	1.059
Ensayo 9	1.060

Cuadro 33. Concentración de biomasa durante la fermentación a escala laboratorio de los ensayos 1 y 2

<b>Día</b>	<b>Concentración Biomasa (<math>\pm 0.001 \text{ g/L}</math>)</b>
0	1
1	2.4
3	2.93
5	4.86
7	5.65

Cuadro 34. Concentración de biomasa durante la fermentación a escala laboratorio de los ensayos 3 y 4

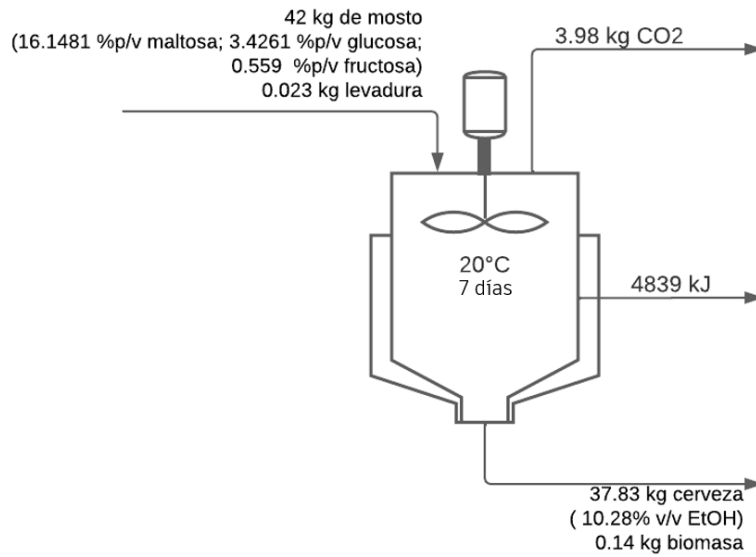
<b>Día</b>	<b>Concentración Biomasa (<math>\pm 0.001</math> g/L)</b>
0	1
1	2.12
3	4.34
5	5.16
7	5.91

Cuadro 35. Concentración de biomasa durante la fermentación a escala laboratorio de los ensayos 5 y 6

<b>Día</b>	<b>Concentración Biomasa (<math>\pm 0.001</math> g/L)</b>
0	1
1	2.42
3	4.71
5	5.43
7	6.17

## E. BALANCE DE MASA Y ENERGÍA

Figura 13. Balance de masa y energía del fermentador en la etapa industrial



En esta figura se representa el balance de masa y energía para la producción de un lote de 40L de cerveza a escala industrial con las respectivas composiciones del mosto que ingresa al reactor, así como los productos y subproductos de la reacción a lo largo de 7 días de operación.

## F. FICHAS TÉCNICAS DE LOS INGREDIENTES UTILIZADOS

Figura 14. Ficha técnica de la malta base utilizada

# CERTIFICADO

## PATAGONIA PALE ALE

**I. INFORMACION DEL LOTE**

Nº de Lote	222832002021
Fecha Producción	11-07-2022
Fecha Vencimiento	11-07-2024

**II. CALIDAD FISICOQUIMICA**

Parámetro	Unidad	Resultado de Análisis	Especificación
Humedad	%	4,0	≤ 5,5
Extracto Fino s.s.	%	80,8	≥ 78
Diferencia de extracto	%	0,8	≤ 2,0
Proteína Total	%	10,0	9,0 – 12,5
Proteína Soluble	%	3,9	3,5 – 6,0
Poder Diastásico	°WK	270	≥ 250
Sacarificación	min	9	≤ 15
Color del Mosto	EBC	7,2	5,5 – 7,5
Color del Mosto Hervido	EBC	9,5	7,5 – 9,5
Filtración del Mosto	min	43	≤ 60
Nitrógeno soluble	mg/100g	630	560 – 950
Índice Kolbach	%	39,5	37 – 47
Hartong VZ °45	%	43	-
FAN	mg/l	151	≥ 120
pH		5,90	≥ 5,0
Viscosidad	cP	1,52	≤ 1,65
Friabilidad	%	83,0	≥ 83
Mallaje > 2,8 + 2,5 mm	%	95,8	≥ 85
Mallaje < 2,2 mm	%	2,0	≤ 3,0

**III. DURACIÓN**

La duración de la Malta es de 24 meses desde su fecha de producción, almacenada en un lugar fresco, seco, limpio, libre de plagas y de aromas extraños. (Temperatura máxima sugerida 30° C)



Bruno J. González Luengo  
Jefe de Control de Calidad  
[Bgonzalez@maltexco.com](mailto:Bgonzalez@maltexco.com)  
[www.maltexco.com](http://www.maltexco.com)



**PATAGONIA MALT**  
Flavors from the end of the Earth

Figura 15. Ficha técnica de la malta tipo Múnich utilizada

# CERTIFICADO

## PATAGONIA MUNICH

**I. INFORMACION DEL LOTE**

N° de Lote	221832002020
Fecha Producción	05-05-2022
Fecha Vencimiento	05-05-2024

**II. CALIDAD FISICOQUIMICA**

Parámetro	Unidad	Resultado de Análisis	Especificación
Humedad	%	3,6	≤ 7,0
Extracto Fino s.s.	%	79,3	≥ 70
Diferencia de extracto	%	2,0	-
Proteína Total	%	11,3	9,0 – 12,5
Proteína Soluble	%	4,3	-
Poder Diastásico	°WK	-	-
Sacarificación	min	14	≤ 15
Color del Mosto	EBC	27	25 – 35
Color del Mosto Hervido	EBC	38	-
Filtración del Mosto	min	50	-
Nitrógeno soluble	mg/100g	688	-
Índice Kolbach	%	38,0	-
Hartong VZ. °45	%	39,0	-
FAN	mg/l	180	-
pH	-	5,9	-
Viscosidad	cP	1,58	-
Friabilidad	%	68,0	-
Mallaje > 2,8 + 2,5 mm	%	96,4	-
Mallaje < 2,2 mm	%	1,5	-

**III. DURACIÓN**

La duración de la Malta es de 24 meses desde su fecha de producción, almacenada en un lugar fresco, seco, limpio, libre de plagas y de aromas extraños. (Temperatura máxima sugerida 30° C)



Bruno J. González Luengo  
 Jefe de Control de Calidad  
[Bgonzalez@maltexco.com](mailto:Bgonzalez@maltexco.com)  
[www.maltexco.com](http://www.maltexco.com)



Figura 16. Ficha técnica de la malta tipo Caramel utilizada

# CERTIFICADO

## CARAMEL 55 L/150 EBC

**I.- Información General**

Caramel 55L/150 EBC es un producto 100% natural, elaborada a partir de la malta verde. En su proceso de tostación se realiza una verdadera caramelización de los azúcares, desarrollando sabores, aromas y colores únicos

**II.- Calidad**

Apta para consumo humano y libre de sustancias dañinas o tóxicas.

**III.- Calidad Sensorial**

Apariencia : Grano friable, color café dorado brillante  
 Aroma : Agradable, más intenso que la malta Pilsen, dulce  
 Sabor : Agradable, dulce, acaramelado

**IV.- Calidad Físico – Química**

ANÁLISIS	UNIDAD DE MEDICIÓN	RESULTADOS DE ANÁLISIS	ESPECIFICACIÓN
Lote	---	MC-211208	
Fecha de Fabricación	---	08.12.2021	
Humedad	%	3.5	Máx. 7.0
Color	EBC	156	130-170
Extracto fino s.s.	%	78.7	Mín. 65

**V.- Duración**

En envase original, saco de polipropileno, 24 meses desde su fecha de producción, almacenada en un lugar fresco, seco, limpio, libre de plagas y de aromas extraños. (Temperatura máxima sugerida 30° C).




Bruno González Luengo  
 Jefe de Control de Calidad  
[brgonzalez@maltesco.com](mailto:brgonzalez@maltesco.com)  
[www.maltesco.com](http://www.maltesco.com)

28 de septiembre de 2022



**PATAGONIAMALT**  
 Sabor del Sur del Mundo

Figura 17. Ficha técnica de la malta tipo Chateau Cara Blond



*Maltas Belgas que Hacen Sus Cervezas Tan Especiales*

### ESPECIFICACIÓN

**CHÂTEAU CARA BLOND®**  
Cosecha 2022

PARÁMETROS	Unidad	Min	MÁX
Humedad	%		8.5
Extracto (base seca)	%	78.0	
Color del mosto	EBC(Lov.)	17 (6.9)	24 (9.6)
pH			6.0

**Propiedades**

Malta pálida tipo caramelo belga. Germina a una temperatura elevada. El sabor se desarrolla a una temperatura de hasta 220 °C. Aroma intenso.

**Características**

La malta Château Cara Blond® proporciona un aroma suave y dulce a caramelo así como un color dorado a la cerveza. Una característica distintiva de todas las maltas caramelo es su naturaleza vidriada. Este endospermo vidriado genera los componentes no fermentables adecuados que otorgan a las verdaderas maltas caramelo la capacidad de contribuir a la sensación en boca, la espuma, la retención de la espuma y la duración de la estabilidad de la cerveza.

**Uso**

Lagers ligeras, ales ligeras, con poco o nada de alcohol, cervezas blancas. Hasta el 30% de la mezcla.

**Almacenamiento y tiempo de caducidad**

La malta debe almacenarse en un lugar limpio, fresco (< 22 °C), seco (< 35 RH %) y sin plagas. En estas condiciones, recomendamos utilizar todos los productos de grano en un plazo de 24 meses a partir de la fecha de producción y todos los productos molidos en un plazo de tres meses. Las maltas almacenadas incorrectamente pueden perder su frescor y sabor.

**Embalaje**

A granel; A granel en Liner Bag en contenedor; Sacos (25 kg, 50 kg); Big bags (400-1.250 kg). Todos los tipos de embalaje en contenedores de 20' o 40' para las exportaciones.

**IMPORTANTE**

Nosotros garantizamos para todas nuestras maltas una trazabilidad de 100% desde el campo de cebada a través del proceso de producción de la malta hasta la entrega según el Reglamento (CE) n° 178/2002 con respeto a la trazabilidad de los productos alimenticios.

Todas nuestras maltas son fabricadas según el método tradicional de fabricación de la malta que dura de 8 a 10 días lo que constituye una sólida garantía de alta modificación de los granos y de la calidad superior de las maltas Premium.

Nuestras maltas son fabricadas en estricta conformidad con la Legislación con respeto a la utilización de los OGM que prohíbe la producción de la malta obtenida a partir de cebada genéticamente modificada dentro de Reglamento (CE) no 1829/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo.

Nuestra producción está en estricta conformidad con las normas HACCP (Hazard Analyses of Critical Control Points) en vigor.

Nuestras maltas no sobrepasan los valores límite de los índices admisibles de pesticidas, herbicidas, micotoxinas y nitrosaminas según las normas de la UE e internacionales.

Las entregas de nuestras maltas están efectuadas exclusivamente para transportadores compulsados GMP.

Sobre nuestro sitio [www.castlemalting.com](http://www.castlemalting.com) vosotros podéis visualizar e imprimir los boletines de análisis de la malta suministrada.

La Maltere du Château SA (Castle Malting)  
Sede administrativo: Rue de Mons (Bel) 94, 7970 Beloel, Bélgica; Distribution Center: Rue de l'Orbette 1, 7011 Ghlin (Mons), Bélgica; Sitio de producción: Rue de

Figura 18. Ficha técnica del lúpulo Cascade utilizado

Issued To: Hops Direct, LLC  
686 Green Valley Rd  
Mabton, WA 98935



380 Green Valley Rd. Mabton, WA 98935 | PH. 1.509.837.3616 | info@hopsdirect.com

### CERTIFICATE OF ANALYSIS

Lot Identification Cascade 101421399014

Date Reported: 10/25/2021

Date Tested: 10/25/2021

Sample Type: Hop Pellet

Alpha Acids: 8.9%

Beta Acids: 6.5%

HSI: 0.267


1.4mls of oil per 100g = 1.4%

Issuing Authority Signature

*Matthew Crane*

Methods: Spectrophotometry for % Alpha, Beta and HSI; Steam Distillation for Total Oil


Figura 19. Ficha técnica de la levadura utilizada




**Fermentis**  
LESAFFRE FOR BEVERAGES

TECHNICAL DATA SHEET - SafAle™ US-05 - Rev :  
MARCH2018 – Page 1/2

---



## SafAle™ US-05



ACTIVE DRY YEAST

American ale yeast producing well balanced beers with low diacetyl and a very clean, crisp end palate. Forms a firm foam head and presents a very good ability to stay in suspension during fermentation.

**INGREDIENTS:** Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), emulsifier E491


TOTAL ESTERS	TOTAL SUPERIOR ALCOHOLS	RESIDUAL SUGARS	FLOCCULATION	SEDIMENTATION
40	269	11 g/l*	+/-	medium
ppm at 18°P at 20°C in EBC tubes	ppm at 18°P at 20°C in EBC tubes	*3g maltotriose/L corresponding to an apparent attenuation of 81%		

Fermentis dry brewing yeasts are well known for their ability to produce a large variety of beer styles. In order to compare our strains, we ran fermentation trials in laboratory conditions with a standard wort for all the strains and standard temperature conditions (SafLager: 12°C for 48h then 14°C / SafAle: 20°C). We focused on the following parameters: Alcohol production, residual sugars, flocculation and fermentation kinetic.

Given the impact of yeast of the quality of the final beer it is recommended to respect the recommended fermentation instructions. We strongly advise users to make fermentation trials before any commercial usage of our products.

**FERMENTATION:** ideally at 18-28°C (64-82°F)

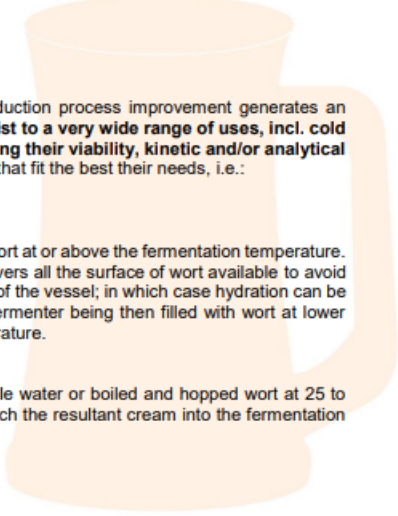
**PITCHING:**



Lesaffre know-how and continuous yeast production process improvement generates an **exceptional quality of dry yeasts able to resist to a very wide range of uses, incl. cold or no rehydration conditions, without affecting their viability, kinetic and/or analytical profile.** Brewers can choose usage conditions that fit the best their needs, i.e.:

- **Direct Pitching**  
Pitch the yeast directly in the fermentation vessel on the surface of the wort at or above the fermentation temperature. Progressively sprinkle the dry yeast into the wort ensuring the yeast covers all the surface of wort available to avoid clumps. Ideally, the yeast will be added during the first part of the filling of the vessel; in which case hydration can be done at wort temperature higher than fermentation temperature, the fermenter being then filled with wort at lower temperature to bring the entire wort temperature at fermentation temperature.
- **With prior rehydration**  
Alternatively, sprinkle the yeast in minimum 10 times its weight of sterile water or boiled and hopped wort at 25 to 29°C (77°F to 84°F). Leave to rest 15 to 30 minutes, gently stir and pitch the resultant cream into the fermentation vessel.

**DOSAGE:**  
50 to 80 g/hl



The obvious choice for beverage fermentation 



**TYPICAL ANALYSIS:**

% dry weight:	94.0 – 96.5
Viable cells at packaging:	$> 6 \times 10^9$ /g
Total bacteria*:	$< 5$ / ml
Acetic acid bacteria*:	$< 1$ / ml
<i>Lactobacillus</i> *:	$< 1$ / ml
<i>Pediococcus</i> *:	$< 1$ / ml
Wild yeast non <i>Saccharomyces</i> *:	$< 1$ / ml

Pathogenic micro-organisms: in accordance with regulation

\*when dry yeast is pitched at 100 g/hl i.e.  $> 6 \times 10^6$  viable cells / ml

**STORAGE:**

36 months from production date.

During transport: The product can be transported and stored at room temperature for periods of time not exceeding 3 months without affecting its performance.

At final destination: Store in cool ( $< 10^\circ\text{C}/50^\circ\text{F}$ ), dry conditions.

**SHELF LIFE**

Refer to best before end date printed on the sachet.

Opened sachets must be sealed and stored at  $4^\circ\text{C}$  ( $39^\circ\text{F}$ ) and used within 7 days of opening.

Do not use soft or damaged sachets.

## G. FICHAS TÉCNICAS DEL EQUIPO UTILIZADO

Cuadro 36. Datos de placa de la caldera Chromalox Precision Heat and Control

<b>Modelo</b>	CE-6.0A0031-241
<b>Voltaje</b>	240
<b>Amperaje</b>	25
<b>Fase</b>	1
<b>Kw</b>	6
<b>Max lbs/hr</b>	21
<b>Control de voltaje</b>	120
<b>Control de amperaje</b>	15A Max

Cuadro 37. Datos de placa Chiller ComfortStar

<b>Modelo</b>	CSWMA-060-1N1
<b>Capacidad de enfriamiento</b>	58 kBtu/h
<b>Capacidad de calentamiento</b>	63 kBtu/h
<b>Fuente de alimentación</b>	208-230V – 60Hz
<b>Potencia nominal</b>	6.7kW
<b>Presión máxima de agua</b>	145 PSI
<b>Peso neto</b>	247 lbs
<b>Refrigerante</b>	R410A/7.5lbs

Cuadro 38. Datos de placa del agitador Leeson del tanque principal

<b>Orientación</b>	Vertical
<b>Largo</b>	0.9 m
<b>Diámetro de eje</b>	0.015 m
<b>Diámetro de turbina</b>	0.08 m
<b>Tipo de turbina</b>	Marina
<b>Material</b>	Acero inoxidable SS304
<b>Potencia</b>	1.5 HP
<b>RPM del motor</b>	1800

Cuadro 39. Datos de placa del molino de rodillos

<b>Voltaje</b>	220 V
<b>Rango de frecuencia</b>	0-60Hz
<b>Velocidad máxima de rodillos</b>	359.8 rpm
<b>Diámetro rodillos</b>	0.1 m
<b>Potencia del motor</b>	4 kW

## H. ESTANDARIZACIÓN DEL PROCESO

Cuadro 40. Condiciones de operación estandarizadas

<b>Condición</b>	<b>Valor</b>
Temperatura de fermentación (°C)	20
pH	5
Densidad del mosto (g/cm <sup>3</sup> )	1.060
Agitación al inicio de la fermentación (horas)	3
Tiempo de fermentación (d)	7

Finalmente se resume en este cuadro las condiciones de operación estandarizadas que se utilizaron en la escala industrial para llegar a obtener un grado de alcohol promedio al final de la fermentación de 9.88%. Una densidad final promedio de 1.017 g/cm<sup>3</sup> y un total de 67 grados IBU. Demostrando así la producción de una cerveza artesanal tipo IPA comercial.

## I. IMÁGENES DEL PROCESO EXPERIMENTAL

Figura 20. Cebada malteada utilizada como materia prima para toda la experimentación



Figura 21. Molino de rodillos utilizado para la etapa de molienda



Figura 22. Cebada luego de la etapa de molienda



Figura 23. Maceración a escala laboratorio



Figura 24. Recuperación de mosto del grano húmedo



Figura 25. Cocción del mosto a escala laboratorio



Figura 26. Sistemas fermentativos en agitación al inicio de la etapa



Figura 27. Sistema fermentativo en la etapa de fermentación en un recipiente aislado



Figura 28. Tabla de conversiones de gravedad específica y °Brix

Gravedad específica	Brix	Gravedad específica	Brix	Gravedad específica	Brix	Gravedad específica	Brix	Gravedad específica	Brix
0.990	0.00	1.019	4.83	1.048	11.90	1.077	18.63	1.106	25.05
0.991	0.00	1.020	5.08	1.049	12.14	1.078	18.86	1.107	25.27
0.992	0.00	1.021	5.33	1.050	12.37	1.079	19.08	1.108	25.48
0.993	0.00	1.022	5.57	1.051	12.61	1.080	19.31	1.109	25.70
0.994	0.00	1.023	5.82	1.052	12.85	1.081	19.53	1.110	25.91
0.995	0.00	1.024	6.07	1.053	13.08	1.082	19.76	1.111	26.13
0.996	0.00	1.025	6.32	1.054	13.32	1.083	19.98	1.112	26.34
0.997	0.00	1.026	6.57	1.055	13.55	1.084	20.21	1.113	26.56
0.998	0.00	1.027	6.81	1.056	13.79	1.085	20.43	1.114	26.77
0.999	0.00	1.028	7.06	1.057	14.02	1.086	20.65	1.115	26.98
1.000	0.00	1.029	7.30	1.058	14.26	1.087	20.88	1.116	27.20
1.001	0.26	1.030	7.55	1.059	14.49	1.088	21.10	1.117	27.41
1.002	0.51	1.031	7.80	1.060	14.72	1.089	21.32	1.118	27.62
1.003	0.77	1.032	8.04	1.061	14.96	1.090	21.54	1.119	27.83
1.004	1.03	1.033	8.28	1.062	15.19	1.091	21.77	1.120	28.05
1.005	1.28	1.034	8.53	1.063	15.42	1.092	21.99	1.121	28.26
1.006	1.54	1.035	8.77	1.064	15.65	1.093	22.21	1.122	28.47
1.007	1.80	1.036	9.01	1.065	15.88	1.094	22.43	1.123	28.68
1.008	2.05	1.037	9.26	1.066	16.11	1.095	22.65	1.124	28.89
1.009	2.31	1.038	9.50	1.067	16.34	1.096	22.87	1.125	29.10
1.010	2.56	1.039	9.74	1.068	16.57	1.097	23.09	1.126	29.31
1.011	2.81	1.040	9.98	1.069	16.80	1.098	23.31	1.127	29.52
1.012	3.07	1.041	10.22	1.070	17.03	1.099	23.53	1.128	29.73
1.013	3.32	1.042	10.46	1.071	17.26	1.100	23.75	1.129	29.94
1.014	3.57	1.043	10.70	1.072	17.49	1.101	23.96	1.130	30.15
1.015	3.82	1.044	10.94	1.073	17.72	1.102	24.18		
1.016	4.08	1.045	11.18	1.074	17.95	1.103	24.40		
1.017	4.33	1.046	11.42	1.075	18.18	1.104	24.62		
1.018	4.58	1.047	11.66	1.076	18.40	1.105	24.83		

Figura 29. Curvas de calibración de azúcares fermentables

RetTime [min]	Lvl Sig	Amount [% (p/v)]	Area	Amt/Area	Ref Grp Name	
9.364	1	1	1.01000	6.37144e6	1.58520e-7	SACAROSA
		2	2.02100	8.99935e6	2.24572e-7	
		3	3.03100	1.18658e7	2.55440e-7	
		4	4.04200	1.41114e7	2.86435e-7	
		5	5.05200	1.96619e7	2.56944e-7	
10.696	1	1	1.01000	7.43189e6	1.35901e-7	GLUCOSA
		2	2.02000	8.66545e6	2.33110e-7	
		3	3.03000	1.37261e7	2.20747e-7	
		4	4.04100	1.35622e7	2.97962e-7	
		5	5.05100	2.23785e7	2.25707e-7	
11.567	1	1	1.01100	7.13550e6	1.41686e-7	FRUCTOSA
		2	2.02200	1.23314e7	1.63971e-7	
		3	3.03300	1.33104e7	2.27868e-7	
		4	4.04500	1.93468e7	2.09079e-7	
		5	5.05600	2.29488e7	2.20317e-7	

Figura 30. Representación gráfica de las curvas de calibración de azúcares fermentables

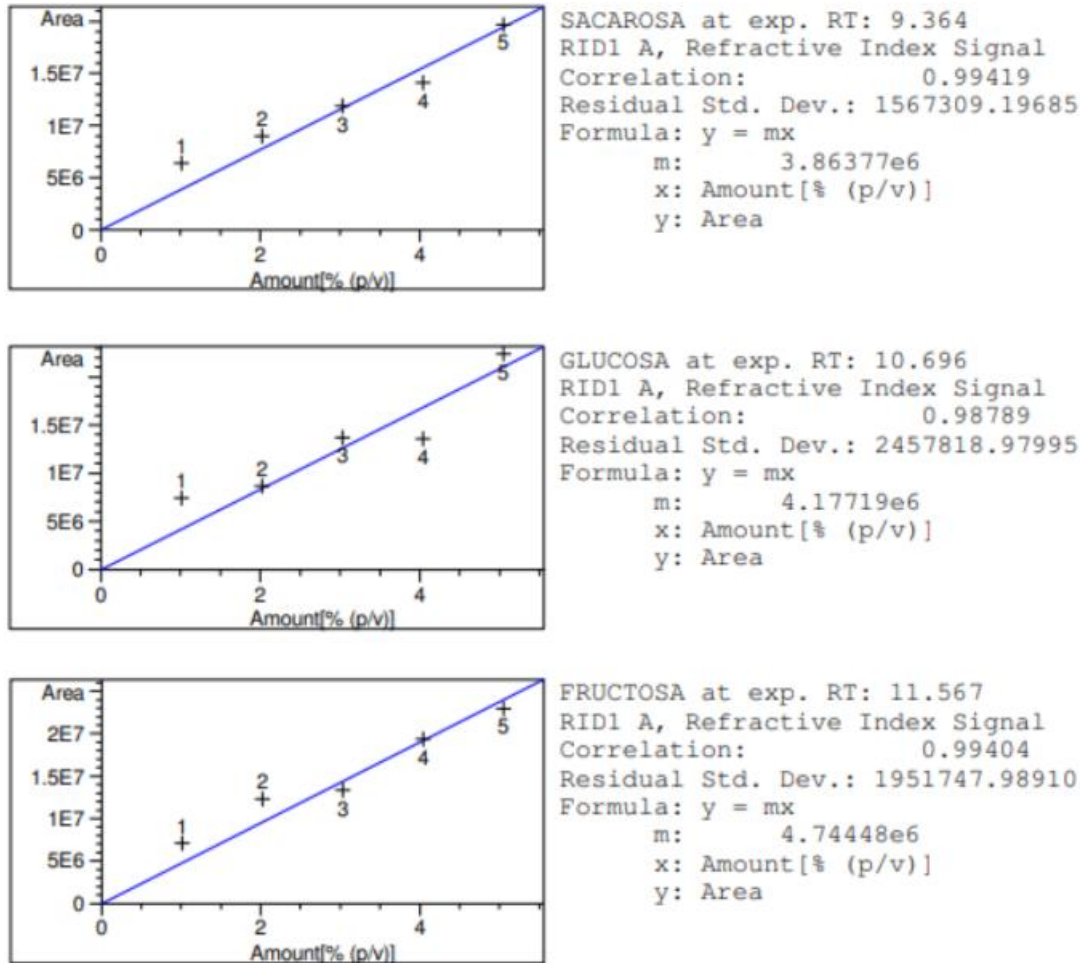


Figura 31. Curva de calibración de etanol

RetTime [min]	Lvl Sig	Amount [% (p/v)]	Area	Amt/Area	Ref Grp Name
20.665	1	1.00200	3.51178e6	2.85326e-7	ETANOL
		2.00400	4.36976e6	4.58607e-7	
		3.00600	5.73758e6	5.23914e-7	
		4.00800	7.03738e6	5.69530e-7	
		5.01000	1.06244e7	4.71557e-7	

Figura 32. Representación gráfica de la curva de calibración de etanol

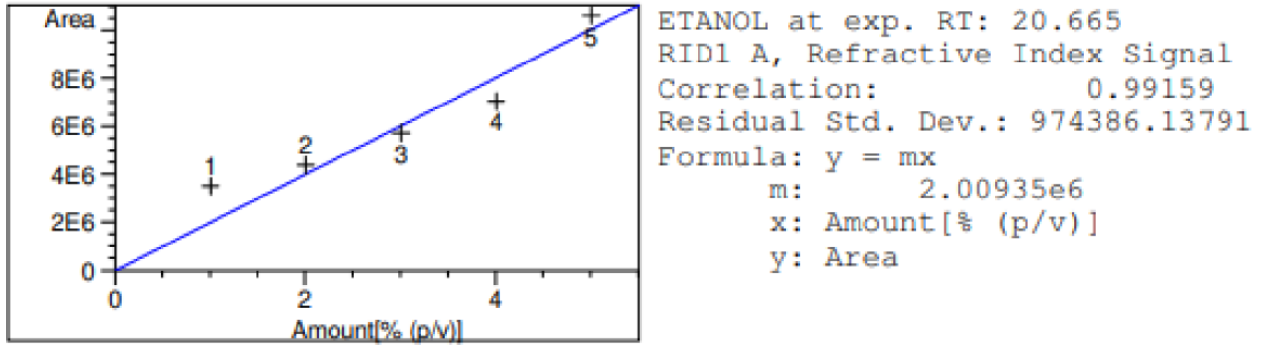
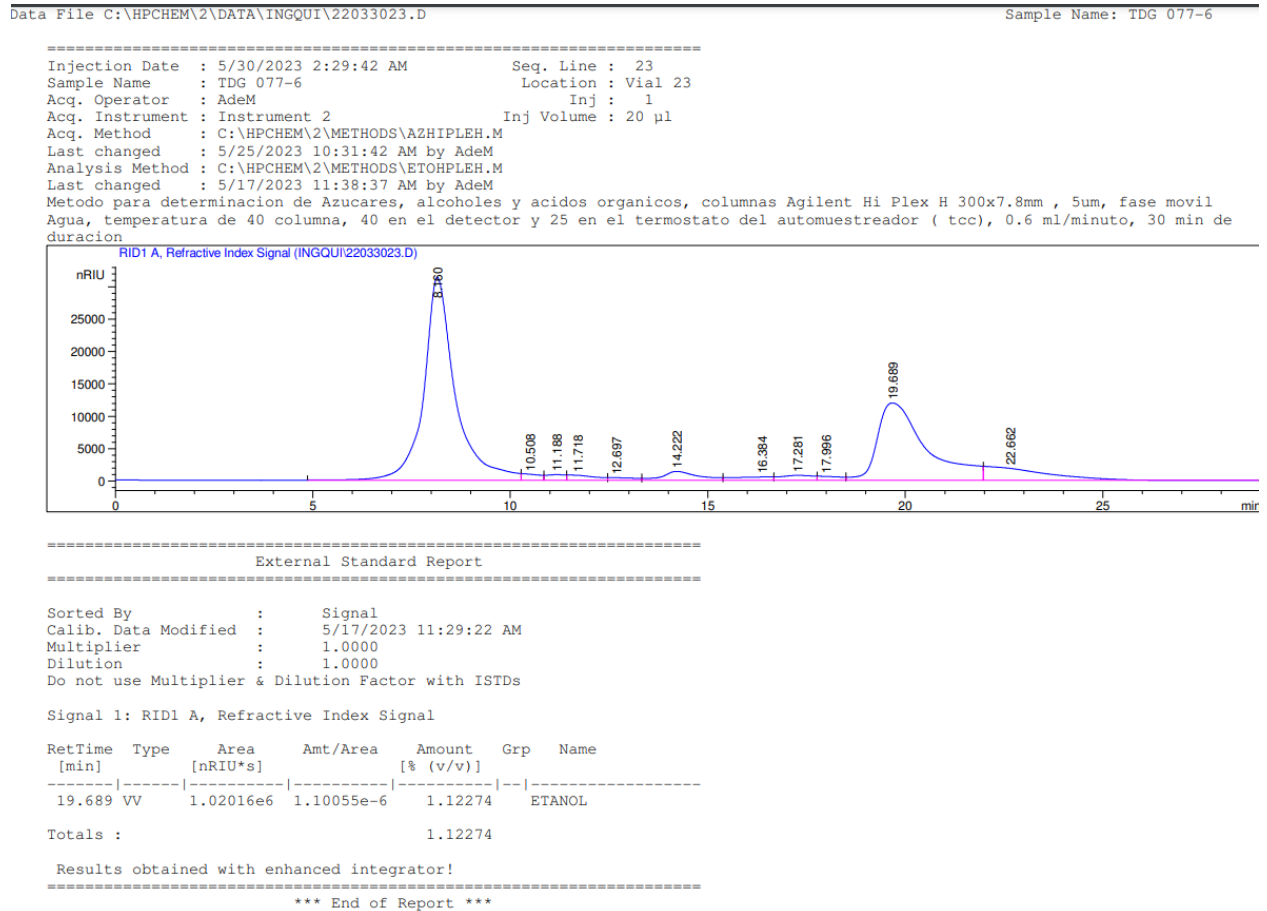


Figura 33. Cromatograma del análisis de contenido alcohólico del noveno día de fermentación del Ensayo 7 realizado a escala industrial



Cuadro 41. Cromatograma del análisis de contenido de azúcares fermentables del mosto del Ensayo 7 realizado a escala industrial

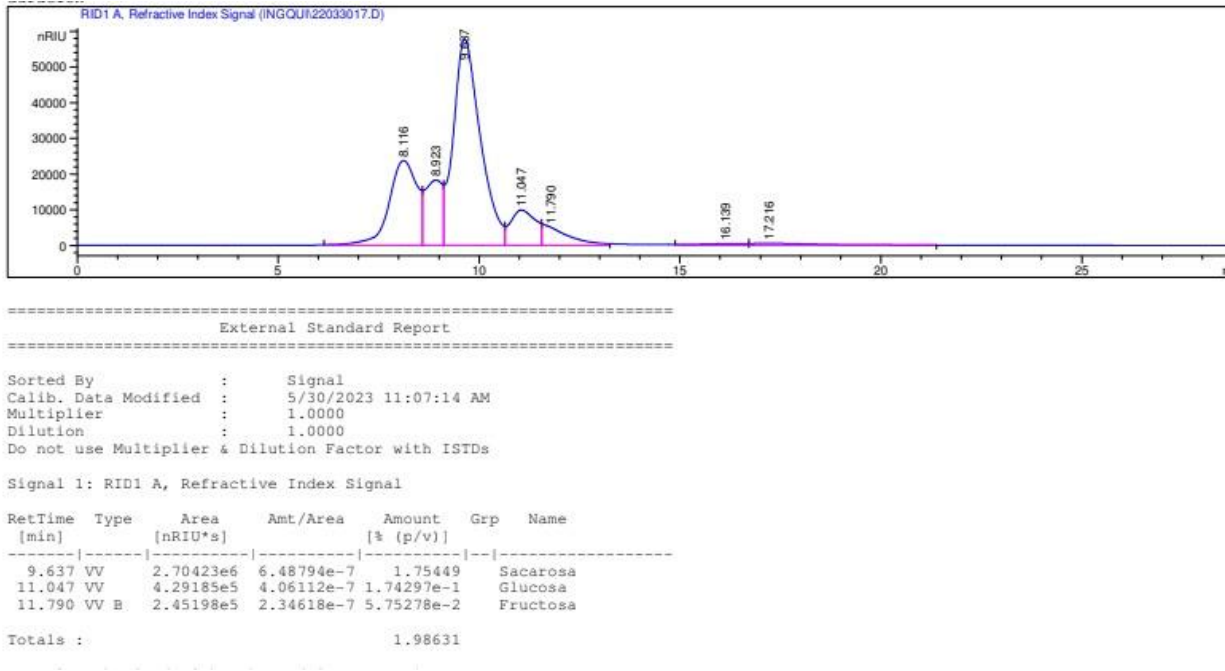


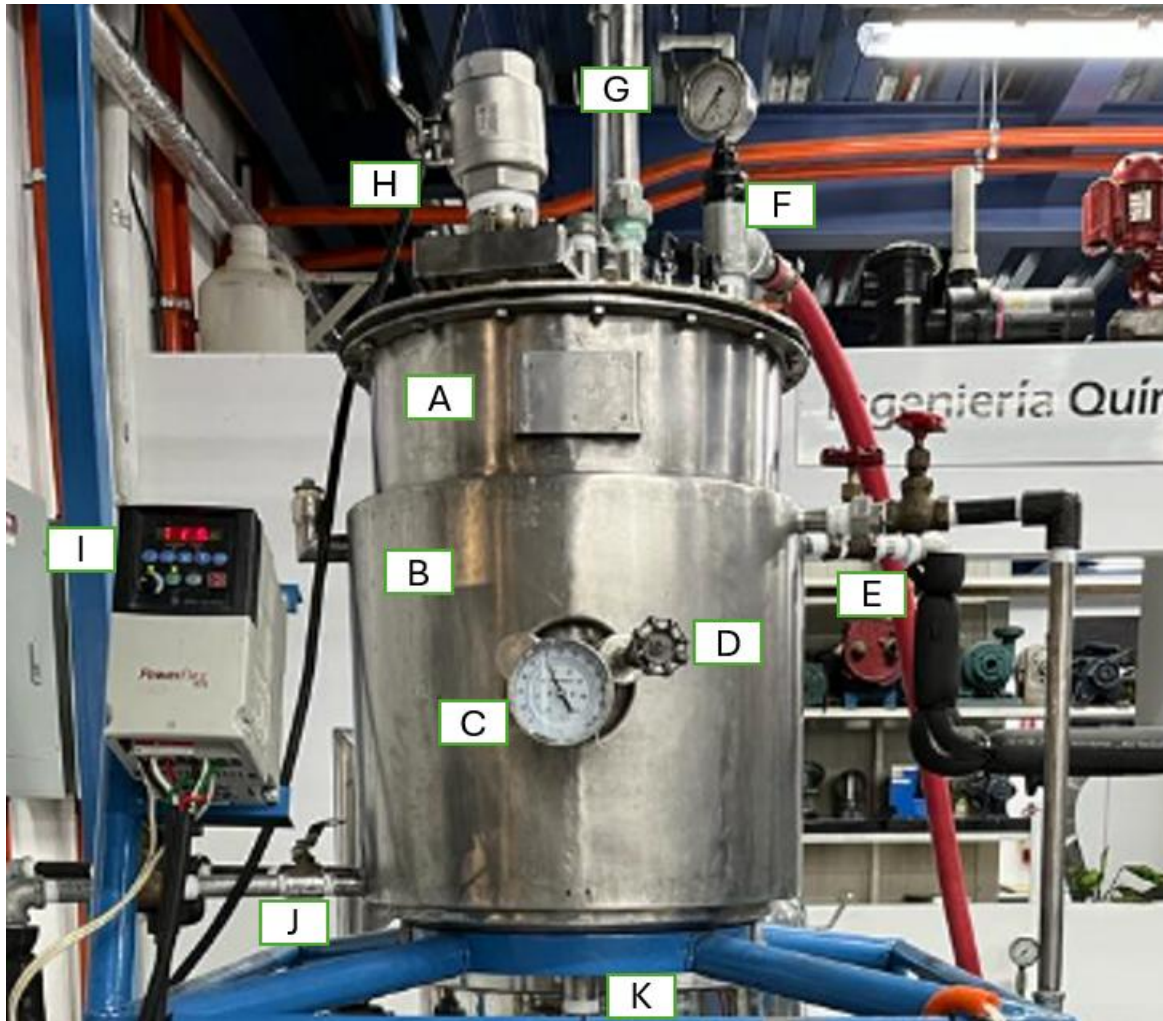
Figura 34. Maceración a escala industrial en dos recipientes de 40 L



Figura 35. Recuperación del mosto retenido en el grano por medio del uso de una prensa hidráulica



Figura 36. Reactor principal utilizado para la cocción y fermentación



En donde: A) Reactor principal, B) Chaqueta intercambiadora de calor, C) Termómetro, D) Válvula de muestreo, E) Entradas de agua y vapor, F) Trampa de CO<sub>2</sub>, G) Agitador mecánico, H) Entrada principal de MP, I) Centro de mandos, J) Salidas de agua y vapor, K) Salida de reactor.

Figura 37. Pasteurizado de botellas carbonatadas



Figura 38. Botellas de cerveza tipo IPA finales



Figura 39. Centrifuga utilizada para la preparación de muestras que se enviaron a HPLC



Figura 40. Centrifuga utilizada para la preparación de muestras de biomasa



Figura 41. Shaker con incubadora utilizado para la agitación inicial de los ensayos a escala laboratorio

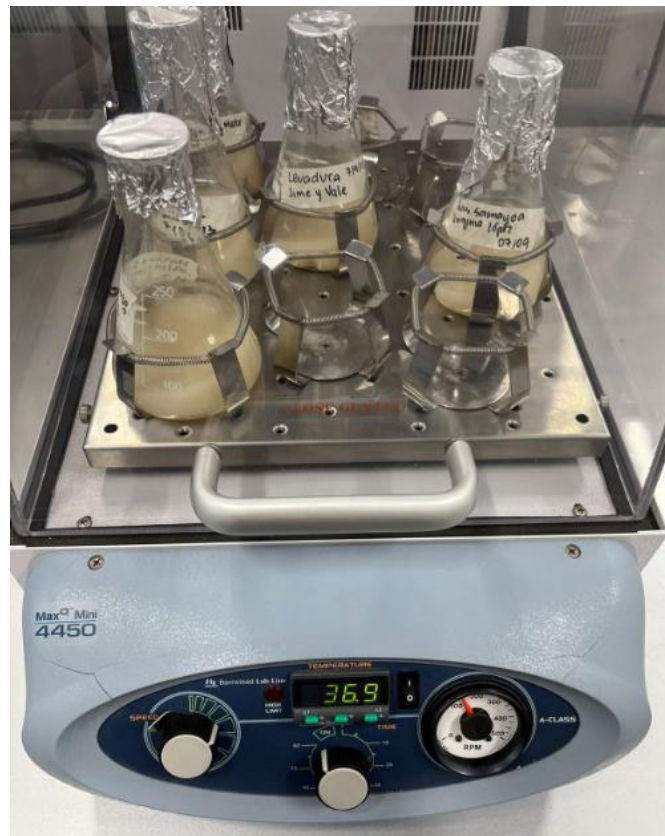
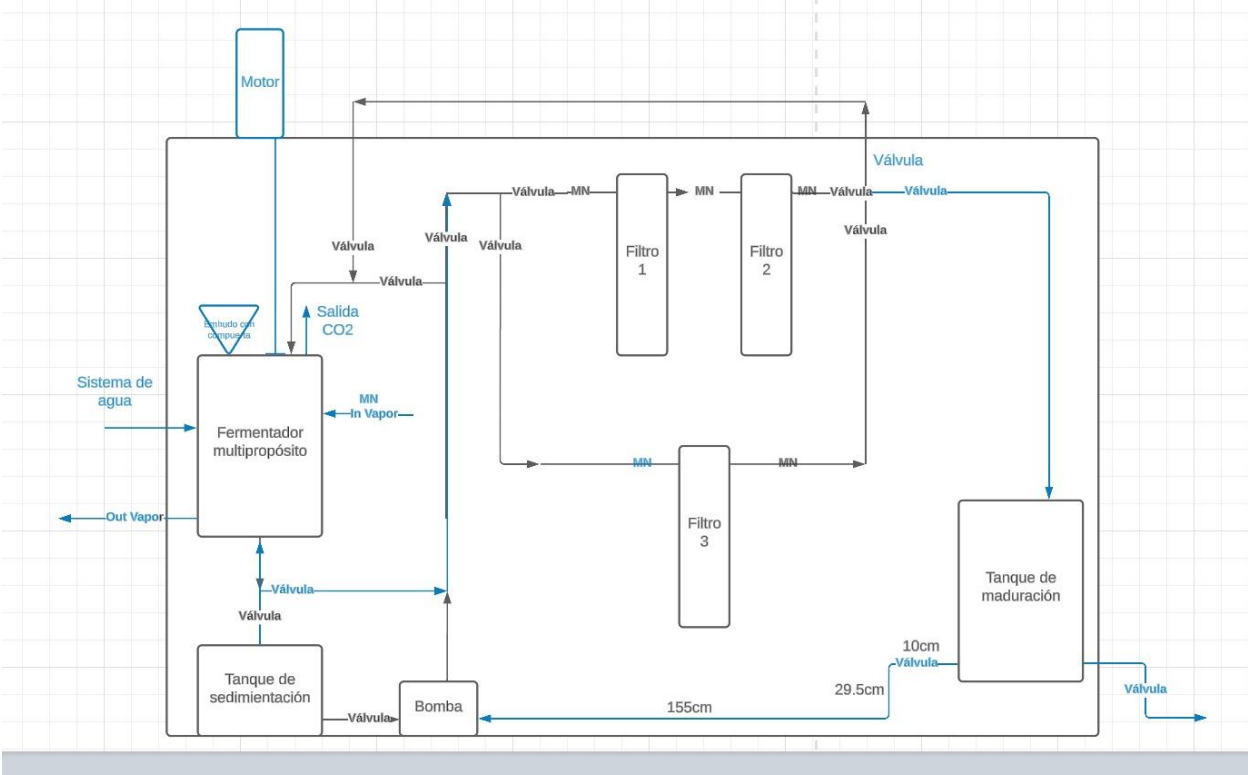


Figura 42. Horno secador utilizado para el secado de muestras de biomasa



Figura 43. Esquema de la planta de producción de cerveza utilizada



## XIII. GLOSARIO

**Ale:** es una clasificación que abarca todas las cervezas de fermentación alta; en ellas el proceso de fermentación ocurre en la superficie del líquido.

**Cinética de reacción:** es el estudio empírico y experimental de las velocidades de las reacciones químicas y el cambio de la rapidez de reacción bajo condiciones variables y los eventos moleculares que se efectúan durante la reacción.

**Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC):** es un método analítico de separación en el cual, por acción de una bomba, fluye una mezcla de analitos en un sistema disolvente comúnmente conocido como fase móvil. La fase móvil pasa a través de una columna que contiene la fase estacionaria a un flujo determinado. La separación de los compuestos ocurre con base en la interacción de estos con la fase móvil y la estacionaria.

**Glucólisis:** es un proceso que forma parte de la respiración celular y se define como una serie de reacciones que constituyen la primera fase de la mayoría del catabolismo de los carbohidratos. En la glucólisis, se rompe la glucosa y se forma piruvato con dos moléculas de ATP.

**Lager:** es una clasificación que abarca todas las cervezas de fermentación baja; en ellas el proceso de fermentación ocurre cerca del fondo del líquido.

**Levadura:** hongos unicelulares que son capaces de iniciar los procesos de descomposición de distintas sustancias orgánicas, particularmente carbohidratos, para dar lugar a subproductos u otras sustancias específicas como alcoholes.

**Lúpulo:** nombre formal *Humulus lupulus*. Planta trepadora de la familia Cannabácea cuyo fruto seco se ha vuelto ingrediente de amargor y aroma en la cerveza desde varios siglos.

**Mosto de cerveza:** líquido extraído del proceso de remojado de malta durante el proceso de fabricación de cerveza. Este es aromatizado con lúpulo para ser infusionado y posteriormente fermentado. Se denomina de esta forma por su alto contenido de azúcares.

**Velocidad de crecimiento celular:** se define como el crecimiento de concentración de células con el tiempo en relación a la masa a lo largo de la reacción.