

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

**Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la
Producción**

"Mejora del Proceso de Fermentación de la Elaboración de Cerveza
Estilo Indian Pale Ale con Levaduras SafAle US-05"

TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN

Materia Integradora

Previo la obtención del Título de:

INGENIERO EN ALIMENTOS

Presentado por:

Allam Teodoro Villavicencio Molina

Víctor Fernando Guadalupe Hernández

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2017

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo de nuestras familias, colegas y profesores estimados de la Universidad, amigos muy cercanos. Al PhD. Coronel por brindarnos las pautas para la consecución de este trabajo. Al PhD Palacios y al PhD. Moreira por sus consejos. A Parbirra, Pablo S., Diego R., Christian G. y Danny T., por compartir sus conocimientos en el tema.

DEDICATORIA

“Principalmente a Dios, motor de los valores, a mi madre Carla, y mi padre Juan Carlos, porque este gran paso que he dado, es de ustedes dos. A mis verdaderos amigos y los verdaderos que vendrán”.

Allam Villavicencio

“A Dios, por haber forjado una historia de vida muy fuerte en mí, basada en el amor y en las promesas de vida. A mis papás, Víctor y Carmen, co-protagonistas de todas mis victorias. A mis familiares y amigos, que hicieron de esta carrera una experiencia amena.”

Fernando Guadalupe

DECLARACIÓN EXPRESA

"La responsabilidad del contenido desarrollado en la presente propuesta de la materia integradora corresponde exclusivamente al equipo conformado por:

Allam Teodoro Villavicencio Molina

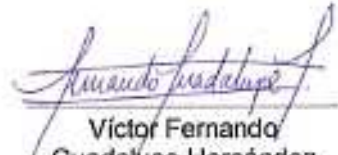
Víctor Fernando Guadalupe Hernández

Jonathan Ricardo Coronel León, Ph.D.

y el patrimonio intelectual del mismo a la Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción (FIMCP) de la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL".



Allam Teodoro
Villavicencio Molina
AUTOR 1



Víctor Fernando
Guadalupe Hernández
AUTOR 2



Ph.D. Jonathan Ricardo Coronel León
TUTOR DE MATERIA INTEGRADORA

RESUMEN

Las cervecerías artesanales en el Ecuador, están sobresaliendo y es importante conocer de qué manera y bajo qué condiciones entregan sus productos al mercado. El tiempo y el costo de producción son primordiales para la mejora de la viabilidad de un proyecto de tal magnitud. Por lo tanto, lo que se busca es reducir los tiempos de batch, atacar la etapa del proceso de mayor vulnerabilidad frente a distintos factores en la producción, reducir costos y sacar provecho de los desechos de este proceso. Fueron efectuados una serie de análisis del comportamiento de la fermentación a Levadura *Saccharomyces Cerevisiae* en su cepa SafAle US-05 para evaluar los tiempos en la producción de etanol en el estilo de cerveza *INDIAN PALE ALE*, midiendo controles de pH, densidad, absorbancia por espectrofotometría y recurso energético. Así mismo el desarrollo y diseño del producto a base de la levadura deshidratada inactiva post fermentación tuvo resultados favorables de cara a futuras investigaciones validadas estadísticamente con un Panel Sensorial del prototipo elaborado como base. El plan de mejora establecido dio los resultados esperados tanto en reducción de tiempos de batch de 155 a 72 horas de fermentación a 24°C, mejora de las características organolépticas por la fermentación controlada en el sistema implementado, optimización en el uso de la levadura de una tasa de 57,5 a 28,8 g/hl logrando la misma densidad final, así como la viabilidad de ganancia neta anual.

Palabras Clave: Batch, Levadura, Fermentación, Plan de Mejora, Cerveza, Indian Pale Ale, densidad, pH, temperatura.

ABSTRACT

*The Ecuadorian Craft Breweries are setting up, and it is important to know about the conditions and practices done by themselves in order to sell their products in the current market. Time and prime cost are the main characters to improve the financial viability in this project. Therefore, the target is to reduce the batch time, focus in the beer manufacture stage process with higher vulnerability in front of several factors in their production, improve resources and deal better with the process wastes. Several analyses were done, evaluating the behavior of the fermentation from *Saccharomyces Cerevisiae* yeast strain SafAle US-05, in order to control the ethanol production of Indian Pale Ale Beer Style, measuring pH, density, absorbance by spectrophotometry and energy resource. Likewise, the development and design of another product improved with inactive dry yeast, a biomass taken from the post fermentation process, which would have positive outcomes, with future upcoming researches statistically validated with the sensory panel tool. The improvement plan, had the expected outcomes, even reducing the fermentation batch time from 155 to 48 hours at 25°C, organoleptic improvement by the controlled fermentation after the implemented system, improve in the yeast doses from 57,5 to 28,8 g/hl, achieving the same final density, likewise the viability in the company's final net income.*

Keywords: Batch, Yeast, Fermentation, Improvement Plan, Beer, Indian Pale Ale, density, pH, temperature.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	I
<i>ABSTRACT</i>	II
ÍNDICE GENERAL	III
ABREVIATURAS.....	VI
SIMBOLOGÍA.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
ÍNDICE DE TABLAS.....	XI
CAPÍTULO 1.....	1
1. Introducción	1
1.1 Descripción del problema	1
1.2 Objetivos	1
1.2.1 Objetivo General.....	1
1.2.2 Objetivos Específicos.....	2
1.3 Marco teórico.....	2
1.3.1 Fermentación alcohólica	2
1.3.2 Metabolismo de la Levadura.....	5
1.3.3 Proceso de Elaboración de Cerveza.....	11
CAPÍTULO 2.....	14
2. Metodología.....	14
2.1 Ponderación de Factores para selección del objetivo de estudio.....	14
2.1.1 Selección del estilo de cerveza de estudio	14
2.1.2 Selección de la etapa del proceso para el estudio.....	18
2.2 Metodología de la experimentación.....	22
2.2.1 Análisis microbiológico.....	23
2.2.2 Fermentación	25

2.2.3	Plan de mejora y Costos	28
2.3	Aprovechamiento de desechos Post-Fermentación.	28
2.3.1	Diseño y desarrollo de una barra de cereales con LID como ingrediente en la formulación.	28
CAPÍTULO 3.....		31
3.	Resultados.....	31
3.1	Selección de cerveza y etapa de estudio	31
3.2	Análisis microbiológico de las Levaduras SafAle US-05	33
3.2.1	Recuento de colonias en placas	33
3.2.2	Reporte de Levaduras	34
3.3	Fermentación alcohólica.....	35
3.3.1	Comportamiento de la fermentación alcohólica F24°C (NC)	35
3.3.2	Comportamiento de la fermentación controlada F24°C (C) y F18°C (C) ...	38
3.3.3	Mejora en la utilización del recurso de Levadura	42
3.4	Costos y plan de mejora.....	43
3.4.1	Proyecto a 20litros/Batch sin plan de mejora.	43
3.4.2	Proyecto a 20 litros/Batch con plan de mejora.....	47
3.4.3	Proyecto con 140 litros/Batch con plan de mejora.	50
3.5	Barra de cereales con LID en la formulación.....	52
3.5.1	Estudio de Mercado	52
3.5.2	Diseño y formulación del producto.....	59
3.5.3	Análisis de proteínas por método Kjeldahl del producto	60
3.5.4	Panel Sensorial y Análisis Estadístico	60
CAPÍTULO 4.....		63
4.	Discusión y Conclusiones.....	63
4.1	Conclusiones.....	65

4.2 Recomendaciones.....66

BIBLIOGRAFÍA

APÉNDICES

ABREVIATURAS

ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
TPP	Pirofosfato de Tiamina
ADH	Alcohol Deshidrogenasa
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleótido
ATP	Adenosin Trifosfato
FAN	Amino Nitrógeno Libre
T°mac	Temperatura de maceración
tmac	Tiempo de maceración
T°aguamac	Temperatura de agua de maceración
Vaguamac	Volumen de agua de maceración
T°agualav	Temperatura de agua de lavado
Vagualav	Volumen de agua de lavado
T°coc	Temperatura de cocción
Tcoc	Tiempo de cocción
Vo	Volumen inicial del mosto
Vf	Volumen final del mosto
To°enf	Temperatura inicial de enfriamiento
Qenf	Flujo volumétrico de enfriamiento
T°fer	Temperatura de fermentación
Tfer	Tiempo de fermentación
T°mad	Temperatura de maduración
HACCP	Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control
IPA	Indian Pale Ale
PDA	Agar de Papa Dextrosa
UPC	Unidades Propagadoras de Colonias
LS	Levadura sellada estéril
LNS	Levadura sellada al granel
LS1	Muestra de levadura sellada de fábrica
LS2	Réplica de la muestra LS1

LNS1	Muestra de levadura al granel
LNS2	Réplica de muestra LNS1
BA	Blanco Ambiente
BM	Blanco Medio
LID	Levadura inactiva deshidratada
C	Control correspondiente a dosis de levadura
C/2	Mitad de dosificación del control
C*2	Duplicado de la dosificación del control
ANOVA	Análisis de Varianza
DNS	Ácido 3,5-Dinitrosalicílico
F#°C (C)	Fermentación Controlada
F#°C (NC)	Fermentación No controlada
INEC	Instituto de Normalización Estadísticas y Censos

SIMBOLOGÍA

mil	Milésima de pulgada
mg	Miligramo
pH	Potencial de Hidrógeno
m	Metro
mV	Milivoltio
Cu	Cobre
Ni	Níquel
C	Carbono
Mn	Manganeso
P	Fósforo
OH	Radical Alcohol
H	Hidrógeno molecular
CO ₂	Dióxido de Carbono
SH	Sulfidrilo

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Bioquímica en resumen de la fermentación alcohólica.....	3
Figura 1.2. Descarboxilación del piruvato a acetaldehído.	4
Figura 1.3. Formación de etanol a partir del acetaldehído por el alcohol deshidrogenasa... (ADH) y la coenzima NADH.....	5
Figura 1.4. Fase de propagación de la levadura (1) Fase de inducción, (2) fase de aceleración, (3) Fase exponencial, (4) Fase de desaceleración, (5) Fase estacionaria, .(6) Fase de declinación.	5
Figura 1.5 Proceso de elaboración de cerveza	11
Figura 2.1 Resumen de la metodología.....	22
Figura 2.2 Proceso genérico de desarrollo de productos	28
Figura 2.3. Tipos de oportunidades.	29
Figura 3.1. Distribución normal de los datos del conteo de la dilución 10^{-9}	34
Figura 3.2. Curva de crecimiento de la Levadura, correlaciona la Turbidez con la Actividad Metabólica a través del tiempo (Fermentación No Controlada a $24\pm 4^{\circ}\text{C}$)	36
Figura 3.3. Curva de Densidad del medio y Producción de Alcohol en 24°C (NC)	37
Figura 3.4. Curva del descenso de pH a través del tiempo (Fermentación No controlada a $24\pm 4^{\circ}\text{C}$.)	38
Figura 3.5 Curvas de Densidad a diferentes Temperaturas de control	39
Figura 3.6 Análisis de comparación de medias FISHER entre las Curvas de Fermentación realizadas en la Figura 3.5.....	40
Figura 3.7 Gráfica de dispersión de la Turbidez con respecto al tiempo de Fermentación.....	41
Figura 3.8 Gráfica de dispersión del comportamiento de la Producción de Alcohol (Fermentación controlada a $18^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$).	42
Figura 3.9. Diagrama de Gantt de los tiempos de producción de un Batch: (a) Producto final en Botellas sin plan de mejora, (b) Producto final en botellas con plan de mejora y (c) Producto final en barril con plan de mejora.	46
Figura 3.10. Pregunta: ¿Usted cómo se considera, en cuanto a su desempeño físico?	52

Figura 3.11. Prevalencia de actividad física global, por sexo en adultos de 18 a < 60 años.....	53
Figura 3.12. Pregunta: ¿Usted alguna vez ha consumido una Barra de cereales?.....	54
Figura 3.13. Pregunta: ¿Con qué frecuencia usted consume barra de cereales?.....	55
Figura 3.14. Prevalencia de consumo inadecuado de proteínas en la población Nacional.....	56
Figura 3.15. Pregunta: ¿Cuál creería usted que sería la razón primordial de la poca comercialización o demanda de las barras?.....	57
Figura 3.16. Pregunta: ¿Le parecería innovador el hecho de utilizar la levadura de proceso post fermentación alcohólica, como fuente de proteínas en la formulación de la Barra?.....	58
Figura 3.17. Pregunta: ¿Cómo cree usted que se encuentra actualmente el mercado de Barras de Cereales?.....	58
Figura 3.18. Modelo fijado para el ANOVA unifactorial.	59
Figura 3.19. Diagrama de intervalos del atributo de amargor.....	62
Figura 3.20. Diagrama de intervalo de aceptación.	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Cronograma de muestreo y análisis	26
Tabla 2.2 Escala hedónica del panel sensorial.....	30
Tabla 3.1 Matriz de ponderación en la selección de estilo de cerveza en control y estudio.....	31
Tabla 3.2 Matriz de ponderación del proceso de elaboración de cerveza para la selección de la etapa con mayor vulnerabilidad a estudiar.....	32
Tabla 3.3 Conteo general de placas de las levaduras en estudio.	33
Tabla 3.4 Reporte del conteo de levaduras de muestras en estudio.....	35
Tabla 3.5 Representación de las tasas de inoculación.....	43
Tabla 3.6 Costos de Materias Primas por Kilogramos.....	44
Tabla 3.7 Costo total de insumos en un Batch de 20 litros.....	44
Tabla 3.8 Costo total de Producción al mes junto al material de embalaje a 20 litros/Batch.....	44
Tabla 3.9 Flujo Neto Mensual a 20 litros/Batch.	45
Tabla 3.10 Costo Total con plan de mejora a 20 litros/Batch.	47
Tabla 3.11 Costo total de Producción al mes con plan de mejora a 20 litros/Batch.	48
Tabla 3.12 Flujo mensual con plan de mejora a 20 litros/Batch.	49
Tabla 3.13 Costo total de Materia Prima para un Batch de 140 litros con plan de mejora.....	50
Tabla 3.14 Costo total de Materia Prima y material de embalaje al mes con plan de mejora en 140 litros/Batch.....	50
Tabla 3.15 Flujo neto mensual con plan de mejora a 140litros/Batch.	51
Tabla 3.16 Macronutrientes y su contribución en la dieta equilibrada.	53
Tabla 3.17 Formulación de la Barra Proteica para una presentación de 500g.....	59
Tabla 3.18 Tabla de resultados del análisis de proteínas en barra de cereales.....	60

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Descripción del problema

En la actualidad, nuestro país ha adoptado una cultura cervecera lo cual ha impulsado a muchos micro productores en establecer plantas dedicadas a la producción de cerveza artesanal (ELUNIVERSO, 2017). La mayoría de los dueños de estas plantas manejan conocimientos empíricos, por lo que se ha identificado la necesidad de realizar una reingeniería en el proceso de elaboración. En este sentido, la empresa PARBIRRA BREWING Co, ha decidido trabajar en el mejoramiento de sus procesos a través del análisis de las diferentes etapas para obtención de la bebida alcohólica, específicamente en la fermentación, la cual requiere del control de diferentes parámetros (tiempo, temperatura, tasa de levadura) que inciden en la calidad del producto final. La Empresa, desde el mes de agosto del 2016 se ha dedicado a la manufactura de siete estilos de cerveza, cada uno con sus respectivas variaciones de proceso. Por tal motivo, la empresa ha tomado la decisión de focalizar su mercado en un tipo de cerveza, por lo cual se analizará los diferentes factores que influyen en proceso de producción. Por otra parte, el correcto uso y disposición de los residuos post fermentación podría llegar a ser de mucha utilidad como innovación, atracción y/o alimentación en diversas matrices de productos, entre las cuales se optó por una barra de cereales el cual, su contenido nutricional oscila entre 4-5% de proteínas.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Mejorar el proceso de fermentación de una planta de procesamiento de cerveza artesanal.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Seleccionar el tipo de cerveza de acuerdo a su rendimiento y la etapa del proceso de producción de acuerdo a su vulnerabilidad.
- Evaluar el efecto de la levadura y condiciones de proceso en la calidad de la cerveza en estudio.
- Desarrollar un sistema integrado para el aprovechamiento de los desechos post-fermentación.

1.3 Marco teórico

1.3.1 Fermentación alcohólica

Previo a la catálisis de los azúcares, las levaduras necesitan de ciertos factores para realizar el proceso de fermentación, en los cuales, el Oxígeno disuelto es una condición vital para el crecimiento de la biomasa, con la formación de compuestos llamados esteroides que permiten la permeabilidad de los azúcares en las células de levadura Kunze, (2006), y un conjunto de enzimas y moléculas cofactores que permitirán una viabilidad óptima de esta etapa.

Una vez los azúcares son degradados, mediante la glucólisis aerobia formando las moléculas de piruvato, el proceso pasa a ser anaerobio tomando una ruta metabólica diferente y necesaria para la formación de etanol, proceso el cual lo conocemos como fermentación alcohólica. Con fundamento desde el punto de vista Bioquímico (Ver Figura 1.1.), este proceso se realiza mediante dos reacciones en serie para su consecución. En resumen, la primera reacción se da mediante una descarboxilación a partir del piruvato para la formación de dióxido de carbono y acetaldehído, compuesto que luego será degradado por otra enzima deshidrogenasa para la formación de alcohol etílico Mohd Azhar et al., (2017).

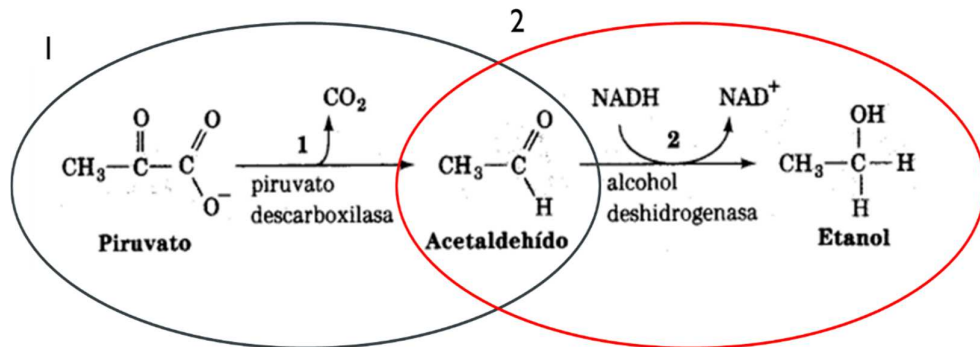


Figura 1.1. Bioquímica en resumen de la fermentación alcohólica.

FUENTE: (Voet & Voet, 2010)

Voet & Voet, (2010) manifiesta que el piruvato descarboxilasa es la enzima encargada de realizar la conversión del piruvato a acetaldehído. Sin embargo, cabe destacar la importancia de la coenzima TPP (Pirofosfato de Tiamina, presente en la malta), en la cual su parte reactiva será pieza clave en la descarboxilación del piruvato. La razón de la intervención del TPP es debido a que la enzima Piruvato descarboxilasa requiere un exceso de carga negativa en la reacción, dicha carga negativa es aportada por la forma idilo del TPP que provee un radical libre reactivo con la molécula de piruvato. La descarboxilación (Ver Figura 1.2.) se realiza en 4 fases: Partimos con la activación del TPP para formar su estado idilo, siendo un sumidero de electrones que van a reaccionar con el carbono principal del enantiómero de piruvato, el hidrógeno sustraído del TPP irá a formar parte del conglomerado un grupo (OH). Posteriormente, una molécula de dióxido de carbono es sustraída del conglomerado, en el cual, mediante resonancia, el carbanión se estabiliza creando un reordenamiento del compuesto. Una vez reordenado, el carbanión sufre una protonación formando un compuesto llamado Pirofosfato de Hidroximetilamina. Finalmente se rompe en enlace que une al idilo de TPP, liberando una molécula de H^+ y acetaldehído, mientras que el TPP se vuelve a formar en su estado original para seguir sirviendo como coenzima en los azúcares por fermentar.

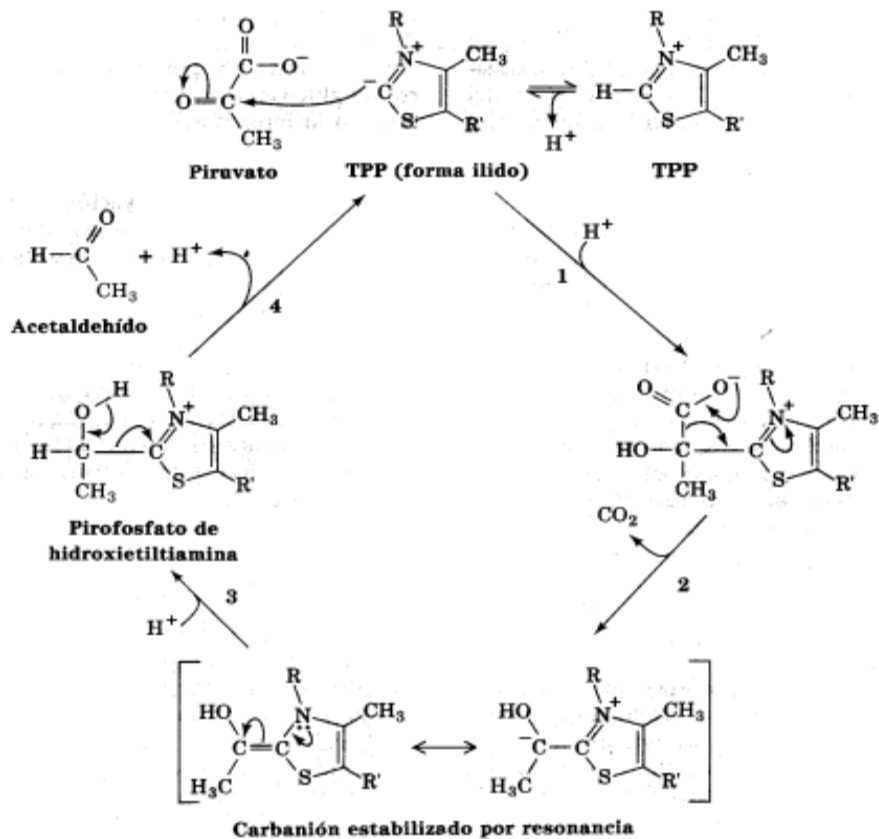


Figura 1.2. Descarboxilación del piruvato a acetaldehído.

FUENTE: (Voet & Voet, 2010)

La segunda fase del conjunto de reacciones de la fermentación alcohólica es promovida por la enzima Alcohol deshidrogenasa (ADH). Así mismo, como el piruvato deshidrogenasa, esta enzima necesita de una coenzima o recurso de tal manera que ayude a formar un sitio activo óptimo para el acetaldehído; es decir, este recurso es la molécula de NADH, compuesto orgánico que participa en la mayoría de las rutas metabólicas (Ver Figura 1.3.). En su estructura posee dos grupos hidrógeno conocidos como *pro-R* y *pro-S*. El ADH se une con la coenzima NADH y un cofactor de fuente mineral como el Zinc (molécula obtenida de la malta) para poder realizar la catálisis. El *pro-r* del NADH se adhiere a la cara *re* del acetaldehído formando la molécula de etanol y NAD⁺, este *pro-r* conocido como

hidrógeno forma el grupo OH mientras que el NAD⁺ vuelve a la ruta metabólica de la glucólisis para la formación de ATP.

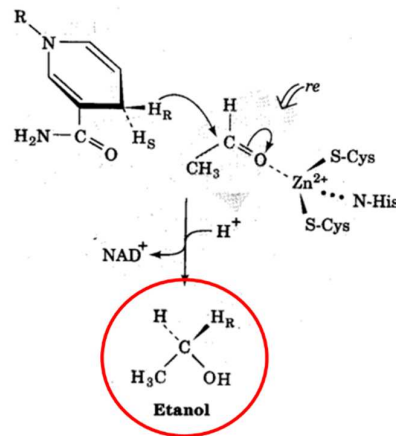


Figura 1.3. Formación de etanol a partir del acetaldéhidido por el alcohol deshidrogenasa (ADH) y la coenzima NADH.

FUENTE: (Voet & Voet, 2010)

1.3.2 Metabolismo de la Levadura

1.3.2.1 Reproducción y crecimiento de la Levadura

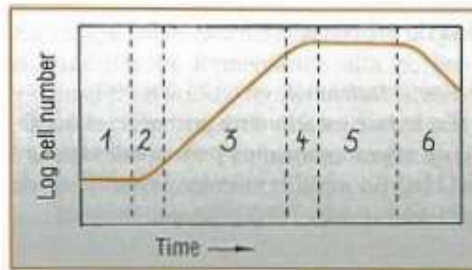


Figura 1.4. Fase de propagación de la levadura (1) Fase de inducción, (2) fase de aceleración, (3) Fase exponencial, (4) Fase de desaceleración, (5) Fase estacionaria, (6) Fase de declinación.

FUENTE: (Kunze, 2006)

Fase de inducción: Conocida como fase de adaptación, esta etapa relaciona las condiciones que la célula necesita para activar su reproducción asexual.

Fase de aceleración: Aumento progresivo de la reproducción aumentando su concentración de biomasa

Fase exponencial: Propagación proporcional de la biomasa con el tiempo, en esta etapa se destaca la vigorosidad de la levadura en la fermentación, concatenando los metabolitos primarios que se sintetizan. El crecimiento se da de manera logarítmica.

Fase de desaceleración: Cuando los sustratos están por agotarse, las células de igual manera retardan su propagación con respecto a la fase anterior.

Fase estacionaria: La concentración de biomasa permanece constante, las células consumen sus propias reservas, por lo tanto, nuevas células se sintetizan despreciablemente, y a su vez se da la autólisis de otras.

Fase de declinación: Sin recursos energéticos de consumo, se empiezan a propagar las reacciones de autólisis celular. (Ver Figura 1.4)

1.3.2.2 Metabolismo de macromoléculas

Metabolismo proteico: El mosto o caldo de fermentación es un medio rico en aminoácidos, los cuales son absorbidos por la célula de levadura (aquellas de bajo peso molecular). Estos aminoácidos son aprovechados por la levadura por su grupo amino presente en su estructura, que será extraída para ser convertida a otras proteínas como el FAN, compuesto que fue obtenido durante la maceración del grano (HACH, 2016). Aquellos aminoácidos sufren un conjunto de reacciones que promueven la formación de moléculas de alcohol superior. Dentro de la levadura, existe la interacción de más de 30 enzimas proteolíticas, las mismas que dentro de sus funciones positivas se encargan de la mejora en la retención de espuma (Kunze, 2006).

Metabolismo de grasas: Uno de los metabolitos secundarios sintetizados en la fermentación son los ácidos grasos, sin embargo, a su vez el mosto es una fuente rica en ácidos grasos. La levadura, de igual manera es capaz de sintetizar ácidos grasos insaturados, que participan en el traspaso de aminoácidos en la membrana celular de la levadura. Debemos tomar en cuenta un correcto balance en la cantidad de ácidos grasos insaturados de la membrana celular, debido a que, puede conllevar problemas de estabilidad, por un traspasé en el metabolismo proteico adherente.

Metabolismo de los carbohidratos: Mencionado previamente, la levadura necesita el oxígeno para realizar la glucólisis por respiración equivalente al 2% de los azúcares de consumo para, posteriormente realizar la fermentación anaerobia, constituyendo el 98% de azúcares aprovechados por la célula. En consecuencia, al final de esta degradación y formación de productos de interés, la levadura busca degradar sus propias reservas, las cuales son el glucógeno y la trehalosa (azúcares ligados al citoplasma de la levadura)

Metabolismo de los oligoelementos: Los minerales son cofactores importantes en la viabilidad de la fermentación. La levadura los absorbe en forma de compuestos presentes en la malta y su metabolismo estimula la formación de energía celular, la formación de fosfolípidos en la membrana, aumento de la biomasa, formación de acetaldehídos, floculación de las levaduras. En la gama de oligoelementos de mayor participación en la fermentación encontramos el fósforo, azufre, zinc, potasio, magnesio, hierro y sodio.

1.3.2.3 Formación y degradación de metabolitos secundarios de fermentación.

Según Kunze, (2006), mientras ocurre la fermentación, el metabolismo de la levadura está en constante cesión de productos a la cerveza. Gran parte de estos metabolitos secundarios interactúan entre sí, ya sea reaccionando, variando en cantidad y composición. La importancia del estudio de estos productos es por su influencia determinante en la calidad de la cerveza que está en proceso.

Tomando en cuenta esta premisa, se justifica el estudio grupal del metabolismo de la levadura, la síntesis y formación de metabolitos secundarios de fermentación. A pesar que, son manejados por separados, es más bien, por el ánimo del cervecero en cumplir con los parámetros óptimos de calidad para la cerveza. Es así como se consideran los siguientes productos secundarios de fermentación, divididos en:

Sustancias de bouquet de cerveza verde como diacetilo, aldehídos y compuestos de azufre; quienes le dan un sabor y olor impuro, inmaduro. Con la ayuda de medios bioquímicos se pueden obtener tanto en la fermentación como en la maduración. Altas concentraciones de estos compuestos influyen negativamente en la calidad de la cerveza.

Sustancias de bouquet como alcoholes superiores y ésteres; a pesar de aportar con una presencia baja en la cerveza, definen el aroma. El cumplimiento dentro de específicos rangos determina una condición adecuada para alcanzar una cerveza de calidad. A diferencia de las otras sustancias, estas no pueden ser extraídas nuevamente.

Diacetilo: Este compuesto representa el más importante presente en una cerveza verde. En niveles elevados le proporciona a la cerveza un sabor impuro, dulzón y desagradable, proporciona el aroma a manteca. Gracias a que una pentadiona actúa de la misma manera que el diacetilo pero capaz de ser más perceptible su presencia. Además, la

degradación de estas diacetonas se desarrolla en el proceso de maduración y, han sido consideradas como sustancias indicadoras que denotan el grado de maduración de la cerveza.

Aldehídos: El acetaldehído, compuesto excretado por la levadura, siendo el más importante de esta familia. Es producido durante los primeros tres días de la fermentación, otorgándole el característico sabor “verde” de una cerveza joven. Su formación es favorecida por una fermentación intensiva, aumento de la temperatura de fermentación, aumento de la dosificación de la levadura o poca aireación. La síntesis del aldehído está potenciada por todas las medidas adoptadas en fermentación y maduración intensivas, aireación suficiente del mosto y una aumentada levadura en la maduración.

Ésteres: Al definir el aroma esencial de la cerveza, son las sustancias más importantes. De ahí la importancia de su concentración, ya que un exceso también puede generar sabores desagradables, amargos y a frutas. Los ésteres son formados producto de la esterificación de ácidos grasos y en menor cantidad por la esterificación de alcoholes superiores. La concentración aumenta en la etapa intensiva de la fermentación y gracias a una extendida fermentación secundaria se puede duplicar su concentración.

Se han identificado alrededor de 60 ésteres diferentes en la cerveza, pero se identifican de importancia, los siguientes: acetato etílico, isoamilacetato, acetato isobutílico, β -fenilacetato, etilcaproato y etilcaprilato. Las concentraciones en cerveza son mayores si se da una fermentación alta, aireación del mosto y un aumento de la concentración del mosto hasta en un 13%.

Alcoholes superiores: Este tipo de alcoholes se producen hasta en un 80% en la etapa de fermentación primaria y pueden ser producidos por: aminoácidos convertidos por levaduras, hidroxiaácidos o cetoácidos y

acetato. Mientras que, en la maduración se genera un pequeño aumento. Los factores que mejoran las condiciones de producción de alcoholes superiores son: incremento de temperatura de fermentación, movimiento de la cerveza verde, aireación intensiva del mosto, disminución de la concentración de aminoácidos en el mosto.

Compuestos de azufre: Por la acción metabólica de la levadura se producen productos como: Sulfuro de hidrógeno que es producido de los aminoácidos que contienen azufre y es desorbido por el CO₂ presente. Los mercaptanos son los compuestos que más pueden deteriorar una cerveza ya que su grupo OH es sustituido por el grupo SH. Son los compuestos que más pueden deteriorar a la cerveza, dándole sabor a cerveza asoleada. Los Sulfuro de dimetilo aumentan hasta cierto grado de fermentación y luego son oxidados por los disulfuros menos peligrosos sensorialmente.

Ácidos orgánicos: Por necesidad de la levadura en formar albuminoideas propias de la célula, extrae el grupo amino de los aminoácidos formando los ácidos grasos. Cabe recalcar que según los niveles de concentración en la cerveza pueden afectar al sabor final.

1.3.3 Proceso de Elaboración de Cerveza

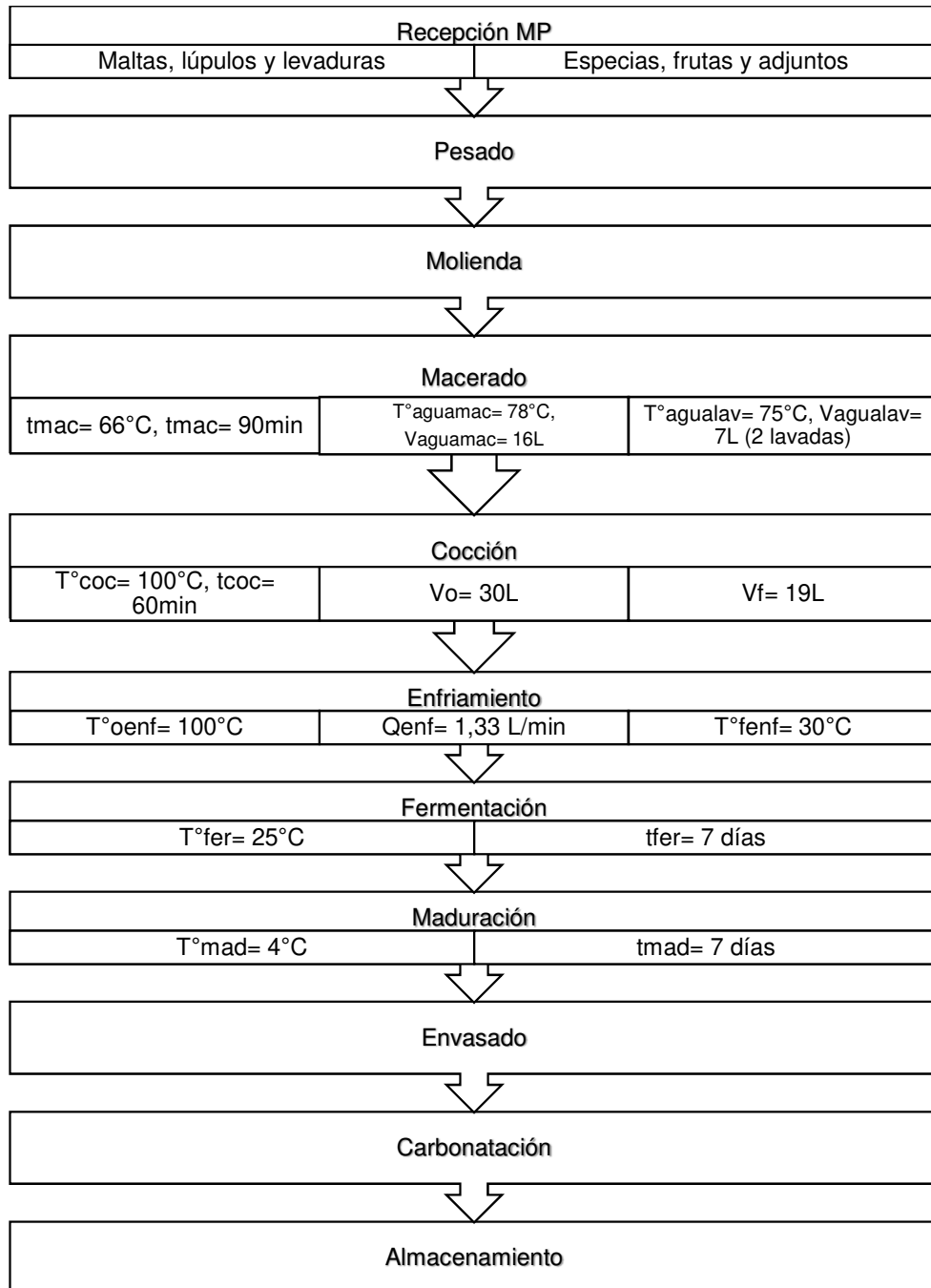


Figura 1.5 Proceso de elaboración de cerveza

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración Propia

Como manifiesta Kunze, (2006).

Recepción: Compra y selección de maltas certificadas, almacenadas en condiciones de baja temperatura y humedad, atmósferas modificadas.

Pesado: De acuerdo a la formulación del producto establecida, se pesan las materias primas requeridas.

Molienda: Rompimiento de la estructura del grano de malta en fracciones más pequeñas, aumentado la superficie de contacto y facilitando la transferencia de calor en la superficie de los fragmentos del grano, con el fin de estimular su extracción.

Maceración: Degradación de almidones en azúcares simples y dextrinas solubles. Se forman extractos por la actividad de las enzimas, a las cuales se les permite actuar a temperaturas óptimas entre 62°C y 65°C para tener el contenido más alto en maltosa y la más alta atenuación límite.

Cocción: Sucede una disolución y transformación de componentes de lúpulos en el mosto, destrucción de todas las enzimas, esterilización del mosto, reducción del pH del mosto.

Enfriamiento: Evita la permanencia prolongada en temperaturas intermedias (>30°C) que aumentan el riesgo de propagación de microorganismos perjudiciales en el mosto.

Fermentación: Conversión de azúcares fermentables en etanol y dióxido de carbono como productos de la cerveza verde. Además, la producción de otros compuestos (diacetilo, acetaldehídos, cetonas) que influyen en la calidad de la cerveza final.

Maduración: Etapa correlacionada con la fermentación en donde predomina el desarrollo de los sabores, los cuales dependen de las temperaturas que estimulan o atenúan los metabolitos mencionados anteriormente.

Envasado: Dosificación en botellas en la presentación o volumetría deseada en condiciones asépticas.

Carbonatación: Restitución del Dióxido de carbono perdido en tratamientos a presión reducida o mayor temperatura.

Almacenamiento: A temperaturas de refrigeración que facilitan la atenuación de las levaduras remanentes activas.

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

2.1 Ponderación de Factores para selección del objetivo de estudio

2.1.1 Selección del estilo de cerveza de estudio

La herramienta utilizada para la selección del estilo de cerveza elaborada por La Empresa” fue a través de una matriz de ponderación según los procedimientos de Vilar, (1997).

Dicha matriz se tabuló en base a los estilos de cervezas, con el fin de analizar cuál de los estilos elaborados es el de mejor rendimiento con respecto a diversos factores. Los factores de mayor connotación fueron evaluados por su relevancia o peso relativo en la decisión ponderada, obtenida como resultado. Según Palmer, (2017) las explicaciones de cada factor referido fueron:

Disponibilidad de materia prima: Los siete diferentes tipos de cerveza requieren variedades de materia prima, como: maltas, lúpulos, levaduras, especias, frutas, entre otros adjuntos. Los ingredientes como maltas, lúpulos y levaduras, son los que presentan mayor dificultad de disponibilidad por parte del proveedor. Las maltas son importadas ya que la cebada producida en el país no cumple con los estándares de rendimiento requerido y los costos de malteado son elevados, los lúpulos provienen de flores que solo se cultivan en países donde se dan las cuatro estaciones y en el caso de las levaduras el proveedor tiene un catálogo limitado de variedades. Por lo tanto, los estilos que gozan de mayor disponibilidad de materias prima se les otorgan una calificación de “5” y con “1”, los estilos que tengan dificultad de adquisición en cuanto a este factor.

Levadura: *Saccharomyces cerevisiae*. Se definió este ingrediente como factor, en función de su concentración con respecto al estilo a elaborar o a la cantidad de metabolito primario (% alcohol) que se desea como producto

final, considerando el factor costo. Por ejemplo, la cerveza estilo *PILSNER*, conlleva la aplicación de mayores cantidades de levadura en relación a los otros estilos de estudio, cabe recalcar que esta levadura específica es para cervezas tipo LAGER como lo es el caso de una *PILSNER*, además esto influye en que se necesiten bajas temperaturas lo que genera un costo adicional.

En el caso de las otras (6) cervezas de estudio, estas son de naturaleza ALE, las cuales requieren temperaturas en condiciones normales para su actividad fermentativa, requisitos que se adaptan a la ciudad de Guayaquil, lugar donde la empresa está instalada. Para la calificación de este factor se otorga un valor de “1” si la cantidad requerida de levadura y las condiciones de temperatura en el proceso generan un costo superior aproximado a \$150/Kg (históricos de la empresa). Mientras que se otorga un valor de “5” si el costo es inferior y acorde a las necesidades energéticas.

Proceso: Se considera la estabilidad del proceso, evaluar si un proceso repetido causa mucha diferencia o no con respecto a otros estilos, analizar si un proceso requiere mayor atención o complejidad de otros. Por lo tanto, la calificación a otorgar es de “1” en el caso que el proceso tenga una variabilidad en su repetición, o si el proceso requiere de mayor control y monitoreo con respecto a sus etapas; al contrario, se otorga una calificación de “5” si el proceso demuestra constancia en su elaboración perenne, así mismo si el proceso no requiere de un exhaustivo control debido a su operación acertada y confiable.

Retención de espuma: Este factor especifica la capacidad de la cerveza para mantener la corona de espuma por un tiempo considerable, que depende mucho de la composición de la cerveza. Las cervezas más viscosas tienen la cualidad de retener espuma por más tiempo por contar

con mayor porcentaje de proteínas y glicoproteínas, con la ayuda de los alfa-ácidos provenientes de los lúpulos y ciertos iones metálicos. No obstante, las cervezas con mayor porcentaje de lípidos no tienen mucha retención de espuma. De esta manera, se establece la calificación de “1” a las cervezas que no poseen retención de espuma y “5” para las cervezas que tienen buena retención de espuma por las razones previamente mencionadas.

Sabor: Este criterio fue establecido en base a la cerveza elaborada por la empresa, comparada con la cerveza de control y es de carácter subjetivo. Es así, como se define una ponderación de “5” a las cervezas elaboradas que poseen todas las características óptimas de sabor; es decir, sin percepción de sabores ácidos y sin sabores de acetaldehídos. El sabor proporcionado por los ésteres y el diacetilo deben ser moderados dependiendo el estilo de cerveza. Por otra parte, se otorga una calificación de “1” para las cervezas elaboradas que no poseen los sabores característicos esperados y definidos por la referencia o tienen mucha variación.

Tiempo de liberación: Definido como el tiempo de proceso de elaboración de la cerveza, que comprende: molienda, macerado, cocción, enfriamiento, fermentación, maduración, envasado, carbonatación, almacenamiento para estabilización de la cerveza, comercialización y consumo. Es así, que la ponderación que se da a este factor es: “1” para las cervezas que requieren de mayor tiempo para la liberación y “5” para las cervezas que requieren menos tiempo lo cual conlleva a la optimización objetivo.

Costo: Los ingredientes predominantes de una cerveza son, el agua, malta, levadura y lúpulo, pero también pueden existir ingredientes adjuntos que enriquecen en diversas características el producto final, pero su costo adicional puede incidir en la decisión. Cabe destacar que las cervezas entre estilos, tienen diferencias con respecto a costos de manera notable; es

decir, a priori se conoce que las cervezas oscuras provenientes de las maltas tostadas, tienen un mayor costo que las maltas pálidas por su pretratamiento energético de tostado, por lo que no optaremos por ponderar una cerveza que reúna estas características. Finalmente, dentro de esta calificación, se otorga el valor de “1” en el caso de tener materias primas muy costosas para elaborar la cerveza, y un “5” de ser el caso de que los costos de materias primas sean de un monto considerable sin dejar de tomar en cuenta la calidad y el beneficio que ofrecen.

Aceptación: Es un atributo que define la preferencia del consumidor por un determinado producto y es de carácter subjetivo. Mediante encuestas (no incluidas en el presente reporte, datos históricos de la Empresa), la empresa ha podido notar la preferencia que ha tenido un estilo de cerveza con respecto a otros. El valor de la calificación es de “1” si el estilo evaluado no tuvo una aceptación, por parte del consumidor. Caso contrario se otorga una calificación de “5” si el estilo evaluado tiene una mayor aceptación (datos históricos de La Empresa)

2.1.2 Selección de la etapa del proceso para el estudio

La empresa ha expresado la necesidad de rediseñar sus etapas de elaboración, es por ello; que el siguiente objetivo fue seleccionar la etapa de mayor vulnerabilidad para efectuar la experimentación in situ utilizando la misma herramienta explicada en el apartado 2.1.1. La ponderación del proceso de elaboración se realizó en base a los procesos a seguir ordenadamente para la elaboración de la cerveza artesanal INDIAN PALE ALE. A continuación, especificamos los criterios con que fueron seleccionados para ser incluidos en la tabla de ponderación (Vilar, 1997).

Duración: El tiempo que se incurre en cada proceso es un factor determinante para buscar la mejora del mismo, motivo por el cual es necesario incluir el tiempo de duración de cada uno en el análisis. Es importante aclarar que el hecho de que una etapa del proceso dure menos tiempo, no implica que este sea menos importante que otro. Tomando en cuenta que, si se destina mayor tiempo en un proceso, se incurre en más gastos para La Empresa, es allí donde nace la necesidad de mejorar el tiempo para evitar sobreprocesos que generen mayores gastos. Finalmente, se define una ponderación de “5” para los procesos que requieren de menor recurso de tiempo y “1” para los procesos que requieren de mayor tiempo para su cumplimiento.

Dotación: El número de personas involucradas en el proceso es un factor tomado dado a la importancia de competencia por la tarea a realizar. La Empresa, al ser una cervecería artesanal de baja escala, los procesos que lo confieren no requieren de dotaciones elevadas como en procesos industriales (Datos históricos de la empresa). Por lo tanto, si tomamos en cuenta este factor con respecto al parámetro de mejora, una dotación baja, requerirá menor gasto de recursos, es decir; se otorga una calificación de “5” al proceso que requiere de menor dotación, mientras que “1” al proceso

que requiera mayor mano de obra, por ende, mayor costo de personal que incurre en “La Empresa”

Higiene: Es importante dentro del cumplimiento de un proceso que este posea una higiene adecuada, ya que de eso dependerá si la cerveza obtenida es inocua. En las distintas etapas en el proceso de elaboración de cerveza artesanal se manejan diferentes estándares de higiene en relación a la naturaleza del proceso; por ejemplo, en la *MOLIENDA*, el molino y los recipientes deben estar sanitizados adecuadamente previo a que la malta sea triturada. Posteriormente, desde el punto de vista de la higiene no se realiza mayor control hasta que termine el proceso. Por otra parte, en la *FERMENTACIÓN*, previo a contener el mosto o medio de cultivo en el fermentador, este debe estar sanitizado correctamente y la importancia de la higiene llega a tomar una mayor magnitud ya que una errónea limpieza y sanitización del fermentador, ocasionaría una contaminación en el producto final. Esto lo hemos logrado con el uso de sanitizantes y el uso de los mismos implica un aumento en los gastos por higiene. De esta manera se otorga la ponderación de “5” a los procesos que son muy higiénicos y “1” nada higiénico.

Punto crítico: La Higiene es muy importante, pero el análisis de puntos críticos con fundamentos de inocuidad y seguridad alimentaria es un tema de mayor connotación. El análisis HACCP según el Anexo CAC/RCP 1-1969, Rev. 4. (2003) no ha sido aún una herramienta adoptada ni desarrollada en La Empresa. Sin embargo, el personal actual maneja las bases de un punto crítico común, un punto crítico de control, y un punto que no representa peligro en el proceso. Un punto crítico representa una etapa donde el factor de riesgo de contaminación puede estar latente, que conlleve a futuros cuadros de intoxicación de los consumidores, por ello es importante destacar que La Empresa agotará los recursos y esfuerzos necesarios para cumplir con las normas de seguridad alimentaria. Es así

que, dentro de la matriz de ponderación, se otorga una calificación de “5” al proceso que tenga menor riesgo de ser considerado como punto crítico con respecto a la optimización de recursos incurridos en su inspección, citando ejemplos como la *RECEPCIÓN* de materia prima, o la *MOLIENDA* donde conocemos que existen procesos posteriores que eliminan la carga de bacterias patógenas que pueden existir en el medio. Por otro lado, se otorga una calificación de “1” a los procesos que representen mayor peligro de contaminación, es decir; proceso en el cual no exista una etapa posterior que facilite la inocuidad del producto hasta su consumo y conlleve riesgos.

Equipamiento: El contar con el equipamiento adecuado implica gastos para La Empresa, por eso es importante encontrar un balance entre el equipamiento necesario y los gastos en los que es posible incurrir. Por este motivo se define como “5” al proceso que posee un equipamiento de industria cervecera y “1” si La Empresa no lo dispone. Por ejemplo, La Empresa no cuenta con un espacio físico para la recepción de la materia prima, ni con los equipos para realizar los análisis de calidad necesarios.

Control del Proceso: Este factor fue analizado con respecto a cómo La Empresa realiza sus prácticas en el control de cada uno de los procesos, de qué manera se hacen los seguimientos, monitoreo y verificación de los datos recopilados. Para entender mejor a que nos referimos con este factor en relación a la mejora, citando el ejemplo de la etapa de *FERMENTACIÓN*, el control es muy limitado debido a que las ciencias de la fermentación requieren una serie de parámetros controlados para su óptimo desarrollo (temperatura, formación de CO₂, densidad del medio de cultivo) (Palmer, 2017) que La Empresa actualmente no dispone, tanto de control total de los mismos, como conocimientos teóricos para realizar un correcto seguimiento y control del proceso. Es por ello que se otorga una calificación de “5” si el proceso actualmente tiene el control necesario y cubierto para la demanda actual de La Empresa en cada una de las etapas,

conforme vayan mejorando otros factores, el control puede avanzar directamente proporcional. Por último, se otorga una calificación de “1” si el proceso tiene un mal manejo o un manejo limitado de los procesos por las razones antes mencionadas.

2.2 Metodología de la experimentación

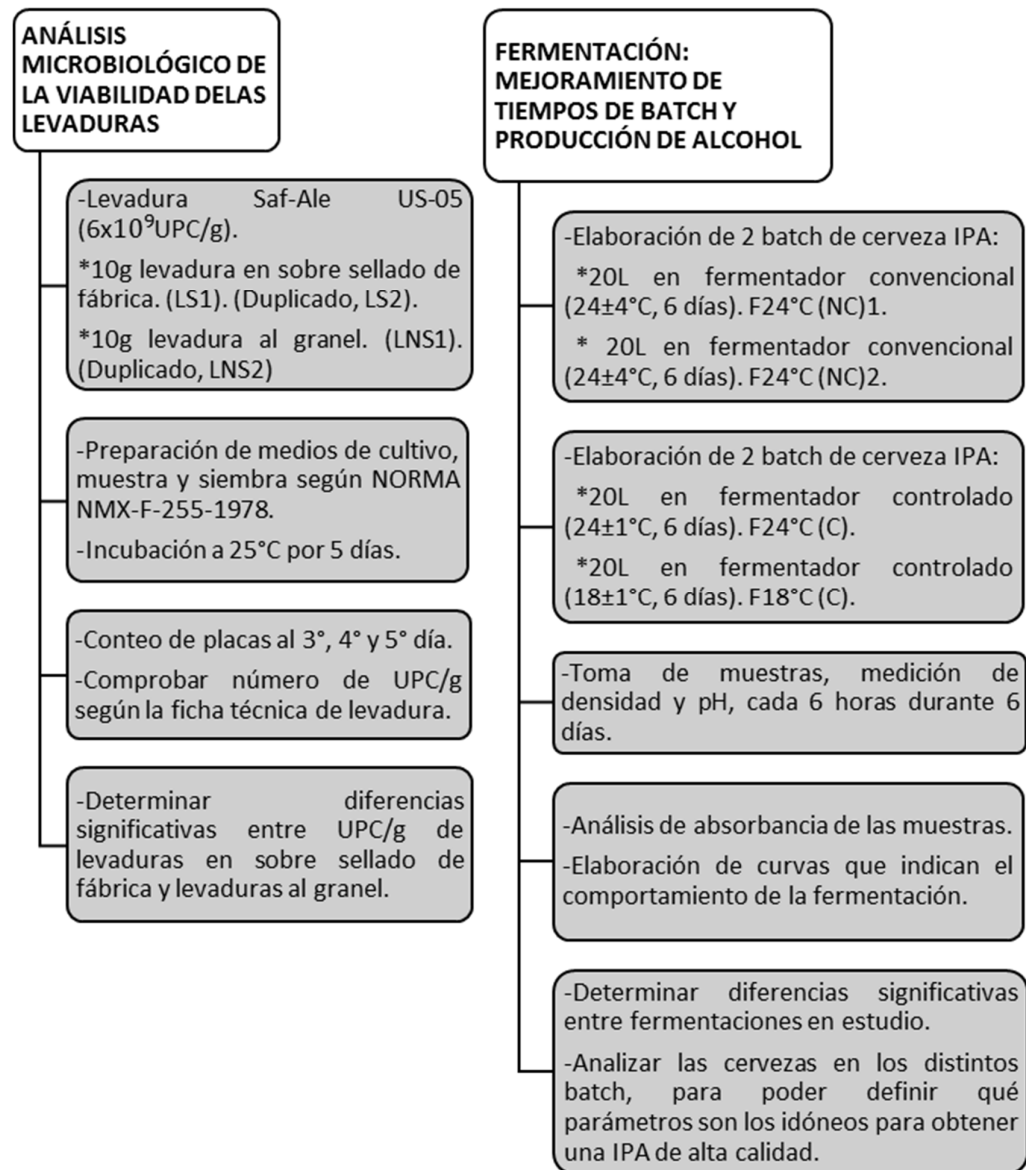


Figura 2.1 Resumen de la metodología

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración Propia

2.2.1 Análisis microbiológico

2.2.1.1 Viabilidad de las Levaduras

La viabilidad de las levaduras se definió como el porcentaje de células viables con respecto al número total de células presentes en la muestra, y la cuantificación se realizó para obtener valores específicos del rendimiento de la levadura que se emplea. Para la fermentación de la cerveza estilo IPA se utilizó la levadura *Fermentis Saf Ale US-05*.

Se evaluaron las muestras al granel del proveedor y sobre sellado desde fábrica con sus respectivas réplicas. Los procedimientos aplicados siguen los lineamientos que indica la Norma Mexicana “NMX-F-255-1978. MÉTODO DE CONTEO DE HONGOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS”.

2.2.1.2 Materiales y reactivos

Se necesitaron de 20g de levadura al granel (LNS) y 20g de levadura en sobre sellado desde fábrica (LS). Además, se utilizó como medio de cultivo PDA (Potato Dextrose Agar) deshidratado y agua destilada. Para la acidificación del medio, se añadió solución de ácido tartárico al 10%. Finalmente, como material de siembra, se utilizaron micropipetas de 1ml y placas Petri.

2.2.1.3 Preparación de medios

Se preparó una solución de agua de peptona en una relación de 15g por litro de agua pura y homogenizar. Luego fue distribuida en una fiola (90 ml) para la hidratación de la muestra y 9ml en los tubos de ensayo para las diluciones posteriores. Además, se preparó la solución de Agar PDA (Potato Dextrose Agar) en una relación de 39g por litro de agua pura, homogenizar en caliente por aproximadamente 30 minutos y esterilizar.

Finalmente, se preparó una solución de ácido tartárico en una relación de 1,4 ml al 10% por cada 100 ml de Agar, el cual propicia un descenso en el pH del medio a 3,5 con el fin de inhibir el crecimiento de bacterias.

2.2.1.4 Preparación de diluciones

Se tomó en cuenta la ficha técnica del fabricante de la levadura Fermentis, que especifica que posee 6×10^9 UPC/g (Fermentis, n.d.). Específicamente en el exponente 10^9 , así se definió las diluciones necesarias que se realizaron en la experimentación.

Se necesitaron de 10g de levadura en 90ml de agua de peptona para el enriquecimiento de la muestra, que correspondían a la dilución 10^{-1} .

Posteriormente, se tomó 1ml de la muestra enriquecida para diluirla en 9ml de agua de peptona que correspondió a la dilución 10^{-2} . Y así se realizó sucesivamente hasta que se alcanzó la dilución 10^{-10} .

2.2.1.5 Siembra e incubación

Para la siembra en masa se utilizaron las tres últimas diluciones 10^{-8} , 10^{-9} y 10^{-10} , en medio PDA (Potato Dextrosa Agar) previamente acidificado con ácido tartárico. Se tomó 1ml de muestra con la micropipeta y se colocó en la caja Petri. Luego se añadió PDA acidificado ($T^\circ=35^\circ\text{C}$), se homogenizó la siembra y se esperó su solidificación.

La incubación se dio a una temperatura de 25°C controlada en la incubadora, durante 5 días.

Por cada muestra, junto a su réplica se realizó un duplicado de siembra, generándose así un total de 24 placas.

Adicionalmente, se tomaron dos placas con medio PDA que sirven de control, las cuales fueron: blanco ambiente que verifica que el ambiente

circundante a la siembra es aséptico y el blanco medio que asegura que el medio de cultivo se encontraba en condiciones estériles.

2.2.1.6 Conteo de placas

Las cuantificaciones de las placas se realizaron desde el tercer, cuarto y quinto día. Se consideraron para el recuento, las placas en el quinto día de incubación, siempre y cuando estas estuviesen en el rango entre 10 a 150 UPC (Unidades Propagadoras de Colonias), según la NORMA MEXICANA, (1994). Para las placas que sobrepasaron el rango establecido, se tomó el recuento de la misma perteneciente al día 4, o en su defecto del día 3.

Para obtener el valor real del conteo se utilizó la ecuación 1.

$$UPC = \text{Conteo en placa} * \text{Factor inverso de dilución} \quad (1)$$

2.2.2 Fermentación

2.2.2.1 Toma de muestras

El procedimiento comenzó con la esterilización de los tubos falcon de 50ml. Luego, se procedió a tomar las muestras según Jastrzębska, Kowalska, & Szlyk, (2017) de un Batch de la cervecera Parbirra con los tubos previamente rotulados y de acuerdo al cronograma establecido (Ver Tabla 2.1).

De inmediato, las muestras fueron congeladas para inhibir la acción metabólica de las levaduras en el caldo de fermentación. Esta toma de muestras se realizó en las fermentaciones correspondientes a tres experimentos: La fermentación $F24^{\circ}C$ (NC) junto a un duplicado, $F24^{\circ}C$ (C) y $F18^{\circ}C$ (C).

Tabla 2.1 Cronograma de muestreo y análisis

Experimentación												
	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6					
Elaboración del medio de cultivo	■	■										
Toma de muestra 05:00		■		■		■		■		■		■
Toma de muestra 11:00			■		■		■		■		■	
Toma de muestra 17:00				■		■		■		■		■
Toma de muestra 23:00			■		■		■		■		■	
Análisis de muestras LAB				■	■	■	■	■	■	■	■	■
Elaboración de curvas de crecimiento				■	■	■	■	■	■	■	■	■

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración Propia

2.2.2.2 Medición de producción de Alcohol

Simultáneamente a la toma de muestras, se midió la densidad para obtener el valor del contenido de alcohol por volumen de cerveza en cada experimento. Con la ayuda del densímetro, medido en unidades de g/cc.

El grado alcohólico fue determinado utilizando la ecuación 2.

$$\%ABV = \frac{\frac{((GI-GF)*1,05)}{GF} * 100\%}{0,79}} \quad (2)$$

Finalmente, se utilizó herramientas estadísticas para la comparación por el método Fisher, entre las curvas del comportamiento de la densidad que obtengamos.

2.2.2.3 Mejora de tiempos de Batch

Un equipo de espectrofotometría que mide la absorbancia, (intensidad de luz transmitida por parte de una muestra) fue utilizado para obtener los datos correspondientes al día exacto de que culmine la fermentación. Para la medición en el experimento F24°C (NC), fue necesario previamente preparar las muestras a temperatura de fermentación 24°C,

homogenizar las muestras en un equipo Vortex, y tomar 200 µl que fueron colocados en una placa Citotest® de 96 pocillos a 590 nm por 5 duplicados, tomando 3 mediciones en base al software. Luego de haber tenido a disposición los resultados de la experimentación, se realizó una tabla y gráfica de la curva de crecimiento de la Levadura con respecto al tiempo.

La Empresa facilitó la adquisición de un Fermentador Cónico de Acero inoxidable de 1bbl (155L) SsBrewTech® con una serie de accesorios tales como: Termocuplas, lector digital de temperatura, chaquetilla de aislamiento, válvulas facilitadoras para toma de muestras.

Además, el procedimiento posterior a la adquisición fue desarrollado bajo la misma consigna de la toma y medición de muestras como lo realizado en el experimento F24°C (NC) a las temperaturas que estimularon una óptima formación de los metabolitos de interés correspondientes a los experimentos F24°C (C) y F18°C (C).

2.2.2.4 Descenso del pH

El instrumento de medición fue el pH-metro Boeco Germany® en cada una de las muestras tomadas de la fermentación F24°C (NC).

2.2.2.5 Recurso energético

Para cuantificar la cantidad de azúcares reductores inicial y final de la fermentación F24°C (NC), se realizó un análisis por el método DNS (Wood et al., 2012). Previamente se diluyeron las muestras en un factor 10^{-2} , de los que se tomaron muestras 200 µl que fueron colocadas en una placa Citotest®, para ser analizadas a 540 nm por el espectrofotómetro. Posteriormente, se utilizó la curva de calibración para comparar los datos de absorbancia en términos de datos expresados en mg/ml de azúcares reductores.

2.2.3 Plan de mejora y Costos

Se realizó una formulación de Costos de como La Empresa llevaba anteriormente su flujo neto financiero, y se lo compara con un flujo neto actual. El análisis incluye costos de materia prima, costos directos, costos indirectos, créditos bancarios a una tasa de interés mensual por un periodo de actividad de un año.

2.3 Aprovechamiento de desechos Post-Fermentación.

2.3.1 Diseño y desarrollo de una barra de cereales con LID como ingrediente en la formulación.

Para el desarrollo de la barra, se utilizó el LID esterilizado a 121°C por 15 minutos y secado en horno a 150°C por 45 minutos.

2.3.1.1 Estudio de Mercado

Según Ulrich & Eppinger, (2013), el desarrollo y diseño del producto conlleva un proceso genérico (Ver figura 2.1), por lo tanto, el producto necesita un estudio de mercado, conocer el tipo de oportunidad a la que está situada con respecto a la necesidad/tipo de mercado y a la solución que lo aborda (Ver figura 2.2.).

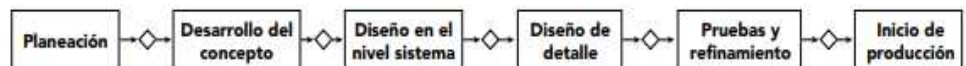


Figura 2.2 Proceso genérico de desarrollo de productos

FUENTE: (Ulrich & Eppinger, 2013)

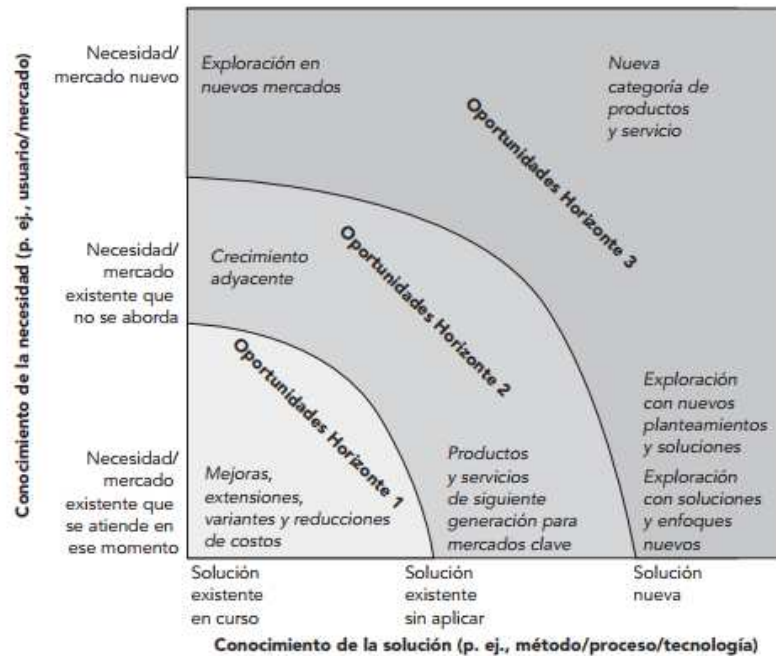


Figura 2.3. Tipos de oportunidades.

FUENTE: (Ulrich & Eppinger, 2013)

Se realizó una encuesta de seis preguntas, a 146 encuestados para conocer su grado de aceptación y conocimiento al entorno de las barras de cereales para tener una base de hacia dónde y a quiénes el producto pudo llegar a ser potencial.

2.3.1.2 Formulación del producto

Se realizaron dos productos, los cuales contienen una formulación inédita de ingredientes que incluyen cereales, agentes que actúan como espesantes, sin conservantes. Los dos productos únicamente variaron en el porcentaje de LID dentro de la formulación (1% y 3%) en 500g como base. Los porcentajes de estudio, fueron estimados de acuerdo a su alto contenido de α -ácidos (Kunze, 2006) provenientes de las resinas de lúpulos inherentes a la levadura post fermentación.

2.3.1.3 Caracterización de proteínas

Se utilizó el método de destilación Kjeldahl según los procedimientos que especifica la “Norma Oficial Mexicana” NOM, (1980), tanto para la barra de cereales con 1% y 3% en LID

2.3.1.4 Panel sensorial y análisis estadístico de resultados

Se definieron dos factores de la formulación, los cuales serán pieza clave en el análisis estadístico de un ANOVA establecer si existen diferencias significativas entre las medias muestrales de los niveles o tratamientos establecidos en la variable de respuesta, la cual representa tanto el nivel de aceptación organoléptico, y la percepción del amargor.

También se definió una tabla de escala hedónica para la calificación en el Panel Sensorial. Los valores de la calificación correspondieron a datos para el ANOVA de ambos atributos.

Tabla 2.2 Escala hedónica del panel sensorial

Aceptación		Amargor	
Percepción	Calificación	Percepción	Calificación
Me disgusta demasiado	-4	No es en lo absoluto amargo	0
Me disgusta mucho	-3		1
Me disgusta moderadamente	-2		2
Me disgusta ligeramente	-1	Suficientemente amargo	3
No me gusta ni me disgusta	0		4
Me gusta ligeramente	1		5
Me gusta moderadamente	2	Demasiado amargo	6
Me gusta mucho	3		
Me gusta demasiado	4		

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe)
Elaboración propia

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS

3.1 Selección de cerveza y etapa de estudio

Tabla 3.1 Matriz de ponderación en la selección de estilo de cerveza en control y estudio.

FACTORES	Peso Relativo	CALIFICACIÓN							PONDERACIÓN						
		Mandarina Saison	Stout	Mora Altbier	Naranja Golden Ale	Indian Pale Ale	Pilsner	Chocolate Brown Ale	Mandarina a Saison	Stout	Mora Altbier	Naranja Golden Ale	Indian Pale Ale	Pilsner	Chocolate Brown Ale
Disponibilidad de materia prima	15%	3	3	3	3	4	3	4	0,45	0,45	0,45	0,45	0,60	0,45	0,60
Levadura	5%	4	3	4	4	5	2	3	0,20	0,15	0,20	0,20	0,25	0,10	0,15
Proceso	20%	4	4	4	4	4	2	4	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,40	0,80
Retención de espuma	5%	3	4	2	3	5	4	2	0,15	0,20	0,10	0,15	0,25	0,20	0,10
Sabor	15%	5	3	5	5	5	4	2	0,75	0,45	0,75	0,75	0,75	0,60	0,30
Tiempo de liberación	5%	5	3	3	3	4	1	3	0,25	0,15	0,15	0,15	0,20	0,05	0,15
Costo	20%	4	3	2	2	5	4	4	0,80	0,60	0,40	0,40	1,00	0,80	0,80
Aceptación	15%	5	3	5	4	5	4	2	0,75	0,45	0,75	0,60	0,75	0,60	0,30
	100%								4,15	3,25	3,60	3,50	4,60	3,20	3,20

FUENTE: (Vilavicencio & Guadalupe, 2018)
Elaboración Propia

El resultado en la matriz de ponderación, para la selección del estilo de cerveza, correspondió al estilo *INDIAN PALE ALE*. Con una ponderación de 4,60 demostró la calificación más alta, en relación a los demás estilos de cerveza bajo a los factores establecidos (Ver Tabla 3.1).

Tabla 3.2 Matriz de ponderación del proceso de elaboración de cerveza para la selección de la etapa con mayor vulnerabilidad a estudiar.

		FACTORES						
		Duración	Dotación	Higiene	Punto crítico	Equipamiento	Control de proceso	
Peso relativo		5%	10%	20%	25%	15%	25%	
CALIFICACIÓN	Recepción	5	3	3	5	1	3	
	Molienda	5	3	3	5	3	2	
	Macerado	3	4	4	3	3	4	
	Cocción	3	4	5	2	3	4	
	Enfriamiento	4	2	4	3	3	3	
	Fermentación	2	4	5	1	3	3	
	Maduración	2	4	5	2	2	3	
	Envasado	4	3	5	2	3	3	
	Carbonatación	2	4	5	2	3	3	
	Almacenamiento	3	4	4	4	2	2	
	PONDERACIÓN	Recepción	0,25	0,30	0,60	1,25	0,15	0,75
Molienda		0,25	0,30	0,60	1,25	0,45	0,50	3,35
Macerado		0,15	0,40	0,80	0,75	0,45	1,00	3,55
Cocción		0,15	0,40	1,00	0,50	0,45	1,00	3,50
Enfriamiento		0,20	0,20	0,80	0,75	0,45	0,75	3,15
Fermentación		0,10	0,40	1,00	0,25	0,45	0,75	2,95
Maduración		0,10	0,40	1,00	0,50	0,30	0,75	3,05
Envasado		0,20	0,30	1,00	0,50	0,45	0,75	3,20
Carbonatación		0,10	0,40	1,00	0,50	0,45	0,75	3,20
Almacenamiento		0,15	0,40	0,80	1,00	0,30	0,50	3,15

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración Propia

El resultado demostró que la mínima ponderación fue de 2,95, la cual corresponde a la etapa de *FERMENTACIÓN* (Ver Tabla 3.2). En consecuencia, esta etapa fue identificada como la de mayor vulnerabilidad en la elaboración de la cerveza estilo *INDIAN PALE ALE*.

3.2 Análisis microbiológico de las Levaduras SafAle US-05

3.2.1 Recuento de colonias en placas

En el análisis microbiológico del total de unidades propagadoras de colonia por gramo de levadura deshidratada, utilizada como materia prima; se evidenció que, mediante el conteo según la Norma Mexicana “NMX-F-255-1978. MÉTODO DE CONTEO DE HONGOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS” hubo un 67% del total de placas dentro del rango contable estipulado (Ver Tabla 3.3) en donde las diluciones correspondientes a 10^{-8} se observó una desviación estándar de 57 colonias entre los datos de las muestras pertenecientes a la levadura sellada estéril (LS) y la levadura al granel (LNS), por lo que se decidió que no formarían parte del reporte final. A pesar del conteo excesivo en la dilución anteriormente mencionada, se evidenció que el conteo de todas las muestras correspondientes a la dilución 10^{-9} mostraron una distribución normal con una desviación estándar de 8 colonias (Ver Figura 3.1), siendo una referencia estable. Por último, la dilución de prueba adicional realizada que corresponden a las muestras 10^{-10} , demostraron que el 88% de sus placas son contables. Sin embargo, el mismo porcentaje de datos estuvo fuera del rango de conteo que estipula la norma, siendo así, valores descartados para el reporte final. Además, cabe mencionar que en las placas consideradas como Blanco Ambiente y Blanco Medio, no hubo crecimiento de ninguna unidad propagadora de colonias, destacando la correcta siembra realizada para el análisis de esta experimentación en todas sus diluciones.

Tabla 3.3 Conteo general de placas de las levaduras en estudio.

Dilución	Número de colonias				BA	BM
	LS1	LS2	LNS1	LNS2		
10 ⁻⁸	38	170	144	46		
10 ⁻⁸	29	38	104	128		
10 ⁻⁹	34	23	13	11		
10 ⁻⁹	10	20	15	12		
10 ⁻¹⁰	1	24	1	1		
10 ⁻¹⁰	3	9	3	1		
BA					0	
BM						0

NOTA: Solo fueron consideradas las placas de la dilución 10⁻⁹.

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2017)

Elaboración Propia

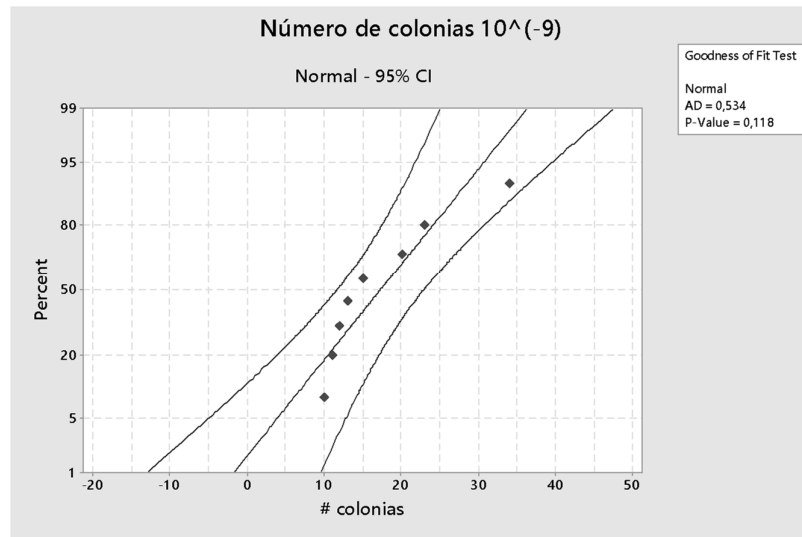


Figura 3.1. Distribución normal de los datos del conteo de la dilución 10⁻⁹. (Valor p=0,118 que establece que los datos corresponden a una distribución normal).

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2017)

Elaboración Propia

3.2.2 Reporte de Levaduras

Acorde a la ficha técnica de la Levadura de estudio reporta un recuento de 6,0x10⁹ UPC/g, se pudo comprobar que los resultados del reporte actual de la experimentación (Ver Tabla 3.4), obtuvieron valores por encima de la

ficha técnica del fabricante. Cabe destacar que la levadura sellada estéril posee un mayor aprovechamiento del número de células viables de $2,2 \times 10^{10}$ por unidad de gramo, en relación con las obtenidas de origen al granel.

Tabla 3.4 Reporte del conteo de levaduras de muestras en estudio

Reporte de conteo (UFC/g)			
LS1	LS2	LNS1	LNS2
$2,2 \times 10^{10}$	$2,2 \times 10^{10}$	$1,4 \times 10^{10}$	$1,2 \times 10^{10}$

“NMX-F-255-1978. MÉTODO DE CONTEO DE HONGOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS”.

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2017)

Elaboración Propia

3.3 Fermentación alcohólica

3.3.1 Comportamiento de la fermentación alcohólica F24°C (NC)

3.3.1.1 Absorbancia vs Tiempo

Datos empíricos entregados por la Empresa reportaron como tiempo de fermentación 6 días a una temperatura de $24 \pm 4^\circ\text{C}$. Se determinó que la fase de declinación termina al Día 3 de la fermentación (Ver Figura 3.2) teniendo un tiempo muerto de diferencia de 84 horas con respecto al método tradicional empírico anteriormente empleado. Por otra parte, la producción de alcohol a partir del mosto, reflejó que al llegar al Día 2-Día 3 (48-60 horas) fue atenuada y se mantuvo constante (DI:1058, DF:1020) (Ver Figura 3.3) lo cual, es un indicio de la no presencia de sustrato necesario para la Levadura, lo que conlleva al cese de la actividad metabólica de la misma.

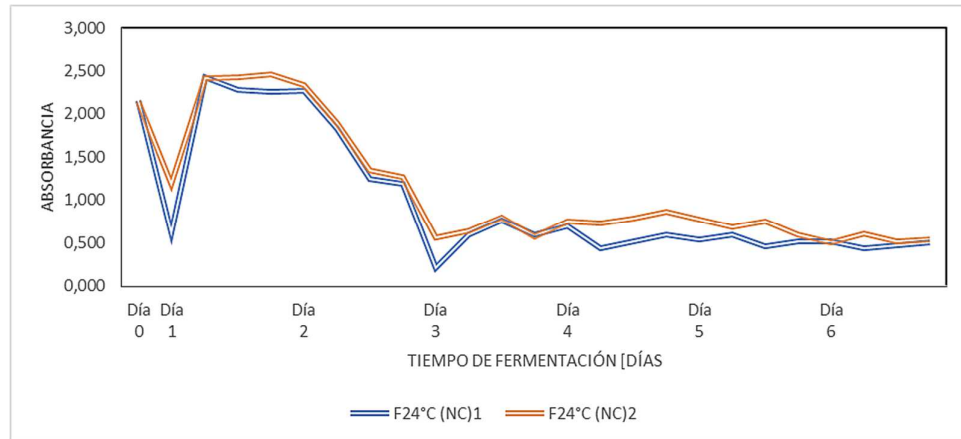


Figura 3.2. Curva de crecimiento de la Levadura, correlaciona la Turbidez con la Actividad Metabólica a través del tiempo (Fermentación No Controlada a 24±4°C)

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2017)

Elaboración Propia

3.3.1.2 Producción de alcohol

La producción de alcohol %ABV es directamente proporcional al descenso de la densidad (Ver figura 3.3). La densidad en la fermentación F24°C (NC) comienza en 1058 descendiendo a un valor constante al finalizar el Día 3, mientras que el aumento del %ABV es inhibida por la densidad, esta llega al 4,95% al mismo tiempo de referencia.

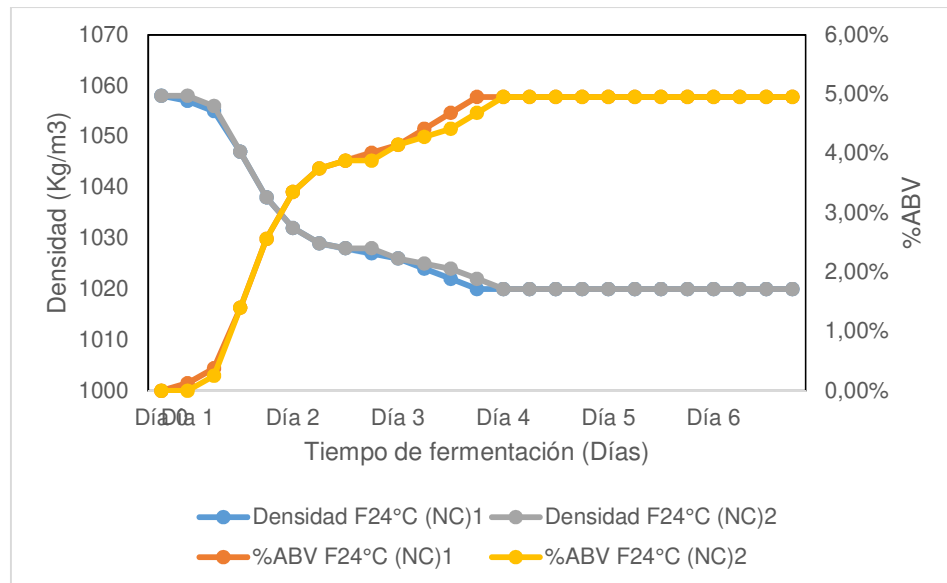


Figura 3.3. Curva de Densidad del medio y Producción de Alohool en F24°C (NC)

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2017)

Elaboración Propia

3.3.1.3 Recurso energético

Respetando las condiciones de temperatura (F24°C (NC)), es importante, mencionar que el recurso energético basado mediante el análisis de azúcares reductores dio como resultado una concentración inicial a la fermentación de 46,1 mg/ml, consumiéndose hasta 33,4 mg/ml luego de 7 días que representa el 27,5% del mosto inicial.

3.3.1.4 Descenso del pH

El valor del pH desciende considerablemente durante la fermentación de 5,6 debido a su acidificación biológica hasta 4,3 y los valores obtenidos encajan según el rango de la literatura científica (Kunze, 2006). No existen diferencias significativas entre la fermentación y su réplica (Ver Figura 3.4)

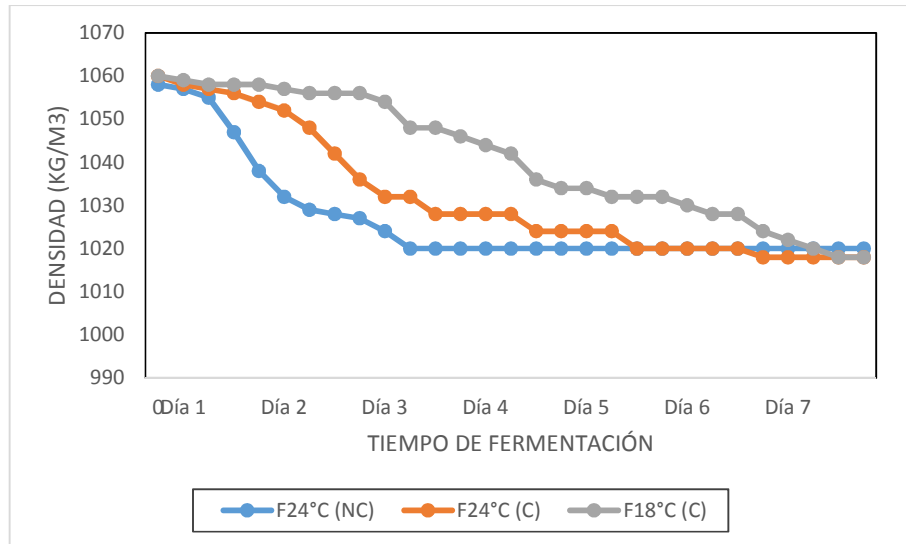


Figura 3.5 Curvas de Densidad a diferentes Temperaturas de control

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe)

Elaboración Propia

3.3.2.2 Comparación estadística

Según la gráfica de comparación *Fisher (método de comparación de medias)* analizado estadísticamente denota que la comparación entre las curvas F24°C (NC) y F24°C (C) muestra que no existen diferencias significativas (Ver Figura 3.6), las medias muestrales pueden llegar a ser parecidas en algún momento de la fermentación, conservando pequeñas diferencias que dependen de la temperatura (Ver Anexo). La comparación de la curva F24°C (NC) y F24°C (C) con la curva F18°C (C) demuestran diferencias significativas. Al obtener el valor p general del ANOVA, se rechaza la hipótesis nula ($p=0,001$) debido que al menos existe una media muestral diferente a las demás. Es decir que el valor de la temperatura a 18°C puede convertirse en otro factor de estudio para analizar el tiempo necesario con el fin de llegar a la densidad final requerida según datos históricos de La Empresa.

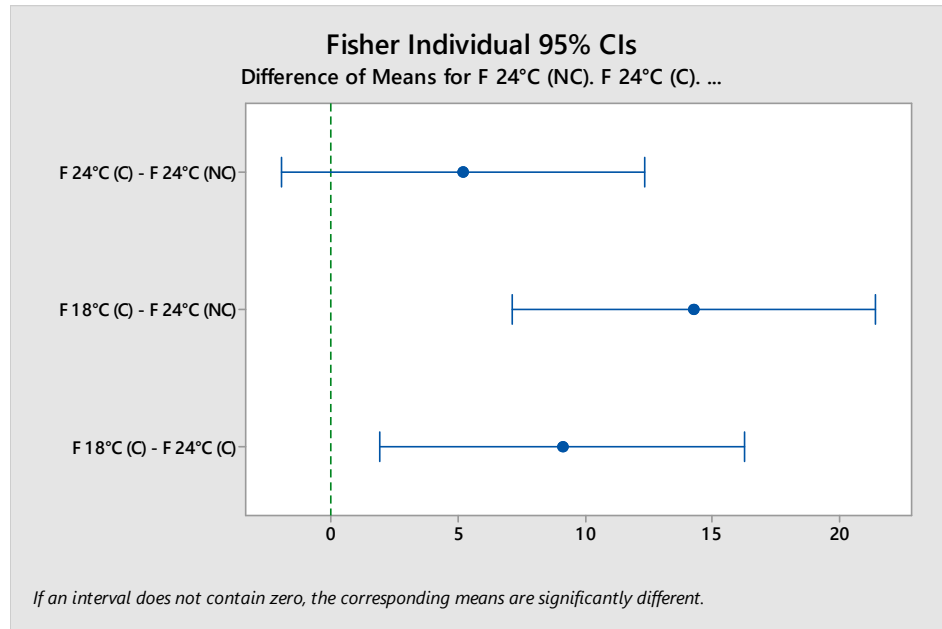


Figura 3.6 Análisis de comparación de medias FISHER entre las Curvas de Fermentación realizadas en la Figura 3.5

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración Propia

3.3.2.3 Absorbancia vs Tiempo con respecto al control de temperatura

La curva de absorbancia de la fermentación F24°C (C) fue comparada de igual manera con la fermentación F24°C (NC) con el fin de observar sus diferencias (Ver Figura 3.7). Se observa que la absorbancia en F24°C (C) posee una atenuación más leve por las bajas temperaturas hasta llegar a la absorbancia final al cabo de 5 días, a diferencia de su homóloga no controlada, quien tiene una actividad de absorbancia superior en el Día 1 por las altas temperaturas que estimulan su crecimiento y generan mayor CO₂.

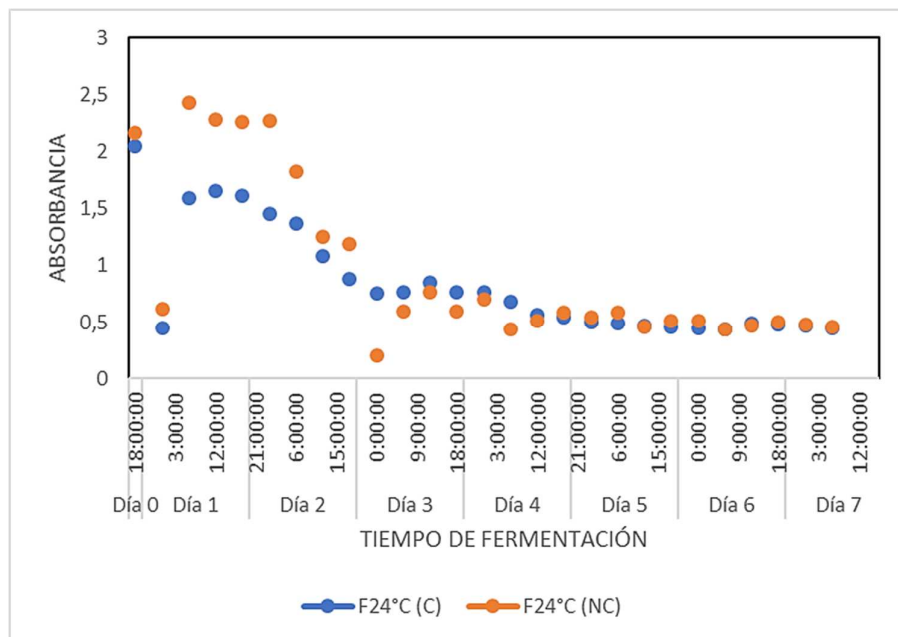


Figura 3.7 Gráfica de dispersión de la Turbidez con respecto al tiempo de Fermentación.

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración Propia

3.3.2.4 Producción de alcohol en F18°C (C)

La fermentación F18°C (C) de manera controlada tuvo un comportamiento el cual fue anteriormente analizado, completando una densidad final en 7 días, obteniendo un grado alcohólico de 5,48 (Ver Figura 3.8).

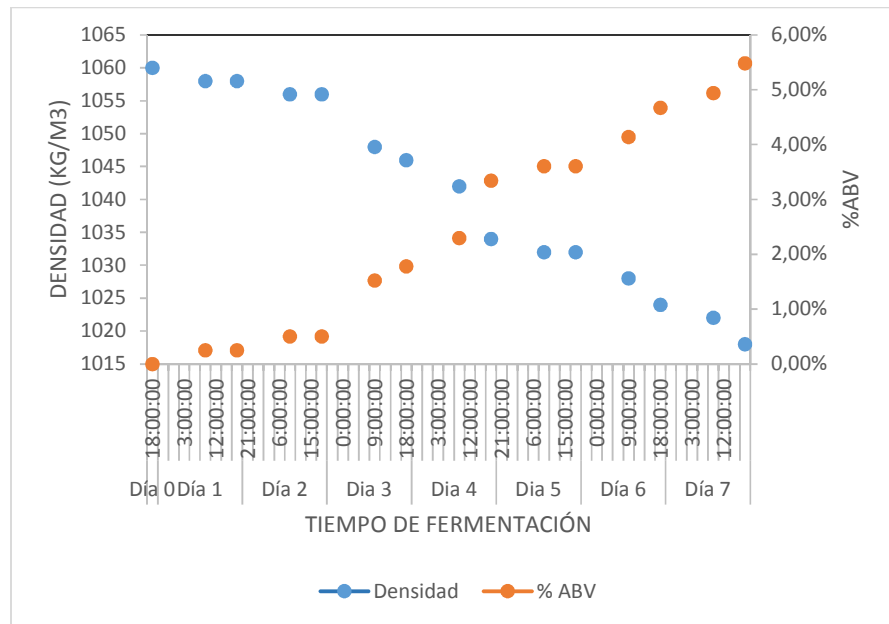


Figura 3.8 Gráfica de dispersión del comportamiento de la Producción de Alcohol (Fermentación controlada a 18°±1°C).

3.3.3 Mejora en la utilización del recurso de Levadura

Luego de conocer el reporte del análisis microbiológico, se pudo evidenciar posterior a las 48 horas de fermentación, que la densidad final en el experimento C (57,5 g/hl) y además cuyo valor se encuentra dentro del rango de dosificación recomendada por el fabricante (50-80) g/hl, reflejó la conversión de azúcares representada en una atenuación hasta 1,022 g/ml (Ver Tabla 3.5). El experimento C/2 (28,8 g/hl) dosificado, determinó que la

atenuación llegó al mismo valor de densidad que en el control estándar C, dicho resultado sugiere una mejor utilización del recurso de la Levadura como materia prima. Sin embargo, el experimento C*2 (115 g/hl), demostró una densidad de 1020 g/ml, el mismo que no representa diferencias significativas con los experimentos anteriormente detallados.

Tabla 3.5 Representación de las tasas de inoculación.

Detalle	Volumen del medio (hl)	Tasa de inoculación (g/hl)	Densidad inicial (g/ml)	Densidad final (g/ml)
C/2	0,01	28,8	1,058	1,022
C	0,01	57,5	1,058	1,022
C*2	0,01	115	1,058	1,020

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2017)

Elaboración Propia

El control representa a las tasas de inoculación efectuadas por La Empresa actualmente, cabe recordar que, a menor densidad final, mayor será el grado de alcohol del producto final.

3.4 Costos y plan de mejora

3.4.1 Proyecto a 20litros/Batch sin plan de mejora.

La formulación y evaluación del proyecto de La Empresa (Ver Tabla 3.6), sin el plan de mejora a una tasa de 20 litros/Batch reportó que actualmente se gastan \$13,40 (USD) por batch (Ver Tabla 3.7), lo que representaba un gasto de \$58,34 (Ver Tabla 3.8) (USD) al mes. En términos específicos a la Levadura SafAle US-05, el gasto por batch fue de \$1,71 (USD) correspondiente a la tasa de dosificación de 57,5 g/hl, los mismos que al mes representaron \$7,70 (USD). Los tiempos de maduración posterior se estimaban para este estilo de cerveza entre 6-7 días adicionales, posteriormente la cerveza clarificada pasaba por un tiempo de carbonatación en botella por un periodo de 14 teniendo así, un total de 25-30 días en la liberación final de cada batch (Ver Figura 3.9). La tasa de

velocidad de trabajo, representaba un batch por semana, teniendo un total de 52 batch al año (4,5 batch al mes).

Tabla 3.6 Costos de Materias Primas por Kilogramos.

<i>Materia Prima</i>	<i>Costo/Kg [\$]</i>
<i>Agua</i>	\$ 0,00082
<i>Malta Pale Ale</i>	\$ 1,50000
<i>Malta Cara 50</i>	\$ 1,79000
<i>Lúpulo Citra</i>	\$ 48,56818
<i>Lúpulo Challenger</i>	\$ 32,61363
<i>Lúpulo Perle</i>	\$ 32,61363
<i>Levadura SafAle 05</i>	\$ 148,80000

FUENTE: Parbirra Brewing Co., 2018

Tabla 3.7 Costo total de insumos en un Batch de 20 litros.

<i>Formulación/Batch 20L</i>			
<i>Materia Prima</i>	<i>Kg</i>	<i>Costo/Kg [\$]</i>	<i>Costo Total [\$]</i>
<i>Agua</i>	30,00000	\$ 0,00082	\$ 0,02460
<i>Malta Pale Ale</i>	5,00000	\$ 1,50000	\$ 7,50000
<i>Malta Cara 50</i>	0,25000	\$ 1,79000	\$ 0,44750
<i>Lúpulo Citra</i>	0,05300	\$ 48,56818	\$ 2,57411
<i>Lúpulo Challenger</i>	0,03000	\$ 32,61363	\$ 0,97841
<i>Lúpulo Perle</i>	0,00700	\$ 32,61363	\$ 0,22830
<i>Levadura SafAle 05</i>	0,01150	\$ 148,80000	\$ 1,71120
Total			\$ 13,46412

FUENTE: Parbirra Brewing Co., 2018

Tabla 3.8 Costo total de Producción al mes junto al material de embalaje a 20 litros/Batch.

<i>Costo MP</i>			
<i>Detalle</i>	<i>Costo [\$]</i>	<i>Batch 20L</i>	<i>Costo Total [\$]</i>
<i>Formulación</i>		\$ 13,46	\$ 58,34
<i>Botella 330 ml</i>	\$ 0,24	\$ 14,42	\$ 62,47
<i>Tapa</i>	\$ 0,02	\$ 1,20	\$ 5,20
<i>Etiqueta</i>	\$ 0,04	\$ 2,40	\$ 10,40
Total			\$ 136,41

FUENTE: Parbirra Brewing Co., 2018

Tabla 3.9 Flujo Neto Mensual a 20 litros/Batch.

Egresos	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7	Mes 8	Mes 9	Mes 10	Mes 11	Mes 12
<i>Costo de MP</i>	\$-136,41	\$-136,41	\$-136,41	\$-136,41	\$-136,41	\$-136,41	\$-136,41	\$-136,41	\$-136,41	\$-136,41	\$-136,41	\$-136,41
<i>Costo MOD</i>	\$-238,95	\$-238,95	\$-238,95	\$-238,95	\$-238,95	\$-238,95	\$-238,95	\$-238,95	\$-238,95	\$-238,95	\$-238,95	\$-238,95
<i>Costos Fijos</i>	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59
<i>Costos Var</i>	\$-53,76	\$-53,76	\$-53,76	\$-53,76	\$-53,76	\$-53,76	\$-53,76	\$-53,76	\$-53,76	\$-53,76	\$-53,76	\$-53,76
<i>Depreciación</i>	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89
	\$-469,60	\$-469,60	\$-469,60	\$-469,60	\$-469,60	\$-469,60	\$-469,60	\$-469,60	\$-469,60	\$-469,60	\$-469,60	\$-469,60
Ingresos	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7	Mes 8	Mes 9	Mes 10	Mes 11	Mes 12
<i>Ventas</i>	\$650,00	\$650,00	\$650,00	\$650,00	\$650,00	\$650,00	\$650,00	\$650,00	\$650,00	\$650,00	\$650,00	\$650,00
<i>Valor en Libros</i>												\$198,14
Flujo Neto	\$180,40	\$180,40	\$180,40	\$180,40	\$180,40	\$180,40	\$180,40	\$180,40	\$180,40	\$180,40	\$180,40	\$378,54

FUENTE: Parbirra Brewing Co., 2018

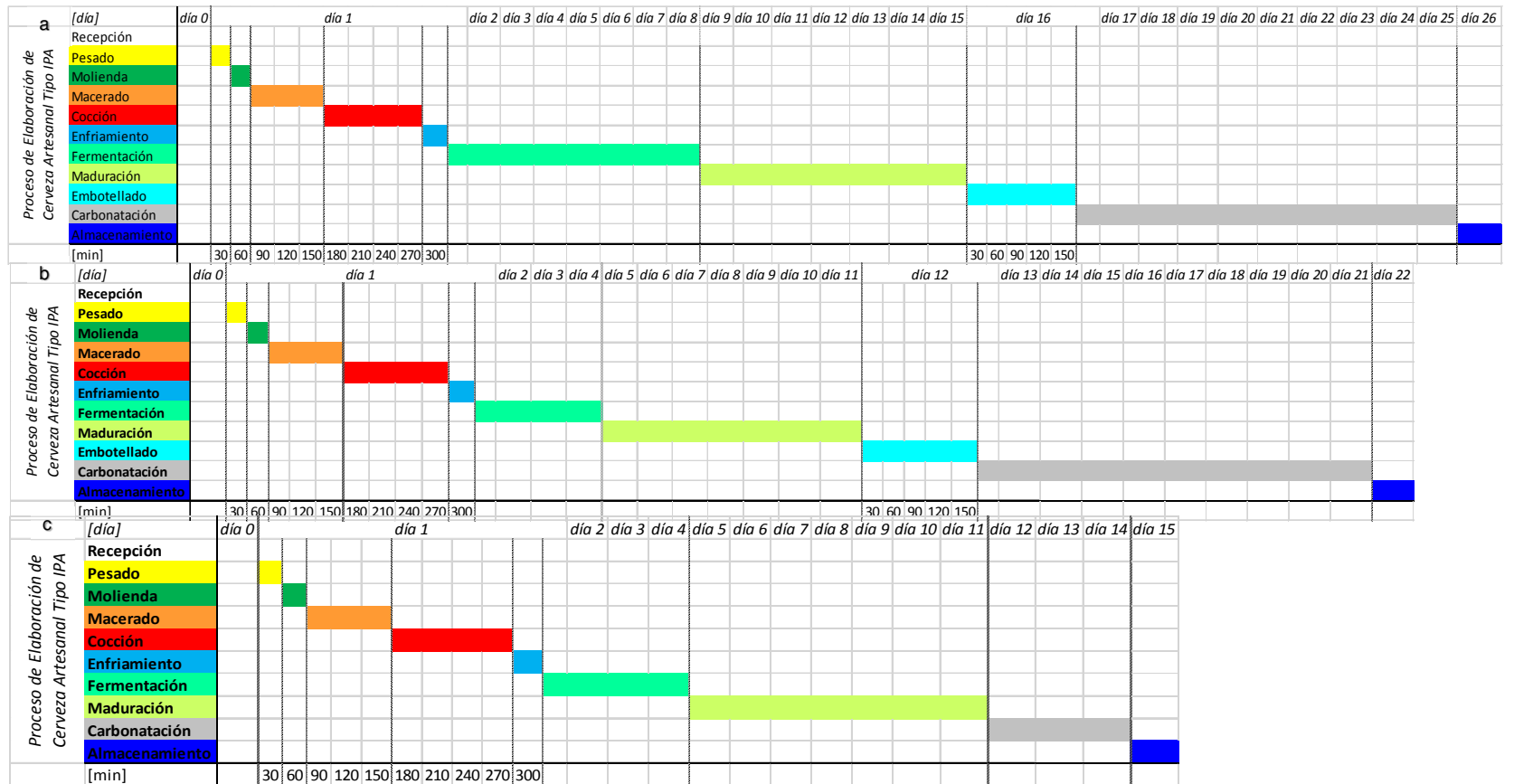


Figura 3.9. Diagrama de Gantt de los tiempos de producción de un Batch: (a) Producto final en Botellas sin plan de mejora, (b) Producto final en botellas con plan de mejora y (c) Producto final en barril con plan de mejora.

FUENTE: Parbirra **Brewing Co.**, 2018.

3.4.2 Proyecto a 20 litros/Batch con plan de mejora.

Los resultados obtenidos en las experimentaciones previas que concierne al tiempo de fermentación, y la posibilidad de inocular inferiores tasas de levadura, brindan la oportunidad de acelerar la velocidad de preparación de un batch, cambiando de uno a dos batch por semana. En consecuencia, el flujo aumenta en un porcentaje del 100% de 52 batch a 104 al año, y superando significativamente el flujo neto mensual (Ver Tablas 3.12). Los gastos al mes se aumentaron de \$58,34 a \$109,27 (USD), con la diferencia de que la utilidad con respecto a las ventas aumentó de \$180,40 a \$408,68 (USD), equivalente a 2,27 veces mayor que sin el plan de mejora. Por otra parte, el ahorro de Levadura también es significativo, el costo por batch de materia prima se redujo de \$13,46 a \$12,61 (USD) (Ver Tabla 3.11). Específicamente en Levaduras, el costo se redujo de \$1,71 a \$0,86 (USD) (Ver Tabla 3.10) con el plan de mejora lo cual representó un ahorro del 50% por batch en este recurso.

Tabla 3.10 Costo Total con plan de mejora a 20 litros/Batch.

<i>Formulación/Batch 20L</i>			
<i>Materia Prima</i>	<i>Kg</i>	<i>Costo/Kg [\$]</i>	<i>Costo Total [\$]</i>
<i>Agua</i>	<i>30,00000</i>	<i>\$ 0,00082</i>	<i>\$ 0,02460</i>
<i>Malta Pale Ale</i>	<i>5,00000</i>	<i>\$ 1,50000</i>	<i>\$ 7,50000</i>
<i>Malta Cara 50</i>	<i>0,25000</i>	<i>\$ 1,79000</i>	<i>\$ 0,44750</i>
<i>Lúpulo Citra</i>	<i>0,05300</i>	<i>\$ 48,56818</i>	<i>\$ 2,57411</i>
<i>Lúpulo Challenger</i>	<i>0,03000</i>	<i>\$ 32,61363</i>	<i>\$ 0,97841</i>
<i>Lúpulo Perle</i>	<i>0,00700</i>	<i>\$ 32,61363</i>	<i>\$ 0,22830</i>
<i>Levadura SafAle 05</i>	<i>0,00575</i>	<i>\$ 148,80000</i>	<i>\$ 0,85560</i>
		<i>Total</i>	<i>\$ 12,60852</i>

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración propia

Tabla 3.11 Costo total de Producción al mes con plan de mejora a 20 litros/Batch.

Costo MP			
Detalle	Costo [\$]	Batch 20L (x2)	Costo Total [\$]
<i>Formulación</i>		\$ 12,61	\$ 109,27
<i>Botella 330 ml</i>	\$ 0,24	\$ 14,42	\$ 124,94
<i>Tapa</i>	\$ 0,02	\$ 1,20	\$ 10,40
<i>Etiqueta</i>	\$ 0,04	\$ 2,40	\$ 20,80
		Total	\$ 265,41

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración propia

Tabla 3.12 Flujo mensual con plan de mejora a 20 litros/Batch.

Egresos	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7	Mes 8	Mes 9	Mes 10	Mes 11	Mes 12
Costo de MP	\$-265,41	\$-265,41	\$-265,41	\$-265,41	\$-265,41	\$-265,41	\$-265,41	\$-265,41	\$-265,41	\$-265,41	\$-265,41	\$-265,41
Costo MOD	\$-477,90	\$-477,90	\$-477,90	\$-477,90	\$-477,90	\$-477,90	\$-477,90	\$-477,90	\$-477,90	\$-477,90	\$-477,90	\$-477,90
Costos Fijos	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59
Costos Var	\$-107,53	\$-107,53	\$-107,53	\$-107,53	\$-107,53	\$-107,53	\$-107,53	\$-107,53	\$-107,53	\$-107,53	\$-107,53	\$-107,53
Depreciación	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89	\$-6,89
	\$-891,32	\$-891,32	\$-891,32	\$-891,32	\$-891,32	\$-891,32	\$-891,32	\$-891,32	\$-891,32	\$-891,32	\$-891,32	\$-891,32
Ingresos	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7	Mes 8	Mes 9	Mes 10	Mes 11	Mes 12
Ventas	\$1.300,00	\$1.300,00	\$1.300,00	\$1.300,00	\$1.300,00	\$1.300,00	\$1.300,00	\$1.300,00	\$1.300,00	\$1.300,00	\$1.300,00	\$1.300,00
Valor en Libros												\$198,14
Flujo Neto	\$408,68	\$408,68	\$408,68	\$408,68	\$408,68	\$408,68	\$408,68	\$408,68	\$408,68	\$408,68	\$408,68	\$606,82

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración propia

3.4.3 Proyecto con 140 litros/Batch con plan de mejora.

Además, se elaboró otra serie de formulación del proyecto en un sistema correspondiente al nuevo fermentador controlado (Ver Tablas 3.13-14-15), el cual representa un cambio de litros por Batch de 20 a 140. Se estimó entre otros gastos que me permiten lograr el volumen deseado de 140 litros con el plan de mejora durante 104 batch estimados a realizar anualmente. Por lo tanto, el aumento de la utilidad neta al mes representa un aumento de \$4'714,28 a \$408,68 (USD), equivalente a 11,55 veces superior a la velocidad de 20lts tomando en cuenta los costos que incurren en la producción a esta tasa.

Tabla 3.13 Costo total de Materia Prima para un Batch de 140 litros con plan de mejora.

<i>Formulación/Batch 140L</i>			
<i>Materia Prima</i>	<i>Kg</i>	<i>Costo/Kg [\$]</i>	<i>Costo Total [\$]</i>
<i>Agua</i>	<i>210,00000</i>	<i>\$ 0,00082</i>	<i>\$ 0,17220</i>
<i>Malta Pale Ale</i>	<i>35,00000</i>	<i>\$ 1,50000</i>	<i>\$ 52,50000</i>
<i>Malta Cara 50</i>	<i>1,75000</i>	<i>\$ 1,79000</i>	<i>\$ 3,13250</i>
<i>Lúpulo Citra</i>	<i>0,37100</i>	<i>\$ 48,56818</i>	<i>\$ 18,01879</i>
<i>Lúpulo Challenger</i>	<i>0,21000</i>	<i>\$ 32,61363</i>	<i>\$ 6,84886</i>
<i>Lúpulo Perle</i>	<i>0,04900</i>	<i>\$ 32,61363</i>	<i>\$ 1,59807</i>
<i>Levadura SafAle 05</i>	<i>0,04025</i>	<i>\$ 148,80000</i>	<i>\$ 5,98920</i>
		<i>Total</i>	<i>\$ 88,25962</i>

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018) Elaboración propia

Tabla 3.14 Costo total de Materia Prima y material de embalaje al mes con plan de mejora en 140 litros/Batch.

<i>Costo de MP</i>			
<i>Detalle</i>	<i>Costo [\$]</i>	<i>Batch 140L(x2)</i>	<i>Costo Total [\$]</i>
<i>Formulación</i>		<i>\$ 88,26</i>	<i>\$ 764,92</i>
<i>Botella 330 ml</i>	<i>\$ 0,24</i>	<i>\$ 100,91</i>	<i>\$ 874,58</i>
<i>Tapa</i>	<i>\$ 0,02</i>	<i>\$ 8,40</i>	<i>\$ 72,80</i>
<i>Etiqueta</i>	<i>\$ 0,04</i>	<i>\$ 16,80</i>	<i>\$ 145,60</i>
		<i>Total</i>	<i>\$ 1.857,90</i>

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018) Elaboración propia

Tabla 3.15 Flujo neto mensual con plan de mejora a 140litros/Batch.

Egresos	Mes 0	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7	Mes 8	Mes 9	Mes 10	Mes 11	Mes 12
Costo de MP		\$-1.857,90	\$-1.857,90	\$-1.857,90	\$-1.857,90	\$-1.857,90	\$-1.857,90	\$-1.857,90	\$-1.857,90	\$-1.857,90	\$-1.857,90	\$-1.857,90	\$-1.857,90
Costo MOD		\$-955,81	\$-955,81	\$-955,81	\$-955,81	\$-955,81	\$-955,81	\$-955,81	\$-955,81	\$-955,81	\$-955,81	\$-955,81	\$-955,81
Costos Fijos		\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59	\$-33,59
Costos Var		\$-146,24	\$-146,24	\$-146,24	\$-146,24	\$-146,24	\$-146,24	\$-146,24	\$-146,24	\$-146,24	\$-146,24	\$-146,24	\$-146,24
Depreciación		\$-89,13	\$-89,13	\$-89,13	\$-89,13	\$-89,13	\$-89,13	\$-89,13	\$-89,13	\$-89,13	\$-89,13	\$-89,13	\$-89,13
		\$-3.082,67	\$-3.082,67	\$-3.082,67	\$-3.082,67	\$-3.082,67	\$-3.082,67	\$-3.082,67	\$-3.082,67	\$-3.082,67	\$-3.082,67	\$-3.082,67	\$-3.082,67
Ingresos	Mes 0	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7	Mes 8	Mes 9	Mes 10	Mes 11	Mes 12
Ventas		\$9.100,00	\$9.100,00	\$9.100,00	\$9.100,00	\$9.100,00	\$9.100,00	\$9.100,00	\$9.100,00	\$9.100,00	\$9.100,00	\$9.100,00	\$9.100,00
Inversión (7,79% Interés)	\$15.000,00												
Amortización		\$-1.303,04	\$-1.303,04	\$-1.303,04	\$-1.303,04	\$-1.303,04	\$-1.303,04	\$-1.303,04	\$-1.303,04	\$-1.303,04	\$-1.303,04	\$-1.303,04	\$-1.282,18
Valor en Libros													\$9.080,24
Flujo Neto	\$-15.000,00	\$4.714,29	\$4.714,29	\$4.714,29	\$4.714,29	\$4.714,29	\$4.714,29	\$4.714,29	\$4.714,29	\$4.714,29	\$4.714,29	\$4.714,29	\$13.815,40
VAN	\$24.616,70												

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración propia

3.5 Barra de cereales con LID en la formulación

3.5.1 Estudio de Mercado

En una muestra de 146 encuestados, se descubrió que hay un nicho relativo. La barra de cereales, al ser un producto de demanda de calorías, proteínas y carbohidratos, entre otros micronutrientes, es a priori, un producto ofertado para personas que hacen deporte, tienen mayor demanda física en sus actividades diarias, se ejercitan con frecuencia. En consecuencia, si consideramos esta muestra como representativa, nos podemos dar cuenta que casi el 50% de los encuestados, cuyas edades pertenecen a un rango entre 21 y 34 años, poseen una vida sedentaria (Ver Figura 3.10), por lo que el nicho y la oportunidad que tendría este producto se limitaría. Sin embargo, según INEC, (2013) el último censo reportó que tanto para Hombres y Mujeres entre 18 y 60 años, reportó un 12,1% y 17,1% respectivamente (Ver Figura 3.11), denotando de esta forma, que la muestra encuestada no es representativa, abriendo nuevamente una oportunidad de mercado que se puede ir potenciando mediante innovación, mayor oferta, y campañas de concientización en consumir alimentos saludables, los cuales aporten los niveles de macronutrientes en la dieta diaria (Vázquez, De Cos, & López-Nomdedeu, 2005), los mismos que representan el 10-15% de proteínas, 30-35% de grasas y 50-55% de carbohidratos.

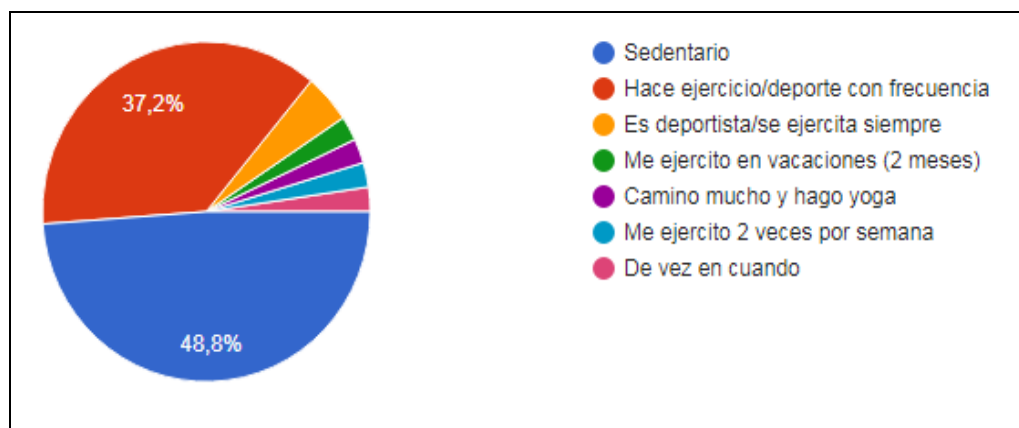


Figura 3.10. Pregunta: ¿Usted cómo se considera, en cuanto a su desempeño físico?

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2017)

Elaboración propia.

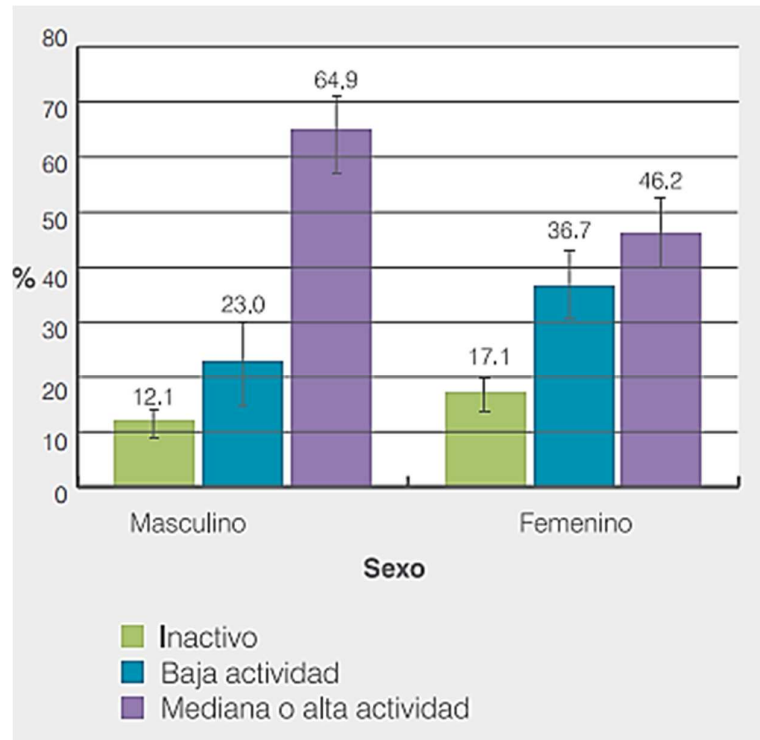


Figura 3.11. Prevalencia de actividad física global, por sexo en adultos de 18 a < 60 años.

FUENTE: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2011-2013. Ministerio de Salud Pública. INEC.

Tabla 3.16 Macronutrientes y su contribución en la dieta equilibrada.

Macronutrientes	kcal que aportan	Necesidades (g/kg/día)	% sobre calorías totales
Proteínas	4	0,8-1,2	10-15%
Grasas	9	1	30-35%
Carbohidratos	4	3-5	(15-20% monoinsaturados) 50-55%

FUENTE: (Vázquez et al., 2005)

El porcentaje de personas que sí han consumido una barra de cereales entre los 146 encuestados, dio como resultado que el 81,4% si lo ha realizado previamente (Ver Figura 3.12). No existen datos estadísticos que demuestren el consumo de barras energéticas, sin embargo, existen datos estadísticos del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC, 2013)

que reflejan la prevalencia del consumo de proteínas, aunque no necesariamente el enfoque sea a barras o matrices similares.

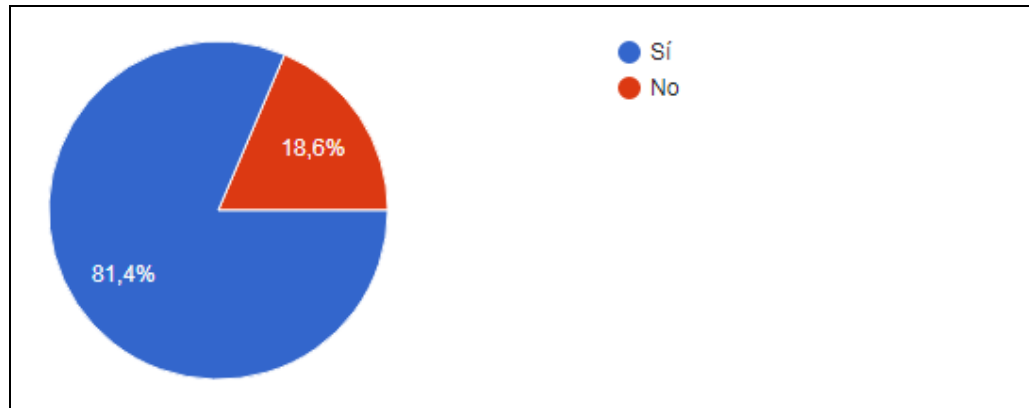


Figura 3.12. Pregunta: ¿Usted alguna vez ha consumido una Barra de cereales?

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2017) Elaboración propia.

Dentro de ese 81,4% de personas quienes, si han consumido barra de cereales en su dieta, se pudo profundizar conociendo la frecuencia en que lo realizaban. No obstante, los resultados demostraron un bajo consumo de barras de cereales con una prevalencia del 80% de encuestados quienes solo consumen dichos productos pocas veces al año, mientras que solo el 2,9% lo consumen diariamente y el 5,7% cada semana concluyendo que el mercado de las barras tiene un nicho establecido de forma limitada como lo hemos demostrado en las preguntas anteriores (Ver Figura 3.13).

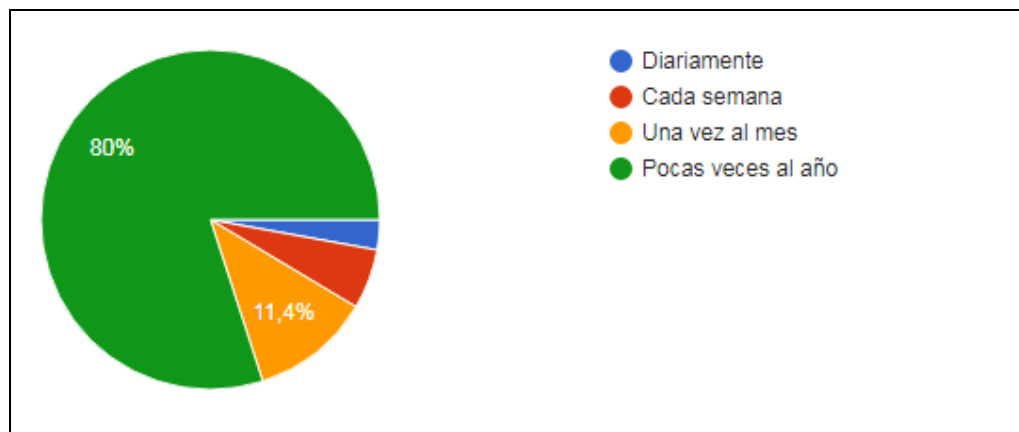


Figura 3.13. Pregunta: ¿Con qué frecuencia usted consume barra de cereales?

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2017)

Elaboración propia.

Además, es muy importante conocer el porqué de dichos porcentajes tan pequeños de consumo, y se quiso preguntar según los 60 encuestados cual podría ser un factor primordial en esta decisión. Estos factores (Ver Figura 3.15) a elegir fueron las siguientes: La *Publicidad Limitada* (14,3%) y la *Poca Oferta* (2,9%) la cual hoy en día es irreconocible en nuestro país, la publicidad en este siglo es una herramienta primordial para la oferta de productos, inclusive en redes sociales la publicidad no tiene puestos relevantes dedicados a barras de cereales por lo que sería muy importante conocer en futuras investigaciones, cual es la razón de las empresas para no ofertar sus productos mediante estas vías de publicidad. La *Preferencia de otras fuentes de energía*, la de mayor decisión (40%) a la hora de elegir lo que nos gusta comer. En efecto, existen muchos alimentos sustitutos a una barra de cereales, con mayores atributos, características organolépticas, difusión profundizada, publicidad activa, entre otros. Cabe destacar, que la mayoría de estos alimentos, no contienen la fuente de proteínas y carbohidratos de una barra de cereales, e incluso contienen otros macronutrientes en exceso que distorsionan la dieta. Según INEC, (2013), (Ver Figura 3.14) el 6,4% de la población Nacional tiene un consumo inadecuado de proteínas, lo cual es buen aliciente de que la población tiene una alimentación equilibrada, pero no destaca la matriz o fuente de esta dieta.

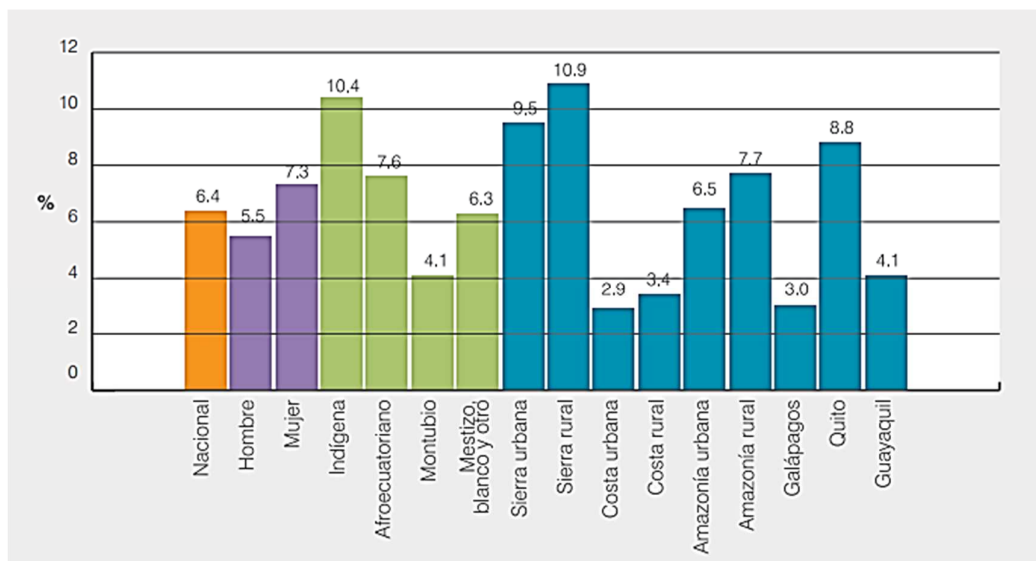


Figura 3.14. Prevalencia de consumo inadecuado de proteínas en la población Nacional.

FUENTE: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2011-2013. Ministerio de Salud Pública. INEC.

El *Sesgo en la Innovación* es un factor muy importante que incide en el ser humano, en sentirse atraído por prototipos nuevos, ideas novedosas, objetos fuera de lo común y cotidiano. La muestra tomada para este estudio de mercado representó un (11,4%), donde dichas personas dejaron entrever que para ellos resalta más el hecho de que las barras de cereales tienen poca comercialización debido a que estos productos no representan un valor agregado como parte de innovación, por encima de los demás factores. El *Factor Costo* (14,3%) juega un papel muy importante en la decisión del cliente, es común adquirir productos buenos a un precio justo al mínimo. Cabe destacar que, así como la muestra tomada indicaba anteriormente en mayor proporción que, las personas consumen barras de cereales una vez al año, podría homologarse un resultado en el conocimiento limitado de las personas en el costo de la unidad de 50g que comúnmente se comercializa, contribuyendo de esa forma a un impacto en el precio que se vaya a ajustar al previo consentimiento del costo que se podría tener a priori, de un producto.

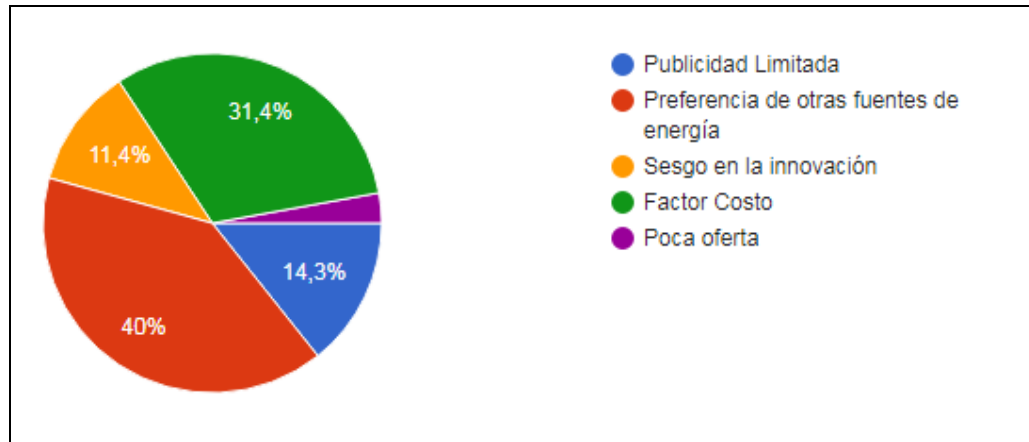


Figura 3.15. Pregunta: ¿Cuál creería usted que sería la razón primordial de la poca comercialización o demanda de las barras?

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2017) Elaboración propia.

La principal razón que llevó el desarrollo de esta barra fue el deseo de la empresa en utilizar desechos del proceso de manufactura de cerveza, logrando formular un producto con características únicas en el mercado, innovando específicamente el mercado de barras de cereales. De este estudio de mercado se valuó la aceptación del uso de LID del proceso post fermentación alcohólica en Batch efectuados por La Empresa, y se quiso saber si la muestra de este estudio tomada, consideraba como motor innovador utilizarlo (para muchas empresas cerveceras podría convertirse en desecho), el cual es una fuente de proteínas sustituta (Campos, Pereira, Ribeiro, Santos, & Valadares Filho, 2014) que podría funcionar como ingrediente de una formulación. Los resultados arrojaron positivamente un valor del 97,1% a un "SI" (Ver Figura 3.16), el cual representa para los 60 encuestados una atracción novedosa, utilizar esta fuente de alimento en la barra de cereales.

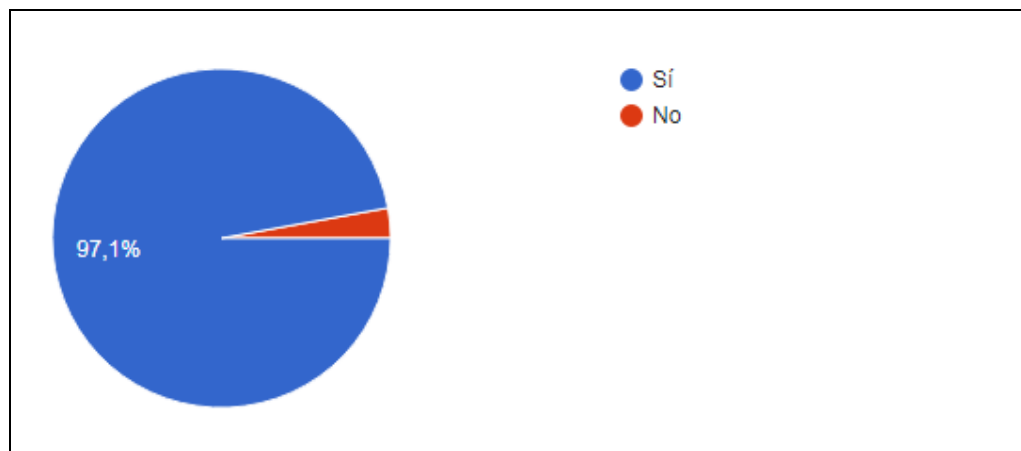


Figura 3.16. Pregunta: ¿Le parecería innovador el hecho de utilizar la levadura de proceso post fermentación alcohólica, como fuente de proteínas en la formulación de la Barra?

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2017)

Elaboración propia.

Finalmente, el mercado de las barras de cereales es aún incierta para la muestra encuestada, a pesar que el 71,4% de ellos (Ver Figura 3.17), lo catalogó como un mercado en crecimiento, el cual, en términos de Ulrich & Eppinger, (2013) se considera un producto cuya oportunidad representa un mercado existente que no se aborda hoy en día, con una posible solución sin aplicar.

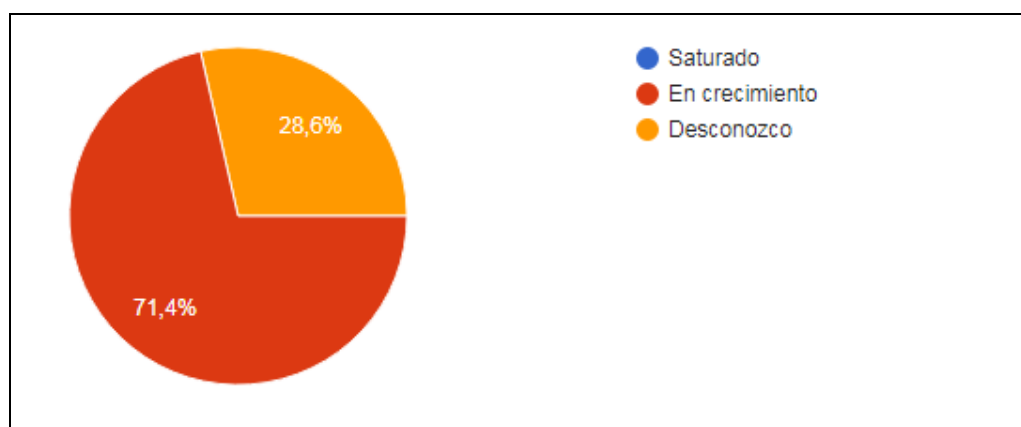


Figura 3.17. Pregunta: ¿Cómo cree usted que se encuentra actualmente el mercado de Barras de Cereales?

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2017) Elaboración propia.

3.5.2 Diseño y formulación del producto

El prototipo inicial se formuló en base a pruebas de error, validando la selección y cantidad de ingredientes como referencia a la formulación de las barras ya existentes en el mercado.

El diseño del producto mediante un modelo estadístico se correlacionó con un panel sensorial, con el objetivo de conocer diferencias entre los niveles de un solo factor (Ver figura 3.18). Además, la formulación fijada como base, pudo ser alineada en porcentajes para la correcta experimentación de cada nivel del factor, el cual corresponde al %LID en el producto y su variable de respuesta representa la calificación de los mencionados atributos objetivo. (Ver Tabla 3.17).

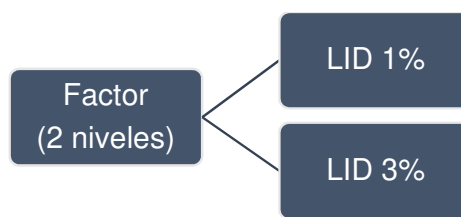


Figura 3.18. Modelo fijado para el ANOVA unifactorial.

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración propia

Tabla 3.17 Formulación de la Barra Proteica para una presentación de 500g.

<i>Detalle</i>	Nivel 1		Nivel 2	
	Factor al 1%	Cantidad	Factor al 3%	Cantidad
Miel	29,20%	146,0 g	29,20%	146,0 g
Azúcar	14,00%	70,0 g	14,00%	70,0 g
Cañihua	11,70%	58,5 g	11,70%	58,5 g
Kiwicha	11,60%	58,0 g	11,60%	58,0 g
Pasas	11,40%	57,0 g	9,40%	47,0 g
Avena	9,40%	47,0 g	9,40%	47,0 g
Manzanas	9,40%	47,0 g	9,40%	47,0 g
Quinoa	2,30%	11,5 g	2,30%	11,5 g
LID	1,00%	5,0 g	3,00%	15,0 g
TOTAL	100,00%	500 g	100,00%	500,0 g

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración propia

3.5.3 Análisis de proteínas por método Kjeldahl del producto

Para determinar el contenido proteico total de la barra formulada, se utilizó una barra de cereal con idénticos ingredientes a la propuesta, pero sin considerar el LID. Los resultados de los análisis a la barra “base” se presentan en la Tabla 3.18. Luego de añadir el porcentaje en peso de LID en dos concentraciones totales, 1% y 3% pudimos esperar un incremento del porcentaje de proteína en promedio del 3,72% al 4,41% respectivamente.

Tabla 3.18 Tabla de resultados del análisis de proteínas en barra de cereales

Muestra (%LID)	m (g)	F	V ₁ (cm ³)	N1	V ₂ (cm ³)	N2	V ₃ (cm ³)	V ₄ (cm ³)	(%) Proteína Base Húmeda
M1 (1%)	2,0024	6,25	50	0,09978	39,9	0,0974	50	47,7	3,32
M2 (1%)	2,0017	6,25	50	0,09978	38,7	0,0974	50	47,7	3,83
M3 (1%)	2,0043	6,25	50	0,09978	38,3	0,0974	50	47,7	4,00
M4 (3%)	2,0023	6,25	50	0,09978	37,6	0,0974	50	47,7	4,30
M5 (3%)	2,0015	6,25	50	0,09978	37,3	0,0974	50	47,7	4,43
M6 (3%)	2,0067	6,25	50	0,09978	37,1	0,0974	50	47,7	4,50

Claramente, pudo observarse que las medias entre cada grupo de muestras correspondientes a cada %LID son significativamente diferentes. Por lo tanto, pudo destacarse una variación debido al %LID adicionado. Cabe destacar y recordar, que el resultado es simplemente de la Barra base como tal, más no del resultado en porcentaje del contenido de proteína únicamente de la LID.

3.5.4 Panel Sensorial y Análisis Estadístico

Se realizó un Panel Sensorial a 32 personas las cuales están en un rango de edades entre 19 y 37 años, con una media muestral de 23 años entre hombres y mujeres. El panel constó de dos preguntas, las cuales se requería conocer el nivel de percepción de amargor en el producto de la Barra energética, dado que el LID,

al contener resinas de lúpulo con alto porcentaje de alfa ácidos, segrega sabores amargos y astringentes que fácilmente adopta su matriz. Las muestras de análisis corresponden a un diseño unifactorial de dos niveles (representan las muestras) del 1% y 3% de porcentaje de Levadura, mientras que la variable de respuesta se centra en los valores de calificación de Amargor y Aceptación del producto para una posible oferta en el mercado. En el resultado de esta práctica se pudo conocer que existen diferencias significativas entre estos dos porcentajes, los cuales son muy mínimos en rango, pero inciden de manera importante en la hora de decidir cuál producto lanzar al mercado. A priori, ambas formulaciones, demostrarían una similitud en sus medias muestrales, sin embargo se evidenció una tenue preferencia a la barra con menor concentración de LID (1%) En el análisis de varianzas, su valor p (Ver Apéndice 1A) refleja un valor de 0,019 y 0,003 en el atributo de amargor y aceptación respectivamente. (Ver Figura 3.19) En efecto, los resultados al 3% en LID correspondieron a una mayor media en el atributo de amargor, la cual a su vez es un producto que se considera “simplemente justo” (Ver Figura 3.20), estos resultados contrastan con la formulación de 1% en LID donde se registra preferencia positiva entre los calificativos “Me gusta moderadamente” y “Me gusta mucho”.

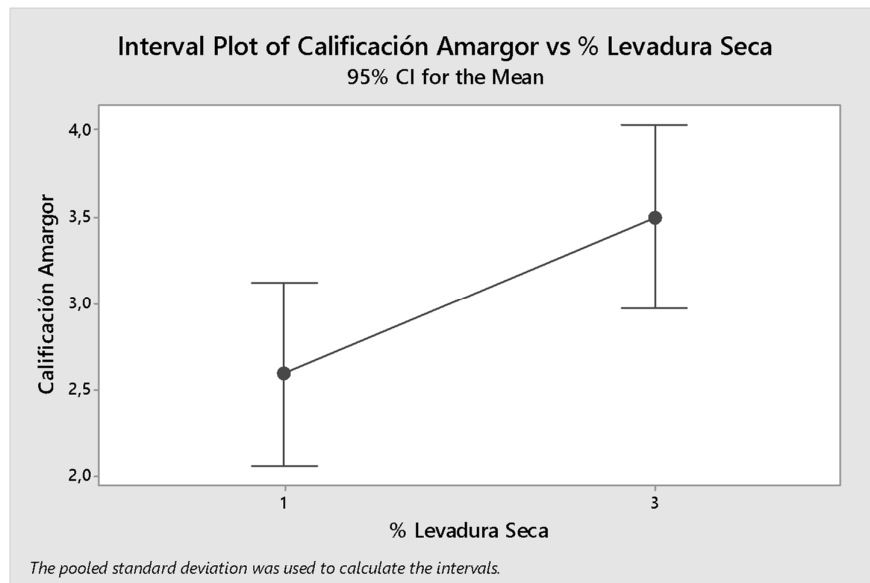


Figura 3.19. Diagrama de intervalos del atributo de amargor.

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración Propia

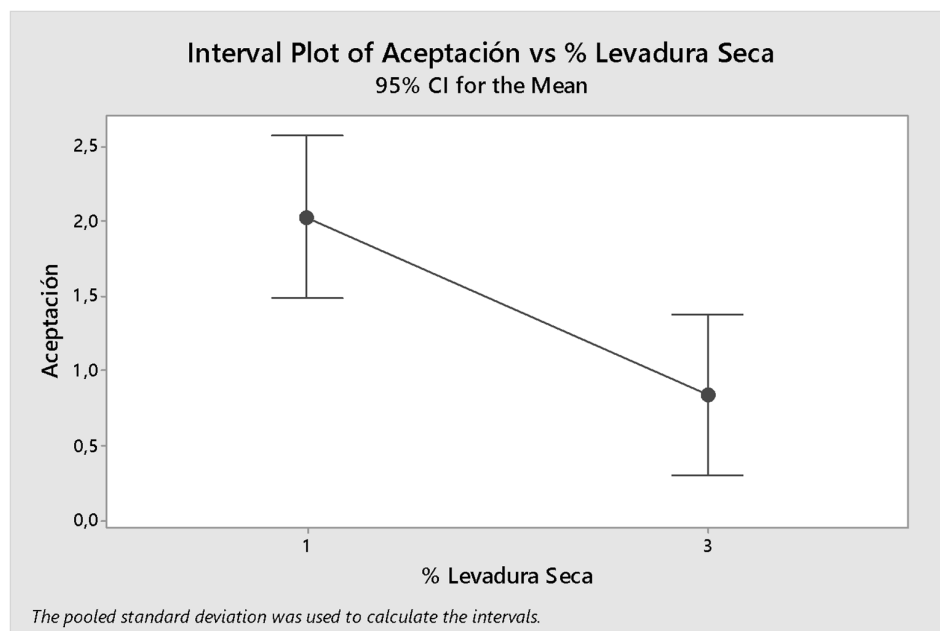


Figura 3.20. Diagrama de intervalo de aceptación.

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración Propia

CAPÍTULO 4

4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Durante el estudio realizado, fue muy importante la validación de las distintas experimentaciones bajo los parámetros que se establecieron al principio del proyecto, cabe mencionar que, para Parbirra Brewing Company, los resultados de esta investigación in situ fueron muy satisfactorios en cuanto a mejora de recursos y tiempo; es decir, haber analizado que existe una mejora al 100% de lo que se realizaba de manera empírica a un sistema más desarrollado y esquematizado. Sin embargo, en el mundo de los procesos biotecnológicos existen muchas consideraciones que se deben tomar en cuenta como lo realizado en el estudio de Rodman, Fraga, & Gerogiorgis, (2018) donde hay una reducción leve del tiempo del batch y una producción en mejora de alcohol, inclusive si el factor tiempo y ahorro no llegasen a considerarse como prioridad para tener un producto final de óptimas condiciones. La literatura científica de Kunze, (2006) nos explica que los tiempos de fermentación pueden optimizarse, pero el producto final puede traer algunos metabolitos no deseables pero aceptables considerados como “*Off flavors*”. Durante la experimentación de los distintos comportamientos de fermentación, tenemos que en la fermentación F24°C (NC) realmente si existe una alta producción de alcohol en un tiempo reducido, pero a su vez, se producen también alcoholes superiores, cetonas, aldehídos y esterres, que son aromas fuertes y agresivos que van a entorpecer las características aromáticas inherentes de una IPA. En el caso de la fermentación F24°C (C), la cual, a pesar de que no existe variación en la temperatura, se generan los metabolitos anteriormente mencionados en menor proporción, pero persistiendo aún las características que podrían entorpecer la cerveza IPA. Por último, en la fermentación F18°C (C), no se ha logrado reducir el tiempo del batch significativamente, pero si se pudo lograr un control y atenuación de los metabolitos mencionados y estimular la degradación de los mismos por parte de la levadura, asegurando así la calidad de la cerveza IPA en donde predominan los aromas frutales otorgados por los lúpulos frutales. Además, se obtiene una cerveza más “limpia” producto de una fermentación con menor vigorosidad en su fase exponencial.

A pesar que, esta investigación sugiere que el tiempo de fermentación se pudo minimizar en un 50%, el criterio de muchos empresarios de la industria cervecera de Guayaquil, es que el parámetro de interés a controlar es la formación de metabolitos secundarios ya mencionados anteriormente, lo que se logra mediante una reducción en la temperatura lo que resulta en una fermentación más prolongada. En el caso de la Levadura SafAle US-05 se demostró que las células viables en su presentación, tienen el recuento necesario para realizar la conversión de los azúcares a acetaldehídos y que tengan la energía suficiente para convertirlos a moléculas de etanol sin que haya pérdidas por rendimiento. En resumen, mientras la levadura no haya disminuido su viabilidad considerablemente, su rendimiento será suficiente para una correcta fermentación sin estrés de la Levadura en condiciones normales según lo especifica la ficha. La dosificación a una tasa que representa la mitad de la Levadura adoptada en el plan de mejora podría ser un factor relevante en el ahorro de este ingrediente, y se necesitarán realizar más pruebas a diferentes tasas, temperaturas y tiempos de fermentación para conocer un comportamiento más profundo de la fermentación alcohólica de la cerveza. Cabe mencionar que los estilos de cerveza difieren de las cepas de *Saccharomyces Cerevisiae*, las cuales tienen diferentes comportamientos, a diferentes temperaturas óptimas de actividad y dosificación. La discusión se basa en que, las Levaduras a bajas tasas como las utilizadas en la experimentación podrían generar condiciones de estrés en ella por la poca biodisponibilidad de los mismos para convertir los azúcares, e incluso podrían desencadenar un exceso de acetaldehídos junto a las moléculas de alcohol. En consecuencia, la interrogante surge si debemos adoptar el plan de mejora,

El uso de la levadura post-fermentación es un tema que ya se ha ido aplicando en la alimentación de bovinos (Campos et al., 2014), manifestándose en los costos por su sustitución con otras fuentes proteicas. Sin embargo, es válido pensar que es posible la aplicación de esta fuente en productos de consumo humano masivo. Este estudio se propone basado en el contenido proteico aproximado y el análisis sensorial como parte del desarrollo de un prototipo de alimento, con resultados prometedores. Sin embargo, el desarrollo de la barra LID debe ser investigada con mayor severidad en el futuro.

4.1 Conclusiones

La cerveza de selección fue una base idónea para el análisis del comportamiento de la fermentación con los parámetros, los ingredientes y el manejo correspondiente. La fermentación fue la etapa de mayor vulnerabilidad debido a que incluye una serie de procesos bioquímicos en la producción y degradación de componentes bioactivos, así mismo, como parámetros de control de mayor interés.

El plan de mejora implementado obtuvo resultados favorables con respecto a la producción de etanol en menor tiempo, debido a que se fermenta en el rango de temperaturas óptimas para la levadura, que favorecen a una fermentación vigorosa. A su vez, teniendo repercusiones positivas con el aumento del flujo neto anual financiero. Sin embargo, existen otras características inherentes del producto que son estimuladas por la alta fluctuación de temperatura, disminución del tiempo de fermentación o baja tasa de dosificación de levadura, los cuales pueden “entorpecer” o “estresar” a la Levadura, promoviendo el crecimiento de estos metabolitos. Se pudo reducir el uso de la Levadura en una dosificación inferior a la usual, a la mitad obteniendo la misma densidad final que si tuviera una dosificación estándar. Los tiempos de Batch fueron reducidos a un 50%; es decir, de 7 días empíricos a 3 días listo para madurar, pudiendo así duplicar la producción semanal en un mismo equipo fermentador. Se logró adoptar nuevas alternativas de control y registro en la fermentación, con el fin de tener un procedimiento más estándar en todas las repeticiones del Batch en la elaboración de una *INDIAN PALE ALE*.

Finalmente, en la elaboración del sistema integrado para el aprovechamiento de LID post-fermentación, se logró definir y obtener una aceptación del mercado, teniendo diferencias significativas en el porcentaje de LID (1% y 3%) en peso de la formulación de la barra de cereales. Si bien es cierto, el LID

complementa el porcentaje de proteínas y micronutrientes en peso de la barra, llegando a tener un total del 5%. En este caso, debido al estilo de cerveza en estudio INDIAN PALE ALE (IBU=59), el LID que contienen, posee una alta cantidad de alfa-ácidos (>11%), por lo que no pueden ser incluidos en mayor proporción en la formulación, dado que, a su vez generarían sabores muy astringentes y desagradables. Por otra parte, este análisis puede generar pautas para los micro productores o cerveceros artesanales que solían desechar estos residuos sin tomar en cuenta que pueden ser fuente de proteínas de diferentes matrices de consumo masivo.

4.2 Recomendaciones

- Debe ser prioridad la calidad de la cerveza, por encima de otros factores dependientes como el tiempo reducido de batch, la tasa de dosificación de Levadura.
- A pesar de que a nivel de laboratorio, durante el experimento de dosificación de las levaduras (Fiolas de 1L), existe un plan de mejora, hay que tomar en cuenta la variabilidad que experimenta una fermentación alcohólica al momento escalar el prototipo, por lo que se necesitan realizar más experimentos a diferentes escalas para observar el comportamiento de la densidad.
- Por preferencia, y lo analizado en este trabajo de materia integradora, es mejor realizar una fermentación controlada a bajas temperaturas (18 ± 1), en una cámara de refrigeración o cuarto de frío aislado para obtener mayor atenuación de ésteres, alcoholes superiores, acetaldehídos, los cuales son indeseables en altas concentraciones. Todo aquello mencionado anteriormente conlleva una fermentación más lenta.

BIBLIOGRAFÍA

- Campos, A. F., Pereira, O. G., Ribeiro, K. G., Santos, S. A., & Valadares Filho, S. de C. (2014). Impact of replacing soybean meal in beef cattle diets with inactive dry yeast, a sugarcane by-product of ethanol distilleries and sugar mills. *Animal Feed Science and Technology*, *190*, 38–46. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.01.003>
- ELUNIVERSO. (2017, January). Cerveza artesanal gana lugar en las perchas y restaurantes. *EL Universo*. Quito. Retrieved from <https://www.eluniverso.com/noticias/2016/01/02/nota/5323021/cerveza-artesanal-gana-lugar-perchas-restaurantes>
- Fermentis. (n.d.). Ficha Técnica Safale US-05 Levadura seca tipo ale.
- HACH. (2016). *MONITOREO DE FAN EN APLICACIONES DE CERVECERÍA*.
- INEC. (2013). ENSANUT-ECU 2011-2013. *Encuesta Nacional de Salud Y Nutrición, Tomo 1*, 82. Retrieved from <https://www.unicef.org/ecuador/esanut-2011-2013.pdf>
- Jastrzębska, A., Kowalska, S., & Szlyk, E. (2017). New procedure for column-switching isotachophoretic determination of vitamins B1 and B6 in beer samples. *Journal of Food Composition and Analysis*, *57*, 80–86. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.12.021>
- Kunze, W. (2006). *Tecnología para Cerveceros y Malteros* (Primera ed). Berlín, Alemania: Westkreuz-Druckerei Ahrens KG.
- MEXICANA, N. O. (1994). *NORMA Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos*.
- Mohd Azhar, S. H., Abdulla, R., Jambo, S. A., Marbawi, H., Gansau, J. A., Mohd Faik, A. A., & Rodrigues, K. F. (2017). Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. *Biochemistry and Biophysics Reports*, *10*(Supplement C), 52–61. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.03.003>
- NOM. (1980). *Norma Oficial Mexicana NOM-F-68-S-1980 Alimentos Determinación de Proteínas*. Mexico D.F.

- Palmer, J. (2017). *How to Brew*. (R. Mosher & C. Colby, Eds.) (Cuarta Edi). Boulder, Colorado: Kristi Switzer.
- Rodman, A. D., Fraga, E. S., & Gerogiorgis, D. (2018). On the application of a nature-inspired stochastic evolutionary algorithm to constrained multi-objective beer fermentation optimisation. *Computers & Chemical Engineering*, *108*, 448–459. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2017.10.019>
- Ulrich, K. T., & Eppinger, S. D. (2013). *Diseño y desarrollo de productos* (Quinta edi). Mexico D.F: MCGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S.A. DE C.V.
- Vázquez, C., De Cos, A. I., & López-Nomdedeu, C. (2005). *Alimentación y nutrición* (Díaz de Sa). Madrid.
- Vilar, J. (1997). *Las 7 nuevas herramientas para la mejora de la calidad*. (F. Editorial, Ed.). Madrid.
- Voet, D., & Voet, J. (2010). *Bioquímica*. (Panamericana, Ed.) (Cuarta Edi). Pennsylvania, Estados Unidos.
- Wood, I. P., Elliston, A., Ryden, P., Bancroft, I., Roberts, I. N., & Waldron, K. W. (2012). Rapid quantification of reducing sugars in biomass hydrolysates: Improving the speed and precision of the dinitrosalicylic acid assay. *Biomass and Bioenergy*, *44*, 117–121. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.05.003>

APÉNDICES

APÉNDICE A

Análisis estadísticos

ANOVA UNIFACTORIAL					
Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
%Levadura Seca	1	13,14	13,141	5,83	0,019
Error	62	139,72	2,254		
Total	63	152,86			

MODEL SUMMARY			
S	R-sq	R-sq (adj)	R-sq (pred)
1,50118	8,60%	7,12%	2,60%

MEDIA				
%Levadura Seca	N	Mean	StDev	95% CI
1	32	2,594	1,521	(2,063-3,132)
3	32	3,5	1,481	(2,970-4,030)

Apéndice 1-A. Análisis de varianza sobre la calificación del amargor de las dos muestras del panel sensorial.

ANOVA					
Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
%Levadura Seca	1	22,56	22,562	9,63	0,003
Error	62	145,19	2,342		
Total	63	167,75			

MODEL SUMMARY			
S	R-sq	R-sq (adj)	R-sq (pred)
1,53027	13,45%	12,05%	7,78%

MEDIA				
%Levadura Seca	N	Mean	StDev	95% CI
1	32	2,031	1,379	(1,490-2,572)
3	32	0,844	1,668	(0,303-1,385)

Apéndice 2-A. Análisis de varianza sobre la calificación de aceptación del producto de las muestras del panel

APÉNDICE B

Costos adicionales

Apéndice 1-B. Costo de Mano de Obra Directa al mes a 20 litros/Batch.

Costo MOD	
Detalle	Costo Total [\$]
<i>Sueldo Básico</i>	\$ 375,00
<i>Operador 1</i>	\$ 77,38
<i>Operador 2</i>	\$ 77,38
<i>Operador 3</i>	\$ 77,38
Total	\$ 232,14

FUENTE: Parbirra Brewing Co., 2018

Apéndice 2-B. Costos Fijos al mes a 20litros/Batch.

Costos Fijos	
Detalle	Costo Total [\$]
<i>Energía</i>	\$ 18,60
<i>Internet</i>	\$ 14,99
Total	\$ 33,59

FUENTE: Parbirra Brewing Co., 2018

Apéndice 3-B. Costos de implementos de Limpieza y Sanitización al mes a 20litros/Batch.

Limpieza y Sanitización			
Detalle	Costo/Kg [\$]	Cantidad	Costo Total [\$]
<i>BC PER</i>	\$ 5,08	0,67	\$ 3,40
<i>BC NU 7</i>	\$ 1,79	1,34	\$ 2,40
<i>BC DEGREASER PLUS</i>	\$ 2,20	1,34	\$ 2,95
Total			\$ 8,75

FUENTE: Parbirra Brewing Co., 2018

Apéndice 4-B. Costos Variables al mes a 20 litros/Batch.

Costos Variables	
Detalle	Costo Total [\$]
Arriendo	\$ 43,33
Gas	\$ 1,50
Agua para limpieza	\$ 0,18
Limpieza y sanitización	\$ 8,75
Total	\$ 53,76

FUENTE: Parbirra Brewing Co., 2018

Apéndice 5-B. Costos del Valor de desecho.

Valor de Desecho						
Activo	Valor de Compra	Vida Contable	Depreciación Anual	Años Depreciándose	Depreciación Acumulada	Valor en Libros
Macerador	\$ 99,00	6	\$ 16,50	2	\$33,00	\$ 66,00
Olla acero inox 40L	\$ 150,00	7	\$ 21,43	2	\$42,86	\$ 107,14
Enfriador	\$ 75,00	3	\$ 25,00	2	\$50,00	\$ 25,00
Tanques de fermentación 20L	\$ 39,50	2	\$ 19,75	2	\$39,50	\$ -
Total	\$ 363,50		\$ 82,68		Total	\$198,14

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración propia

Apéndice 6-B. Costo total al mes de mano de obra directa con plan de mejora a 20 litros/Batch.

Costo MOD	
Detalle	Costo Total [\$]
Sueldo Básico	\$ 375,00
Operador 1	\$ 154,76
Operador 2	\$ 154,76
Operador 3	\$ 154,76
Total	\$ 464,29

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración propia

Apéndice 7-B. Costos Fijos al mes con plan de mejora a 20 litros/Batch.

Costos Fijos	
Detalle	Costo Total [\$]
<i>Energía</i>	\$ 18,60
<i>Internet</i>	\$ 14,99
Total	\$ 33,59

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración propia

Apéndice 8-B. Costos de materiales de Limpieza al mes con plan de mejora a 20litros/Batch.

Limpieza y Sanitización			
Detalle	Costo/Kg [\$]	Cantidad	Costo Total [\$]
<i>BC PER</i>	\$ 5,08	1,34	\$ 6,81
<i>BC NU 7</i>	\$ 1,79	2,68	\$ 4,80
<i>BC DEGREASER PLUS</i>	\$ 2,20	2,68	\$ 5,90
		Total	\$ 17,50

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración propia

Apéndice 9-B. Costos Variables al mes con plan de mejora a 20 litros/Batch.

Costos Variables	
Detalle	Costo Total [\$]
<i>Arriendo</i>	\$ 86,67
<i>Gas</i>	\$ 3,00
<i>Agua para limpieza</i>	\$ 0,36
<i>Limpieza y sanitización</i>	\$ 17,50
Total	\$ 107,53

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración propia

Apéndice 10-B. Costos de materiales de limpieza con plan de mejora a 140lts/Batch.

Limpieza y Sanitización			
Detalle	Costo/Kg [\$]	Cantidad	Costo Total [\$]
<i>BC PER</i>	\$ 5,08	4,02	\$ 20,42
<i>BC NU 7</i>	\$ 1,79	8,04	\$ 14,39
<i>BC DEGREASER PLUS</i>	\$ 2,20	8,04	\$ 17,69
		Total	\$ 52,50

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración propia

Apéndice 11-B. Costos Variables totales al mes con plan de mejora a 140 litros/Batch.

Costos Variables	
Detalle	Costo Total [\$]
<i>Arriendo</i>	\$ 86,67
<i>Gas</i>	\$ 6,00
<i>Agua para limpieza</i>	\$ 1,07
<i>Limpieza y sanitización</i>	\$ 52,50
Total	\$ 146,24

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración propia

Apéndice 12-B. Detalle de gastos de crédito bancario.

Inversión	
Detalle	Costo Total [\$]
<i>HLT - MT – BK</i>	\$ 8.050,00
<i>Fermentador</i>	\$ 1.469,00
<i>Quemador industrial</i>	\$ 350,00
<i>Gastos Varios</i>	\$ 5.131,00
Total	\$ 15.000,00

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración propia

Apéndice 13-B. Costos del Valor de desecho con plan de mejora a 140lts/Batch.

Valor de Desecho						
Activo	Valor de Compra	Vida Contable	Depreciación Anual	Años Depreciándose	Depreciación Acumulada	Valor en Libros
Macerador	\$ 99,00	6	\$ 16,50	2	\$ 33,00	\$ 66,00
Olla acero inox 40L	\$ 150,00	7	\$ 21,43	2	\$ 42,86	\$ 107,14
Enfriador	\$ 75,00	3	\$ 25,00	2	\$ 50,00	\$ 25,00
Tanques de fermentación 20L	\$ 39,50	2	\$ 19,75	2	\$ 39,50	\$ -
HLT - MT - BK	\$ 8.050,00	10	\$ 805,00	1	\$ 805,00	\$7.245,00
Fermentador	\$ 1.469,00	10	\$ 146,90	1	\$ 146,90	\$1.322,10
Quemador industrial	\$ 350,00	10	\$ 35,00	1	\$35,00	\$315,00
Total	\$10.232,50		\$ 1.069,58		Total	\$9.080,24

FUENTE: (Villavicencio & Guadalupe, 2018)

Elaboración propia

APÉNDICE C

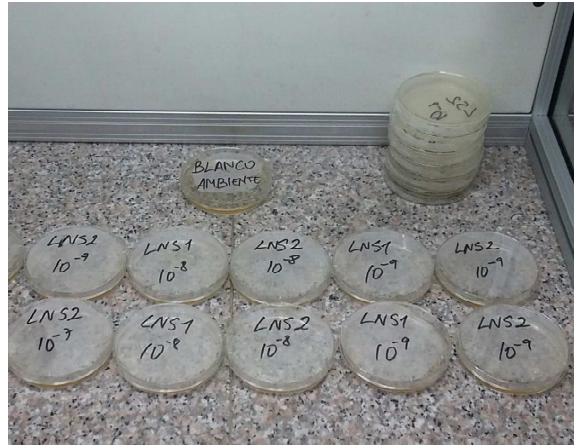
Fotografías de experimentación



Apéndice 1-C Placas de 96 pocillos analizadas a 590nm



Apéndice 2-C Fermentación (Antes: Sistema no controlado. Después: Sistema controlado)



Apéndice 3-C. Análisis microbiológico de levadura



Apéndice 4-C. Dosificación de Levaduras a tasas diferentes en fiolas



Apéndice 5-C. Cerveza India Pale final