

ANÁLISIS DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS ANTIOXIDANTES EN DIFERENTES
BAGAZOS DE CERVEZA ARTESANAL “MASTER BEER”

ANDRÉS FELIPE RAMOS NEMOCÓN

VALENTINA TALERO GARZÓN

Proyecto integral de grado para optar al título de
INGENIERO QUÍMICO

Director

GLORIA ASTRID NAUSA GALEANO

M.Eng. Ingeniera Química

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA

FACULTAD DE INGENIERÍAS

PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA

BOGOTÁ D.C.

2022

NOTA DE ACEPTACIÓN

Gloria Astrid Nausa Galeano

Firma del director

Diana Milena Morales Fonseca

Firma Jurado 1

Iván Ramírez Marín

Firma Jurado 2

Bogotá D.C. junio 2022

DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. Mario Posada García-Peña

Consejero Institucional

Dr. Luis Jaime Posada García-Peña

Vicerrectora Académica y de Investigaciones

Dra. Alexandra Mejía Guzmán

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. Ricardo Alfonso Peñaranda Castro

Secretario General

Dr. José Luis Macías Rodríguez.

Decana de la Facultad de Ingenierías

Dra. Naliny Patricia Guerra Prieto

Director Programa Ingeniería Química

Ing. Nubia Liliana Becerra Ospina

DEDICATORIA

Dedicamos nuestro trabajo principalmente a nuestras familias que fueron el motor y la inspiración para llegar a culminar este proyecto. A nuestros padres Pablo Ramos, Noemy Nemocón, Álvaro Talero y Yira Garzón, por el apoyo brindado desde el primer momento con la paciencia y amor que nos enseñaron a crecer como personas y profesionales, que nos guiaron en este camino con la ayuda de Dios, quien hace parte fundamental en nuestras vidas.

Así mismo, queremos resaltar que dedicamos esta meta, por el apoyo incondicional que recibimos por parte de nuestros hermanos Sebastián Ramos, Nicolas Talero y Marisol Hernández quienes nos han enseñado y colaborado en cada una de nuestras dificultades a lo largo de este camino. No obstante, nos dedicamos el trabajo uno al otro, por el esfuerzo y gratitud de llegar hasta este punto, con el acompañamiento académico y personal que nos pudimos brindar para cumplir este sueño, cada uno teniendo un orgullo inmenso por el otro por este gran logro.

Finalmente, le dedicamos este logro de igual manera a cada uno de nuestros amigos que nos acompañaron en el proceso dándonos consejos y guiándonos de la mejor manera para culminar con éxito este proceso de vida, que nos llena de gratitud.

Andrés Felipe Ramos Nemocón

Valentina Talero Garzón

AGRADECIMIENTOS

De antemano agradecemos la colaboración de la empresa Master Beer por la materia prima que nos brindaron para llevar a cabo este proyecto. Así mismo el apoyo que recibimos por parte del equipo del laboratorio de la universidad, resaltando el trabajo de Yenny Hernández Prieto y Jeidy Faisuly Alfonso, quienes siempre estuvieron a disposición para colaborarnos en el momento que lo requeríamos.

Agradecemos a cada una de nuestras familias quienes en todo momento fueron el apoyo que necesitábamos para seguir adelante, especialmente a nuestros padres quienes han sido parte fundamental en nuestro proceso de aprendizaje. De igual manera a nuestros amigos quienes fueron una gran compañía durante la ejecución del proyecto y nuestra vida universitaria.

No obstante, estamos muy orgullosos del gran equipo que conformamos juntos para lograr este proyecto, que desde primer semestre fue creciendo esta amistad y consigo grandes personas, apoyándose en la vida personal y laboral.

Andrés Felipe Ramos Nemocón
Valentina Talero Garzón

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

TABLA DE CONTENIDO

	pág.
RESUMEN	14
INTRODUCCIÓN	15
OBJETIVOS	17
1. MARCO TEORICO	18
1.1. Cerveza	18
<i>1.1.1. Descripción del producto</i>	<i>18</i>
<i>1.1.2. Mercado de la cerveza</i>	<i>18</i>
<i>1.1.3. Tipos de cerveza</i>	<i>19</i>
1.2. Descripción de materias primas	21
<i>1.2.1. Malta</i>	<i>21</i>
<i>1.1.2. Lúpulo</i>	<i>25</i>
<i>1.1.3. Levadura</i>	<i>25</i>
<i>1.2.4. Agua</i>	<i>25</i>
1.3. Proceso de elaboración	27
<i>1.3.1 Malteado</i>	<i>27</i>
<i>1.3.2. Maceración</i>	<i>28</i>
<i>1.3.3. Activación Enzimática</i>	<i>29</i>
<i>1.3.4. Filtración y cocción</i>	<i>29</i>
<i>1.3.5. Enfriamiento</i>	<i>30</i>
<i>1.3.6. Fermentación</i>	<i>30</i>
<i>1.3.7. Maduración y filtración</i>	<i>31</i>
<i>1.3.8. Carbonatación y embotellado</i>	<i>32</i>
1.4. Descripción del bagazo como residuo de la producción cervecera	32
<i>1.4.1 Usos actuales del bagazo de cerveza</i>	<i>33</i>
1.5. Master Beer	34
1.6. Pretratamientos	35
<i>1.6.1. Maceración</i>	<i>35</i>

1.6.2.	<i>Homogeneización</i>	35
1.6.3.	<i>Molienda</i>	36
1.7.	Métodos de Extracción	36
1.7.1.	<i>Extracciones convencionales</i>	37
1.7.2.	<i>Extracciones no convencionales</i>	38
1.8.	Compuestos fenólicos antioxidantes	40
1.9.	Métodos de cuantificación	42
1.9.1.	Contenido polifenoles totales	42
1.9.2.	<i>Método de Folin Ciocalteu</i>	43
1.9.4.	<i>Estabilidad del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)</i>	45
1.10.	Antioxidantes Naturales	46
2.	METODOLOGIA	48
2.1.	Pretratamiento	48
2.2.	Extracción	51
2.3.	Cuantificación	54
2.3.1.	<i>Folin Ciocalteu</i>	55
2.3.2.	<i>DPPH</i>	57
2.4.	Diseño de experimentos ANOVA.	60
3.	RESULTADOS	64
3.1.	Curvas de secado	64
3.1.1.	<i>Curva de Masa de producto vs Tiempo</i>	64
3.1.2.	<i>Curva de Humedad en base húmeda vs Tiempo</i>	65
3.3.	Cuantificación	68
3.3.1.	<i>Folin Cioucalteur</i>	68
3.3.2.	<i>DPPH</i>	73
3.4.	Métodos estadísticos	77
3.4.1.	<i>Diseño Experimental ANOVA</i>	77
3.4.2.	<i>Correlación de Pearson</i>	80

4. CONCLUSIONES	82
BIBLIOGRAFIA	83
ANEXOS	93

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Maltas	22
Figura 2. Clasificación de malta	22
Figura 3. Cebada germinada	27
Figura 4. Cebada malteada	28
Figura 5. Bagazo Húmedo	33
Figura 6. Maceración	35
Figura 7. Homogenización	36
Figura 8. Extracción Soxhlet	38
Figura 9. Compuestos fenólicos antioxidantes	41
Figura 10. Estructura de compuestos fenólicos	42
Figura 11. Método de Folin Ciocalteu	43
Figura 12. Reactivo Folin Ciocalteu	44
Figura 13. Radial libre DPPH	45
Figura 14. Bagazo de la cerveza artesanal Master Beer	48
Figura 15. Proceso de secado del bagazo	49
Figura 16. Tamizado	50
Figura 17. Molino de martillos	51
Figura 18. Montaje Soxhlet laboratorio	53
Figura 19. Montaje destilación simple.	54
Figura 20. Tonalidad de reactivo Folin Ciocalteu	56
Figura 21. Reactivo DPPH	57
Figura 22. Agitador de laboratorio lineal (Shaker).	58
Figura 23. Muestras de ensayo para DPPH	59
Figura 24. Espectrofotómetro	59

Figura 25. Grafica Masa de bagazo vs Tiempo.	64
Figura 26. Grafica Humedad en base humedad vs Tiempo	65
Figura 27. Curva de calibración Folin Ciocalteu	69
Figura 28. Resultado del Reactivo Folin Ciocalteu	70
Figura 29. Contenido de polifenoles totales	73
Figura 30. Curva de calibración DPPH	74
Figura 31. Resultados reactivos DPPH	74
Figura 32. Porcentaje de inhibición	76

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Rango de las concentraciones de Iones	26
Tabla 2. Intervalo de correlación de Pearson	47
Tabla 3. Matriz de decisión	52
Tabla 4. Tabla análisis de varianza (ANOVA)	60
Tabla 5. Identificación de los diferentes factores	61
Tabla 6. Resultados obtenidos considerando los factores en la cuantificación Folin Cioucateu	62
Tabla 7. Resultados obtenidos considerando los factores en la cuantificación DPPH	62
Tabla 8. Peso de los bagazos de cerveza durante los días de secado	65
Tabla 9. Humedad de los tres tipos de maltas	66
Tabla 10. Peso de cada malta	67
Tabla 11. Resultados de la malta Trigo para el proceso del tamiz	67
Tabla 12. Resultados de la malta Munich para el proceso del tamiz	67
Tabla 13. Resultados de la malta Pilsen para el proceso del tamiz	68
Tabla 14. Absorbancias de los bagazos de cerveza para análisis Folin Ciocalteu	70
Tabla 15. Contenido de polifenoles totales en mgGAE/L	71
Tabla 16. Contenido de polifenoles totales en mgGAE/g	71
Tabla 17. Absorbancias finales por disolvente y malta	75
Tabla 18. Porcentaje de inhibición	75
Tabla 19. Resumen de cálculos presentado por Excel, cuantificación Folin Cioucateu	77
Tabla 20. Correlación de factores	78
Tabla 21. Análisis de varianza Folin Cioucateu	78
Tabla 22. Análisis de varianza DPPH	79
Tabla 23. Correlación de Pearson	81

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA: Análisis de la varianza

BSG: Bagazo de Malta

EBC: Convenio cervecero europeo

APA: American Pale Ale

IPA Indian Pale Ale

R²: Coeficiente de determinación

DPPH: 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo

TPC: Contenido total de polifenoles

GAE: Equivalentes de ácido gálico

pH: Potencial de Hidrógeno

°C: Grados Celsius

rpm: Revoluciones por minuto

cm: centímetros

mm: milímetros

kg: Kilogramo

g: Gramos

mg: Miligramo

µg: Microgramo

L: litro

ml: Mililitro

µl: Microlitro

ppm: Partes por millón

nm: Nanómetro

RESUMEN

En el proceso de elaboración de cerveza artesanal se generan una gran cantidad de residuos que podrían ser reutilizados, el bagazo de cerveza es el subproducto más abundante de la industria cervecera que representa el 85% del total de los residuos generados. El gran volumen que se genera de este material, su bajo costo y sus componentes lo convierten en un recurso de alto potencial para su reciclado o aprovechamiento.

En este trabajo tiene como objetivo analizar tres diferentes maltas de la empresa Master Beer (Trigo, Munich y Pilsen) en Bogotá, donde previamente se le realizó un acondicionamiento previo, un proceso de secado y molienda. Por medio de la extracción sólido-liquido tipo soxhlet con tres diferentes concentraciones de etanol (80%, 60% y 40%) se extrajeron los antioxidantes naturales. Terminadas las extracciones, se realizó una destilación para eliminar el disolvente y se midió el contenido de polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante por el análisis DPPH. La malta de trigo con la concentración de 60% etanol demostró que, con este tratamiento, se obtuvieron los mejores resultados en contenido de fenoles (7,87 mg GAE/ g BSG) y de actividad antioxidante (85%).

En conclusión, el bagazo de cerveza puede ser, una importante fuente de antioxidantes naturales. La obtención de su extracto es viable y proporciona un valor añadido a lo que actualmente es sólo un residuo orgánico.

Palabras clave: Bagazo de cerveza, compuestos fenólicos, antioxidantes, extracción soxhlet

INTRODUCCIÓN

El mercado de cervezas artesanales en Colombia está pasando por una coyuntura importante, en donde las proyecciones de analistas expertos indican que el incremento en ventas será de un 33,8% para el año 2023 [1]. Hoy en día se pueden encontrar cervecerías artesanales en diferentes puntos de Colombia. Solo en Bogotá se encuentran más de 50 cerveceras encargadas de exponer su propia esencia por medio de pubs, festivales e incluso mercados locales [2]. Master Beer es una empresa dedicada a la fabricación de cerveza artesanal en busca de nuevas técnicas de producción que contribuyan a un proceso más rentable sin comprometer la calidad del producto.

En la elaboración de la cerveza consta de una serie de etapas como lo son el malteado del cereal, molienda y maceración, filtración, cocción, fermentación, maduración, clarificación y finalmente envasado. En el proceso de filtración obtenemos el bagazo de cerveza, subproducto más abundante de la industria cervecera que representa el 85% del total de los residuos generados [3], El gran volumen que se genera de este subproducto, su bajo costo, y sus componentes lo convierten en un recurso de alto potencial para su reciclado o aprovechamiento. La necesidad de reutilizar los residuos orgánicos actualmente ha aumentado con el objetivo de convertirlos en productos con un valor agregado, debido al gran índice de contaminación que se generan y así mismo la intención de implementar una economía circular. De manera que el bagazo de malta es considerado un residuo en donde el porcentaje de obtención es considerablemente alto, a causa de que en el mercado colombiano del 2019 se estimaron aproximadamente 2720 toneladas de bagazo derivadas de la producción de cerveza artesanal [4]. Actualmente las principales aplicaciones para el bagazo de cerveza consisten en alimento para animales, procesos biotecnológicos, producción de biocombustibles y dietas humanas, por otra la aplicación de este residuo como fuente de obtención de productos de alto valor añadido como xilosa, arabinosa, hemicelulosas oligoméricas, poliméricas y compuestos fenólicos todavía es bastante limitado.

Los compuestos fenólicos son un gran grupo de antioxidantes naturales que son metabolitos secundarios que presentan actividades biológicas importantes, estos se caracterizan por contar con un grupo fenol, unidas a estructuras aromáticas con un hidroxilo. Actualmente hay un interés creciente debido a su capacidad antioxidante, tanto como captadores de radicales libres como quelantes de metales. Estas propiedades son el motivo de sus posibles implicaciones en la salud

humana, como son la prevención del cáncer, de las enfermedades cardiovasculares o incluso de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer [5]. Estos compuestos de la cebada ayudan a la prevención de enfermedades, y aporta de la mejor manera óptima al proceso de producción de cerveza ya que aproximadamente el 80% de los antioxidantes fenólicos en la cerveza provienen de la malta de cebada, por lo que las cervezas producidas a partir de la malta con un alto contenido fenólico han demostrado tener una mejor calidad [6].

A través de esta investigación, se busca evaluar la posibilidad de extraer compuestos fenólicos por medio de la extracción sólido-líquido a nivel laboratorio, que cuenten con propiedades antioxidantes para el aprovechamiento de residuos orgánicos en la industria cervecera.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el potencial de los compuestos fenólicos a través de diferentes bagazos de cerveza artesanal de la empresa Master Beer como alternativa de uso para este residuo agroindustrial.

Objetivos específicos

1. Obtener extractos fenólicos de tres diferentes bagazos de cervezas por medio de la extracción sólido-líquido utilizando el método Soxhlet.
2. Analizar el contenido en polifenoles totales y la actividad antioxidante en muestras del extracto de bagazo de cerveza según el método Folin-ciocalteau y DPPH.
3. Determinar la correlación entre los polifenoles totales con la actividad antioxidante de los diferentes extractos de bagazo de cerveza.

1. MARCO TEORICO

1.1. Cerveza

1.1.1. Descripción del producto

La cerveza es una bebida alcohólica no destilada de sabor amargo. Se elabora principalmente con agua, malta, lúpulo y levadura siendo posible utilizarlos en diferentes proporciones, la producción se basa a partir de azúcares obtenidos de cereales y otros granos, su sabor y aroma se debe al lúpulo, que al final será fermentados con agua y levadura es por ello que una buena cerveza se caracteriza por tener un buen sabor, aroma, textura y color, manteniendo un estilo bien definido [7]

Considerando el análisis físico de la cerveza, esta tiene un aspecto burbujeante o gaseosa, por lo que en ella se disuelve CO₂ proveniente del proceso de fermentación, en los procesos industriales se suele inyectar el dióxido de carbono para elevar ese nivel de gas en la cerveza, así mismo, presenta abundante espuma que se presenta en la parte superior del recipiente que la contiene. La graduación alcohólica tiene un rango desde el 3% a 9% vol, según el tipo de cerveza [77].

1.1.2. Mercado de la cerveza

Una de las ferias más importantes de negocios de Europa para la producción y el marketing de cerveza y bebidas suaves, Brau Beviale, publicó un informe sobre la producción mundial de cerveza en el 2018, donde 74,1 millones de hl del consumo mundial de la cerveza artesanal representaba 3,8%. Así mismo, se señala que las cervecerías artesanales crecieron un 4,0 % para alcanzar una participación de mercado del 13,2 %, con una producción de 25,9 millones de barriles [8].

El consumo de cerveza en Colombia, según el último estudio de Euromonitor, es el tercer país con mayor consumo en Latinoamérica, ubicándolo por debajo de México y Brasil, gracias al consumo de los 51,4 litros que beben los colombianos anualmente. Cabe resaltar que Bavaria, la compañía cervecera, es una de las empresas líderes del consumo masivo en Colombia. Ese título lo logra luego de que se supiera que siete de sus productos aparecieran en el top de las marcas más valiosas del país, del ranking Compass Branding 2020 [9].

Para el 2021 en Colombia, la industria de la cerveza artesanal ocupa en el mercado el 1,2% de la fabricación total del país, ya que el mercado está dominado por Bavaria y otras marcas cerveceras [10]. Pero cada año este porcentaje de producción aumenta por las facilidades de obtención de este nuevo producto, dándole un lugar a la cerveza artesanal que brinda una alternativa diferente al consumidor. En este mismo año, existen más de 255 cervecerías artesanales en el país, con una participación del 0,5% en el sector cervecero y una producción de 8 millones de litros por año [11].

La industria cervecera en el país está encabezada por la empresa Bavaria S.A, con un 95% de participación de mercado, con una producción anual de 2429,52 millones de litros anuales con unos ingresos de ventas de más de 12 billones de pesos, por otra parte, la Central Cervecera solo tiene un 1,5% de participación, su producción anual es de 38,16 millones de litros anuales con unos ingresos de ventas de 203 mil millones de pesos [11]. Con estas cifras se deja en claro el gran dominio económico por parte de la empresa Bavaria S.A.

1.1.3. Tipos de cerveza

La cerveza depende de su nivel de fermentación, pueden ser de alta y baja. Frente a producción, encontramos que la cerveza puede ser artesanal o industrial.

1.1.3.a. Fermentación alta. Esta fermentación se utiliza levadura de la especie *Saccharomyces Cerevisiae*, dicha levadura tiende a subir a la superficie del líquido, actuando desde lo alto, en una temperatura controlada de entre 15°C y 20°C [12]. Las altas temperaturas favorecen la producción de esteroides, que pueden añadir notas frutales, pero también de alcoholes superiores y subproductos no deseables. [34]

Las cervezas con este tipo de fermentación son conocidas bajo el nombre de Ale, este tipo levadura actúa más rápido haciendo que la cerveza se produzca alrededor de una semana, existen diferentes tipos de Ale por ejemplo son las tipas APA (American Pale Ale), IPA (Indian Pale Ale), las dobles Pale Ale o IPA de temporada

1.1.3.b. Fermentación baja. Esta fermentación actúa con levaduras provenientes de la familia natural *Saccharomyces Carlsbergensis*; tienen la característica de descender al fondo del bidón, barril, o tanque de fermentación, dándole de esta forma su nombre característico. Cabe destacar que su temperatura debe estar entre los 4°C y los 9°C, para ser procesadas [30]. Las bajas temperaturas favorecen la producción de diacetilo debido al agotamiento de la valina y como resultado del cual la levadura activa la síntesis de productos intermedios que generan el diacetilo, el cual se manifiesta como el aroma y el sabor de los caramelos de azúcar o a mantequilla indeseable (0,02 – 0,12ppm). [34]

Este tipo de cervezas se les conoce bajo el nombre Lager, donde el proceso es más frágil ya que requiere condiciones más controladas para poder funcionar tienen que ser almacenadas luego de su fermentación; esto se hace para que maduren durante algunas semanas, o incluso meses.

Un ejemplo de esta fermentación es la cerveza tipo Pilsen, es una cerveza original (Urquell) de la ciudad de Pilsen (República Checa). Las Pilsen se caracterizan por su color pálido, con un contenido alcohólico entre un 4,2% y 5,5%, de un sabor fresco y seco y de un aroma de lúpulo muy característico. [78]

1.1.3.c. Cerveza artesanal e industrial. Las cervezas se elaboran a partir de cuatro ingredientes base: agua, levadura, lúpulo, cebada y otras maltas de cereales. Sin embargo, existen diferencias entre la cerveza artesanal y la industrial. Estos están en las técnicas utilizadas, la calidad de los ingredientes, las recetas el maestro cervecero, y el proceso de elaboración. La cerveza industrial se fabrica en base a recetas básicas en busca de ingredientes y procesos económicamente viables, y utiliza grandes equipos para producir cerveza a gran escala en menor tiempo. El maestro cervecero modifica la cerveza artesanal tantas veces como sea necesario para resaltar sus sabores y aromas distintivos utilizando equipos convencionales que permiten un procesamiento más lento y cuidadoso. [35]

Existen algunas diferencias importantes entre la elaboración artesanal y la industrial. Por ejemplo, la cerveza artesanal no se pasteuriza para conservar el aroma y el sabor de la receta utilizada. Tampoco se someten a filtración, por lo que no se eliminan las partículas en suspensión, lo que da como resultado una cerveza más opaca. Cuando no se realizan estos dos procesos, la levadura sigue produciendo modificaciones ya que al contar con sustrato pasa por una segunda fermentación con el fin de obtener un gas totalmente natural. En este caso, es posible saturar la cerveza con gas

carbónico y etanol, obteniendo una cerveza fuerte con un contenido de alcohol, por regla general, superior a la cerveza industrial. [35]

La cerveza industrial es pasteurizada, por lo que asegura una mayor vida útil, pero pierde las características sensoriales de la cerveza, así como elimina la levadura, por lo que no se realizan cambios químicos. Se someten a un proceso de filtración para eliminar todos los microorganismos y partículas en suspensión, lo que hace que la cerveza sea más limpia. Este proceso no se puede volver a fermentar en botella porque ninguna levadura es capaz de seguir fermentando. La producción de gas carbónico es débil, por lo que debe utilizarse artificialmente. La producción de etanol depende de la cantidad de azúcar en la cebada o en los aditivos. [35]

1.2. Descripción de materias primas

Para la fabricación de la cerveza son necesarios cuatro insumos esenciales como son la malta, el lúpulo, la levadura y el agua, adicionar al proceso cereales u otras fuentes de carbohidratos otorga diferentes sabores y texturas. Estas materias primas tienen una influencia decisiva sobre la calidad de los productos fabricados [17], ya que cada ingrediente puede afectar el sabor, el color, la carbonatación, el contenido de alcohol y otros cambios sutiles en la cerveza.

1.2.1. Malta

La malta es una de los ingredientes esenciales para el proceso de producción de cerveza, es rica en azúcares y pobre en proteínas, es la principal fuente de carbono para la alimentación y crecimiento de la levadura y producción metabólica de etanol. De esta se empieza a determinar el color, cuerpo y el grado de alcohol de la cerveza [18]. Se obtiene al germinar los granos sumergiéndolos en agua, para luego secarlos a condiciones controladas, este proceso es conocido como malteado.

Durante el malteado se activan las enzimas que degradan el almidón en azúcares simples y que serán el sustrato de las levaduras en la fermentación generando mayoritariamente dióxido de carbono y alcohol [17].

Las maltas pueden ser maltas bases y esenciales, las primeras son responsables del aporte enzimático y representan la columna vertebral de cada receta, Las maltas especiales en cambio, no aportan enzimas debido a que la temperatura de secado las inactiva; pero son utilizadas para dotar a las cervezas de colores específicos, sabores y aromas [19].

Figura 1.

Maltas



Nota. Figura muestra la forma de la malta.
Tomado de: Ó. Aka. Palabras sobre cerveza artesana. 13 de junio de 2019. [En línea].
Disponible: <https://www.craftedbyohm.com/blog-espanol/tag/Tipos+de+malta+cerveza>

1.2.1.a. Tipos de malta. La malta es un producto elaborado a partir de cereales como el trigo, la cebada, el centeno y la avena. La malta es la base de la cerveza y proporciona el azúcar, el color y la forma necesarios para la fermentación. Durante la producción de malta, los granos se hornean a diferentes temperaturas para producir diferentes sabores. Cuanto más tiempo se tuesten los granos, menos azúcar se necesita para hacer el vino. Como resultado, las recetas de cerveza a menudo incluyen granos ligeramente tostados (maltas) para el cuerpo y el alcohol, y granos tostados (maltas especiales) para el color y el sabor. [27]

Figura 2.

Clasificación de malta

Maltas base		Maltas especiales		
● American 2-row	● English Pale	● Aromatic	● Chocolate	● Roasted barley
● Maris Otter	● Munich	● Biscuit	● Special B	● Crystal o Caramel
● Pilsner		● Black patent	● Pale wheat	● Victory ®
		● Cara-pils	● Smoked	● Vienna

Nota. La figura representa las dos clasificaciones de faltas y sus diferentes tipos.

1.2.1.a.i. Malta Pilsen. Entre las maltas se caracteriza por ser la más suave de todas y dar un sabor que oscila entre lo dulce y granulado a la cerveza. Se utiliza fundamentalmente para hacer cervezas lager y tipo Pilsen y otras muchas cervezas checas y alemanas. Esta malta es muy tradicional en Europa y no solo se utiliza para las cervezas estilo Pilsen, también se emplea para muchos otros estilos de cerveza. Siempre se suele utilizar como malta base, es decir, la variedad de malta con mayor proporción en una receta y que aporta la mayor parte de los azúcares para la fermentación. [48]

En general es la malta más pálida disponible con un EBC de 3-4. Podemos encontrar malta Pilsen de cebada de 2 o 6 hileras. La malta de cebada de 6 hileras habitualmente tiene más proteína y enzimas, es menos coagulada y contiene menos carbohidratos. Muchos cerveceros consideran que Pilsen de 2 hileras tiene sabor más marcado a malta, mientras que el de 6 hileras aporta aroma a cereales. [49]

1.2.1.a.i.a. Propiedades y características malta Pilsen. Esta malta se caracteriza por ser fuerte en enzimas y rica en extractos, de igual manera es una de las maltas para obtener mejores cervezas de calidad, se ajusta a la Ley de Pureza alemana.

Tiene una humedad de 4,9%, su viscosidad es de 1,6 mPa*s, la friabilidad es de 81,0%, vidriosidad de 2,5%, tiene como un mínimo de proteína en base seca de 9,0% y como máximo 11,5%.

El índice de Koalbach se puede presentar mínimo con un valor de 36,0% y como máximo de 45,0%, este es un indicador con el cual se puede mirar el nivel de modificación de la mata, de su poder enzimático y de igual manera su capacidad y rendimiento para transformar almidones en azúcares fermentables. [79]

1.2.1.a.ii. Malta Munich. La malta Munich es un clásico alemán usado en miles de cervezas entre las que cabe destacar la Bock, una potente lager muy valorada en la Europa central. Dependiendo del elaborador, la malta Munich es a veces considerada como una malta pálida o una malta de color. [50]

También es la malta adecuada para cervezas oscuras y como una adición en cervezas pálidas. Habitualmente producida con grano de calidad inferior, por lo que contiene mucha proteína. Tiene actividad enzimática más baja que la malta Pilsen. Requiere alargar tiempos de sacarificación y el escalón proteínico. Aporta a la cerveza un color un poco más oscuro, rojizo/ámbar, y sabor fuerte

a malta. Habitualmente está disponible en dos variedades: malta Munich pálida (12-17 EBC) y oscura (20-28 EBC). [49]

1.2.1.a.ii.a. Propiedades y características malta Munich. La malta Munich resalta por su intenso sabor y el color ámbar que deja en la cerveza, incluso con bajos porcentajes de molienda, aporta una nota típica de malta en la cerveza. Esta otorga más cuerpo a las cervezas con un alto grado de fermentación y gracias al creciente contenido proteico que se alcanza al incrementar su uso en la molienda mejora también los valores de la espuma.

Considerando las propiedades vistas en la malta Pilsen, la humedad, viscosidad, vidriosidad y la proteína en base seca tienen el mismo valor. En el índice de Kolbach, en el máximo valor presentan una diferencia mínima, donde esta tiene un valor de 47,0%. El pH del mosto se presenta mínimo con un valor de 5,6 y máximo con un valor de 6,1, esta malta tiene un valor de nitrógeno soluble como mínimo de 650 y máximo 800 mg/100g.

1.2.1.a.iii. Malta de Trigo. La malta de trigo es una malta base muy utilizada en el continente, sobre todo en Alemania. Le da a la cerveza un cuerpo y un sabor fresco y ligeramente dulce muy especiales. [50] No tiene cascarilla. Es la base en cervezas de trigo, pero dado que tiene nivel alto de proteínas también se utiliza en muchos de otros estilos porque aporta la sensación de plenitud en la boca y mejora la estabilidad de espuma. Disponible también en otras variantes, por ejemplo, trigo Munich (sabor más suave), trigo caramelizado (aumenta plenitud de sabor y enfatiza notas de trigo) y trigo chocolate (intensifica el aroma y aumenta el color de la cerveza). [49]

1.2.1.a.iii.a. Propiedades y características malta de Trigo. Se caracteriza esta malta por el sabor típico de la cerveza de trigo de alta fermentación, la cual se elabora exclusivamente con un trigo de la más alta calidad, teniendo en cuenta su humedad de 5,5%, viscosidad del 1,99 mPa*s, la proteína de base seca con un valor de 13,5%, el índice de Kolbach con un mínimo de 36,0% y un máximo de 46%.

La malta de trigo se caracteriza de igual manera por el tamaño de granulometría que es menor a 2,2mm ya que la de Munich y Pilsen son mayores al 2,5 mm. De igual manera esta es la base de las cervezas sin alcohol.

1.1.2. Lúpulo

El lúpulo es una planta trepadora de la familia de las Canabáceas; cuyas inflorescencias femeninas tienen en la base glándulas de lupulina. Estas glándulas contienen resinas responsables del amargor y aceites esenciales asociados al sabor y aroma. El lúpulo, a pesar de su amargor, se comenzó a incorporar a la cerveza por sus propiedades de conservación y antisépticas que ayudaban a conservar la bebida. [31]. Ya que es un agente bactericida, por lo tanto, permite el crecimiento de la levadura que es un hongo, pero protege a la cerveza de la contaminación con bacterias.

1.1.3 Levadura

La levadura es un hongo, el cual, es el ingrediente que convierte el jugo de cebada obtenido de una mezcla de cebada, lúpulo y agua en cerveza. Son organismos unicelulares que se alimentan de azúcares que pueden fermentarse a partir del almidón extraído de la cebada durante el remojo. La levadura convierte estos azúcares fermentables en alcohol durante la fermentación. [32]

1.2.4. Agua

El agua es un ingrediente de mucha importancia ya que representa cerca del 95% en peso de la cerveza, es por eso que debe cumplir las exigencias de calidad luego del tratamiento que recibe. [7]. Cualquier tipo de agua potable sirve para la fabricación de cerveza, no obstante, el producto final puede variar mucho en función de la que utilizemos.

Para la fabricación artesanal de cerveza es muy común usar el agua de red o agua embotellada. [33]

Si bien es cierto que hay que tener en cuenta ciertos factores, como la descarbonización y que la mayoría de los cerveceros consideran agentes críticos a la hora de evaluar la calidad de un agua: pH, dureza, alcalinidad y riqueza mineral.

1.2.4.a. pH. El pH del agua suele ser de alrededor de 7, cayendo a 5,2-5,6 durante el remojo, donde es importante mantener el pH hasta la preparación final de la cerveza [36].

1.2.4.b. Dureza. La dureza total del agua incluye la dureza temporal y permanente: la dureza temporal está determinada por los hidocarburos y puede eliminarse hirviendo el agua; Esta acción libera gas de dióxido de carbono y precipita CaCO_3 . La dureza de un sólido está determinada por los sulfatos disueltos en agua, que no se eliminan por ebullición [36].

1.2.4.c. Alcalinidad. Su presencia actúa como un buffer en la solución, evitando cambios en su pH, por lo que el agua altamente alcalina es muy inadecuada para la elaboración de cerveza y debe evitarse. Sin embargo, debe entenderse que existen diferentes situaciones que conducen al agua alcalina, como dejar que esta hierva por más de 5 min, que contenga Sodio, Calcio, Magnesio o Potasio. Esto es función de la presencia adicional de sales de carbonato (CO_3 y HCO_3).

El hecho de que el calcio y el magnesio coexistan con los carbonatos significa que el agua se puede tratar con un simple calentamiento y mezcla, lo que provocará la precipitación de los metales. Si en cambio tenemos agua alcalina con bajo contenido en carbonatos (menos de 50 mg/l), esa es agua que no podemos utilizar para elaborar cerveza. Además, el tratamiento químico de estas aguas para “preservarlas” es un proceso complejo [37].

1.2.4.d. Riqueza mineral. El agua también necesita proporcionar nutrientes para ayudar a que la levadura crezca y haga su trabajo. De la malta se puede obtener mucho, pero también es importante el aporte de minerales que normalmente se encuentran en el agua. En otras palabras, elaborar cerveza con agua destilada es una mala idea. Fuente ideal de sodio, cloro, azufre, calcio, magnesio y otras sustancias necesarias en el proceso de producción. La siguiente tabla muestra los rangos de concentración deseados de estos iones. [37]

Tabla 1.

Rango de las concentraciones de Iones

Iones	Rango de concentraciones ideales
Calcio (Ca^{++})	50 - 150 ppm
Magnesio (Mg^{++})	0 - 30 ppm
Sulfato (SO_4^{--})	50 - 150 ppm
Sodio (Na^+)	+ de 200 ppm
Cloro (Cl^-)	+ de 300 ppm

Nota. La tabla representa los diferentes iones y sus rangos de concentraciones. Tomado de: Urbano Rojas, C. (2016). Polifenoles totales en productos elaborados con té verde por método colorimétrico Folin Ciocalteu. (Trabajo de grado.) <http://hdl.handle.net/10906/81092>

1.3. Proceso de elaboración

1.3.1 Malteado

La cebada malteada es uno de los ingredientes clave en el proceso de elaboración de la cerveza ya que le da a la cerveza color, aroma, dulzura y sabor, y junto con la levadura aporta el alcohol, el CO₂, el cuerpo y la textura.

La cebada es un grano que se germina y se seca en un proceso conocido como 'malteado'. Estas semillas son forzadas a germinar por inmersión parcial en agua y aireación para evitar su muerte. Esto crea las enzimas necesarias para la maceración (que convierte el almidón en azúcares fermentables mediante hidrólisis) en la cervecería. Según el tipo de malta producida: seca, hervida o tostada. [38]

Figura 3.

Cebada germinada



Nota. Grano de cebada germinado. Tomado de: Cervecedores de México (2020). ¿Qué características aporta la cebada malteada a la cerveza? [En línea]. Disponible: <https://cervecedoresdemexico.com/2020/09/24/que-caracteristicas-aporta-la-cebada-malteada-a-la-cerveza/>

Existen varios tipos de malta, pero la más utilizada es la denominada "malta base", que es la más transparente y puede derivarse del trigo, la cebada o el centeno. Se hornean por poco tiempo y a baja temperatura, lo que les da un color claro. Algunas de las maltas básicas son Maris Otter, Pale Ale, Plzeň, Vienna y Munich, y las dos últimas se secan un poco más y a temperaturas más altas para darle a la cerveza un carácter distinto y un color ligeramente intensa [38]

Figura 4.

Cebada malteada



Nota. La figura representa la manera en que se da la maleada de la cerveza. Tomado de: Cerveceros de México (2020). ¿Qué características aporta la cebada malteada a la cerveza? [En línea]. Disponible: <https://cervecerosdemexico.com/2020/09/24/que-caracteristicas-aporta-la-cebada-malteada-a-la-cerveza/>

1.3.2. Maceración

Una de las etapas que demanda mayor cuidado en el proceso es la maceración, ya que es aquí donde la cerveza empieza a tomar forma, incluso aspectos como el sabor, el color y la espuma dependen mucho del trabajo realizado en esa etapa. Todo cervecero o cualquier persona interesada en hacer una de estas bebidas debe comprender la variedad de detalles que se deben tener en esta etapa para poder obtener una gran cerveza.

El proceso de maceración consiste en mezclar malta previamente molida con agua. Cabe señalar que todo el paso del refinado se realiza a diferentes temperaturas y durante un tiempo determinado para obtener el mosto, una solución dulce compuesta principalmente por azúcares fermentables [20].

Como se menciona anteriormente la importancia de esta etapa es porque en ella se le empieza a dar forma a la cerveza artesanal. Algunos de los aspectos clave de la ejecución de este proceso son:

- Le da a la cerveza su color cuando la malta se expone por primera vez al agua.
- La cerveza adquiere un sabor y aroma característicos a malta.
- El azúcar extraído se convierte luego en alcohol mediante levadura.

- La cerveza obtiene su carácter y sabor distintivos gracias a los azúcares sin fermentar que también se extraen.

1.3.3. Activación Enzimática

Las enzimas se definen como catalizadores biológicos complejos de naturaleza proteica que provocan reacciones sin alteración y sin aparecer en el producto final. se habilitan y deshabilitan bajo ciertas condiciones. el proceso de maceración es el encargado de gestionar estas condiciones. [39]

Las enzimas involucradas en el proceso de elaboración de la cerveza se forman dentro del grano durante el malteado. El ingeniero de malta hace creer al grano que es hora de germinar humedeciéndolo y comenzando a germinar. La naturaleza ha colocado muchas enzimas en el grano de cebada listas para apoyar el crecimiento del brote. Lo que interesan son las enzimas que descomponen el almidón de los cereales y permiten que el azúcar obtenido llegue a los brotes jóvenes como alimento hasta que la planta llega a la superficie y puede fabricar su propio alimento mediante la fotosíntesis. Estas enzimas, producidas durante la germinación y el secado, son utilizadas por el cervecero para convertir la malta en un líquido dulce durante el proceso de molienda. [39]

El líquido dulce se separa de las semillas y los azúcares disponibles se recolectarán durante el proceso de lavado. Este líquido luego se hierve en una olla de lúpulo para completar la preparación del mosto. [39]

1.3.4. Filtración y cocción

Después del remojo, el líquido debe separarse de la malta restante. Para ello, filtrar el mosto en un tanque de filtro o filtro prensa. En ambos casos, el líquido se separa del sólido. Los sólidos se denominan bagazo y, a menudo, se reutilizan en la producción de alimentos para animales. [21] No obstante, este será el objeto de estudio para el presente documento, en el cual se brindará otra alternativa de uso y determinando características fenólicas dentro de este.

El mosto se hierve para realzar el amargor y el aroma que se encuentra en el lúpulo. Además, en esta etapa, que debe ser desinfectada, la proteína se coagula y el olor no deseado se evapora. Dependiendo del estilo de preparación, esto suele tardar alrededor de una hora o más. Por último,

el mosto debe pasar por un proceso de centrifugado [21]. Así mismo esta etapa es la que determina en buena medida las diferencias entre las recetas de las cervezas.

1.3.5. Enfriamiento

El proceso para refrigerar el mosto, se trata de enfriar rápida y completamente el mosto inmediatamente después de la ebullición. El mosto debe alcanzar la temperatura ambiente desde un punto de ebullición alto lo antes posible y esto es necesario por varias razones. El enfriamiento rápido puede prevenir la contaminación y la aparición de olores no deseados. Enfriar lentamente aumenta la probabilidad de que las bacterias silvestres y la levadura infectan el mosto. Hay pocas bacterias a altas temperaturas, pero pueden aparecer mientras baja la temperatura. Mientras el mosto se evapora, va emitiendo gases como compuestos de sulfuro y si este se cubre y se enfría lentamente, estos compuestos permanecen en él.

Otra razón para el enfriamiento rápido es evitar la neblina conocida por los cerveceros como neblina fría. Esto sucede porque a medida que el mosto se enfría lentamente, algunas proteínas no deseadas no se depositan en el fondo y no se pueden eliminar. Por lo tanto, cuando está contenido en la cerveza, provoca turbidez y pérdida del sabor. [22]

La temperatura a la que se enfié dependerá del método de fermentación utilizada durante el proceso, la temperatura de fermentación baja es de 4-7°C y de 15 a 20°C con la fermentación alta. [40]

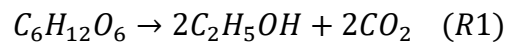
1.3.6. Fermentación

La fermentación de la cerveza es el proceso mediante el cual el azúcar fermentable (contenida en el mosto de la cerveza) se convierte en alcohol producido por la levadura y se libera como gas junto con otros subproductos. La fermentación de la cerveza es relativamente fácil y es un proceso que se ha llevado a cabo durante siglos. Hoy en día, la fermentación es posible, gracias a las levaduras disponibles comercialmente que ayudan a lograr una fermentación controlada bajo ciertas condiciones [28]

Para controlar mejor la fermentación de la cerveza, se puede distinguir entre las siguientes tres etapas:

1. Tan pronto como se agrega la levadura al fermentador, comienza la primera etapa, llamada Lag, durante la cual la levadura comienza a crecer. Esto se debe a que es más probable que el mosto este lleno de azúcar fermentable y que las bacterias que hayan ingresado al fermentador (o que hayan ingresado al interior si no se limpiaron y desinfectaron adecuadamente) pueden chocar con la levadura. Es importante que este paso sea lo más breve posible y no supere las 24 horas. Al final de este período, se forma espuma (Krausen) en la parte superior, generalmente de color crema, que protegen contra una posible contaminación. [28]
2. En la segunda etapa, la levadura comienza a fermentar el mosto y comienza a liberar CO₂. En la cámara de aire (Airlock), se puede observar el mecanismo interno del fermentador cuando se libera CO₂. Esta etapa tiene una duración de varios días, tiempo durante el cual Krausen disminuye gradualmente. [28]
3. En la etapa final, también conocida como acondicionamiento, la levadura elimina los subproductos, como ésteres y diacetilo. [28]

Así mismo, cabe resaltar que en la fermentación es donde los carbohidratos como la glucosa se convierten en etanol y dióxido de carbono (Reacción 1), los cuales influyen en el color, olor y sabor de la cerveza. [80]



1.3.7. Maduración y filtración

Cuando la levadura de cerveza fermenta, convierte el azúcar del mosto en alcohol y dióxido de carbono, lo que contribuye al aroma y sabor de la cerveza. Al final de este proceso se obtiene la llamada "cerveza verde" porque aún no ha alcanzado la maduración ideal de consumo. Para conseguirlo, la cerveza debe conservarse en barricas a temperaturas por debajo de los cero grados. Por efecto del tiempo y del frío, el sabor y el aroma se afinan, dando como resultado un producto más estable. [28]

Finalmente, se necesita estabilizar y darle a la cerveza un aspecto limpio y claro. La filtración separa la levadura y otros sólidos. En este proceso, se ajusta la cantidad de dióxido de carbono (CO₂) para remover el oxígeno (O₂) y evitar la oxidación de la cerveza que afectaría el sabor y la espuma. Después de este proceso, la cerveza brillante que todos conocemos finalmente. [28]

1.3.8. Carbonatación y embotellado

La carbonatación es una característica primordial en la cerveza, le añade sabor, cuerpo e influye en los aromas del lúpulo y la malta. Es una reacción química que consiste en adicionar dióxido de carbono (CO₂) disuelto en el volumen de la cerveza, contribuyendo al amargor de la cerveza en la boca. Por eso es importante que las cervezas artesanas tengan la cantidad de carbónico adecuado. Existen dos maneras de carbonatar la cerveza, la carbonatación natural y la carbonatación forzada.

La carbonatación natural se realiza con el propio CO₂ que se genera en una segunda fermentación, donde las levaduras convierten el azúcar en alcohol, liberando gas o CO₂ necesario para la carbonatación. Para ello se añaden más azúcares fermentables una vez ha terminado la primera fermentación. Estos azúcares fermentables con los que se ceba la cerveza pueden ser de diferentes tipos: azúcar de maíz, de caña, extracto de malta o incluso mosto. [23]

Una vez terminado el proceso de elaboración de la cerveza, se le puede agregar el gas añadiendo CO₂ en unas condiciones de presión y temperatura determinadas. Para realizar la carbonatación forzada es necesario un equipo especial: un barril para envasar la cerveza, una botella de CO₂ con bomba y un manómetro para controlar la presión que queremos inyectar en el barril de cerveza [23]

1.4. Descripción del bagazo como residuo de la producción cervecera

La principal materia prima para la producción de cerveza es la malta de cebada. El ingrediente pasa por un proceso de cocción y maceración para producir el brebaje necesario para la elaboración, y luego pasa por una etapa de fermentación para obtener como resultado final la cerveza. Durante este proceso se produce una gran cantidad de residuos insolubles, conocidos localmente como bagazo de cerveza e internacionalmente como "granos de cerveza" (BSG). Este subproducto constituye el 85% del residuo y promedia el 31% del peso original de la malta utilizada en el proceso. [24] Este subproducto es básicamente un material lignocelulósico porque está conformado por cáscara de grano, pericarpio y fragmentos de endospermo. Su composición química en peso seco es predominantemente de carbohidratos de celulosa y hemicelulosa (17-25%) y no celulósicos (25-35%), proteína (10-30%), lignina (8-28%); y en menores cantidades por lípidos (<11%) y minerales (5%) [3].

Figura 5.

Bagazo Húmedo



Nota. La figura representa el bagazo en una presentación húmeda. Tomado de:

Rodríguez, J. El bagazo de cerveza, superalimento con sabor a futuro. 2021 [En línea]. Disponible: <https://vinomanos.com/2021/04/bagazo-superalimento/>

Se estima que existen más de 255 productores de cerveza artesanal en el país, con una producción total anual de 8 millones de litros. La cantidad de bagazo de cerveza que se produce es de aproximadamente 600 gramos por litro de cerveza producido, es decir, 4.8 millones de kilogramos de bagazo al año. Por ello, utilizarlo como insumo en la elaboración de productos para el consumo humano es una propuesta muy oportuna, como ejemplo de una economía circular que, a diferencia de los modelos lineales, hace cumplir los principios de regeneración y restauración del capital natural. [24]

1.4.1 Usos actuales del bagazo de cerveza

El bagazo de cebada de malta tiene un gran potencial para ser reciclado, este puede ser utilizado como una fuente barata de fibra que puede proporcionar una serie de beneficios cuando se incorpora a la dieta humana, como para la prevención de ciertas enfermedades incluyendo cáncer, trastornos gastrointestinales, diabéticos y enfermedades coronarias [26].

Este material también sirve para la producción de alimentos para animales, en forma húmeda se destina, principalmente, a alimentación de vacuno lechero ya que es una excelente fuente de proteína no degradable, capaz de satisfacer gran parte de las necesidades de proteína y aminoácidos

de esto animales [25]. Y al deshidratarlo es utilizado en alimentación de porcinos o las aves, aunque su valor nutricional en estas especies es aún poco conocido.

Por otra parte, se utiliza en la producción de energía, a través de la elaboración de carbón, combustión directa o bien mediante la producción de biogás. Este último se produce por combustión anaerobia. La digestión anaeróbica es un proceso biológico complejo a través del cual, en ausencia de oxígeno, la materia orgánica es transformada en biogás [75].

El bagazo cuenta con propiedades como medio de cultivo, como por ejemplo para bacterias ácido-lácticas. Estas bacterias tienen un papel importante en las industrias de alimentos y biotecnología, ya que son ampliamente utilizadas como iniciadores para la fabricación de alimentos y productos probióticos. Se ha utilizado en el pasado para cultivar microorganismos como especies de *Rhizobium* o más recientemente se ha agregado como fuente de nitrógeno en otros medios de cultivo [3].

En la actualidad el proceso de extracción sustancias con alto valor agregado en el bagazo ha tomado gran importancia, los compuestos fenólicos son algunas de estas sustancias que tienen propiedades antioxidantes y pueden impactar en la prevención del daño oxidativo, muy relacionado con el inicio de diversas enfermedades. [76]

1.5. Master Beer

Master Beer es una empresa dedicada a la fabricación de cerveza artesanal en busca de nuevas técnicas de producción que contribuyan a un proceso más rentable sin comprometer la calidad del producto. Nace como un emprendimiento en el año 2012, convencidos que en Colombia merecemos una cerveza mejor que la comercial y basándonos en los principios de calidad e innovación, empezamos nuestra formación en el mundo de la cerveza artesanal.

Al día de hoy Master Beer presenta al mercado diferentes tipos de cerveza, las cuales son Mysteria IPA, Golden, Irish Red, Samaria, Imperial Coconut, Milk Stout, Happy Pils Lager y Saison Corozo

Master Beer cuenta con una planta piloto de producción ubicada en la ciudad de Bogotá D.C, en la cual se producen aproximadamente 41.000 litros mensualmente en procesos batch, y su distribución se realiza principalmente a través de redes sociales en la ciudad de Bogotá, pero cuentan con maquinación de uno de los bares más importantes de Bogotá como lo es El Mono Bandido que cuenta con cuatro sedes: Calle 127, Quinta Camacho, Parque la 93 y Chapinero.

A 2021 siguen creciendo y eso nos ha llevado a tener colaboraciones con cerveceros de toda Latinoamérica. Convirtiéndolos como una de las cervecerías artesanales independientes más importantes del país. Por último, en 2022 logran la medalla de plata en la competencia internacional de cerveza en México organizada por Aro rojo.

1.6. Pretratamientos

1.6.1. Maceración

Es el proceso, donde la materia prima solida se deja reposar en una sustancia liquida por un tiempo determinado. Los compuestos de interés presenten en el compuesto solido pasaran al liquido extractor si es soluble en él. Existen dos tipos de maceración, en caliente o frio, donde se considera una forma de extracción pura por lo que los componentes solubles pasan al liquido sin ser alterados de manera fría y por medio de la infusión calentándola, alterando la composición de algunos componentes. [44]

Figura 6.

Maceración



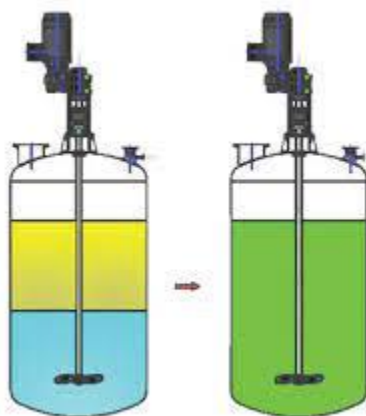
Nota. La figura representa el proceso de maceración Tomado de: Cerveceros de argentina. Descubre los secretos de la maceración. 2018. [En línea].Disponible:
<https://www.thebeertimes.com/maceracion-descubre-todos-sus-secretos/>

1.6.2. Homogeneización

Tiene como fin, romper tejidos y enlaces de moléculas para facilitar la extracción a los compuestos de interés. El cual consiste en llevar una mezcla heterogénea a una homogénea para que toda la mezcla presente las mismas propiedades empleando agitación y mezcla [5].

Figura 7.

Homogenización



Nota. La figura representa el proceso de homogenización Tomado de: Linkindustrial Procesos requeridos de agitación. 2019. [En línea]. Disponible: <https://linkindustrial.es/agitadores/procesos-requeridos-de-agitacion/>

1.6.3. Molienda

Es una operación unitaria que implica una sola transformación física de la materia sin alterar su naturaleza, es de suma importancia en diversos procesos industriales. Esta, ayuda a reducir el volumen promedio de las partículas de una muestra sólida. Generalmente se habla de molienda cuando su tamaño es inferior a una pulgada siendo este la mayor desintegración al triturar. [45]

1.7. Métodos de Extracción

La extracción es una técnica empleada para la separación de uno o más componentes de una mezcla, tiene como objetivo principal la obtención de un componente específico. Este proceso puede ser clasificado de acuerdo a la naturaleza del material extraído o clasificado por el tipo de fases en contacto, como sólido-líquido, líquido-líquido, entre otros.

Las diferentes técnicas de extracción de compuestos fenólicos presentes en BSG puede llevarse a cabo a través de métodos convencionales o no convencionales.

1.7.1. Extracciones convencionales

Estas extracciones permiten extraer o separar componentes solubles de sólidos con ayuda de un disolvente que actúa de manera directa sobre la muestra utilizando un extractor, homogeneizador o baño de ultrasonidos durante un tiempo determinado. Algunos de los disolventes que se pueden emplear son metanol, etanol y acetona, y sus correspondientes mezclas con agua [5].

1.7.1.a. Extracción con agua. La extracción utilizando únicamente agua es una técnica sencilla y muy poco contaminante ya que no emplea ninguna sustancia orgánica. En este proceso el material sólido se pone en contacto con agua o vapor de agua, donde se hace pasar un flujo de vapor a través de la materia prima, arrastrando así los aceites esenciales, luego este vapor se enfría y condensa, formando un destilado líquido de dos fases inmiscibles, una fase acuosa y otra orgánica que se pueden separar por decantación debido a la diferencia de densidades que hay entre las dos sustancias [58].

1.7.1.b. Extracción con disolvente. Esta técnica utiliza la separación selectiva de un compuesto a partir de una mezcla (sólida o líquida). Se basa en las diferencias de solubilidad de los componentes de una mezcla en un solvente adecuado. Se emplea para el aislamiento de sustancias disueltas en soluciones o en mezclas sólidas o también para remover impurezas solubles en mezclas de compuestos [59].

Los disolventes más empleados para la extracción de polifenoles del BSG son los disolventes nombrados anteriormente. Esta técnica es bastante efectiva y fácil de usar, aunque necesita gran cantidad de disolventes orgánicos y un elevado tiempo de extracción.

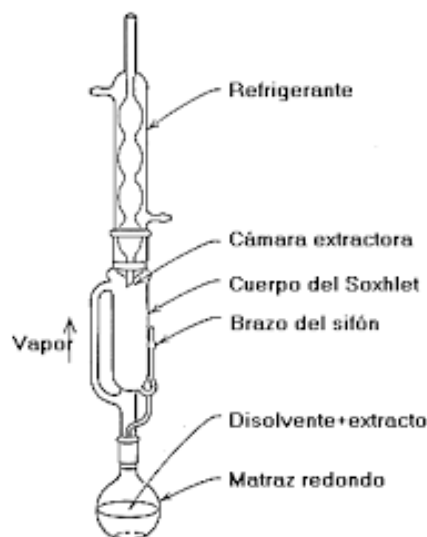
1.7.1.c. Extracción alcalina. La extracción alcalina es un tipo de extracción que utiliza una sustancia alcalina como disolvente. Para la extracción de polifenoles a partir de BSG el compuesto más utilizado es el hidróxido de sodio (NaOH) en diferentes concentraciones. Varios investigadores realizaron estudios acerca de las diferentes condiciones de operación para este método de extracción. Además, en algunos casos, es necesario un pretratamiento previo con otra sustancia, como puede ser ácido sulfúrico, lo que también puede modificar las condiciones de operación [5].

1.7.1.d. Extracción Soxhlet. La extracción Soxhlet es el método estándar más utilizado para la extracción de muestras sólidas. En este proceso, una muestra sólida finamente molida se coloca en un papel poroso, que se coloca en el cuerpo del Soxhlet (figura 8). El solvente de extracción en el

matraz se calienta, su vapor se condensa y gotea sobre el tampón de muestra, extrayendo los analitos disueltos. Cuando el nivel de solvente que se condensa en el compartimiento alcanza la parte superior del sifón lateral, el solvente junto con los analitos disueltos subirá a la parte superior del sifón y regresarán al matraz de ebullición. Este proceso se repite hasta el final de la extracción de los analitos de la muestra y su concentración en el disolvente. [41]

Figura 8.

Extracción Soxhlet



Nota. La figura representa el montaje para la extracción Soxhlet Tomado de: Hache, M. Operaciones difusionales Extracción. 2018. [En línea]. Disponible: <https://pin.it/6zlczPL>

1.7.2. Extracciones no convencionales

En la búsqueda de nuevas técnicas de extracción, que sean más amigables con el medio ambiente y que no representen riesgos para la salud, mientras facilitan la extracción de compuestos de alta calidad, se han estudiado diferentes tecnologías como: fluidos a alta presión, tecnología de ultrasonido, tratamientos enzimáticos, tecnología de microondas y de pulso eléctrico [60]

1.7.2.a. Extracción de Microondas. El método de extracción asistido por microondas es uno de los métodos avanzados que está ganando popularidad porque los hornos de microondas o equipos personalizados están fácilmente disponibles a bajo costo, por otro lado, evita el sobrecalentamiento

de los alimentos, que a su vez no permite el pardeamiento o daños en el fruto. El principio de calentar un solvente por microondas se basa en el calentamiento dieléctrico, causado por la rotación del momento dipolar. Las moléculas giran según los momentos dipolares y se aleatorizan instantáneamente con la frecuencia del microondas, lo cual provoca el calentamiento del disolvente y el segundo mecanismo se llama conducción iónica [5].

1.7.2.b. Extracción Ultrasonido. El ultrasonido está basado en la propagación de ondas mecánicas conformada por un conjunto de ciclos, definidos como la combinación de altas y bajas presiones, denominadas compresiones y rarefacciones, respectivamente [61]. Las principales características de la onda de ultrasonidos son su longitud que es la distancia entre dos puntos de compresión o rarefacción, la altura máxima de una onda, el número de ciclos por unidad de tiempo, su producto de la frecuencia por la longitud de onda, el cociente entre la energía transportada y el tiempo considerado, y el cociente de una unidad de potencia a través de una unidad de área. [61].

1.7.2.c. Extracción de fluidos supercríticos. Para emplear este tipo de extracción es necesario que el disolvente alcance el estado supercrítico. Esta técnica utiliza dióxido de carbono es barato y está disponible comercialmente incluso con una alta pureza. No es inflamable ni tóxico, a diferencia de muchos disolventes orgánicos al someterlo a cierta temperatura y presión para que se convierta en un fluido supercrítico, es decir por encima de su punto crítico termodinámico, adquiriendo la propiedad de difundirse a través de los sólidos como un gas y de disolver los materiales como un líquido [70].

Todos los procesos de extracción supercrítica de sólidos consisten en dos etapas: la extracción y la separación del extracto del disolvente. En la extracción, el CO₂ supercrítico fluye a través del sólido y disuelve los componentes extraíbles. El disolvente cargado con el extracto se evacúa del extractor y se alimenta al separador, donde se reduce la presión de manera que el soluto no es soluble y precipita. Alternativamente, el soluto se puede separar del disolvente supercrítico por adsorción, absorción o con una membrana. En este caso, el circuito de disolvente puede ser operado a presión casi constante [63].

Otra posible técnica desarrollada en los últimos años es la que utiliza mezclas eutécticas de bajo punto de fusión como mecanismo para separar los compuestos fenólicos. Estas mezclas son las que se obtienen al calentar dos o más sólidos inmiscibles en una determinada proporción. Estos sólidos sufren un cambio de fase y se transforman en líquidos al calentarse hasta una temperatura

determinada. Este punto es el denominado punto eutéctico. Una vez que se ha formado la mezcla eutéctica los componentes se comportan como si se tratasen de un líquido puro [64]. De esta manera, los disolventes formados por mezclas de este tipo servirían para detectar enlaces en ciertos componentes de la materia prima y actuar sobre ellos

1.7.2.d. Extracción con líquidos a alta presión. Este método se basa en el uso de disolventes a alta presión y temperatura, sin llegar al punto crítico. Es usado en la extracción de compuestos de matrices sólidas o semisólidas. Su ventaja principal es que los disolventes a alta presión permanecen en estado líquido cuando se ponen a temperaturas superiores a su punto de ebullición, además de que la extracción se realiza en corto tiempo y se usa poca cantidad de disolvente. El proceso de PLE se puede dividir en dos etapas: La primera es un proceso en el que la extracción se controla por la solubilidad y la segunda se caracteriza por la difusión de solutos en el disolvente. Los principales disolventes utilizados en PLE son metanol, isopropanol, acetona, hexano, agua, etanol y éter. El agua y el etanol se han empleado cada vez más en la extracción de polifenoles, tales como flavonoides y ácidos fenólicos, ya que se consideran disolventes "verdes" [65].

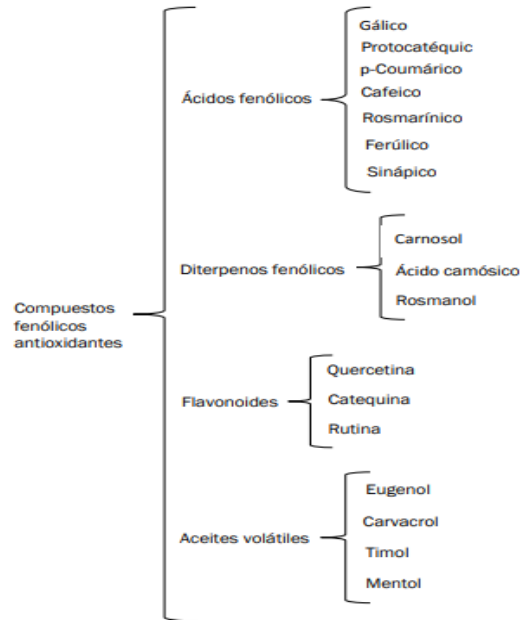
Teniendo en cuenta la matriz de selección anterior de los métodos de extracción de compuestos fenólicos para el bagazo de cerveza, se puede analizar las ventajas y desventajas de los principales métodos, este proyecto al contar con unos recursos limitados las extracciones convencionales son la mejor alternativa, el método Soxhlet cumple con la mayoría de ventajas por parte de los objetivos planteados, su fácil implementación, gran reproducibilidad y eficacia hacen de este método el mejor, no obstante considerando cada una de las desventajas propuesta en la matriz

1.8. Compuestos fenólicos antioxidantes

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios que presentan actividades biológicas importantes. Se obtienen de los residuos sólidos y líquidos de las corrientes residuales de los procesos agroindustriales y alimentarios. Comercialmente presentan propiedades de interés ya que actúan formulación de novedosos alimentos funcionales [66]. Estos compuestos fenólicos presentan un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilo. Se biosintetizan de como agentes de protección ante la oxidación y son muy empleados de forma natural en plantas y organismos marinos de los cuales pueden ser extraídos [67].

Figura 9.

Compuestos fenólicos antioxidantes



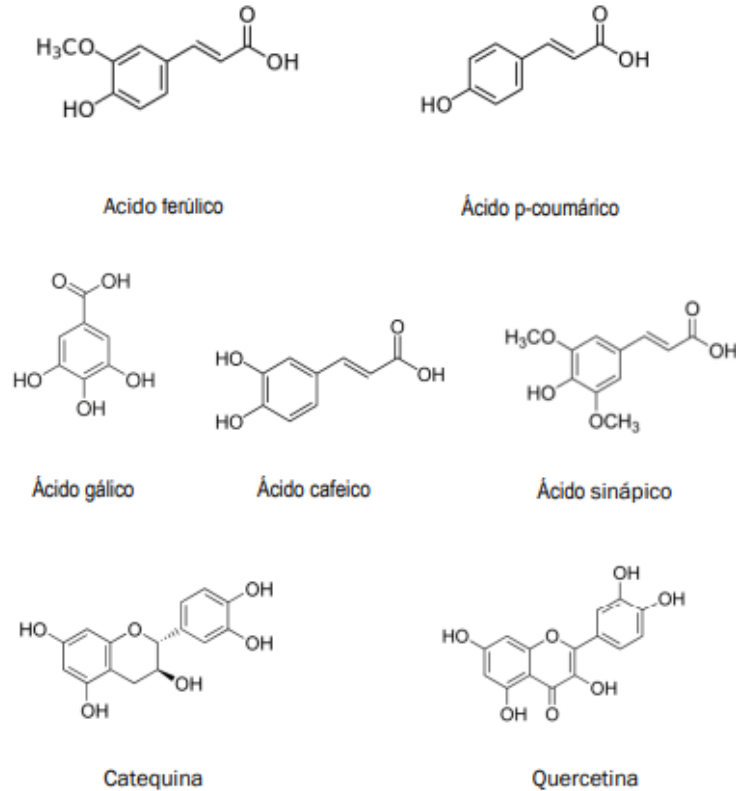
Nota. La figura representa los tipos de compuestos fenólicos antioxidantes. Tomado de: Nieto Sanz, L. Obtención de compuestos antioxidantes a partir de bagazo de cerveza. 2019. <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/38445>

1.8.1. Compuestos fenólicos en el bagazo de cerveza

El bagazo de cerveza contiene diferentes tipos de compuestos fenólicos, estos compuestos son de gran interés en las especies antioxidantes. Dentro de este grupo los compuestos más abundantes son los ácidos hidroxicinámicos y los flavonoides. Entre los ácidos destacan el ferúlico (FA) y el p-coumárico (pCA) [56], aunque también aparecen los ácidos gálico, cafeico y sináptico. La acción de estos ácidos es actuar como antioxidantes atrapando los radicales libres. Por su parte, los flavonoides mayoritarios en este tipo de compuestos son la catequina y la quercetina, los cuales se encargan de eliminar esos radicales libres. La estructura de estos compuestos fenólicos antioxidantes considerados de mayor interés en el BSG se presenta a continuación en la Figura 10:

Figura 10.

Estructura de compuestos fenólicos



Nota. En la figura se muestra la molécula de cinco compuestos antioxidantes. Tomado de: Nieto Sanz, L. Obtención de compuestos antioxidantes a partir de bagazo de cerveza. 2019. <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/38445>

1.9. Métodos de cuantificación

1.9.1. Contenido polifenoles totales

Son compuestos derivados de metabolismo secundario de las plantas y se encuentran de forma natural en bebidas de origen vegetal y en los alimentos. Así mismo, se caracterizan por la presencia de uno o más anillos tipo benceno. Estos directamente se relacionan con una serie de características en los alimentos, como el olor, el sabor, la palatabilidad y el valor nutricional. Entre estos compuestos se encuentran los ácidos fenólicos y flavonoides como el ácido cumárico, la quercetina y los taninos, entre los cuales el más activo biológicamente es la epicatequina. Estos se pueden cuantificar mediante el método de Folin Ciocalteu. [81]

1.9.2. Método de Folin Ciocalteu

El método de Folin-Ciocalteu se basa en la reactividad del fenol con un agente oxidante. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato de sodio y tungstato de sodio, que reacciona con cualquier fenol para formar un complejo fosfomolibdeno-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH alcalino reduce el complejo a óxidos azul oscuro como se muestra en la figura 11, tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), cuyo color es proporcional al número de grupos hidroxilo en la molécula. [42]

Figura 11.

Método de Folin Ciocalteu

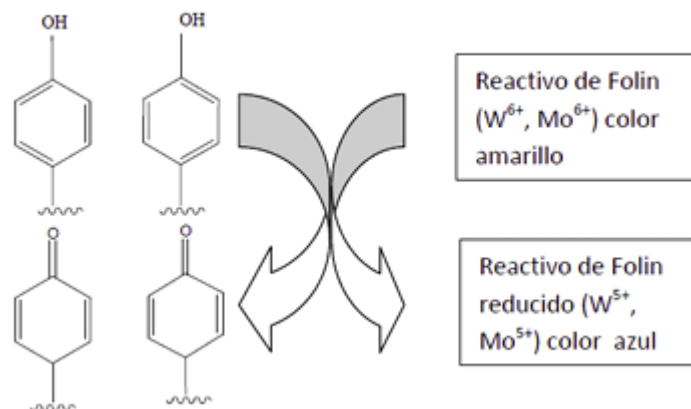


Nota. La figura presenta las tonalidades a la hora de hacer la determinación con el reactivo de Folin Tomado de: Edmond, m. Polyphenols - folin ciocalteu. 2020 [En línea]. Disponible: <https://libios.fr/en/analytical-solutions/oxydative-stress-antioxidant-capacity/oxydative-stress-antioxidant-capacity-assay-kits/polyphenols-folin-ciocalteu>

Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado, el reactivo de Folin Ciocalteu contiene una mezcla de tungstato de sodio y molibdato de sodio en ácido fosfórico, que reacciona con compuestos fenólicos presentes en proteínas como la tirosina y compuestos como el ácido gálico y sus derivados. El ácido fosfomolibdúngstico (formado a partir de dos sales en medio ácido), de color amarillo, al reducirse con un grupo fenólico da un complejo azul oscuro, cuya intensidad se mide cuantificando el número total de polifenoles (Figura 12) [43]

Figura 12.

Reactivo Folin Ciocalteu



Nota. La figura presenta la interacción del reactivo Folin Tomado de: García Martínez, E. M., Fernández Segovia, I., & Fuentes López, A. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. 2015. <http://hdl.handle.net/10251/52056>

La figura 12 representa la reacción que tiene el reactivo Folin- Ciocalteu con el agente oxidante, en el cual hay una transferencia de electrones en un medio alcalino del grupo fenólico a los complejos de ácido. Por ende, en la figura 12 se presenta la reducción frente a estos electrones que se representan con W y Mo, donde, tungsteno (W₈O₂₃) y molibdeno (Mo₈O₂₃), respectivamente.

1.9.3. Actividad antioxidante

La actividad antioxidante, se da gracias a la presencia y a la estructura química de los polifenoles, que tienen un interés en los posibles efectos positivos para la salud en los alimentos y bebidas que contengan polifenoles. La función de estos, es proteger el organismo de los radicales libres, moléculas altamente radiactivas que pueden dañar el organismo a nivel celular. El daño que producen estos radicales puede agrandar el riesgo a enfermedades cardiovasculares, el desarrollo de un Cáncer y otras enfermedades degenerativas, es decir, que los antioxidantes desactivan estos radicales libres minimizando daños y protegiendo el organismo de este tipo de enfermedades.

Para determinar la actividad de antioxidantes que tiene una muestra, se puede utilizar varios métodos como: ABTS (Reacción del radical ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) , DMPD (Dicloridrato de *N,N*-Dimetil-*p*-fenilendiamina) , FRAP (Capacidad de reducción de

hierro) , ORAC (Capacidad de absorción de radicales derivados del oxígeno) , TRAP (Poder total de captura de radicales), DPPH (Estabilidad del radical 1,1difeníl-2-picrilhidrazil)

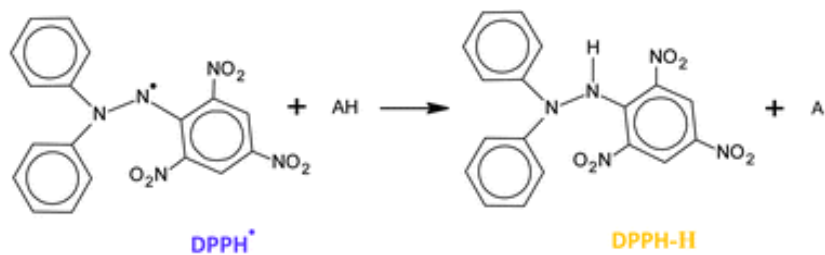
Considerando la facilidad de obtener el reactivo y las condiciones que se tenían en el laboratorio de la universidad América para llevar a cabo este proyecto, se toma la decisión de utilizar el método del DPPH, ya que contábamos con el reactivo, los dispositivos de medición como el espectrofotómetro, los materiales y condiciones para llevar a cabo el método. [81]

1.9.4. Estabilidad del radical 1,1difeníl-2-picrilhidrazil (DPPH)

Existen muchos métodos para medir la capacidad antioxidante de una especie o sustancia, un método comúnmente utilizado se basa en la estabilidad del radical 1,1-difeníl-2-picrilhidrazina (DPPH), que se atribuye a los electrones desapareados que en solución de etanol también da un color púrpura caracterizado por una banda de absorción centrada en 520 nm. Cuando una solución de DPPH entra en contacto con una sustancia donadora de hidrógeno o con otro radical (R.), se produce en forma reducida de DPPH-H o DPPH-R, lo que provoca la decoloración y, por lo tanto, la adsorción. La concentración requerida para lograr un efecto es del 50%, a menudo utilizada para explicar el método. [42]

Figura 13.

Radial libre DPPH



Nota. La figura muestra el radical libre el DPPH interactuando con los antioxidantes Tomado de: Vega Belmar, K. A. Actividad antioxidante y antibacteriana determinadas en extractos metanólicos obtenidos desde partes aéreas de *Rhaphithamnus spinosus* (Juss) Moldenke. 2018. <http://repositorio.udec.cl/jspui/handle/11594/3529>

1.10. Antioxidantes Naturales

Los antioxidantes naturales son sustancias de origen natural encargadas principalmente de dar un apoyo al cuerpo humano en cuanto al retraso y prevención de cierto tipo de daños a nivel celular causados principalmente por los denominados radicales libres, generando afecciones a nivel molecular a las células que se va repartiendo en cadena. Para el caso presente, los antioxidantes estabilizan a los radicales libres e impiden la oxidación de estos con el único objetivo de proteger los órganos y sistemas que se puedan ver involucrados de manera negativa.

Actualmente, los procesos de productos con insumos naturales están cada día imponiéndose más a nivel cultural en cuanto al cuidado de la salud física y del medio ambiente, donde los antioxidantes naturales se están sobreponiendo a los de origen sintético, donde esto se resalta en la alta demanda alimenticia y los residuos que generan uno respecto al otro.

De acuerdo a esto, los antioxidantes se dividen en endógenos y exógenos, unos fabricados por las propias celular y otros ingresan en el cuerpo humano a través de los alimentos de acuerdo a la dieta y suplementos que cada persona ingiera.

En cuanto a los beneficios de estos, especialmente los antioxidantes naturales, estos tienen una efectividad más alta en cuanto al retraso de la oxidación de las grasas empleando la extinción de oxígeno, reducción de radicales libres y regeneración de otros antioxidantes.

En cuanto a los procesos de producción donde se busca emplear dicha clase de antioxidantes también suele comportar mejor en el desarrollo de proceso y proteger el producto final, todo esto al ser menos volátiles y más estables a las altas temperaturas.

1.11. Coeficiente de correlación de Pearson

El coeficiente de correlación de Pearson es una medida considerablemente utilizada en diversas áreas del que hacer científico, desde estudios técnicos, econométricos o de ingeniería; hasta investigaciones relacionadas con las ciencias sociales, del comportamiento o de la salud. [68]

Dicha correlación puede ser evaluada por coeficientes que pueden representar la proximidad en un intervalo desde -1, 0 ó +1, indicando una correlación lineal negativa perfecta, sin correlación o una correlación lineal positiva perfecta, respectivamente. Entre más cercano a ± 1 se encuentre el coeficiente, mayor será la correlación entre las variables. Un coeficiente de correlación negativo

indica una relación inversamente proporcional y uno positivo una relación directamente proporcional entre las variables [69]

Tabla 2.

Intervalo de correlación de Pearson

INTERVALO DE CORRELACIÓN	INTERPRETACIÓN DE INTERVALO
± 0,90 a ± 1,0	Correlación muy alta
± 0,70 a ± 0,90	Correlación alta
± 0,50 a ± 0,70	Correlación moderada
± 0,30 a ± 0,50	Baja correlación
± 0,00 a ± 0,30	Correlación nula

Nota. La tabla muestra la interpretación del intervalo de Pearson. Tomado de: Angarita Salamanca, L. X., & Cobos Torres, D. M. Estudio Cromatográfico por HPLC-UV, Cuantificación de Fenoles, Flavonoides y Evaluación de la Capacidad Antioxidante en Miel de Abejas. 2017. <http://hdl.handle.net/11349/6765>

La fórmula para hallar el coeficiente de correlación de Pearson es la siguiente:

$$r_{xy} = \frac{\sum Z_x Z_y}{N} \quad [Ec 1]$$

Donde “x” es igual a la variable número uno, “y” pertenece a la variable número dos, “zx” es la desviación estándar de la variable uno, “zy” es la desviación estándar de la variable dos y “N” es número de datos.

2. METODOLOGIA

Para la ejecución del proyecto, se tiene en cuenta tres fases importantes, el pretratamiento, la extracción y la cuantificación. En cada una de ellas se realiza una exhaustiva revisión bibliográfica que explique las diferentes formas para llevarse a cabo cada una de ellas y así escoger la más adecuada para la obtención de compuestos fenólicos a partir de BGS.

2.1. Pretratamiento

Los diferentes bagazos húmedos proceden de la cervecería Master Beer, como se observa en la figura 14. La cerveza se da en un proceso batch a escala industrial en donde la producción es de 41.000 litros/mes se organizan con 2 lotes semanales, donde por cada lote se obtienen más de 300 kg de bagazo de cerveza.

Figura 14.

Bagazo de la cerveza artesanal Master Beer



Nota. La figura muestra los barriles de bagazo de la cervecería Master Beer.

El bagazo al estar húmedo, se tiene que pasar por un proceso de secado con el fin de evitar la descomposición del BSG debido a que el alto contenido de humedad y la composición de este subproducto hacen que sea una materia prima muy susceptible de ser degradada por microorganismos y posteriormente ser molido. La técnica de secado se lleva a cabo, con ayuda de bandejas de aluminio con medidas de 20 X 10 X 6 cm, una refractaria de vidrio con dimensiones

de 30 x 22 x 6 cm, las cuales son pesadas para determinar el peso exacto que se ingresa de materia prima. Se ingresan 200g de bagazo de cerveza de cada una de las tres maltas, Trigo, Munich y Pilsen, a un horno a 60°C (Figura 15), hasta lograr un peso constante. Cabe resaltar que a esta temperatura no se degradan los compuestos de interés y permanece constante.

Posteriormente en el numeral 1.6, se presentaron tres alternativas que constan de diferentes procesos que ayuden a aumentar el área superficial de contacto entre el disolvente y el soluto en la siguiente etapa de extracción, maceración, homogeneización y molienda. Considerando los procesos, se toma la decisión que el pretratamiento estará basada en la molienda, ya que, con esta, se va a conseguir el rompimiento de la cascara del grano, donde se encuentra el compuesto de interés, y a su vez desintegrarla para que sea más fácil el acceso a ellos.

Figura 15.

Proceso de secado del bagazo



Nota. La figura muestra cómo se realizó el proceso de secado para el bagazo.

Se conoce el valor de humedad mínimo, llevando un registro del peso diario hasta que este sea constante, lo cual se logra en cuatro días. La humedad se calcula por la diferencia de peso del BGS húmedo con el seco.

Se procede a moler las diferentes maltas, en un molino de martillos (figura 16) con el fin de obtener un rendimiento máximo, como lo expresa Fernández y colaboradores [51], donde indican que para

esto se necesita un tamaño de partícula de 0,85mm. Para esto, se toma el registro del peso antes y después de la molienda, ya que en dicho proceso se generan pérdidas, esto debido a que el molino al realizar la alimentación desprendía parte del material debido a la fuerza y velocidad con la que este actuaba, el material particulado fino se escapa; parte de la muestra quedaba adherida a las aspas y también al equipo.

Seguido de esta molienda y el registro que se hace del peso, se utilizan las mallas 18, 20, 25, 35 y 60 de la serie ASTM E11. Se recogen diferentes pesos de las muestras seca para el tamizado y los tamices fueron agitados a 40 rpm durante 15 minutos.

Figura 16.

Tamizado



Nota. La figura muestra cómo se realizó el proceso de tamizado para el bagazo.

Para calcular el diámetro promedio de partícula, es necesario hallar en primer lugar la fracción másica de muestra retenida en cada tamiz, para el cual se utiliza la siguiente ecuación:

$$X_i = \frac{W_p}{W_{total}} \quad [Ec 2]$$

Donde X_i representa la masa retenida expresada en fracción en cada tamiz, W_p es la masa de partículas retenidas en el tamiz i y W_{total} es la masa total de la muestra utilizada en el tamizado.

El diámetro de partícula de cada tamiz se calcula promediando el tamaño de abertura de ese tamiz con el tamiz anterior:

$$D_{pi} = \frac{Ab_i + Ab_{i-1}}{2} \quad [Ec\ 3]$$

Donde D_{pi} representa el diámetro en el tamiz i y Ab el tamaño de abertura de orificio del tamiz i y el tamiz anterior.

Figura 17.

Molino de martillos



Nota. La figura muestra el molino de martillos.

2.2. Extracción

Obteniendo el bagazo seco con un diámetro de partícula requerido, se procede a la extracción de los compuestos fenólicos presentes en este, donde se cuentan con diferentes métodos convencionales. Así mismo la extracción de muestras sólidas con solvente, a menudo denominada extracción sólido - líquido o lixiviación, es un método ampliamente utilizado para aislar analitos de muestras sólidas.

Considerando los métodos expuestos en el marco teórico, y los aspectos mencionados, se realiza una matriz de selección (Tabla 3), teniendo en cuenta la técnica que se utiliza, las ventajas y las desventajas de cada uno de ellos.

Tabla 3.

Matriz de decisión

	TÉCNICA	VENTAJAS	Desventajas
Extracciones convencionales	Extracción con disolventes	Facilidad de uso Buena eficacia Amplia aplicabilidad Buena recuperación de compuestos fenólicos	Necesidad de gran cantidad de disolventes. Elevado tiempo de extracción Selección limitada de disolventes. Posible degradación de los compuestos deseados. Posibilidad de extracción de compuestos no fenólicos. Operaciones de purificación posteriores.
	Soxhlet	Simple de realizar Fácil de implementar No requiere personal especializado Sin procedimientos de filtración Amplio campo de aplicaciones industriales Gran reproducibilidad y eficacia	Tiempo de extracción elevado. Pérdida de compuestos termolábiles. Grandes cantidades de disolvente No permiten usar agitación Disolventes caros y peligrosos Etapa de concentración posterior Bajo porcentaje de recuperación
Técnicas de extracción avanzadas	Extracción microondas asistida	Eficacia elevada debido a las altas temperaturas Tiempo de extracción corto Reducción del consumo de disolvente Proceso simple Bajo coste Técnica rápida y sencilla Tecnología verde	Temperaturas muy elevadas generan compuestos indeseados Necesita filtración posterior Baja eficiencia con disolventes o compuestos objetivo no polares o volátiles
	Extracción de ultrasonidos asistida	Alta recuperación de compuestos Menor consumo de disolvente Disolventes más seguros Análisis de propiedades rápidos Genera compuestos fenólicos menos degradados Reducción del tiempo de extracción Reducción de energía Menor uso de disolvente Reducción de temperatura de extracción Extracción selectiva Reducción del tamaño de los equipos Respuesta rápida y aumento de la producción	Falta de uniformidad en la distribución de la energía Disminución de la potencia con el tiempo
	Extracción con fluido supercrítico	Limpia Respetuosa con el medio ambiente	No recomendable para productos que se obtienen a gran escala que solo contienen una pequeña cantidad de compuestos fenólicos. Elevado coste económico.

Nota. En la presente tabla, se presenta la matriz de decisión que se utilizó para el proceso de extracción.

Se determina que el método de extracción que se va a emplear para la obtención de antioxidantes es el Soxhlet teniendo en cuenta la definición previa que se realiza en el numeral 1,7, las ventajas y desventajas que se presentaron en la matriz y teniendo en cuenta que, en el laboratorio de la Universidad América, contábamos con los todos los equipos y materiales para llevar a cabo este

método de extracción. Considerando que para este método se necesitan diferentes solventes, se toma la decisión de este, teniendo en cuenta los estudios realizados por Moreira [52] y, donde las condiciones de operación más efectivas se basan en emplear 150 mL de etanol como disolvente por cada 3 g de muestra. De igual manera, contemplando los artículos de Meneses [56] y Zuorro [57], se presenta tres concentraciones diferentes de etanol, 80, 60 y 40%, ya que los autores presentan en sus extracciones diversas concentraciones que van de 0, 20, 40, 60, 80 y 100% donde en ambos casos los mejores rendimientos están en las concentraciones que se eligieron para esta extracción.

Teniendo en cuenta lo mencionado, cada extracción se realizó adicionando 3g de BGS, en un papel filtro que se sitúa en la cámara del extractor soxhlet. El solvente se adiciona en un matraz, el cual está ubicado en una plancha la cual presenta temperatura acorde al punto de ebullición del solvente, como se muestra en la figura 18, con el fin de que se condensen los vapores que caen, gota a gota, sobre la muestra en el papel filtro, extrayendo los analitos solubles. Cuando el solvente condensado en el Soxhlet alcanza la parte superior del sifón, desciende por él y retornan al matraz que está en ebullición. Cabe resaltar que, para mantener un mejor control de ebullición, se adiciona en el matraz perlas de vidrio, evitando que las burbujas de aire que se forman en el fondo del recipiente salgan completas a la superficie y al llegar arriba se rompan.

Figura 18.

Montaje Soxhlet laboratorio



Nota. La figura representa el montaje Soxhlet que se realizó en el laboratorio para la extracción.

El proceso descrito anteriormente, se repite hasta que se completan los ciclos de extracción de los analitos de la muestra y se concentran en el disolvente. Para retirar el solvente de los analitos, se lleva a cabo una destilación simple, donde lo extraído pasa a un balón, donde este será sumergido en aceite vegetal dando un recubrimiento parejo a toda la muestra, se instala un cabezal de destilación, donde en la parte superior ira el adaptador con el termómetro y en la boquilla lateral se instala el destilador con las entradas de agua respectivamente como se muestra en la figura 19. Este se calienta hasta la temperatura de ebullición el etano, 76°C el cual será condensado, obteniendo una recuperación de solvente.

Figura 19.

Montaje destilación simple.



Nota. La figura representa el montaje de destilación que se realizó en el laboratorio.

La descripción metodológica de la extracción, se realiza por duplicado a las tres maltas correspondiente con los 3 disolventes seleccionados, obteniendo un total de 18 extractos donde se presume se encuentran los antioxidantes a las cuales se les va a realizar ciertas pruebas descritas a continuación para su cuantificación.

2.3.Cuantificación

Teniendo la muestra de antioxidantes fenólicos obtenida de la destilación, se procede a realizar el método Folin Ciocalteu y el DPPH, en los cuales se va a obtener la cantidad de polifenoles totales y la capacidad antioxidante que se tiene respectivamente.

2.3.1. Folin Ciocalteu

Para el método de Folin se tiene en cuenta el método descrito por Auquilla Arias [53], donde se prepara en un beaker de 1500ml, se agrega 550ml de etanol y 550ml de agua, medidos en probeta, posteriormente se coloca en una plancha de agitación con ayuda de un agitador magnético, siendo este el disolvente que se utiliza en la preparación del del ácido gálico. Se realiza una dilución madre utilizando 100mg de ácido gálico, agregando a un balón aforado de 100 ml y se completa con el disolvente, el cual se agita manualmente.

Se procede a pesar 2,5g de carbonato de sodio, el cual se agrega a un balón de 50ml y se afora con agua destilada. Se agita hasta obtener una solución homogénea sin precipitado de carbonato, el cual se encuentra al 5%.

Teniendo estas soluciones se preparó la curva de calibración con el ácido gálico de 20, 40 60, 80 y 100 ppm, donde se tomaron alícuotas correspondiente a las concentraciones de la solución madre de ácido gálico en cinco balones de 10ml respectivamente y se aforan con el disolvente previamente preparado, seguido de esto se alista el blanco, de igual manera en un balón de 100ml, pero este solo tendrá disolvente.

Se colocan 18 tubos de ensayos para cada uno de los extractos mencionados anteriormente, para medir la cuantificación a cada solución descrita se le realizará un triplicado para la curva de calibración y un duplicado para el análisis de los extractos. Cada tubo es preparado con 200 microlitros de la solución con la concentración madre correspondiente, 200 microlitros del reactivo Folin y por último 1600 microlitros de carbonato de sodio al 5%. Estos tubos son llevados al baño termostataado a 40°C por 30min. Pasado ese tiempo, se retiran y se dejan enfriar hasta la temperatura ambiente.

Con ayuda de un espectrofotómetro a una longitud de onda de 765nm, se coloca primero el blanco para ajustar el instrumento para leer la transmitancia del 100% o 0 de absorbancia y seguido de este, cada una de las muestras de los tubos de ensayo con el fin de que se lea y se registre el valor de absorbancia formando una gráfica de calibración.

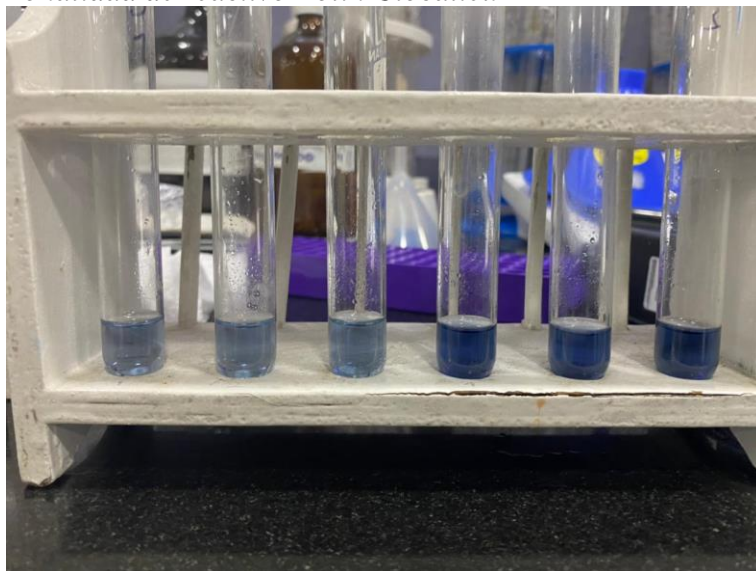
Teniendo la curva de calibración, se procede a realizar las soluciones respectivas con los polifenoles extraídos anteriormente. De igual manera se utilizan tubos de ensayo, esta vez son 18

pruebas, considerando los tres tipos de malta, las tres concentraciones, sus respectivas replicas y con la réplica que se genera en este método se cuenta con un total de 36 pruebas.

Cada una de ellas se prepararon de la siguiente manera, 200 microlitros de los polifenoles, 200 microlitros del reactivo Folin y 1600 microlitros del carbonato de sodio al 5%, de igual manera que en la curva de calibración, se llevan a un baño termostato a la misma temperatura y tiempo. Pasado el tiempo cada solución presenta la siguiente tonalidad como se evidencia en la figura 20.

Figura 20.

Tonalidad de reactivo Folin Ciocalteu



Nota. La figura muestra la tonalidad del reactivo Folin con respecto a la extracción.

Se procede del mismo modo como en la curva de calibración, donde se mide la absorbancia de cada una, con el espectrofotómetro a una longitud de onda de 765nm registrando cada valor hasta formar una curva de absorción, la cual tiene una tendencia igual a la curva de calibración.

2.3.2. DPPH

La capacidad antioxidante se determinó bajo el método DPPH descrito por Nariya, P. B., Bhalodia [54], donde inicialmente, se prepara una solución del DPPH en un balón de 10ml, con 2 mg de este y se afora con metanol, siendo este un radical libre, se tiene que mantener en oscuridad y posiblemente refrigerado, para esto lo embazamos en un frasco de ámbar (Figura 21) y se deja en un cuarto oscuro mientras se preparan las otras soluciones.

Figura 21.

Reactivo DPPH



Nota. La figura representa el resultado de la preparación del DPPH.

Se prepara una solución stock de ácido ascórbico, disolviendo 25mg del ácido, en 100ml de metanol, luego se prepararon diluciones de concentraciones 10, 15, 25, 50 y 60 mg/L con el fin de realizar la curva de calibración.

Se colocan 18 tubos de ensayos para cada uno de los extractos mencionados anteriormente, para medir la cuantificación a cada solución descrita se le realizará un triplicado para la curva de calibración y un duplicado para el análisis de los extractos, agregando 600 microlitro de DPPH y 200 microlitros de cada solución dependiendo a su concentración. Estos se recubren en aluminio para que no se pierda el radical, y se colocan en un agitador de laboratorio lineal (Shaker) a una temperatura de 22,9 °C y a 135 RPM/Time por 30min (Figura 22). Luego, cada muestra se pasa

por el espectrofotómetro con una longitud de onda de 517nm, teniendo como blanco el metanol y para la absorbancia inicial se toma solo el DPPH, seguido de cada muestra previamente preparada.

Figura 22.

Agitador de laboratorio lineal (Shaker).



Nota. La figura muestra el proceso de agitación por medio de un Shaker, el cual muestra las condiciones a las que funciona.

Ahora, se procede a realizar lo mismo, pero con cada muestra de BGS y su respectiva réplica, obteniendo así 36 muestras las que son preparadas con 200 microlitros de la extracción que contiene los antioxidantes y 600 microlitros de DPPH. Cabe resaltar que al momento de preparar cada uno de estos ensayos, lo realizamos con las luces del laboratorio apagadas, para evitar que se pierda el radical, de igual manera cada uno de ellos se recubre en aluminio (figura 23) y se manda a las mismas condiciones del Agitador de laboratorio lineal (Shaker) vistas anteriormente.

Figura 23.

Muestras de ensayo para DPPH



Nota. La figura muestra el proceso de agitación por medio de un Shaker, el cual muestra las condiciones a las que funciona.

Así mismo, en esta determinación el blanco será el metanol, una absorbancia inicial del DPPH y seguido el registro de cada una de las pruebas, donde se obtendrá una gráfica con tendencia a la curva de calibración previamente descrita.

Figura 24.

Espectrofotómetro



Nota. La figura muestra el espectrofotómetro midiendo la cantidad de intensidad de luz absorbida después de pasar a través de cada muestra.

2.4. Diseño de experimentos ANOVA.

Es la metodología experimental que permitir evaluar el efecto individual que tiene cada variable así mismo su interacción, es decir que, el diseño va a evaluar si la interacción entre cada una de las cuantificaciones tiene algún efecto con las concentraciones y los tipos de BGS.

Para este diseño, nos basamos en el libro Diseño y análisis de experimentos, Montgomery [55]. Donde se considera que cada ensayo o replica completa del experimento se investigan todas las combinaciones posibles entre los factores. Así mismo, se comprende que este es el método para abordar la experimentación descrita anteriormente.

Teniendo en cuenta lo descrito por Montgomery, para la ejecución de la tabla del ANOVA, se tiene como referencia la tabla 4 y cálculos, así mismo se considera que la hipótesis nula (H_0) indica que las medidas de la población son todas iguales y la hipótesis alternativa unidireccional (H_A) indica que alguno es diferente a los demás.

Tabla 4.

Tabla análisis de varianza (ANOVA)

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Cuadrado medio esperado	F_0
<i>A</i>	SS_A	$a - 1$	MS_A	$\sigma^2 + \frac{bcn \sum \tau_i^2}{a - 1}$	$F_0 = \frac{MS_A}{MS_E}$
<i>B</i>	SS_B	$b - 1$	MS_B	$\sigma^2 + \frac{acn \sum \beta_j^2}{b - 1}$	$F_0 = \frac{MS_B}{MS_E}$
<i>C</i>	SS_C	$c - 1$	MS_C	$\sigma^2 + \frac{abn \sum \gamma_k^2}{c - 1}$	$F_0 = \frac{MS_C}{MS_E}$
<i>AB</i>	SS_{AB}	$(a - 1)(b - 1)$	MS_{AB}	$\sigma^2 + \frac{cn \sum \sum (\tau\beta)_k^2}{(a - 1)(b - 1)}$	$F_0 = \frac{MS_{AB}}{MS_E}$
<i>AC</i>	SS_{AC}	$(a - 1)(c - 1)$	MS_{AC}	$\sigma^2 + \frac{bn \sum \sum (\tau\gamma)_k^2}{(a - 1)(c - 1)}$	$F_0 = \frac{MS_{AC}}{MS_E}$
<i>BC</i>	SS_{BC}	$(b - 1)(c - 1)$	MS_{BC}	$\sigma^2 + \frac{an \sum \sum (\beta\gamma)_k^2}{(b - 1)(c - 1)}$	$F_0 = \frac{MS_{BC}}{MS_E}$
<i>ABC</i>	SS_{ABC}	$(a - 1)(b - 1)(c - 1)$	MS_{ABC}	$\sigma^2 + \frac{n \sum \sum \sum (\tau\beta\gamma)_{k\ell}^2}{(a - 1)(b - 1)(c - 1)}$	$F_0 = \frac{MS_{ABC}}{MS_E}$
Error	SS_E	$abc(n - 1)$	MS_E	σ^2	
Total	SS_T	$abcn - 1$			

Nota. La tabla presenta las fórmulas para llevar a cabo con cada uno de los factores. Tomado de: Montgomery, D. C. (2010). Diseño y análisis de experimentos/por Douglas C. Montgomery (No. 519.92 M6y 2004.). Limusa Wiley. México. MX.

Con ayuda de la herramienta Excel, se procede a realizar cada uno de los cálculos y las tablas correspondientes al diseño. Donde se organizan los resultados de cada cuantificación (Folin y DPPH), considerando las concentraciones del solvente (40, 60, 80% de etanol), cada una de las maltas (Trigo, Munich, Pilsen) y su réplica; a cada uno de estos factores mencionados anteriormente, tienen una asignación alfabética para un mayor entendimiento y practicidad, como se muestra en la tabla 5

Tabla 5.
Identificación de los diferentes factores

Factor		Asignación
Cuantificación	Folin	A ₁
	DPPH	A ₂
Concentración de solvente	[40%]	B ₁
	[60%]	B ₂
	[80%]	B ₃
Maltas	Trigo	C ₁
	Munich	C ₂
	Pilsen	C ₃
Numero de replicas		n
Total de datos		N

Nota. Esta tabla muestra el factor con la asignación alfabética y el numero respectivo de cada factor.

Considerando que cada una de las cuantificaciones tiene un fin diferente, se analizan por separado generando un ANOVA para cada cuantificación, con los resultados y su réplica respectiva.

El diseño se lleva a cabo contemplando los resultados obtenidos en cada una de las cuantificaciones, se organiza la información, teniendo en cuenta de igual manera la tabla 5.

Tabla 6.

Resultados obtenidos considerando los factores en la cuantificación Folin Cioucateu

	A₁		
	B₁	B₂	B₃
C₁	6,88	7,87	5,61
	6,76	7,5	5,67
C₂	5,88	6,53	5,36
	5,76	6,55	5,32
C₃	6,3	7,2	5,42
	6,54	7,19	5,37

Nota. La tabla evidencia cada uno de los resultados experimentales que se obtuvieron en la cuantificación Folin Cioucateu, teniendo en cuenta sus factores.

Tabla 7.

Resultados obtenidos considerando los factores en la cuantificación DPPH

	A₂		
	B₁	B₂	B₃
C₁	0,67	0,85	0,71
	0,73	0,85	0,7
C₂	0,67	0,75	0,65
	0,66	0,73	0,73
C₃	0,78	0,8	0,73
	0,79	0,79	0,74

Nota. La tabla evidencia cada uno de los resultados experimentales que se obtuvieron en la cuantificación DPPH, teniendo en cuenta sus factores.

Para llegar a la tabla de resultados del ANOVA, se ejecuta con la ayuda de la herramienta Excel, utilizando la función análisis de datos, la cual nos brinda varias opciones de análisis con el fin de seleccionar uno acorde con los datos presentados, para ello se elige "Análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo", donde:

- Se selecciona el rango de entrada que indica los dos factores a evaluar y los resultados obtenidos
- Se denota el número de fila por muestra, en este caso, se refiere al número de réplicas que se tienen (dos)
- Por último, se selecciona el rango de salida, donde Excel me arrojará los resultados

Este proceso, se le realiza a la tabla 6 y tabla 7. Con el fin de evaluar la variabilidad de los resultados con los dos factores que se tienen, la concentración y las diferentes maltas

3. RESULTADOS

3.1. Curvas de secado

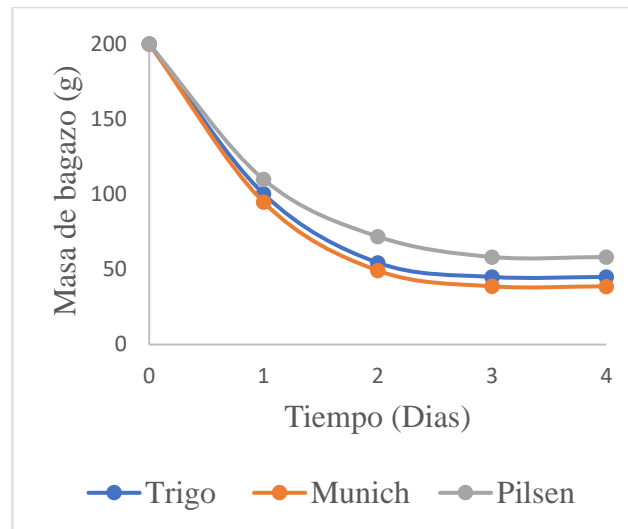
3.1.1. Curva de Masa de producto vs Tiempo

Como se mencionó en la metodología, la operación de secado se realizó en hornos durante cuatro días a 60°C con 200 g de peso inicial de cada bagazo, Después de pesar las muestras cada día, se elaboró la gráfica de peso vs tiempo con el objetivo de describir el proceso de pérdida de humedad como se evidencia en la figura 25. La masa del bagazo fue decreciendo gradualmente, en el primer día se reduce gran parte de masa es decir se extrae la mayor cantidad de agua en estas horas donde su peso redujo un 50% del peso inicial.

La figura 25 demuestra que a partir del tercer día la muestra no muestra cambios significativos de peso hasta alcanzar un peso constante para cada una de las maltas con una diferencia no mayor a 0.1 g.

Figura 25.

Grafica Masa de bagazo vs Tiempo.



Nota. La grafica muestra la reducción de la masa del bagazo a medida que pasa el tiempo de secado.

Tabla 8.

Peso de los bagazos de cerveza durante los días de secado

Tiempo (días)	Peso (g)		
	Trigo	Munich	Pilsen
0	200,03	200,07	200,06
1	100,44	94,88	110,01
2	54,53	49,30	71,93
3	45,03	38,79	58,32
4	45,02	38,78	58,31

Nota. Esta tabla muestra los pesos de las maltas en cada uno de los días pesados.

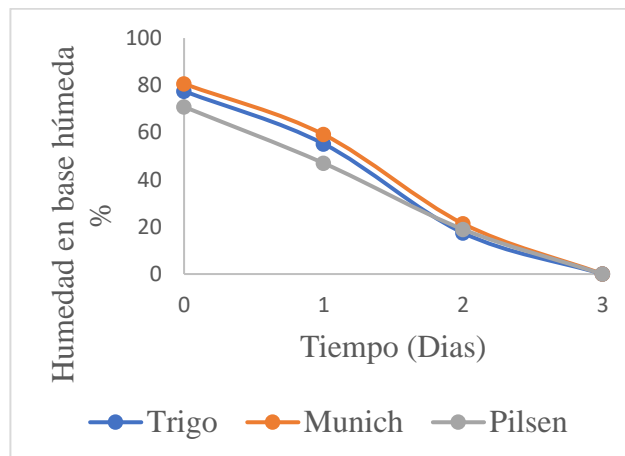
En la tabla 8 se refleja los pesos de los bagazos a lo largo de los 4 días de secado, por parte de la malta Munich se demuestra el mejor rendimiento ya que es el menor peso al final del secado para las 3 muestras.

3.1.2. Curva de Humedad en base húmeda vs Tiempo

Al calcular la humedad, es posible observar en la figura 26 la cantidad de gramos de agua que se eliminan por gramo del material húmedo en función del tiempo, mantiene una velocidad de pérdida de peso en los primeros minutos del procedimiento, al llegar al segundo día la disminuye hasta llegar a la humedad deseada para no ser degradada fácilmente.

Figura 26.

Grafica Humedad en base humedad vs Tiempo



Nota. La grafica muestra la reducción de la masa del bagazo a medida que pasa el tiempo de secado.

3.1.2.a. Humedad. El método para determinar la cantidad de agua presente en un material se basa en la pérdida de peso por el calentamiento esta es expresada en porcentaje y se calcula de la siguiente manera basadas en la metodología de la normativa AOAC respectivamente.

$$\%humedad = \frac{Peso_i - Peso_f}{Peso_i} \quad [Ec 4]$$

Donde $Peso_i$ significa peso inicial de la muestra y $Peso_f$ significa peso final después del secado, para así calcular el porcentaje de humedad del material.

El peso inicial para calcular el porcentaje de humedad de cada una de las maltas se observa en la tabla 8 como el peso en el día cero y el peso final es el peso medido al final del cuarto día. Que tendría como resultado los valores mostrados en la tabla 9

Tabla 9.
Humedad de los tres tipos de maltas

	Trigo	Munich	Pilsen
Humedad	77,49%	80,62%	70,85%

Nota. En esta tabla se ven reflejadas la humedad de cada una de las maltas analizadas.

La humedad determinada para las muestras analizadas se encuentra en el rango reportado por investigaciones de Leiva [74] donde su composición presenta cierta variabilidad que depende de la materia prima y su procesamiento, se destaca por su elevado contenido de agua (entre el 70 y el 80%)

3.2. Molienda

Considerando que la molienda es un proceso que genera pérdidas antes y después de este, como se observa en la tabla 10. Donde por cada malta de Trigo, Munich y Pilsen se realiza el siguiente registro.

Tabla 10.
Peso de cada malta

	Trigo	Munich	Pilsen
Antes	45,02 g	38,78 g	58,31 g
Despues	40,52 g	34,90 g	52,48 g

Nota. La tabla presenta los resultados obtenidos, según el peso del BSG, antes y después de la molienda.

Teniendo en cuenta las ecuaciones 2 y 3 de la fracción en cada tamiz y el diámetro en el tamiz respectivamente, así mismo, contemplando los resultados de la Tabla 10, se llega a los siguientes resultados.

Tabla 11.
Resultados de la malta Trigo para el proceso del tamiz

Malla (ASTM E11)	Abertura de orificio (mm)	Masa retenida (g)	Fracción másica retenida, Xi	Diámetro Promedio por Tamiz, Dpi
18	1,00	3,15	0,08	1,09
20	0,85	9,23	0,24	0,93
25	0,71	18,21	0,47	0,78
35	0,50	4,12	0,11	0,61
60	0,25	2,53	0,07	0,38
Fondos	-	1,31	0,03	
Total		38,55		

Nota. La tabla representa los valores que se obtienen según las ecuaciones 2 y 3, de igual manera se considera cada malla.

Tabla 12.
Resultados de la malta Munich para el proceso del tamiz

Malla (ASTM E11)	Abertura de orificio (mm)	Masa retenida (g)	Fracción másica retenida, Xi	Diámetro Promedio por Tamiz, Dpi
18	1,00	1,22	0,04	1,09
20	0,85	5,84	0,18	0,93
25	0,71	18,42	0,55	0,78
35	0,50	5,31	0,16	0,61
60	0,25	1,37	0,04	0,38
Fondos	-	1,07	0,03	
Total		33,23		

Nota. La tabla representa los valores que se obtienen según las ecuaciones 2 y 3, de igual manera se considera cada malla.

Tabla 13.*Resultados de la malta Pilsen para el proceso del tamiz*

Malla (ASTM E11)	Abertura de orificio (mm)	Masa retenida (g)	Fracción másica retenida, Xi	Diámetro Promedio por Tamiz, Dpi
18	1,00	2,43	0,05	1,09
20	0,85	20,14	0,40	0,93
25	0,71	18,34	0,37	0,78
35	0,50	4,82	0,10	0,61
60	0,25	2,71	0,05	0,38
Fondos	-	1,51	0,03	
Total		49,95		

Nota. La tabla representa los valores que se obtienen según las ecuaciones 2 y 3, de igual manera se considera cada malla.

Para el cálculo del porcentaje de masa retenida, se considera una masa total de 38,55 g, 33,23 g y 49,95 g respectivamente para cada malta, el cual son los resultados de la sumatoria de las masas retenidas medidas en cada tamiz; Las pérdidas de material durante el tamizado fueron mínimas conociendo los pesos iniciales antes de ser tamizados.

El diámetro promedio por tamiz elegido es el de 0,78 mm ya que es el diámetro que más cerca está a nuestro diámetro óptimo de 0,85 mm y además la cantidad de masa retenida es la mejor para cada una de nuestras extracciones posteriores.

3.3. Cuantificación

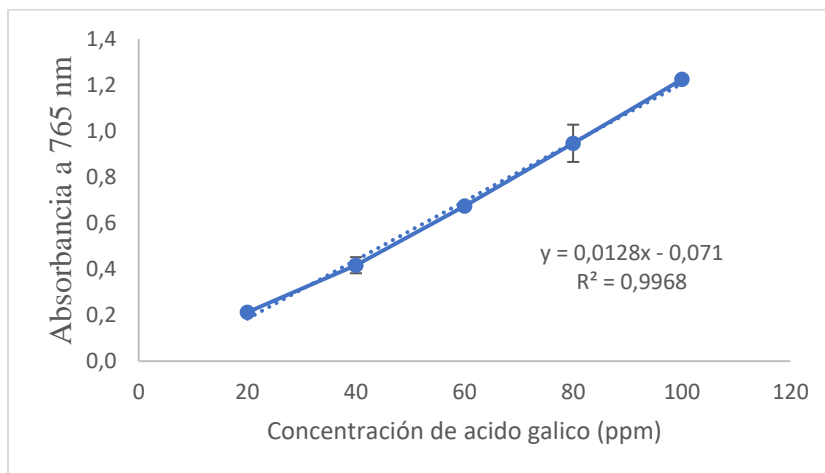
3.3.1. Folin Cioucalteu

3.3.1.a. Curva de calibración (ácido gálico). Para cuantificar los componentes activos, la curva de calibración se realiza con concentraciones de la solución madre de ácido gálico que se diluye en 20, 40, 60, 80 y 100 ppm como se describió en la metodología, donde se registran un rango de su absorbancia de 765 nm. Se genera una línea de tendencia lineal para obtener una ecuación del tipo $y = ax + b$, donde “y” corresponde a la absorbancia de la muestra y “x” como la concentración de polifenoles.

Cabe aclarar que el coeficiente de correlación R^2 muestra la capacidad del método para proporcionar proporciones directas de la concentración, también el intervalo entre los valores escalares más bajos y más altos, que se denomina rango de linealidad, se determinará con precisión y exactitud. Es por ello que el coeficiente de correlación debe ser igual o mayor que 0,98.

Figura 27.

Curva de calibración Folin Ciocalteu



Nota. La grafica muestra las absorbancias obtenidas a diferentes concentraciones de ácido gálico.

3.3.1.b. Determinación del contenido de Polifenoles totales en el extracto. Una vez se tenga la curva de calibración del ácido gálico, donde se grafica cada absorbancia con su respectiva concentración de ácido gálico, se realiza el análisis con los extractos de cerveza como se menciona en la metodología. Se procede a sustituir el valor de la absorbancia a las muestras de bagazo de cerveza, para ello el valor obtenido será la “y” y al despejar “x”, correspondería a la concentración equivalente de ácido gálico en los extractos etanoicos.

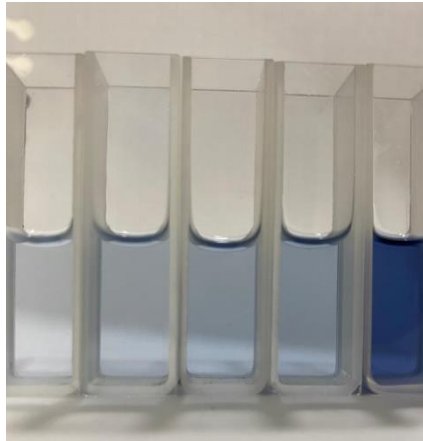
$$y = 0,0128x - 0,071 \text{ [Ec 5]}$$

$$\text{Contenido de polifenoles} = \frac{\text{absobancia} + 0,071}{0,0128} \text{ [Ec 6]}$$

Teniendo en cuenta, que para que este valor de la absorbancia pudiera estar dentro de la curva de calibración y ser leída por el espectrofotómetro, se tuvo que hacer una dilución de (1:5) para cada uno de los extractos y se llevaron a sus respectivas diluciones. Los datos que se presentan a continuación en la tabla 14 son generados por un promedio de absorbancias, ya que cada experimento se tomó por duplicado a una longitud de onda de 750 nm.

Figura 28.

Resultado del Reactivo Folin Ciocalteu



Nota. La figura muestra la tonalidad de colores que tiene el reactivo Folin Ciocalteu en diferentes muestras.

Tabla 14.

Absorbancias de los bagazos de cerveza para análisis Folin Ciocalteu

Disolvente	Absorbancia (nm)		
	Trigo	Munich	Pilsen
Etanol 80%	1,403	1,324	1,342
Etanol 60%	0,941	0,794	0,877
Etanol 40%	0,539	0,454	0,494

Nota. La tabla muestra las absorbancias obtenidas de cada BGS a 765 nm.

Con estos valores obtenidos de absorbancias y utilizando la ecuación 6 se calcula el contenido de polifenoles totales, este resultado se debe multiplicar por el factor de dilución usado anteriormente, este contenido esta expresado en mg de ácido gálico en el extracto etanólico por litros como se evidencia en la tabla 15.

Tabla 15.*Contenido de polifenoles totales en mgGAE/L*

Disolvente	Contenido de polifenoles totales (mgGAE/L)		
	Trigo	Munich	Pilsen
Etanol 80%	564,492	533,965	539,414
Etanol 60%	384,199	326,953	359,707
Etanol 40%	227,344	193,945	214,160

Nota. La tabla muestra el contenido de polifenoles por disolvente en mg GAE/L.

Para poder comparar los resultados calculados anteriormente es necesario hacer la conversión del contenido de polifenoles totales de mg GAE/L a mg GAE/g, es necesario conocer el volumen de extracto que se obtiene después de cada destilación al retirar la mayor cantidad de solvente para poder cancelar los litros, y al saber que usamos 3 g de bagazo por cada extracción se puede obtener la conversión, que expresaría los mg de ácido gálico en cada gramo de bagazo de cerveza seco utilizado en la extracción soxhlet.

Este procedimiento de conversión se utiliza para normalizar los datos obtenidos de cada extracto de malta, así es posible comprarlos desde una estadística inferencial donde buscamos deducir, analizar y sacar conclusiones acerca de los resultados obtenidos. Todos los datos para tener los resultados del contenido de polifenoles totales se ven reflejados en el Anexo 2. En este anexo se ve la cantidad de los datos reportados, se evidencia en la tabla 16 las desviaciones estándar de cada uno de los resultados obtenidos.

Tabla 16.*Contenido de polifenoles totales en mgGAE/g*

Disolvente	Contenido de polifenoles totales (mgGAE/g)		
	Trigo	Munich	Pilsen
Etanol 80%	5,645±0,077	5,339±0,149	5,394±0,048
Etanol 60%	7,683±0,410	6,539±0,080	7,194±0,035
Etanol 40%	6,820±0,152	5,818±0,228	6,424±0,274

Nota. La tabla muestra el contenido de polifenoles por disolvente en mgGAE/g.

En la tabla 16 y la gráfica 4 se resumen los valores medios de concentración de compuestos fenólicos presentes en el extracto fenólico de BGS y sus correspondientes desviaciones estándar. La concentración de polifenoles totales, se expresa en términos de miligramos de ácido gálico por gramo de extracto seco. Los mayores valores han sido obtenidos con la concentración de 60% de

etanol, la malta de Trigo obtuvo los mejores resultados en todos los solventes con una concentración máxima de 7,683 mg GAE/ g BSG por otro lado malta Munich tiene los valores más bajos en todos los análisis.

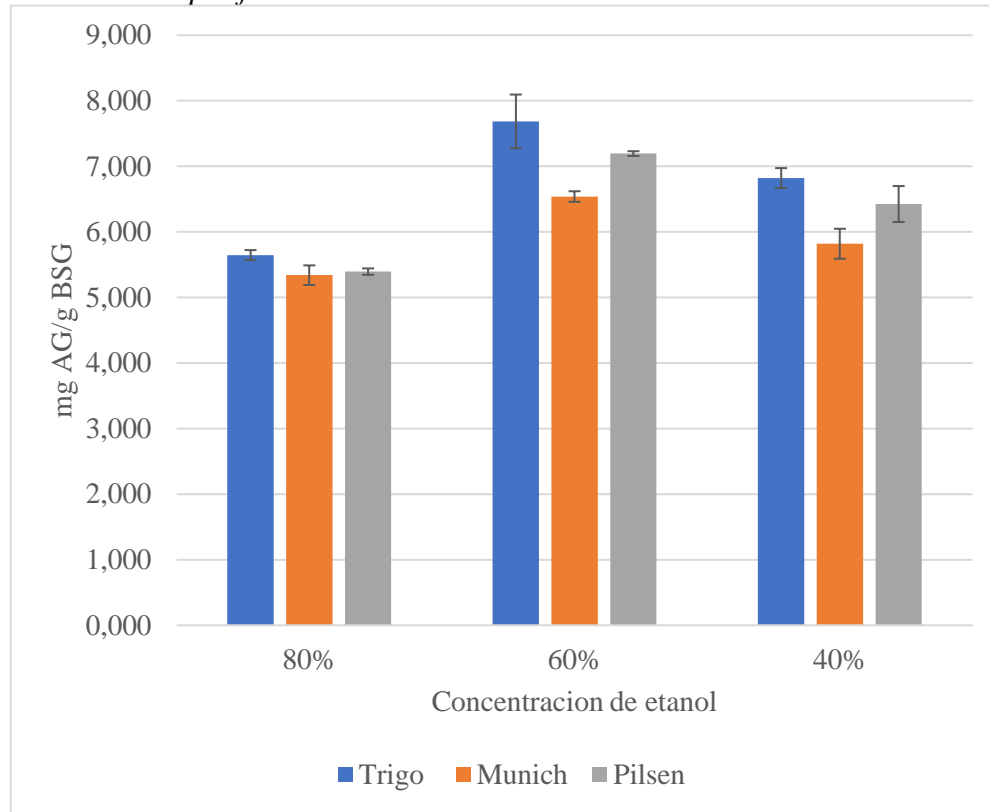
Los resultados correspondientes a la tabla 16 cuantificación de compuestos fenólicos expresados en mg GAE/g, permiten observar que la concentración que tiene mayor proporción de etanol (80%), fue el solvente que presento proporciones más bajas en cuanto a compuestos fenólicos, seguido a la concentración que presenta mayor cantidad de agua (40%); el solvente que mejores resultados presento fue la mezcla de etanol con agua al (60%), para la extracción. Este comportamiento se puede explicar considerando que, en la extracción de los fenoles a partir de material vegetal, el tipo de solvente empleado determina el tipo de compuestos a extraer, la capacidad de extracción de compuestos fenólicos es mayor dependiendo a la polaridad el disolvente.

Estos valores de contenido de polifenoles totales en este trabajo han sido comparados a los resultados relatados por diferentes autores. Como Meneses [56] que reporta en su estudio realizado en Braga, Portugal. Con diferentes solventes entre ellos los tres que se han propuesto en este análisis, los comportamientos de las maltas se comportan de maneras similares al ver que en su estudio la concentración de etanol agua con mayor cantidad de polifenoles también es del 60% con 7,13 mg GAE/ g BSG y la cantidad más baja entre estos tres solventes fue la 80% según lo reporta en su trabajo.

Por otra parte, Zuorro [57] analiza diferentes tipos de solventes obteniendo como la máxima cantidad 4.126 mg GAE/ g BSG, pero deja en claro que la mejor dilución para la extracción de polifenoles es del 60% tanto en agua como en acetona.

Figura 29.

Contenido de polifenoles totales



Nota. La grafica demuestra un diagrama de barras el contenido de polifenoles totales, teniendo en cuenta las concentraciones y los diferentes BSG

3.3.2. DPPH

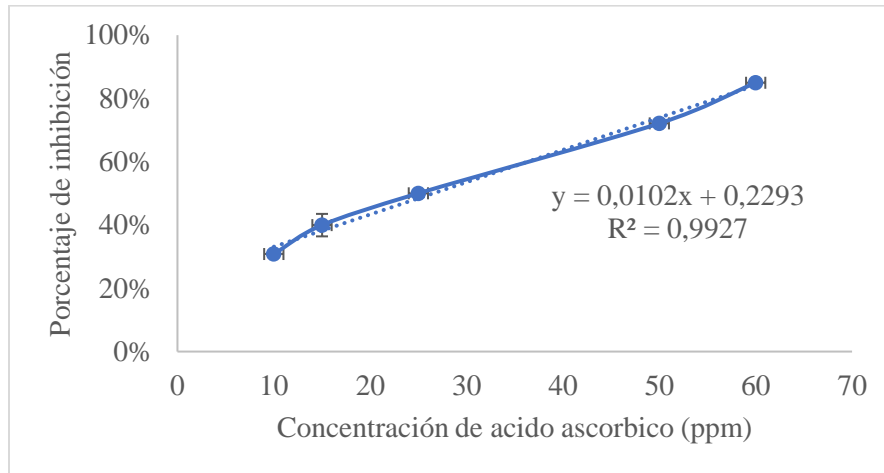
3.3.2.a. Curva de calibración DPPH. Partiendo de los datos obtenidos del porcentaje de captación del radical DPPH causado por el ácido ascórbico, se construyó una curva de referencia como se observa en la gráfica #, que permite verificar la dependencia lineal del porcentaje de captación del radical Vs la concentración del ácido ascórbico obteniéndose un R^2 de 0,993.

Para poder obtener el porcentaje de captación se calcula con la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de inhibicion} = \frac{\text{Absorbancia}_{\text{inicial}} - \text{Absorbancia}_{\text{final}}}{\text{Absorbancia}_{\text{inicial}}} * 100 \quad [\text{Ec } 7]$$

Figura 30.

Curva de calibración DPPH

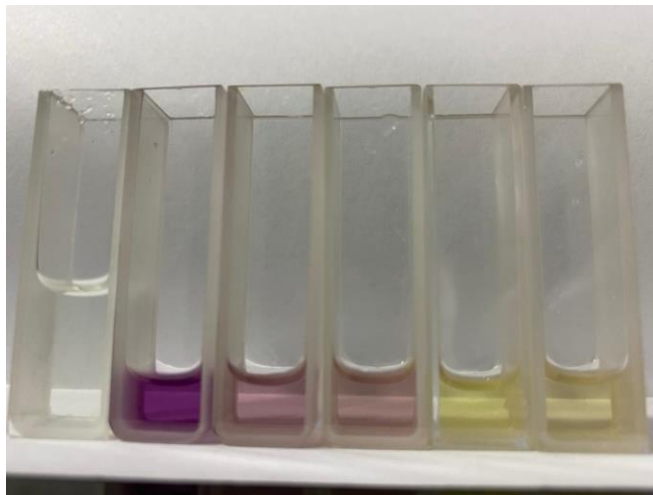


Nota. La grafica muestra el porcentaje de inhibición del radica DPPH por parte de la concentración de ácido ascórbico.

El porcentaje de captación representa la pérdida del color purpura a amarillo del radical DPPH, cuando se agrega un compuesto antioxidante, disminuye así la absorbancia de la solución, que es medida a 517 nm.

Figura 31.

Resultados reactivos DPPH



Nota. La figura muestra los resultados del DPPH en diferentes muestras

Tabla 17.*Absorbancias finales por disolvente y malta*

Disolvente	Absorbancia (nm)		
	Trigo	Munich	Pilsen
Etanol 80%	0,243	0,257	0,222
Etanol 60%	0,125	0,212	0,166
Etanol 40%	0,245	0,270	0,180

Nota. La tabla muestra las absorbancias finales al agregar los extractos fenólicos al DPPH.

En la tabla 17 se evidencian las absorbancias finales de cada una de las muestras de malta para poder obtener el porcentaje de captación del radical DPPH, la absorbancia inicial es la solución de 2 mg de DPPH con 10 ml de metanol tomada de la curva de calibración con un valor de 0,832 nm. Con la ecuación 7 se calcula el porcentaje de inhibición teniendo como resultados la tabla 18

Tabla 18.*Porcentaje de inhibición*

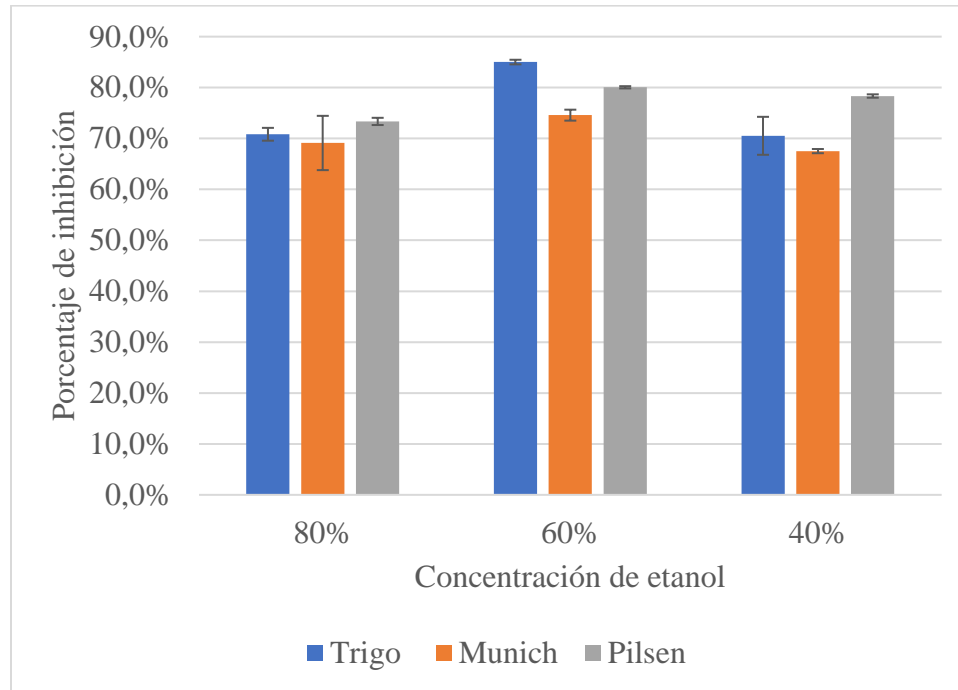
Disolvente	Porcentaje de inhibición %		
	Trigo	Munich	Pilsen
Etanol 80%	70,823% $\pm 0,152$	69,111% $\pm 0,152$	73,348% $\pm 0,152$
Etanol 60%	85,006% $\pm 0,152$	74,579% $\pm 0,152$	80,048% $\pm 0,152$
Etanol 40%	70,523% $\pm 0,152$	67,518% $\pm 0,152$	78,335% $\pm 0,152$

Nota. La tabla muestra los porcentajes de inhibición teniendo en cuenta el disolvente y tipo de malta.

La capacidad antioxidante es normalizada como el porcentaje de inhibición obtenidos de cada extracto de malta, así es posible compararlos desde una estadística inferencial donde buscamos deducir, analizar y sacar conclusiones acerca de los resultados obtenidos. Todos los datos para tener los resultados del contenido de polifenoles totales se ven reflejados en el Anexo 3. En estos anexos se ve la cantidad de los datos reportados, se evidencia en la tabla 18 las desviaciones estándar de cada uno de los resultados obtenidos.

Figura 32.

Porcentaje de inhibición



Nota. La grafica muestra mediante un diagrama de barras, el porcentaje de inhibición teniendo en cuenta las concentraciones y el tipo de malta

Al analizar porcentaje de inhibición del radical DPPH como se ve reflejado en la tabla 18 y la gráfica 6 se obtienen resultados óptimos al observar que los están por encima de 67% hasta llegar a un 85% esto se debe a la relación del radical y los compuestos antioxidantes extraídos de la cerveza. Kang [71] aclara que la actividad antioxidante depende la polaridad del solvente y que los solventes polares son los que presentaron la mayor actividad antioxidante, al utilizar diluciones de etanol agua se favorece este análisis.

Al comparar los resultados encontramos que López [73] en su estudio de bagazos de cerveza de trigo en Extremadura, España con una repetición de varios tratamientos logra obtener un porcentaje máximo de de inhibición del 86,26 %, un resultado semejante al porcentaje de trigo con 60% de etanol como disolvente. Lizárraga [72] analiza este contenido desde la una sustitución de la cebada por amaranto logrando solo el 78,74 % de captación del radical

3.4.Métodos estadísticos

3.4.1. *Diseño Experimental ANOVA*

Considerando lo descrito en la metodología del diseño experimental, a continuación, se presentan las tablas 19 y 20 que contemplan los resultados obtenidos utilizando la herramienta Excel.

Tabla 19.

Resumen de cálculos presentado por Excel, cuantificación Folin Cioucateu

RESUMEN	B1	B2	B3	Total	
<i>C1</i>					
Cuenta		2,00	2,00	2,00	6,00
Suma		13,64	15,37	11,28	40,29
Promedio		6,82	7,69	5,64	6,72
Varianza		0,01	0,07	0,00	0,86
<i>C2</i>					
Cuenta		2,00	2,00	2,00	6,00
Suma		11,64	13,08	10,68	35,40
Promedio		5,82	6,54	5,34	5,90
Varianza		0,01	0,00	0,00	0,29
<i>C3</i>					
Cuenta		2,00	2,00	2,00	6,00
Suma		12,84	14,39	10,79	38,02
Promedio		6,42	7,20	5,40	6,34
Varianza		0,03	0,00	0,00	0,66
<i>Total</i>					
Cuenta		6,00	6,00	6,00	
Suma		38,12	42,84	32,75	
Promedio		6,35	7,14	5,46	
Varianza		0,21	0,28	0,02	

Nota. Esta tabla muestra la suma, promedios por fila y columna, al igual que la varianza.

Tabla 20.
Correlación de factores

RESUMEN	B1	B2	B3	Total
<i>C1</i>				
Cuenta	2,00	2,00	2,00	6,00
Suma	1,40	1,70	1,41	4,51
Promedio	0,70	0,85	0,71	0,75
Varianza	0,00	0,00	0,00	0,01
<i>C2</i>				
Cuenta	2,00	2,00	2,00	6,00
Suma	1,33	1,48	1,38	4,19
Promedio	0,67	0,74	0,69	0,70
Varianza	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>C3</i>				
Cuenta	2,00	2,00	2,00	6,00
Suma	1,57	1,59	1,47	4,63
Promedio	0,79	0,80	0,74	0,77
Varianza	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Total</i>				
Cuenta	6,00	6,00	6,00	
Suma	4,30	4,77	4,26	
Promedio	0,72	0,80	0,71	
Varianza	0,00	0,00	0,00	

Nota. Esta tabla muestra la suma, promedios por fila y columna, al igual que la varianza.

La tabla 19 y 20 es el resumen de cálculos que arroja Excel, donde se puede observar los valores individuales al número de datos que corresponden a la fila o columna, la cuenta, la suma, el promedio y la varianza. Este con el fin de llegar a la tabla de resultado ANOVA.

Tabla 21.
Análisis de varianza Folin Cioucateu

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Muestra	1.996077778	2	0.998038889	77.6012959	2.11291E-06	4.256494729
Columnas	8.495744444	2	4.247872222	330.288121	3.78435E-09	4.256494729
Interacción	0.439388889	4	0.109847222	8.54103672	0.003937004	3.633088511
Dentro del grupo	0.11575	9	0.012861111			
Total	11.04696111	17				

Nota. La tabla evidencia los resultados del ANOVA para la cuantificación Folin Cioucateu

Teniendo en cuenta la tabla 21, se llega a las siguientes deducciones considerando a Montgomery [55]:

1. La F calculada de la primera variable, en este caso las concentraciones, es de 77,6 siendo un valor mayor que la representada en el F crítico con una estimación de 4,25. Al ser $F > F_{\text{critico}}$ si existe una diferencia significativa en la cuantificación de polifenoles entre cada una de las concentraciones.
2. Para los diferentes bagazos F y F crítico tienen un valor de 330,3 y 4,35 respectivamente, donde el F crítico es menor a F, considerando que para cada uno de los bagazos existe una diferencia significativa para la cuantificación.
3. La interacción presenta de igual manera, una diferencia significativa en la cuantificación del Folin Cioucateu cuando las dos variables son ejercidas.
4. Los análisis independientes de la probabilidad de cada una de las variables y la interacción, se encuentra por debajo de 0,05, dando certidumbre de la relación con más del 95% de veracidad

Tabla 22.

Análisis de varianza DPPH

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Muestra	0,017244444	2,00	0,00862222	14,2385	0,001629845	4,256494729
Columnas	0,026811111	2,00	0,01340556	22,1376	0,000334755	4,256494729
Interacción	0,012188889	4,00	0,00304722	5,0321	0,020819197	3,633088511
Dentro del grupo	0,005450000	9,00	0,00060556			
Total	0,061694444	17,00				

Nota. La tabla evidencia los resultados del ANOVA para la cuantificación DPPH

Para los valores de F, Montgomery [55], indica que si $F > F_{\text{critico}}$ se rechaza la hipótesis nula, lo que representa que existen diferencias significativamente estadísticas entre las variables, donde al menos uno de estos valores es diferente. Para comprobar esto, observamos el valor de la probabilidad o también llamado valor P, el cual me determina si cualquiera de las diferencias entre las medias es estadísticamente significativa, comparando este valor con un nivel de significancia de 0,05 que indica el riesgo. Si el valor de P es menor que o igual a ese nivel de significancia, se rechaza la hipótesis nula por lo que se concluye de igual manera que no todas las medias son iguales.

Relacionando lo mencionado anteriormente con los resultados en la tabla 19, las concentraciones, las diferentes maltas y la interacción entre ellas, generar una diferencia significativa para la determinación de la actividad antioxidantes.

Considerando la tabla 21 y 22, se realiza una breve explicación del significado de cada uno de los resultados.

3.4.1.a. Suma de cuadrados. Representa una medida de variación o desviación con respecto a la media. Se calcula con la suma de los cuadrados de diferencias con respecto a la media. El cálculo de la suma total de los cuadrados considera tanto la suma de los cuadrados de los factores como la de aleatoriedad. [47]

3.4.1.b. Grados de libertad. Es la cantidad que se suministra de información por los datos que se puede "gastar" para llegar a estimar los valores de parámetros desconocidos y calcular la variabilidad de esas estimaciones. El valor se determina según el número de observaciones de la muestra y el número de parámetros del modelo. [47]

3.4.1.c. Cuadrados medios. Representan la estimación de la varianza. [47] Se calcula dividiendo la suma correspondiente a los cuadrados entre los grados de libertad.

3.4.1.d. Valor F y F crítico. Es la estadística de prueba usada para determinar si el termino este asociado con la respuesta. [47] Para el valor de F_0 , se calcula teniendo en cuenta el valor del factor sobre el error de los cuadrados medios. El F crítico, es un valor que se encuentra en tablas.

3.4.1.e. Valor P o Probabilidad. Es una probabilidad que mide la evidencia en contra de la hipótesis nula. Las posibilidades más bajas proporcionan una evidencia más fuerte en contra de la hipótesis nula. [47]

3.4.2. Correlación de Pearson

Por medio de la correlación de Pearson se determinó si existe relación entre la actividad antioxidante y los componentes fenólicos del bagazo de cerveza, es por ello que se dividen la correlación en tipos de solventes como se evidencia en el Anexo 4 los datos seleccionados para la correlación, obteniendo los siguientes resultados evidenciados en la tabla 15.

Tabla 23.
Correlación de Pearson

Disolvente		<i>FOLIN</i>	<i>DPPH</i>
Etanol	FOLIN	1	-0,005067
80%	DPPH	-0,005067	1
Etanol	FOLIN	1	0,999529
60%	DPPH	0,999529	1
Etanol	FOLIN	1	0,3710656
40%	DPPH	0,3710656	1

Nota. La tabla presenta los valores de la correlación de Pearson, considerando los disolventes y el tipo de cuantificación

En el disolvente de Etanol 80% el coeficiente de Pearson es casi igual a 0 ($R=-0,005067$) lo que indica que estas dos variables son independientes, no existe una relación entre la actividad antioxidante y el contenido de polifenoles totales.

Por otro lado, al comparar estos análisis en el disolvente de Etanol 80% estos resultados establecen una correlación positiva perfecta ya que este coeficiente es aproximadamente 1 ($R=-0,999529$). El índice indica una dependencia total entre las dos variables, es decir que al tener una gran cantidad de fenoles totales también va a aumentar la capacidad antioxidante

Por último, el coeficiente del Etanol 80% es ($R=0,3710656$) este indica que es una correlación positiva, en este caso las variables estarían asociadas en sentido directo, pero de carácter bajo.

Al analizar los anteriores resultados se puede evidenciar que los datos son diferentes en cada uno de los disolventes, al comparar los resultados, Meneses (2013) reporta una correlación muy baja y débil entre estos dos parámetros en bagazo de cerveza con un ($R=0,20$) y por otra parte López [73] evidencia una correlación de ($R=0,434$) demostrando en su estudio que las variables no están significativamente relacionadas.

En este sentido, la actividad antioxidante de un extracto fenólico no puede relacionarse únicamente con su contenido de polifenoles totales, esto es debido a que no se sabe de manera específica cual es la estructura química que posee mayor actividad, ya que en el momento de su extracción se extrae de manera general.

4. CONCLUSIONES

Se evalúa el potencial del bagazo de cerveza artesanal Master Beer donde se evidencia que es una importante fuente de antioxidantes naturales puesto que el porcentaje de inhibición del radical DPPH supera el 67 % y el contenido de polifenoles totales es mayor al 5,339 mg GAE/g. La obtención de su extracto es viable y proporciona un valor añadido a lo que actualmente es el aprovechamiento de residuo agroindustrial. Este compuesto fenólico se puede aplicar en forma de extracto o liofilizado en la industria alimentaria, se ha abierto un amplio camino en la profundización de los procesos de aplicación.

Se llevo a cabo cada una de las extracciones por medio de la extracción sólido-líquido con diluciones de etanol (80%,60%,40%) con agua destilada utilizando el método Soxhlet, con los diferentes BGS (Trigo, Munich y Pilsen). Haciendo dos replicas en cada interacción de malta disolvente teniendo como resultado 18 extractos fenólicos.

Al analizar el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante por el método Folin-ciocalteau y DPPH, se concluye que la mejor relación es la malta de trigo con un disolvente de 60% etanol, ya que los miligramos obtenidos de ácido gálico en cada gramo de bagazo de cerveza son de 7,683 mg GAE/ g y el porcentaje de inhibición es del 85,006%, siendo este los resultados más altos en todas las pruebas cuantificadas.

Por medio de la correlación de Pearson la actividad antioxidante del BGS no puede relacionarse con su CFT esto es debido a que el coeficiente de correlación es diferente para cada uno de los disolventes analizados y de igual manera no se sabe de manera específica cual es la estructura química que posee mayor actividad, ya que en el momento de su extracción se extrae de manera general.

Con ayuda del análisis de varianza (ANOVA), donde se evaluó la importancia de cada uno de los factores al comparar las medias de la variable de respuesta en los diferentes factores, donde la hipótesis nula establece que todas las medias son iguales, de lo contrario, la hipótesis alternativa establece que la menos una es diferente. Teniendo en cuenta esto, nuestro el diseño experimental que se llevó a cabo, rechaza completamente la hipótesis nula, siendo muy acertada en este, ya que se compara el resultado con dos alternativas, donde las dos llegan al mismo objetivo que es indicar que existen diferencias significativamente estadísticas entre los factores evaluados.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Portafolio, “En cinco años se vendería 33,8% más en cerveza en Colombia”, 01, agosto, 2019, [En línea]. Disponible: <https://www.portafolio.co/negocios/en-cinco-anos-se-venderia-33-8-mas-en-cerveza-en-colombia-532179>. [Acceso: noviembre 11, 2021].
- [2] Vivas Negret, C. E., Cerveza artesanal black and molly, tesis pregrado. Facultad de artes y diseño, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Bogotá, Colombia, 2019. Disponible: <http://hdl.handle.net/20.500.12010/7560>
- [3] Torrente, S., Aprovechamiento de los subproductos generados en la industria cervecera. Facultad de farmacia, Universidad Complutense, Madrid, España, 2019.
- [4] Castillo Ramírez, M. A., Castro Cabrera, J. J., Gil Gómez, S. & Useche Caicedo, A. Diseño de un producto y proceso industrial aprovechando el bagazo de malta obtenido de la producción de cerveza artesanal. Pontificia Universidad Javeriana, Cali, Colombia. 2021.
- [5] Nieto Sanz, L., Obtención de compuestos antioxidantes a partir de bagazo de cerveza. 2019. Disponible: <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/38445>
- [6] Ordoñez Araque, R., Rodríguez Villacres J., Urresto Villegas, J., Narváez Aldáz, C., Compuestos Funcionales Presentes En La Cerveza y su Influencia En La Salud. Universidad Iberoamericana del Ecuador. Quito, Ecuador. 2019.
- [7] Arroyo Lluen, J., diseño de un proceso de producción de cerveza artesanal de maracuyá, Facultad de ingeniería, Universidad de Piura. Piura, Perú, 2019. Disponible: <https://hdl.handle.net/11042/4098>
- [8] Factoría de cerveza. (4 de diciembre de 2019). “La producción de cerveza artesanal a nivel mundial superó los 74 millones de Hl”, Madrid, España. [En línea]. Disponible: <https://factoriadecerveza.com/la-produccion-de-cerveza-artesanal-a-nivel-mundial-supero-los-74-millones-de-hl/> [Acceso: octubre 15, 2021].
- [9] Quevedo, S., “En promedio, el colombiano consume más de 50 litros de cerveza al año”, Bogotá, Colombia., 06, agosto, 2021 [En línea]. Disponible: <https://revistapym.com.co/consumidor/en-promedio-el-colombiano-consume-mas-e-50-litros-de-cerveza-al-ano> [Acceso: octubre 15, 2021]

- [10] Cortés Triana, H. Estudio descriptivo de los factores determinantes para la permanencia de las micro cervecerías en el mercado de cerveza artesanal en Bogotá. Universidad EAN. Bogotá, Colombia, 2020. Disponible: <http://hdl.handle.net/10882/9916>
- [11] El Arksoussi Fakh, M. Z., Sotter Ricardo, A. M., & Quintero Nuñez, J. D., Modelo de negocios para una micro cervecería artesanal. Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia:, 2021. Disponible: https://doi.org/10.48713/10336_31196
- [12] Ñañez Mouchard, I. J. M. El proceso de producción de cerveza artesanal y su mejoramiento mediante técnicas de recirculación de levaduras en la etapa de fermentación. Universidad de Ingeniería y Tecnología, Lima, Perú, 2020. Disponible: <https://hdl.handle.net/20.500.12815/139>
- [13] T. J. B. Club, “¿Cuáles son las diferencias entre la cerveza artesanal y la industrial?”, Bogotá, Colombia, 2020. [En línea]. Disponible: <https://tresjotasbeerclub.com/cerveza-artesanal-vs-industrial/> [Acceso: noviembre 7, 2021]
- [14] Montseny, “Las 7 Diferencias Entre La Cerveza Artesana y La Industrial”, Osona, Catalunya, España, 2016. [En línea] Disponible: <https://cervesamontseny.cat/en/las-7-diferencias-entre-la-cerveza-artesana-y-la-industrial/> [Acceso: noviembre 23, 2021]
- [15] El Universal, “¿Cuál es el atractivo de las cervezas artesanales?”, Cartagena, Colombia, 11, noviembre, 2021. [En línea] Disponible: <https://www.eluniversal.com.co/viernes/cual-es-el-atractivo-de-las-cervezas-artesanales-FY5706337> [Acceso: enero 10, 2022]
- [16] Ortega, P. “¿Qué son las Cervezas de ALTA FERMENTACIÓN?”, Madrid, España, 2021. [En línea] Disponible: <https://loopulo.com/conocer/cervezas-de-alta-fermentacion/> [Acceso: febrero 1, 2022]
- [17] Ferreyra, L., Elaboración de cerveza: Historia y evolución, desarrollo de actividades de capacitación e implementación de mejoras tecnológicas para productores artesanales. Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina, 2014. Disponible: <https://lipa.agro.unlp.edu.ar/wp-content/uploads/sites/29/2020/03/Trabajo-Final-Leonel-Ferreyra-.pdf>

- [18] Quiroz Rincón, F. y Useche Alarcón, C. A., Evaluación técnico financiera de la incorporación de citrus paradisi (pomelo) en una cerveza artesanal tipo sour ale para la empresa Slava. Facultad de ingeniería, Fundación Universidad de América, Bogotá, Colombia, 2021. Disponible: <https://hdl.handle.net/20.500.11839/8642>
- [19] Laboratorio de investigación en productos agroindustriales., Introducción a la elaboración de cerveza artesanal. Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina, 2021. Disponible: <https://lipa.agro.unlp.edu.ar/wp-content/uploads/sites/29/2020/03/GUIA-CERVEZA.pdf>
- [20] T. BEER, “¿De Qué Trata El Proceso De Maceración?”, Barcelona, España., 31, diciembre, 2018. [En línea] Disponible: <https://ildas.es/de-que-trata-el-proceso-de-maceracion/#:~:text=El%20proceso%20de%20maceraci%C3%B3n%20consiste,la%20calidad%20del%20producto%20final>. [Acceso: febrero 1, 2022]
- [21] Cervecistas, “El proceso de fabricación de la cerveza”, Madrid, España., 2022. [En línea] Disponible: <https://www.loscervecistas.es/el-proceso-de-fabricacion-de-la-cerveza/> [Acceso: febrero 1, 2022]
- [22] T. J. B. Club, “Enfriamiento del mosto”, Bogotá, Colombia, 2020. [En línea] Disponible: <https://tresjotasbeerclub.com/enfriamiento-del-mosto/> [Acceso: febrero 23, 2022]
- [23] El Cervecero, “Cómo carbonatar cerveza artesanal. Tabla de carbonatación”, 2020. [En línea] Disponible: <https://hacercervezaartesanal.com/como-carbonatar-cerveza-artesanal-tabla-de-carbonatacion/#:~:text=La%20forma%20de%20carbonatar%20naturalmente,y%20el%20volumen%20del%20lote>. [Acceso: febrero 23, 2022]
- [24] Martínez, J., Producción de Harina de Bagazo a partir de un residuo de la industria cervecera, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina, 2020. Disponible: <http://hdl.handle.net/11086/17114>
- [25] Cerisuelo, A., & Bacha, F. “Materias primas: Bagazo de cerveza”, junio, 2021. [En línea] Disponible: <https://nutrinews.com/materias-primas-bagazo-de-cerveza/#:~:text=En%20su%20forma%20natural%20es,para%20la%20fabricaci%C3%B3n%20de%20cerveza>. [Acceso: marzo2022]

- [26] Pantoja Nazat, R. G., Determinación del mejor tratamiento de la mezcla de harina de bagazo de cebada de malta con harina de trigo para la aplicación en productos panificados. Universidad Técnica del Norte, Ibarra, Ecuador, 2020. Disponible: <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/10119>
- [27] Cerveza Artesanal, “Tipos de malta y su utilización en la cerveza”, 2022. [En línea] Disponible: <https://www.cerveza-artesanal.co/tipos-de-malta-y-su-utilizacion-en-la-cerveza/#site-header> [Acceso: marzo 12, 2022]
- [28] El cervecero, “Cómo fermentar cerveza. Explicación del proceso de fermentación de la cerveza”, 2022. [En línea] Disponible: <https://hacercervezaartesanal.com/como-fermentar-cerveza/#:~:text=Explicaci%C3%B3n%20del%20proceso%20de%20fermentaci%C3%B3n%20de%20la%20cerveza&text=La%20fermentaci%C3%B3n%20de%20la%20cerveza,gas%20adem%C3%A1s%20de%20otros%20subproductos>. [Acceso: marzo 14, 2022]
- [29] Bavaria, “Proceso Cervecero”, Bogotá, Colombia, 2022. [En línea] Disponible: <https://www.bavaria.co/cerveza/proceso-cervecero-bavaria> [Acceso: marzo 14, 2022]
- [30] Ñañez Mouchard, I. J. M. El proceso de producción de cerveza artesanal y su mejoramiento mediante técnicas de recirculación de levaduras en la etapa de fermentación. Universidad de Ingeniería y Tecnología, Lima, Perú, 2020. Disponible: <https://hdl.handle.net/20.500.12815/139>
- [31] Rentabilibar, “El Lúpulo En La Cerveza: Qué Es y Qué Aporta Este Ingrediente”, 12, abril, 2016. [En línea] Disponible: <https://www.rentabilibar.es/lupulo-la-flor-mas-cervecera#:~:text=La%20lupulina&text=Es%20el%20principio%20activo%20que,como%20sus%20sabores%20y%20aroma>. [Acceso: marzo 18, 2022]
- [32] Agudelo Liñan, L. F. y Vargas Salazar, M. A., Evaluación de la producción de cerveza artesanal "Tawala" usando kiwi como fruta adicional. Facultad de ingeniería, Fundación Universidad de América, Bogotá, Colombia, 2018. Disponible: <http://hdl.handle.net/20.500.11839/6835>
- [33] Flórez B., Jorge J., “Planta de acondicionamiento de agua para fabricación de cerveza artesanal”, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, 2020

- [34] Suárez Díaz, M., “Cerveza, componentes y propiedades”, Universidad de Oviedo, Oviedo, España, 19, junio, 2013. Disponible: https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/19093/TFM_%20Maria%20Suarez%20Diaz.pdf;jsessionid=DF3E6622DCCC68D1489DE90BA0C15D6F?sequence=8
- [35] Martínez Muñoz, A., “Análisis comparativo de compuestos bioactivos en cerveza artesanal y cerveza industrial”, Universitat de Lleida, Lérida, España. 2015. Disponible: <http://hdl.handle.net/10459.1/48689>
- [36] Quiroga Fernández, M. “Es el agua el elemento esencial de la cerveza”. México. 13, febrero, 2018. [En línea] Disponible: <https://www.forbes.com.mx/es-el-agua-el-elemento-esencial-de-la-cerveza/#:~:text=Una%20cerveza%20est%20compuesta%20en,elemento%20esencial%20para%20nuestras%20vidas> [Acceso: abril 4, 2022]
- [37] Cocinista, “La química del agua para hacer cerveza”. 2018. [En línea] Disponible: <https://www.cocinista.es/web/es/recetas/hacer-cerveza/trucos-y-consejos/la-quimica-del-agua-para-hacer-cerveza.html> [Acceso: abril 4, 2022]
- [38] Cerveceros de México. “¿Qué características aporta la cebada malteada a la cerveza?” México, 24, septiembre, 2020. [En línea] Disponible: <https://cervecerosdemexico.com/2020/09/24/que-caracteristicas-aporta-la-cebada-malteada-a-la-cerveza/#:~:text=La%20cebada%20malteada%20es%20uno,%20CO2%20cuerpo%20y%20textura>. [Acceso: abril 4, 2022].
- [39] Cerveza de Argentina. “Descubre los secretos de la maceración”. España, 2018. [En línea] Disponible: <https://www.thebeertimes.com/maceracion-descubre-todos-sus-secretos/> [Acceso: abril 4, 2022]
- [40] La carta de cervezas. “Enfriamiento del mosto de nuestra cerveza artesanal”, 2022. [En línea] Disponible: <http://lacartadecervezas.com/enfriamiento-del-mosto-de-nuestra-cerveza-artesanal/> [Acceso: abril 4, 2022]

- [41] Ciencias Ambientales. “Determinación del contenido graso de leche en polvo: Extracción Soxhlet” Universidad Pablo de Olavide. Sevilla, España. 2004. Disponible: https://www.upo.es/depa/webdex/quimfis/docencia/TAQ/curso0405/TAQP5_0405.pdf
[Acceso: abril 10, 2022]
- [42] Avella, D. M. G., García, C. A. O., & Cisneros, A. M., Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México, 2008. Disponible: https://www.cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf
- [43] Urbano Rojas, C. Polifenoles totales en productos elaborados con té verde por método colorimétrico Folin Ciocalteu. Universidad Icesi , Cali, Colombia, 2016. Disponible: <http://hdl.handle.net/10906/81092>
- [44] MAGAZINE, B. 21, enero, 2021. “Maceración, fermentación, destilación” [En línea] Disponible: <https://www.bebermagazine.com/maceracion-fermentacion-destilacion/>
[Acceso: abril 13, 2022]
- [45] EcuRed, “Molienda”. 29, agosto, 2019. [En línea] Disponible: <https://www.ecured.cu/index.php?title=Molienda&oldid=3532350> [Acceso: abril 2, 2022]
- [46] Bustos, S. Extracción. Química orgánica. Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia, 2020. Disponible: <https://www.studocu.com/co/document/universidad-distrital-francisco-jose-de-caldas/quimica-organica/apunte-extraccion-2020/11796740>
- [47] Minitab. (2022). Tabla de Análisis de varianza de ANOVA de un solo factor. Obtenido de <https://support.minitab.com/es-mx/minitab/18/help-and-how-to/modeling-statistics/anova/how-to/one-way-anova/interpret-the-results/all-statistics-and-graphs/analysis-of-variance>
- [48] Cultura Cervecista, “Pilsen, un nombre de malta y mucho más”. 27, mayo, 2019. [En línea] Disponible: <https://www.loscervecistas.es/cultura-cervecista/pilsen-un-nombre-de-malta-y-mucho-Sas/#:~:text=Son%20cervezas%20frescas%2C%20doradas%2C%20ligeras,su%20elaboraci%C3%B3n%2C%20la%20malta%20Pilsen.> [Acceso: abril 10, 2022]

- [49] Canalupe, “Tipos de maltas y sus características”, 2022. [En línea] Disponible: <https://canalupe.com/wiki/tipos-de-maltas-y-sus-caracteristicas/>. [Acceso: enero 12, 2022]
- [50] Cocinista, “Malta de trigo”. 2018. [En línea] Disponible: <https://www.cocinista.es/web/es/enciclopedia-cocinista/maltas-y-lupulos/malta-de-trigo.html> [Acceso: abril 4, 2022]
- [51] Fernández, M.P.; Rodríguez, J. F.; García, M.T.; de Lucas, A.; Gracia, I. Application of supercritical fluid extraction to brewer’s spent grain anagement. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. Universidad de Castilla, Castilla-La Mancha, España, (2008). Disponible:https://www.academia.edu/27402083/Application_of_Supercritical_Fluid_Extraction_to_Brewers_Spent_Grain_Management
- [52] Moreira, M. M., Morais, S., Barros, A. A., Delerue-Matos, C., & Guido, L. F. A novel application of microwave-assisted extraction of polyphenols from brewer’s spent grain with HPLC DAD-MS analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2012. DOI: [10.1007/s00216-011-5703-y](https://doi.org/10.1007/s00216-011-5703-y)
- [53] Auquilla Arias, D. C., Evaluación de fenoles y flavonoides totales en las cáscaras del fruto de *Cereus undatus* Haw y de *Selenicereus megalanthus*. Universidad Central de Ecuador, Quito, Ecuador, 2021. Disponible: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/24465>
- [54] Nariya, P. B., Bhalodia, N. R., Shukla, V. J., Acharya, R., & Nariya, M. B., In vitro evaluation of antioxidant activity of *Cordia dichotoma* (Forst f.) bark. 2013. DOI: <https://doi.org/10.4103/0974-8520.115451>
- [55] Montgomery, D. C. (2010). *Diseño y análisis de experimentos*/por Douglas C. Montgomery Limusa Wiley. México.
- [56] Meneses, N. G., Martins, S., Teixeira, J. A., & Mussatto, S. I., Influence of extraction solvents on the recovery of antioxidant phenolic compounds from brewer’s spent grains. *Separation and purification technology*. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.02.015>.
- [57] Zuorro, A., Iannone, A., & Lavecchia, R., Water–organic solvent extraction of phenolic antioxidants from brewers’ spent grain. *Processes*. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/pr7030126>

- [58] Casado, I., Optimización de la extracción de aceites esenciales por destilación en corrientes vapor. Universidad Politecnica de Madrid, Madrid, España. Febrero de 2018. Disponible: <https://oa.upm.es/49669/>
- [59] Angurell, I., Operaciones básicas en el laboratorio de química, Universidad de Barcelona, Barcelona, España. [En línea]. Disponible: https://www.ub.edu/oblq/oblq%20castellano/extraccio_fona.html#:~:text=La%20extracci%C3%B3n%20con%20disolventes%20es,mezcla%20en%20un%20disolvente%20adecuado
- [60] Viganó, J. y Martínez, J., Trends for the Application of Passion Fruit Industrial By Products: A Review on the Chemical Composition and Extraction Techniques of Phytochemicals. Food and Public Health, 2015. DOI: <http://doi.org/10.5923/j.fph.20150505.03>
- [61] Musielak, G., Mierzwa, D. & Kroehnke, J., Trends in Food Science & Technology Food drying enhancement by ultrasound e A review. Trends in Food Science & Technology, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2016.08.003>
- [62] Torres, C. M., Efecto del ultrasonido en la extracción y nanoencapsulación de polifenoles de limón persa (Citrus latifolia). Cent. Investig. y Asist. en Tecnol. y Diseño del estado Jalisco, Jalisco, Mexico, 2017. Disponible: <http://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1023/44>
- [63] Calvo Garrido, L. Extracción mediante CO₂ supercrítico, Universidad Complutense, Madrid, España, [En línea]. Disponible: <https://www.ucm.es/otri/complutransfer-extraccion-mediante-co2-supercritico>
- [64] Alonso, D.; Baeza, A; Chinchilla, R; Gómez, C; Guillena, G; Marset, X; Pastor, I M.; Ramón, D.; Níguez, D; Saavedra, B., Mezclas eutécticas como alternativa sostenible a los disolventes convencionales en Química Orgánica. 2018. Disponible: <http://hdl.handle.net/10045/76541>
- [65] Naranjo Martínez, J. I. Evaluación de dos métodos para la obtención de extractos con actividad antioxidante a partir de gulupa (Passiflora edulis Sims.) con aplicación en productos mínimamente procesados. Universidad de la Salle, Bogotá, Colombia, 2016. Disponible: https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/58

- [66]. Pérez Larrán, P., Díaz Reinoso, B., Moure A., Alonso J., Domínguez, H. Adsorption technologies to recover and concentrate food polyphenols. *Current Opinion in Food Science*, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.10.005>.
- [67]. Shavandi, A; Bekhit, Alaa El-Din A; Saeedi, P; Izadifar, Z; Bekhit, A.; Khademhosseini, A. Polyphenol uses in biomaterials engineering. (2018). DOI : <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.03.018>
- [68]. Lalinde, J. D. H., Castro, F. E., Rodríguez, J. E., Rangel, J. G. C., Sierra, C. A. T., Torrado, M. K. A., & Pirela, V. J. B. Sobre el uso adecuado del coeficiente de correlación de Pearson: definición, propiedades y suposiciones. Universidad Simón Bolívar, Cúcuta, Colombia. 2018. Disponible: https://www.revistaavft.com/images/revistas/2018/avft_5_2018/25sobre_uso_adecuado_coeficiente.pdf
- [69]. Mukaka, M. M., Statistics Corner: A guide to appropriate use of Correlation coefficient in medical research. *Malawi Medical Journal*. 2012. Disponible: <http://www.bioline.org.br/pdf?mm12018>
- [70]. Angarita Salamanca, L. X., & Cobos Torres, D. M. Estudio Cromatográfico por HPLC-UV, Cuantificación de Fenoles, Flavonoides y Evaluación de la Capacidad Antioxidante en Miel de Abejas. Facultad de Ciencias y Educación, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia, 2017. Disponible: <http://hdl.handle.net/11349/6765>
- [71] Kang G.D., Yunk C.K., Lee H.S. Screening and comparison of antioxidant activity of solvents extracts of herbal medicines used in Korea. *Journal of Ethnopharmacology*. 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00142-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00142-9)
- [72] Lizárraga, J., & Elí, J. Efecto de la sustitución de la cebada (*Hordeum Vulgare*) por amaranto (*Amaranthus Caudatus* L.) en el contenido de polifenoles totales, capacidad antioxidante y en las características sensoriales en una cerveza tipo Ale. Universidad Cesar Vallejo. Trujillo, Peru, 2018. Disponible: <https://hdl.handle.net/20.500.12692/31547>
- [73]. López Valenzuela, A. M. Optimización de las condiciones de obtención de un extracto de bagazo de cerveza con mayor actividad antioxidante in vitro. Universidad de Extremadura, Badajoz, España, 2020. Disponible: <http://hdl.handle.net/10662/10308>

- [74] Leiva, C. I., Moreno, N. N., Vitantonio, L., López, D. N., Galante, M., Forastieri, P. S. & Boeris, V. Evaluación de la incorporación de bagazo cervecero en salchichas veganas. Facultad de Química e Ingeniería, Pontificia Universidad Católica Argentina, Buenos Aires, Argentina, 2021. Disponible: <https://repositorio.uca.edu.ar/handle/123456789/12276>
- [75] Venandy, C.A. Producción de biogás a partir de bagazo cervecero. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Santiago de Chile, Chile, 2012 Disponible: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/114955>
- [76] Cereceres Aragón, A., Rodrigo García, J., Álvarez Parrilla, E., & Rodríguez Tadeo, A. Ingestión de compuestos fenólicos en población adulta mayor. 2019. DOI: <https://dx.doi.org/10.20960/nh.2171>
- [77] Noguera, B. “Proceso de fabricación de la cerveza”. 2020. [En línea] Disponible: <https://www.ingenieriaquimicareviews.com/2020/04/proceso-fabricacion-cerveza.html>
[Acceso: marzo 27, 2022]
- [78] Bermeo Cruz, L. A. Efecto de la sustitución de salmuera de masaje por cerveza (tipo pilsen) en la formulación y producción de Jamonada. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador, 2011. Disponible: <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/3099>
- [79] Cocinista, “Índice de Kolbach”. 2018. [En línea] Disponible: <https://www.cocinista.es/web/es/recetas/hacer-cerveza/trucos-y-consejos/indice-de-kolbach.html> [Acceso: febrero 12, 2022]
- [80] Morales Toyo, M. Reacciones químicas en la cerveza. Revista de química, 2018. Disponible: <https://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/20105>
- [81] Padilla, F. C., Rincón, A. M., & Bou-Rached, L. Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela, 2008. Disponible: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222008000300014&Ing=es&nrm=iso

ANEXOS

ANEXO 1.

TABLAS DE DATOS PARA CURVA DE CALIBRACIÓN

Tabla curva de calibración Folin Ciocalteu

Acido galico	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs promedio	Desv Estand
20	0,206	0,211	0,220	0,212	0,007
40	0,413	0,384	0,454	0,417	0,035
60	0,672	0,681	0,668	0,674	0,007
80	0,918	0,884	1,038	0,947	0,081
100	1,23	1,228	1,213	1,224	0,009

Tabla curva de calibración DPPH

Ácido ascórbico	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs promedio	Desv Estand
10	0,314	0,299	0,312	0,308	0,008
15	0,363	0,434	0,402	0,400	0,036
25	0,505	0,493	0,503	0,500	0,006
50	0,727	0,713	0,723	0,721	0,007
60	0,845	0,855	0,849	0,850	0,005

ANEXO 2.

TABLA CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES

Absorbancias obtenidas de cada malta diluida (1:5)												
Trigo				Munich				Pilsen				
Etanol	1er extraccion (abs)		2da extraccion (abs)		1er extraccion (abs)		2da extraccion (abs)		1er extraccion (abs)		2da extraccion (abs)	
80%	1,352	1,382	1,365	1,397	1,342	1,259	1,312	1,271	1,306	1,328	1,305	1,300
60%	0,884	0,989	0,905	0,872	0,758	0,770	0,779	0,757	0,852	0,849	0,844	0,855
40%	0,530	0,502	0,507	0,504	0,451	0,410	0,410	0,431	0,466	0,468	0,463	0,512
Etanol	Contenido de polifenoles totales en mgGAE/L de cada malta diluida (1:5)											
80%	111,188	113,531	112,172	114,703	110,391	103,922	108,047	104,813	107,578	109,313	107,531	107,109
60%	74,625	82,781	76,266	73,688	64,781	65,719	66,375	64,688	72,094	71,859	71,484	72,328
40%	46,969	44,766	45,188	44,953	40,781	37,594	37,594	39,188	41,953	42,094	41,719	45,563
Etanol	Contenido de polifenoles totales en mgGAE/L multiplicado por el factor de dilucion											
80%	555,938	567,656	560,859	573,516	551,953	519,609	540,234	524,063	537,891	546,563	537,656	535,547
60%	373,125	413,906	381,328	368,438	323,906	328,594	331,875	323,438	360,469	359,297	357,422	361,641
40%	234,844	223,828	225,938	224,766	203,906	187,969	187,969	195,938	209,766	210,469	208,594	227,813
Etanol	Contenido de polifenoles totales en mgGAE multiplicado por cada litro de extracto											
80%	16,678	17,030	16,826	17,205	16,559	15,588	16,207	15,722	16,137	16,397	16,130	16,066
60%	22,388	24,834	22,880	22,106	19,434	19,716	19,913	19,406	21,628	21,558	21,445	21,698
40%	21,136	20,145	20,334	20,229	18,352	16,917	16,917	17,634	18,879	18,942	18,773	20,503
Etanol	Contenido de polifenoles totales en mgGAE/g dividido por cada gramos de bagazo seco utilizado											
80%	5,559	5,677	5,609	5,735	5,520	5,196	5,402	5,241	5,379	5,466	5,377	5,355
60%	7,463	8,278	7,627	7,369	6,478	6,572	6,638	6,469	7,209	7,186	7,148	7,233
40%	7,045	6,715	6,778	6,743	6,117	5,639	5,639	5,878	6,293	6,314	6,258	6,834

ANEXO 3.

TABLA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Absorbancias obtenidas de cada malta												
Trigo				Munich				Pilsen				
Etanol	1er extraccion (abs)		2da extraccion (abs)		1er extraccion (abs)		2da extraccion (abs)		1er extraccion (abs)		2da extraccion (abs)	
80%	0,25	0,231	0,253	0,237	0,315	0,267	0,231	0,215	0,228	0,221	0,214	0,224
60%	0,128	0,121	0,128	0,122	0,214	0,206	0,203	0,223	0,164	0,165	0,167	0,168
40%	0,278	0,265	0,214	0,224	0,275	0,267	0,269	0,27	0,182	0,183	0,179	0,177
Etanol	Porcentaje de inhibición											
80%	69,952%	72,236%	69,591%	71,514%	62,139%	67,909%	72,236%	74,159%	72,596%	73,438%	74,279%	73,077%
60%	84,615%	85,457%	84,615%	85,337%	74,279%	75,240%	75,601%	73,197%	80,288%	80,168%	79,928%	79,808%
40%	66,587%	68,149%	74,279%	73,077%	66,947%	67,909%	67,668%	67,548%	78,125%	78,005%	78,486%	78,726%

ANEXO 4.

TABLAS CORRELACIÓN DE PEARSON

Correlación de Pearson de etanol al 80%

	FOLIN	DPPH
Trigo	5,645	0,708
Munich	5,340	0,694
Pilsen	5,394	0,734
Desv Estand	0,163	0,020
Coefi P	-0,005	

Correlación de Pearson de etanol al 60%

	FOLIN	DPPH
Trigo	7,684	0,850
Munich	6,539	0,740
Pilsen	7,194	0,800
Desv Estand	0,574	0,055
Coefi P	1,000	

Correlación de Pearson de etanol al 40%

	FOLIN	DPPH
Trigo	6,820	0,705
Munich	5,818	0,677
Pilsen	6,425	0,783
Desv Estand	0,505	0,055
Coefi P	0,371	

ANEXO 5.
FICHAS TECNICAS



BEST WHEAT MALT



MARACUYÁ



CLAVO

Malta básica para todas las cervezas de trigo, las cervezas de alta fermentación, Kölsch, cervezas bajas en alcohol o sin alcohol, y muchas otras variedades.

ESPECIFICACIONES		MÍN.	MÁX.
Humedad	%		5,5
Extracto de molienda fina	%	82,0	
Diferencia de extracto EBC	%		2,5
Viscosidad (8,6%)	mPa·s		1,99
Proteína, base seca	%		13,5
Nitrógeno soluble	mg/100 g	680	850
Índice Kolbach	%	36,0	46,0
Color del mosto	EBC	3,5	6,0
	L	1,8	2,7
pH en el mosto		5,6	6,1
Ganulometría < 2,2 mm	%		2,0
Poder diastásico	WK	250,0	

BEST Wheat Malt acentúa el frescor efervescente y el sabor típico de la cerveza de trigo de alta fermentación. Se elabora exclusivamente con trigo de la más alta calidad. Gracias al alto contenido proteico en comparación con la BEST Pilsen Malt, esta malta es también especialmente adecuada, junto con su empleo en cervezas de trigo típicas, para el incremento del sabor y el mejoramiento de la espuma en todas las especialidades de cerveza de alta fermentación. La tecnología más precisa aplicada a las materias primas garantiza un procesado excelente.

HASTA

60 %

EBC

3,5 - 6,0



BEST MUNICH



MALTA



PAN

Malta base para todas las cervezas oscuras, Export, Märzen, Alt, Bock, cerveza de trigo y cerveza fuerte.

ESPECIFICACIONES		MÍN. MÁX.	
Humedad	%		4,9
Extracto de molienda fina	%	80,5	
Diferencia de extracto EBC	%		2,5
Viscosidad (8,6%)	mPa.s		1,60
Friabilidad	%	78,0	
Vidriosidad	%		2,5
Proteína, base seca	%	9,0	12,0
Nitrógeno soluble	mg/100 g	650	800
Índice Kolbach	%	36,0	47,0
Color del mosto	EBC	11	20
	L	4,6	8,0
pH en el mosto		5,6	6,1
Ganulometría > 2,5 mm	%	90,0	
Poder diastásico	WK	230,0	
β-Glucano (65 °C)			350,0

BEST Munich fortalece agradablemente el delicioso sabor propio de la malta tanto en las cervezas color ámbar como en las oscuras. Incluso con bajos porcentajes en la molienda, aporta una nota típica de malta en la cerveza. Es la malta perfecta para otorgarle más cuerpo a las cervezas con un alto grado de fermentación. El creciente contenido proteico que se alcanza al incrementar su uso en la molienda mejora también los valores de la espuma. El empleo de BEST Munich se ajusta a la Ley de Pureza alemana.

HASTA **100 %**

EBC **11 - 20**



BEST PILSEN MALT



CEREAL "CRISPY"

Malta base para todas las cervezas, cervezas Premium-Pilsener, Pilsener, Export, Kölsch, Lager, cervezas claras y *light*; malta base para la elaboración de todas las cervezas especiales.

ESPECIFICACIONES		MÍN.	MÁX.
Humedad	%		4,9
Extracto de molienda fina	%	80,5	
Diferencia de extracto EBC	%		2,0
Viscosidad (8,6%)	mPa·s		1,60
Friabilidad	%	81,0	
Vidriosidad	%		2,5
Proteína, base seca	%	9,0	11,5
Nitrógeno soluble	mg/100 g	610	780
Índice Kolbach	%	36,0	45,0
Color del mosto	EBC	3,0	4,9
	L	1,6	2,3
pH en el mosto		5,7	6,1
Ganulometría > 2,5 mm	%	90,0	
Poder diastásico	WK	250,0	
β-Glucano (65 °C)			350,0

BEST Pilsen Malt, fuerte en enzimas y rica en extractos, es la malta base, sola o combinada, para todas las variedades de cervezas especiales. Además de permitir altos porcentajes de malta especial en la maceración, esta malta ofrece la base ideal para un procesamiento óptimo en la producción, fundamento de las mejores cervezas de calidad de todo tipo. El empleo de BEST Pilsen Malt se ajusta a la Ley de Pureza alemana.

HASTA **100 %**

EBC **3,0 - 4,9**

ANEXO 6.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar un análisis más profundo de la caracterización fisicoquímica del bagazo de cerveza, teniendo en cuenta los análisis de porcentaje de fibra, porcentaje de proteína, contenido de cenizas, materia volátil, contenido de carbono fijo, lignina, holocelulosa y celulosa.

Realizar pruebas de cromatografía líquida, con el fin de identificar los compuestos fenólicos presentes en el bagazo de cerveza y su concentración. Además de determinar los compuestos que generan la diferencia entre el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante.

Evaluar otros métodos y/o parámetros de extracción como por ejemplo las extracciones no convencionales para obtener extractos de bagazo de cerveza con el mayor contenido fenólico.

Analizar la actividad antioxidante de compuestos fenólicos a través de diferentes métodos ABTS (ácido 2, 2'-azino-bis -3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico), DMPD (dicloridrato de N, N-dimetilpfeñilendiamina), FRAP (poder antioxidante de reducción férrica), ORAC (capacidad de absorción de radicales oxígenos) y TRAP (potencial antioxidante reactivo total), para relacionar su potencial en la captación de radicales libres y correlación con el contenido de polifenoles totales.

Ejecutar las extracciones con diferentes solventes buscando alternativas de uso en los procesos de extracción, evaluando precios y rendimientos sin dejar a un lado los solventes verdes en función de su baja toxicidad y buena degradabilidad.