

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Departamento de Agroindustria Alimentaria
Ingeniería en Agroindustria Alimentaria



Proyecto Especial de Graduación
**Efecto de la adición de lactosuero dulce en las propiedades fisicoquímicas de
una cerveza artesanal tipo American Pale Ale**

Estudiantes

Carmen Alicia Mejia Ruiz

Sergio Antonio Linares Escobar

Asesores

Luis Maldonado, Ph.D.

Raúl Espinal, Ph.D.

Honduras, noviembre 2021

Autoridades

TANYA MÜLLER GARCÍA

Rectora

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

ADELA M. ACOSTA MARCHETTI

Directora Departamento de Agroindustria Alimentaria

HUGO ZAVALA MEMBREÑO

Secretario General

Contenido

Introducción.....	8
Materiales y Métodos.....	11
Localización del Estudio.....	11
Materiales.....	11
Equipo.....	12
Análisis Físicoquímicos.....	16
Sólidos solubles totales (°Brix).....	16
Potencial de Hidrogeno (pH).....	16
Color.....	16
Absorbancia.....	16
Perfil de azúcares.....	17
Perfil de alcoholes.....	17
Análisis estadístico.....	18
Diseño experimental.....	18
Resultados y Discusión.....	19
Análisis Físicoquímicos.....	19
Sólidos solubles totales (°Brix).....	19
Potencial de Hidrogeno (pH).....	20
Color.....	21
Absorbancia.....	22
Perfil de azúcares.....	23
Perfil de alcoholes.....	24
Conclusiones.....	26
Recomendaciones.....	27
Referencias.....	28

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Formulación estándar para 9 litros de cerveza artesanal American Pale Ale utilizando malta de cebada y lactosuero dulce	11
Cuadro 2 Descripción de los tratamientos aplicados a la cerveza tipo Ale	18
Cuadro 3 Resultados análisis químicos de °Brix en cerveza artesanal tipo American Pale Ale	19
Cuadro 4 Resultados análisis químicos de pH en cerveza artesanal tipo American Pale Ale	20
Cuadro 5 Resultados análisis físicos de color en cerveza artesanal tipo American Pale Ale	21
Cuadro 6 Resultados análisis físicos de absorbancia en cerveza artesanal tipo American Pale Ale	22
Cuadro 7 Resultados análisis químicos del perfil de azúcares en cerveza artesanal tipo American Pale Ale	23
Cuadro 8 Resultados análisis químicos del perfil de alcoholes en cerveza artesanal tipo American Pale Ale	24

Índice de Figuras

Figura 1 Diagrama de flujo de proceso del tratamiento control para la elaboración 9 litros de cerveza American Pale Ale	13
Figura 2 Diagrama de flujo de proceso del segundo tratamiento para la elaboración de 9 litros de cerveza American Pale Ale con 25% suero lácteo dulce.....	14
Figura 3 Diagrama de flujo de proceso del segundo tratamiento para la elaboración de 9 litros de cerveza American Pale Ale con 25% suero lácteo dulce.....	15

Resumen

En la actualidad, la cultura cervecera está tomando un nuevo rumbo. En el mercado Premium, los productores de cerveza artesanal están llevando la delantera por su gran versatilidad en las fórmulas, las cuales emplean diversos ingredientes que permiten obtener sabores distintos y nuevos. El objetivo del estudio fue elaborar una cerveza artesanal con cebada (*Hordeum Vulgare*), sustituyendo parcialmente el uso de agua por suero lácteo y observando su efecto en las características fisicoquímicas en el producto final. Se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA) con una separación de medias Duncan para comparar las medias entre los factores. Se implementó en la formulación base de una cerveza artesanal tipo American Pale Ale la sustitución del contenido de agua por suero lácteo dulce en un porcentaje de 25 y 50%. Se observó que en los tratamientos que contenían suero lácteo dulce en su formulación tuvieron un cambio significativo en todas las características fisicoquímicas. El grado de alcohol del tratamiento con 50% de lactosuero fue menor de lo establecido para una cerveza American Pale Ale (APA), el cual es de 4.5 a 6.2%. Igualmente, el mismo tratamiento presentó un mayor pH que lo recomendado para este tipo de cerveza, siendo de 4.1 a 4.6. El tratamiento control y el tratamiento con 25% lactosuero dulce cumplieron con los parámetros de una cerveza Artesanal American Pale Ale en pH y grado de alcohol.

Palabras clave: Artesanal, formulación, grado de alcohol, sustitución.

Abstract

Currently, beer culture is taking a new turn. In the Premium market, craft beer producers are taking the lead due to their great versatility provided by the formulas, which use different ingredients that allow different and new flavors to be obtained. The objective of the study was to make a craft beer with whey and barley (*Hordeum Vulgare*), partially substituting the use of water for whey and observing its effect on the physicochemical characteristics of the final product. A Completely Randomized Block (CRB) design with a Duncan mean separation was used to compare the means between the factors. Two types of beers were formulated replacing water with sweet whey at a percentage of 25 and 50%. It was observed that the treatments containing sweet whey in their formulation had a significant change in all physicochemical characteristics. The alcohol degree of the treatment with 50% of sweet whey was lower than that of the established for an American Pale Ale beer, which is 4.5 to 6.2%. Likewise, the same treatment presented a higher pH than that of established for an American Pale Ale beer, ranging from 4.1 to 4.6. The control treatment and the treatment with 25% sweet whey met the parameters of an American Pale Ale Craft beer in pH and degree of alcohol.

Keywords: Craft, degree of alcohol, formulation, substitution.

Introducción

El lactosuero o suero de la leche se define como un subproducto lácteo que se obtiene a partir de la separación del coágulo de la leche, de la crema o de la leche semidescremada durante la fabricación del queso, mediante la acción ácida o de enzimas del tipo de cuajo (Parra 2009).

La utilización del suero se remonta a 7 mil años atrás. Este era utilizado para propósitos medicinales, como el tratamiento de infecciones, cicatrización de heridas, enfermedades estomacales, también en la elaboración de bebidas funcionales en el siglo XVII, tales como sopas y mantecas de suero (González et al. 2017). Sin embargo, en la actualidad el lactosuero es considerado un desperdicio por la industria quesera, generando problemáticas ambientales. El lactosuero representa un problema serio de contaminación debido a su alta demanda biológica de oxígeno (35,000 – 45,000 mg/L) y demanda química de oxígeno (60,000 – 80,000 mg/L) (Gómez y Sánchez 2019). El lactosuero, cuando no es tratado correctamente, disminuye de manera drástica la concentración de oxígeno en los afluentes donde es vertido (Gómez y Sánchez 2019).

Existen dos tipos de lactosueros: el lactosuero ácido (pH de 4.5) y el lactosuero dulce (pH 6.0 - 6.5) (Gómez y Sánchez 2019). El lactosuero dulce se obtiene por la coagulación de la caseína utilizando cuajo (mezcla de la enzima quimosina u otras enzimas coagulantes de caseína) a un pH de 6.5, aproximadamente. El lactosuero ácido se obtiene por fermentación o adición de ácido orgánicos o minerales para coagular la caseína (Gómez y Sánchez 2019). La composición típica del lactosuero está constituida por: sólidos totales, lactosa, proteínas, calcio, fosfato, lactato y cloruro, cada uno de ellos con un porcentaje diferente según el tipo de lactosuero. El lactosuero ácido contiene mayor concentración de proteínas y el lactosuero dulce contiene un alto porcentaje de lactosa (El-Salam et al. 2009).

En las proyecciones de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE), en colaboración con la Organización de las Naciones Unidas de la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés), prevé que la producción mundial de leche aumentará a 175 millones de toneladas hacia el 2024 y el queso seguirá siendo el producto lácteo más importante,

representando alrededor de 40% de la leche elaborada en todo el mundo (Gómez y Sánchez 2019). Según estas proyecciones, la producción de queso trae a su vez mayor producción de lactosuero. Aproximadamente el 90% del total de la leche utilizada en la industria quesera es eliminada como lactosuero, el cual retiene cerca de 55% del total de ingredientes de la leche que son nutritivos, potencialmente beneficiosos para la salud, como la lactosa, proteínas solubles, lípidos y sales minerales (Parra 2009).

En la actualidad, existen diferentes estudios donde se están buscando formas de reutilizar el lactosuero, con el propósito de obtener un beneficio económico y reducir la contaminación ambiental. Considerando que la lactosa es de bajo valor comercial, baja solubilidad (180 g/L a temperatura ambiente) y causa intolerancia en algunas personas, nuevos aprovechamientos han sido propuestos para la derivación de lactosa y nuevos usos para estos derivados (Lopez y Prado 2014). Algunos de los productos donde se está aprovechando la lactosa proveniente del lactosuero son: productos de panificación, confitería, bebidas refrescantes y bebidas fermentadas como la cerveza (Schaafsma 2008).

La elaboración de cerveza se debe a partir de ingredientes como: agua, malta, lúpulo y levadura. Esta consta de seis procesos principales para su elaboración que son: el malteado del grano, maceración, cocción, fermentación, maduración, carbonatación o también llamado: segunda fermentación (Zanatta 2012). Existe una cantidad variada de tipos de cervezas, entre ellas: tipo Ale, Lager, de trigo, Porter, Lambic y otras especialidades. La cerveza tipo Ale es de alta fermentación (15 y 20 °C).

La fermentación de la cerveza es el proceso por el cual las levaduras transforman los azúcares del mosto procedentes de la malta de cebada y el oxígeno, en alcohol y dióxido de carbono (Berraldo 2014). La cerveza, es una bebida alcohólica elaborada a partir de cereales en estado crudo o malteados. La cerveza es considerada también, una de las más antiguas prácticas, que a través de la historia ha constituido un importante consumo social y una fuente de calorías que, desde sus orígenes, complementa muchas dietas generalmente pobres (Suarez 2013).

Una de las características principales en una cerveza es su grado alcohólico, el cual, es la expresión del porcentaje o volumen de alcohol presente en ella. En una cerveza tipo American Pale Ale (APA) su porcentaje de alcohol se encuentra entre el 4.5-6.2%. El pH por otro lado, es otro parámetro que también se toma en cuenta y este mide la concentración de iones de hidrógeno en una solución. Al final del proceso se busca que los valores oscilen entre 4.2-4.3. Así mismo, el color es una de las propiedades características de la cerveza, éste depende de factores significativos como ser el grado de malteado del cereal o la materia prima, cual, es un determinante en el color del producto final (Suarez 2013).

Con el fin de ampliar las posibilidades para el aprovechamiento del suero de la leche, el propósito de la presente investigación se enfocó en el uso del suero lácteo para determinar el efecto que tiene en las características fisicoquímicas de una cerveza American Pale Ale; estableciéndose los siguientes objetivos:

Evaluar el efecto de adición de lactosuero durante el macerado en las características fisicoquímicas de una cerveza artesanal tipo American Pale Ale.

Determinar qué parámetro tuvo mayor variación debido a la adición de lactosuero en su formulación.

Materiales y Métodos

Localización del Estudio

El estudio se realizó en las instalaciones de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. Se inició con la elaboración de la cerveza artesanal tipo American Pale Ale con suero lácteo dulce en la Planta de Innovación de Alimentos de Zamorano (PIA). Los análisis físicoquímicos de la cerveza se llevaron a cabo en el Laboratorio de Análisis de Alimentos (LAAZ).

Materiales

El suero lácteo dulce empleado en este proyecto fue proporcionado por la Planta de Lácteos de Zamorano, dicho suero era subproducto de la elaboración de queso crema en la planta. Se contó con un kit cervecero, el cual contaba con ingredientes como: cebada, levadura, azúcar, extracto de malta líquido y dos tipos diferentes de lúpulo (Cascade y Chinook en pellets). En el Cuadro 1 se muestra la formulación estándar para 9 litros de cerveza.

Cuadro 1

Formulación estándar para 9 litros de cerveza artesanal American Pale Ale utilizando malta de cebada y lactosuero dulce.

Ingredientes	Cantidad (kg)	Formulación (%)
Malta Cara Red	0.227	12.74
Extracto de Malta Líquido	1.5	84.18
Lúpulo Chinook Pellets	0.028	1.57
Lúpulo Cascade Pellets	0.014	0.79
Levadura Safe US-05	0.006	0.34
Azúcar	0.07	0.38
Total	1.782	100

Equipo

- Marmita
- Fermentadores
- Termómetro
- Filtros
- Probeta
- Embudos
- Balanzas analíticas Adventurer
- Potenciómetro de mesa STARTER 2100
- Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890
- Refractómetro de bolsillo Fisher Scientific 13-946-21
- Hidrómetro de precisión tipo Specific Gravity for heavy liquids, marca Fisher Scientific
- Espectrofotómetro UV-VIS, marca Agilent Technologies, modelo Cary 8454
- Cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC-RID), marca Agilent Technologies, serie 1100

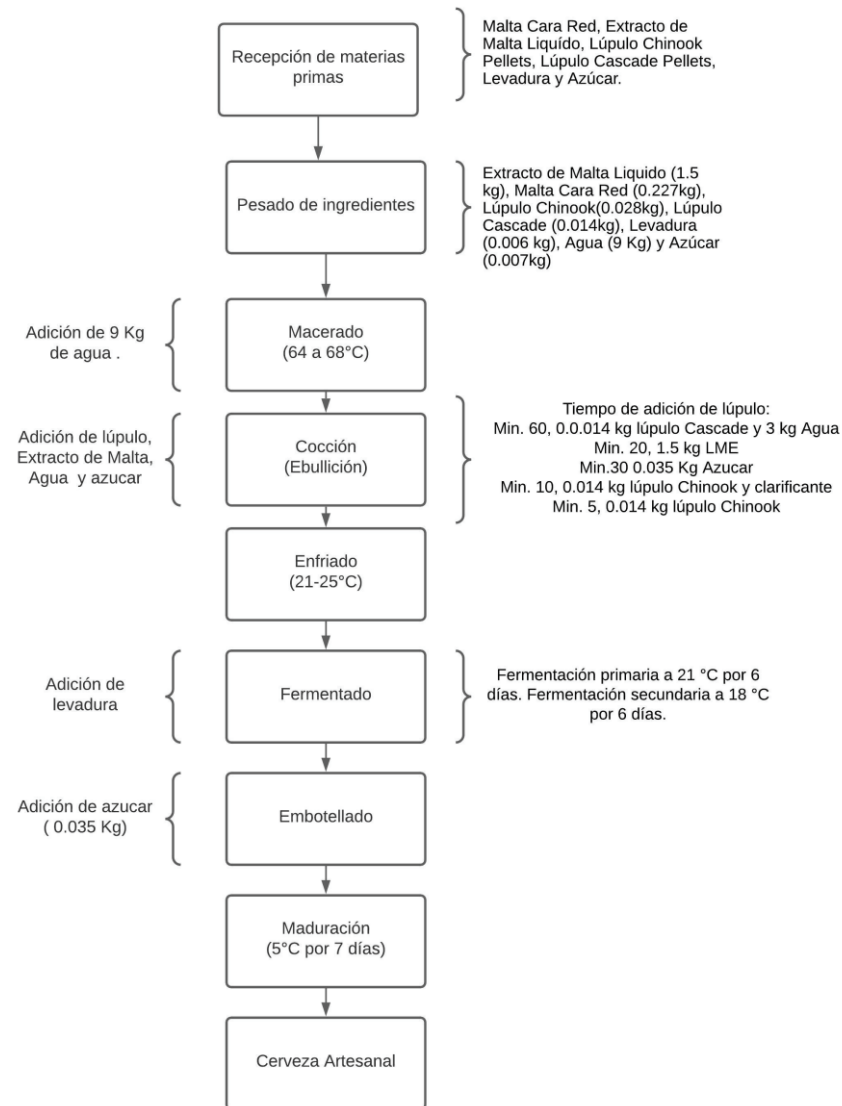
Tratamientos para la Elaboración de Cerveza American Pale Ale con Suero Lácteo Dulce

La Figura 1 muestra el flujo de proceso utilizado para la elaboración del tratamiento control usando una formulación base para una cerveza tipo APA. Para este tratamiento se emplearon 9 litros de agua base, es decir, no contaba con suero lácteo en su formulación como los demás tratamientos.

La Figura 2 muestra el flujo de proceso utilizado para la elaboración del tratamiento con sustitución de 25% de lactosuero por agua, usando una formulación base para una cerveza tipo APA. Para este tratamiento se emplearon 6.75 litros de agua y 2.25 litros de lactosuero dulce, con el propósito de comprobar si existía una diferencia significativa en sus características fisicoquímicas en comparación al tratamiento control.

Figura 1

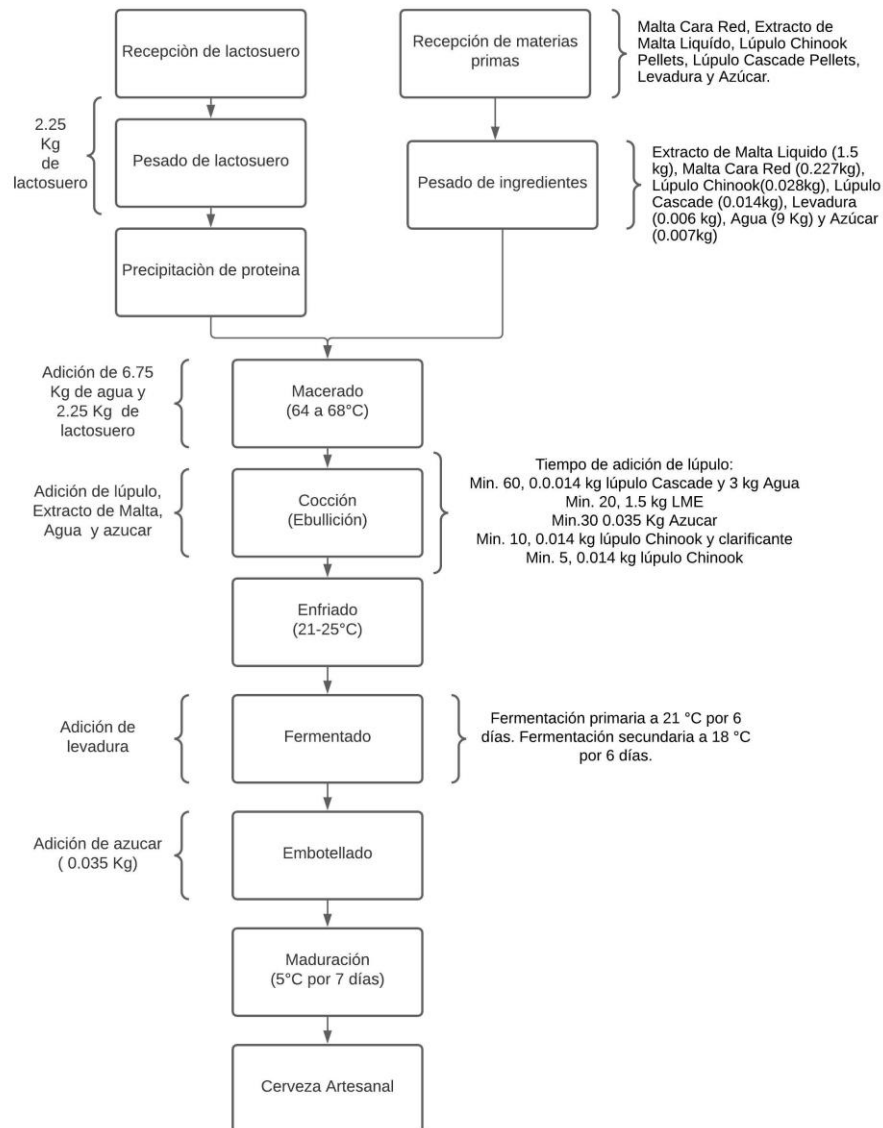
Diagrama de flujo de proceso para la elaboración de 9 litros de cerveza tipo American Pale Ale del tratamiento control.



Nota. Tomado de Guevara (2019).

Figura 2

Diagrama de flujo de proceso para la elaboración de 9 litros de cerveza American Pale Ale del tratamiento con 25% suero lácteo dulce.

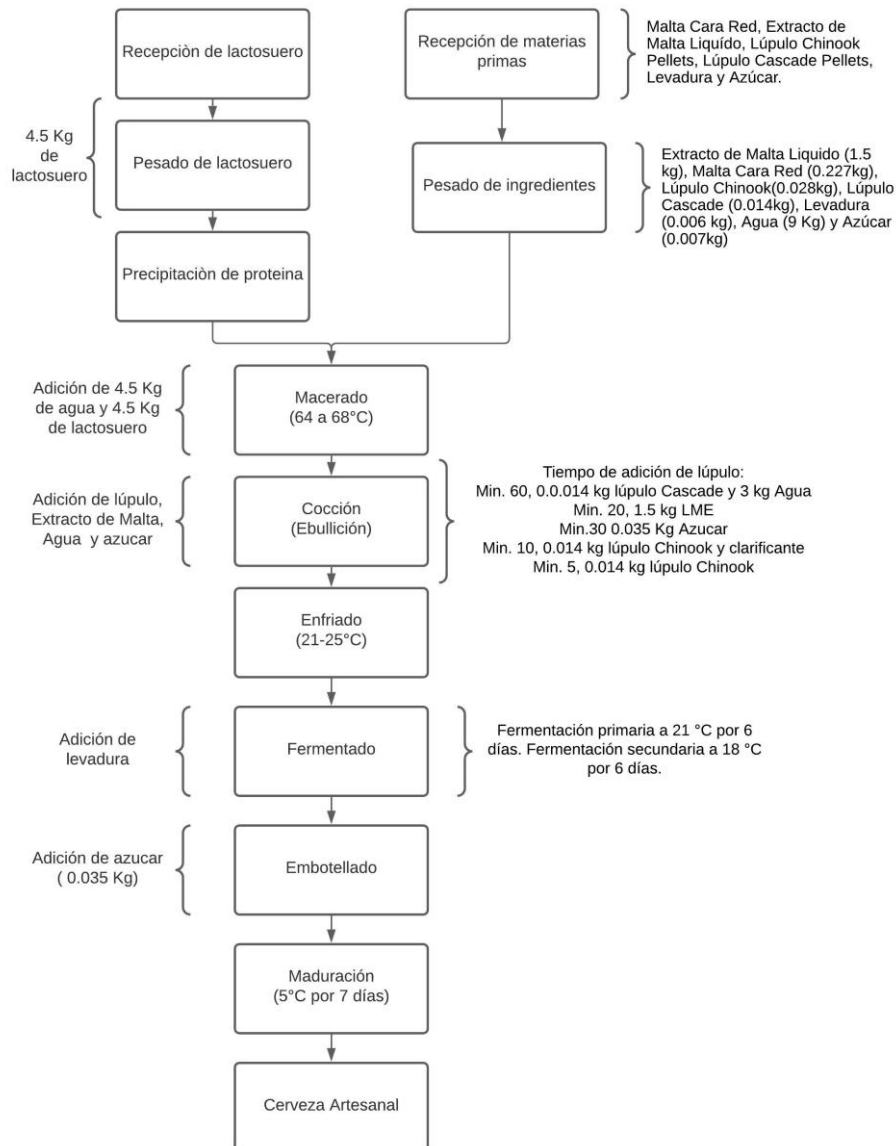


Nota. Tomado de Guevara (2019).

La Figura 3 muestra el flujo de proceso utilizado para la elaboración del tratamiento con sustitución de 50% de lactosuero por agua, usando una formulación base para una cerveza tipo APA. Para este tratamiento se emplearon 4.5 litros de agua y 4.5 litros de lactosuero dulce, con el propósito de comprobar si existía una diferencia significativa en sus características fisicoquímicas en comparación al tratamiento control.

Figura 3

Diagrama de flujo de proceso para la elaboración de 9 litros de cerveza American Pale Ale del tratamiento con 50% suero lácteo dulce.



Nota. Tomado de Guevara (2019).

Análisis Físicoquímicos

Sólidos Solubles Totales (°Brix)

Este análisis químico se realizó con el fin de medir la cantidad de sólidos solubles de cada repetición, con ayuda de un refractómetro de bolsillo marca Fisher Scientific 13-946-21, con escala de 0 a 32%. Brevemente, con ayuda de un gotero se tomó la muestra (1 mL), se colocó en el lente del refractómetro por separado para cada tratamiento, en cada repetición. Posteriormente, se hizo la lectura de cada muestra, y entre lecturas el lente era lavado con agua destilada y limpiado con toallitas especiales marca Kimwipes (Kimtech Science*Brand).

Potencial de Hidrogeno (pH)

Se utilizó el potenciómetro digital marca OHAUS, modelo STARTER 2100 del LAZ. Este fue calibrado previamente con dos soluciones buffer amortiguadoras con pH diferentes (pH 4 y 7). Se tomaron muestras de 150 mL para realizar la lectura en beakers de 250 mL. Los resultados fueron registrados una vez la lectura en el equipo se había estabilizado.

Color

Para evaluar el color de cada muestra se utilizó el equipo Colorflex Hunter (ASTM D6290) con la escala Hunter L a b. Donde L representa la luminosidad, el valor 100 se presenta de color blanco total y 0 como color negro, el valor a en resultados positivos se presentaba en colores rojos y negativos como colores verdes, y el valor b en resultados positivos se presentaban de colores amarillos y resultados negativos en colores azules.

Absorbancia

Se determinó mediante el método AOAC 962.13, con ayuda de un espectrofotómetro UV-VIS marca Agilent Technologies, modelo Cary 8454 a una longitud de onda de 430 nm a 20 °C. Este análisis permitió determinar los colores utilizados por la European Brewing Convention (EBC) y Standard Reference Method (SRM). Para determinar EBC se debe tomar la absorbancia obtenida y multiplicarla 25 veces por la disolución. Por otro lado, para calcular SRM se debe multiplicar la absorbancia por 12.7

(Mosher y Thranhan 2017). Se tomó una muestra de 1 mL de cada repetición y posteriormente, se colocaron las muestras en una cubeta de cuarzo para ser analizada en el equipo.

Perfil de Azúcares

Se aplicó el método establecido por el AOAC 982.14. Para este análisis se pesó 1 g de la muestra, se colocaron en matraces volumétricos de 100 mL. La muestra fue aforada con una proporción 1:1 de alcohol etílico:agua. Los matraces fueron llevados a baño maría a 80 °C durante 30 minutos. Al finalizar con el baño, las muestras se enfriaron a temperatura ambiente y se añadió de la solución relación 1:1, anteriormente preparada (alcohol etílico y agua), hasta alcanzar el volumen original. Las muestras fueron filtradas con ayuda del sistema de microfiltración, posteriormente, se realizó una segunda filtración con ayuda de un filtro de jeringa de nylon de 0.45 µm. Se tomaron 1.5 mL de muestra previamente filtradas, se colocaron en viales rotulados. Se programó el cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC-RID) con las muestras y los estándares. Para la preparación de cada azúcar estándar se pesaron 10 mg, y se diluyeron en 10 mL de la solución de etanol:agua desionizada, en una relación 1:1.

Perfil de Alcoholes

La cuantificación de etanol para cada repetición se llevó a cabo por medio del cromatógrafo de gases, modelo Agilent 6890 Serie GC System, con software GV ChemStation. Se utilizó el método AOAC 984.14. Brevemente, se elaboró una curva estándar con n-Propanol y etanol en diferentes concentraciones. Para cada muestra se necesitaba tener una solución n-Propanol al 5%, por lo que, se midió con ayuda de una micropipeta, 0.500 mL de n-Propanol y se aforó con agua destilada en un matraz de 10 mL. Se preparó etanol a 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8% por medio de diluciones en matraces de 10 mL; se aforó cada muestra con agua destilada. Para la curva estándar, se prepararon viales con las diferentes concentraciones de etanol anteriormente preparadas con la solución de n-Propanol al 5%, en una relación 1:1. Para la elaboración de cada muestra de cerveza, se trabajó de igual manera, en una relación de cerveza y n-Propanol al 5% (1:1).

Análisis Estadístico

Diseño Experimental

Se utilizó un diseño experimental de Bloques Completos al Azar (BCA), se evaluaron dos tratamientos más un tratamiento control (Cuadro 2) con tres repeticiones por tratamiento, para un total de nueve (9) unidades experimentales. Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) para evaluar la significancia del modelo, y separación de medias Duncan para identificar diferencias significativas con un 95% de probabilidad ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos. Los datos se analizaron con el programa “Statistical Analysis System” (SAS®) versión 9.6.

Cuadro 2

Descripción de tratamientos aplicados a la cerveza artesanal tipo American Pale Ale con lactosuero.

Bloques	% de lactosuero		
	TRT1, 0%	TRT 2, 25%	TRT3, 50%
B1	R1	R1	R1
B2	R2	R2	R2
B2	R3	R3	R3

Resultados y Discusión

Análisis Físicoquímicos

Sólidos Solubles Totales (°Brix)

El Cuadro 3 muestra que hubo diferencia significativa entre tratamientos en relación con sus valores de °Brix ($P \leq 0.05$), esto pudo presentarse debido a la concentración de sólidos solubles, ya que el tratamiento con mayor porcentaje de lactosuero (50%) obtuvo valores más altos debido a la lactosa y otros componentes solubles presentes en el suero lácteo dulce. Usualmente el lactosuero cuenta con 6.5 a 7% (Guerrero et al. 2010).

Cuadro 3

Resultados de análisis químicos de °Brix en cerveza artesanal tipo American Pale Ale

Tratamiento	°Brix Media \pm D.E.
TRT1 Control	7.63 \pm 0.23 ^c
TRT2 (25% Lactosuero)	9.30 \pm 0.23 ^b
TRT3 (50% Lactosuero)	10.13 \pm 0.12 ^a
Probabilidad	0.002
CV (%)	2.53

Nota. ^{abc} Medias seguidas de diferente letra son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$). Desviación Estándar (DE), Coeficiente de Variación (%CV),

Los grados Brix muestran el resultado de los sólidos solubles encontrados en un líquido, según los resultados obtenidos por Guevara (2019), una cerveza tipo APA cuenta con 6.72-7.6% °Brix, por lo que se puede decir que el tratamiento control coincide con los valores obtenidos. Por otro lado, los resultados de los tratamientos con 25 y 50% de sustitución de lactosuero dulce en su formulación se encontraron por encima de este rango (Guevara 2019). Según Recinos (2006), en la mayor parte del suero lácteo se encuentran las sustancias solubles como la lactosa, proteínas solubles, sales minerales solubles y componentes no solubles como las grasas. La lactosa presente en el suero es de 4.2 a 5% y entre los minerales pueden encontrar el potasio, calcio, fósforo, sodio y magnesio (Parra 2009). Por tal motivo, en el Cuadro 3 se observa que a medida se aumenta el porcentaje de suero lácteo en los

tratamientos, también se incrementan los sólidos solubles, dando como resultado una diferencia significativa entre tratamientos.

Potencial de Hidrogeno (pH)

El Cuadro 4 muestra que sí hubo diferencias significativas en el valor de pH en la cerveza ($P \leq 0.05$); esto se debe al porcentaje de agua utilizada en la formulación original. Según Bible (2021), entre mayor cantidad de agua es llevada al punto de ebullición, habrá una mayor liberación de hidrógenos, por lo que, el pH tendería a ser más ácido. El tratamiento con 50% de lactosuero solamente contenía la mitad de la cantidad de agua utilizada en las otras formulaciones, esto reduciría la cantidad de hidrógenos de agua liberados, obteniendo así un pH más alto estadísticamente.

Cuadro 4

Resultados de análisis químicos de pH en cerveza artesanal tipo American Pale Ale

Tratamiento	pH Media \pm D.E
TRT1 Control	4.28 \pm 0.005 ^c
TRT2 (25% Lactosuero)	4.55 \pm 0.055 ^b
TRT3 (50% Lactosuero)	4.65 \pm 0.051 ^a
Probabilidad	0.005
CV (%)	0.92

Nota. ^{abc} Medias seguidas de diferente letra son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$). Desviación Estándar (DE), Coeficiente de Variación (%CV).

Otro factor importante por considerar es la presencia de minerales, ya que estos pueden influir con la disminución de pH durante la elaboración de cerveza. Los iones de carbonatos son iones que se asocian con la dureza del agua, interactúan con las moléculas para formar iones, actuando como amortiguadores para la disminución del pH. Naturalmente el lactosuero cuenta con minerales como calcio, potasio, fósforo, sodio y magnesio, estos son transmitidos después de la coagulación de las proteínas en la producción de cuajada. Estos minerales pueden asociarse con los iones de hidrógeno liberados de las moléculas de agua en su punto de ebullición, infiriendo directamente con el pH final de una cerveza 4.1-4.6 (Bible 2021). Según el Cuadro 4, todos los resultados obtenidos se encuentran dentro del rango permitido, a pesar de que existieron diferencias significativas entre

tratamientos, estos resultados se mantuvieron dentro del rango. Por otro lado, el tratamiento con mayor contenido de lactosuero en su formulación fue el que presentó un mayor pH, esto se debe a que un mayor porcentaje de suero presenta más minerales, los cuales pueden asociarse a los iones de hidrógeno liberados mostrando un pH más básico.

Color

El Cuadro 5 indica que se presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en los valores L, a, b de la cerveza entre tratamientos. En este estudio la concentración de lactosuero sí influyó en el color original del producto final. Se puede observar que los resultados de la cerveza con sustitución del 50% de agua en la escala L, a, b tuvo un efecto directo en todos los parámetros. Se ha reportado que el suero tiene un color amarillo verdoso debido a la cantidad de vitamina B2 (Madero 2011), lo que influyó en que la luminosidad incrementara y que los valores de a y b bajaran.

Cuadro 5

Resultados de los análisis de color en cerveza artesanal tipo American Pale Ale.

Tratamiento	L Media \pm D.E.	a Media \pm D.E.	b Media \pm D.E.
TRT1 Control	45.93 \pm 1.53 ^b	27.03 \pm 1.48 ^a	66.72 \pm 0.21 ^a
TRT2 (25% Lactosuero)	55.67 \pm 2.49 ^a	15.86 \pm 1.02 ^b	64.26 \pm 1.13 ^b
TRT3 (50% Lactosuero)	57.67 \pm 1.55 ^a	15.56 \pm 0.99 ^b	64.82 \pm 0.15 ^b
Probabilidad	0.006	0.001	0.032
CV (%)	3.31	6.17	0.90

Nota. ^{ab} Medias seguidas de diferente letra en cada columna son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$). Desviación Estándar

(DE), Coeficiente de Variación (%CV).

Según Strong (2015), una cerveza tipo American Pale Ale usualmente posee un color dorado pálido o ámbar ligero, por lo cual, el valor L tendería a presentar un valor menor en la escala de 0 - 100 en comparación a los otros tratamientos que contienen lactosuero. Así mismo, los valores de a y b en el tratamiento control deberían inclinarse a los valores positivos, siendo en a rojo y en b amarillo, debido a su color dorado pálido característico. Por otro lado, el tratamiento que contenía un 25% de lactosuero presentó mayor luminosidad en comparación con el tratamiento control, en la escala a presentó un color más hacia el verde y en la escala b un color menos amarillo, esto se debe a la

influencia del color amarillo verdoso característico del suero lácteo. Así mismo, el color del tratamiento que contenía un 50% de lactosuero fue el que tuvo una mayor influencia por presentar una mayor cantidad de suero lácteo en su formulación, obteniendo una mayor luminosidad. Además, en la escala a presentó un tono más verde y en la escala b un color menos amarillo.

Absorbancia, EBC y SRM

El Cuadro 6 muestra que estadísticamente si hubo diferencia significativa entre tratamientos ($P \leq 0.05$). Mediante la absorbancia, la cual, consiste en reflejar como se atenúa la radiación cuando atraviesa un elemento y con el cual se determinó el color según las escalas SRM y EBC, siendo una de la característica más importante en la cerveza. Como se observa en el Cuadro 6 mediante se incrementó la cantidad de suero, el color según las escalas SRM y EBC iban saliendo de rango.

Cuadro 6

Resultados análisis físicos de absorbancia y comparación de escalas que miden la intensidad del color en cerveza artesanal tipo American Pale Ale.

Tratamiento	Absorbancia Media \pm D. E	EBC \pm D.E.	SRM \pm D.E.
TRT1 Control	1.29 \pm 0.07 ^a	32.33 \pm 1.81 ^a	16.43 \pm 0.92 ^a
TRT2 (25% Lactosuero)	0.94 \pm 0.05 ^b	23.58 \pm 1.18 ^b	11.98 \pm 0.60 ^b
TRT3 (50% Lactosuero)	0.88 \pm 0.05 ^b	21.92 \pm 1.18 ^b	11.13 \pm 0.60 ^b
Probabilidad	0.005		
CV (%)	5.71	5.71	5.71

Nota. ^{ab} Medias seguidas de diferente letra son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$). Desviación Estándar (DE), Coeficiente de Variación (%CV).

EBC y SRM son escalas que sirven para medir la intensidad del color de una cerveza. El sistema EBC se utiliza para medir el color de una cerveza de una manera técnica y cuantitativa. Este método implica medir el color con ayuda de un espectrofotómetro a una longitud de onda de 430 nm (Mosher y Thranhan 2017). Por otro lado, la escala SRM es un método norteamericano para medir el color en malta y cerveza, de igual manera, una unidad SRM es la cantidad de luz a 430 nm que pasa a través de un centímetro de muestra en un espectrofotómetro (Mosher y Thranhan 2017). Ambas escalas representan un único punto en el espectro de absorbancia de la cerveza. Madero 2011 nos menciona

que mediante la absorbancia se puede determinar el color de la cerveza por una escala EBC, donde su relación es 25 veces la absorbancia. Al realizar los cálculos se puede observar que la escala EBC para el tratamiento control coincide, según Strong (2015), en el cual indica que el parámetro es aproximado a 33 EBC para una cerveza APA. En los tratamientos con 25 y 50% de sustitución de lactosuero, se puede observar que, debido a la presencia de lactosuero dulce la coloración fue más clara, teniendo valores EBC entre una cerveza Extra Special Bitter y Double IPA. Según Strong (2015), en la Guía de estilos de cerveza los valores de este tipo de cerveza (APA), se encuentran entre un SRM de 17, siendo todos los tratamientos aceptados por el rango establecido por SRM.

Perfil de Azúcares

De acuerdo con el Cuadro 7, se observa que sí hubo diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos. Para este estudio se evaluaron seis azúcares estándares: glucosa, fructosa, galactosa, sacarosa, maltosa y lactosa. Los resultados obtenidos identificaron que en los tratamientos con 25 y 50% de lactosuero en su formulación no se aprovechó en su totalidad el azúcar presente en la fermentación. Esto se debe a que la levadura utilizada en este proyecto fue *Saccharomyces cerevisiae*.

Cuadro 7

Resultados de análisis químicos del perfil de azúcares en cerveza artesanal tipo American Pale Ale

Tratamiento	Glucosa, % Media \pm D. E	Lactosa, % Media \pm D. E	Azúcares totales, % Media \pm D. E
TRT1 Control	0.73 \pm 0.06	-	0.73 \pm 0.06 ^c
TRT2 (25% Lactosuero)	-	2.23 \pm 0.12	2.23 \pm 0.12 ^b
TRT3 (50% Lactosuero)	-	4.25 \pm 0.32	4.25 \pm 0.32 ^a
Probabilidad			<.0001
CV (%)			7.57

Nota. ^{abc} Medias seguidas de diferente letra son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$). Desviación Estándar (DE), Coeficiente

de Variación (%CV).

Lawton y Alcaine 2019, los únicos azúcares que tiene la capacidad de fermentar este microorganismo son la glucosa y fructosa, sin embargo, *S. cerevisiae* consume glucosa a mayor velocidad que la fructosa. Según Panesar et al. (2007), el contenido de lactosa del suero lácteo oscila entre un 4.5 - 5.2%, por lo que los tratamientos con 25% de lactosuero y 50% de lactosuero

presentaron una residualidad mayor de azúcares en comparación al tratamiento control, debido a que la levadura empleada es incapaz de fermentar la lactosa presente en el lactosuero. En este caso, el lactosuero funcionó como un edulcorante al no ser un azúcar fermentable, brindándole únicamente dulzor a los tratamientos. Por otro lado, según Gómez y Sánchez (2019) se ha identificado β -galactosidasa (β -gal) y β -glucosidasa (β -gluc) endógenas en la cebada con actividad contra la lactosa. Además, se informó que la β -gal y β -gluc de cebada tiene una actividad óptima alrededor de pH 4.0. Al haber trabajado con lactosuero dulce con pH de 5.6 y agua a un pH de 7 durante la maceración no se logró un pH adecuado para la activación de estas enzimas, por tal motivo, no hubo hidrólisis de lactosa e incrementó los valores en el perfil de azúcares en comparación al tratamiento control.

Perfil de Alcoholes

De acuerdo con el Cuadro 8, se puede indicar que sí hubo diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en los valores de % de etanol entre tratamientos. Dependiendo del porcentaje de suero agregado en la cerveza, se observó que el porcentaje de alcohol disminuyó.

Cuadro 8

Resultados análisis químicos del perfil de alcoholes en cerveza artesanal tipo American Pale Ale

Tratamiento	Etanol, % Media \pm D. E
TRT1 Control	4.65 \pm 0.15 ^a
TRT2 (25% Lactosuero)	4.64 \pm 0.18 ^a
TRT3 (50% Lactosuero)	4.10 \pm 0.11 ^b
Probabilidad	0.044
CV (%)	3.42

Nota. ^{ab} Medias seguidas de diferente letra son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$). Desviación Estándar (DE), Coeficiente de Variación (%CV).

La concentración excesiva de carbohidratos como monosacáridos y disacáridos pueden frenar la actividad bacteriana, de la misma forma, la baja concentración puede frenar el proceso. Lopez y Prado 2014 explican que para la levadura *Saccharomyces cerevisiae* existen factores limitantes como la presencia excesiva de azúcares, las cuales causan estrés en las mismas y reduce su eficiencia para la conversión de etanol. En este caso, la presencia de azúcares no fermentables como la lactosa pudo

intervenir en el proceso, afectando directamente a las levaduras e interviniendo en el desarrollo de una fermentación óptima. Además, Suárez et al. 2016 mencionó que un pH fuera de rango afecta la acción enzimática y el trabajo de la levadura, afectando en sí la respiración, nutrición, reproducción y fermentación. Según Bible (2021), durante la fermentación el pH continuó reduciéndose debido a la excreción de ácidos orgánicos a causa de la acción de las levaduras. Tomando en cuenta el pH final mencionado en el Cuadro 4, el tratamiento con 50% de lactosuero se encontró fuera de rango para una cerveza American Pale Ale. Por tal motivo, se deduce que, durante el proceso, el pH no fue el adecuado para el desarrollo de la levadura durante la fermentación o por problemas enzimáticos que pudieron suceder durante la maceración. Esto pudo producir que en este tratamiento el porcentaje de alcohol estuviese fuera de rango para una cerveza APA, que según Strong (2015), oscila entre 4.5 y 6.2% ABV.

Conclusiones

El tratamiento con un 50% de sustitución de lactosuero en su formulación fue el que obtuvo mayores diferencias significativas en cada una de las propiedades fisicoquímicas: pH, °Brix, color, grado alcohólico y perfil de azúcares.

La adición de suero lácteo dulce en la elaboración de cerveza generó un incremento en el contenido de °Brix. Por otro lado, dentro de sus características físicas, el color presentó mayor variación; por lo que, ambos impactos fueron negativos, ya que los resultados estaban fuera de los parámetros deseados para este tipo de cerveza (APA).

Recomendaciones

Determinar el costo de producción de una cerveza con lactosuero y realizar un análisis de factibilidad.

Realizar un análisis sensorial de aceptación y preferencia para evaluar la influencia del lactosuero en las características sensoriales de la cerveza.

Implementar a la formulación levaduras fermentadoras capaces de desdoblar lactosa, como *Kluyveromyces lactis* o *Kluyveromyces fragilis*, con la finalidad de promover la fermentación alcohólica en la cerveza American Pale Ale. Adicionalmente, introducir lactasa para desdoblar la lactosa durante maceración con el mismo fin.

Referencias

- El-Salam M, El-Shibiny S, Salem A. 2009. Factors Affecting the Functional Properties of Whey Protein Products: A Review. *Food Reviews International*. 25(3):251–270. <https://core.ac.uk/download/pdf/53103511.pdf>. doi:10.1080/87559120902956224.
- Berraldo J. 2014. Tipos de cerveza por su fermentación. *Cerveza independiente*. [sin lugar]: [sin editorial]; [actualizado el 30 de oct. de 2021; consultado el 30 de oct. de 2021]. <https://cerveceraIndependiente.com/cultura-cervecera/tipos-de-cerveza-por-su-fermentacion/>.
- Bible C. 2021. Qué es el pH y cómo afecta al proceso de elaboración de cerveza. *The Beer Times™*; [consultado el 5 de nov. de 2021]. <https://www.thebeertimes.com/que-es-el-ph-y-como-afecta-al-proceso-de-elaboracion-de-cerveza/>.
- Gómez J, Sánchez O. 2019. Producción de galactooligosacáridos: alternativa para el aprovechamiento del lactosuero. *Una revisión. inde.* 37(1):129–158. <http://www.scielo.org.co/pdf/inde/v37n1/2145-9371-inde-37-01-00129.pdf>
- González M, Juliano P, López T, Rosenthal A, Caicedo I, Zoccal R, Salazar P, Jorcin S. 2017. Valorización del lactosuero. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/191130/1/Ana-Krolow-lactosuero.pdf>.
- Guerrero J, Ramírez A, Puente W. 2010. Caracterización del suero de queso blanco del combinado lácteo santiago; [consultado el 10 de oct. de 2021]. <https://www.redalyc.org/pdf/4455/445543774010.pdf>.
- Guevara R. 2019. Desarrollo de una cerveza artesanal American Pale Ale utilizando como malta base sorgo (*Sorghum bicolor*) con cebada (*Hordeum vulgare*) y endulzada con miel de abeja; [consultado el 11 de may. de 2021]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6566/1/AGI-2019-T030.pdf>.
- Lawton M, Alcaine S. 2019. Leveraging endogenous barley enzymes to turn lactose-containing dairy by-products into fermentable adjuncts for *Saccharomyces cerevisiae*-based ethanol fermentations. *J Dairy Sci.* 102(3):2044–2050. doi:10.3168/jds.2018-15586.
- Lopez J, Prado J. 2014. Uso de lacto suero en sinergia con *Saccharomyces cerevisiae* como materia prima para la producción de etanol a escala piloto, en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica, Departamento de Química, UNAN-Managua. <https://core.ac.uk/download/pdf/53103511.pdf>.
- Madero M. 2011. Manual de análisis para el control de calidad de la cerveza en los laboratorios del Departamento de Ingeniería Química y Ambiental; [consultado el 11 de may. de 2021]. <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/106310/TFG-3285-VALVERDE%20ALVAREZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Mosher M, Thranhan K. 2017. *Brewing Science: A Multidisciplinary Approach* | SpringerLink. [sin lugar]: [sin editorial]; [actualizado el 1 de dic. de 2021; consultado el 1 de dic. de 2021]. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-46394-0>.
- Panesar P, Kennedy J, Gandhi D, Bunko K. 2007. Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chemistry.* 105(1):1–14. https://www.researchgate.net/publication/223912636_Bioutilisation_of_whey_for_lactic_acid_production. doi:10.1016/j.foodchem.2007.03.035.

- Parra R. 2009. Lactosuero: Importancia en la industria de alimentos. Colombia: Universidad pedagógica y tecnológica de Colombia; [consultado el 11 de may. de 2021]. <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v62n1/a21v62n1.pdf>.
- Recinos S. 2006. Caracterización del suero lácteo y diagnóstico de alternativas de sus usos potenciales en El Salvador. Universidad de El Salvador; [consultado el 11 de may. de 2021]. http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2102/1/Caracterizaci%C3%B3n_del_suero_l%C3%A1cteo_y_diagn%C3%B3stico_de_alternativas_de_sus_usos_potenciales_en_El_Salvador.pdf.
- Schaafsma G. 2008. Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human nutrition. *International Dairy Journal*. 18(5):458–465. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694607002300>. doi:10.1016/j.idairyj.2007.11.013.
- Strong G. 2015. Guía de estilos de cerveza. [consultado el 11 de may. de 2021]. https://www.thebeertimes.com/wp-content/uploads/2017/08/2015_Guidelines_Beer_Espa%C3%B1ol-final.pdf.
- Suarez M. 2013. Cerveza: componentes y propiedades; [consultado el 11 de may. de 2021]. https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/19093/TFM_%20Maria%20Suarez%20Diaz.pdf;jsessionid=9F2C5EF0996ADBB423F8B7B698EEE96B?sequence=8.
- Suárez C, Garrido N, Guevara C. 2016. Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica; [consultado el 12 de ene. de 2021]. https://www.redalyc.org/pdf/2231/223148420004.pdf?fbclid=IwAR0-v78lvLtFZ9A4ZAYC2jPOF_N_h82GX0DVbdzsRwn1u9tXLJ2ARL8aAls.
- Zanatta F. 2012. Sommelier de cerveza. [sin lugar]: [sin editorial]; [actualizado el 5 de nov. de 2021; consultado el 5 de nov. de 2021]. <https://www.institutodacerveja.com.br/turma/t168/sommelier-decervejasintensivo-sp>.