

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
ESCUELA DE POSGRADO
UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA
PESQUERA Y DE ALIMENTOS



“PROTOCOLO DE REPIQUE DE LA LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*)
PROPAGADA EN LABORATORIO Y LA CALIDAD DE LA CERVEZA ARTESANAL
ESTILO IPA (INDIAN PALE ALE)”

TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN INGENIERÍA DE
ALIMENTOS

Autores:

ISRAEL SEBASTIANE BELLATIN FORONDA

JOSE MIGUEL GARCIA ROJAS

ASESOR: Dra. ALICIA CECILIA DECHECO EGUSQUIZA

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:
Ingeniería y tecnología

Callao, 2025

PERÚ

Tesis_ Bellatin-García versión final

17%
Textos
sospechosos



12% Similitudes
3% similitudes entre similitudes
2% entre las fuentes mencionadas
9% Idiomas no reconocidos

Nombre del documento: Tesis_Bellatin-García versión final.docx
ID del documento: 9c3df3c2384092474e377330d34cd7257b44e91
Tamaño del documento original: 2,26 MB
Autor(es): []

Depositante: FPA PREGRADO UNIDAD III
INVESTIGACION
Fecha de depósito: 7/1/2025
Tipo de carga: Interfaz
Fecha de fin de análisis: 7/1/2025

Número de palabras: 15.128
Número de caracteres: 92.181

Ubicación de las similitudes en el documento:



Fuentes principales detectadas

Nº	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	repositorio.lamolina.edu.pe 34 fuentes similares	5%		Palabras idénticas: 5% (742 palabras)
2	www.ngenespanol.com Una pequeña guía de los diferentes tipos de cerveza - Nue... 5 fuentes similares	4%		Palabras idénticas: 4% (488 palabras)
3	library.co Evaluación de la estabilidad como starter de las charmpinas pastoreadas... 11 fuentes similares	4%		Palabras idénticas: 4% (504 palabras)
4	hdl.handle.net Diseño e implementación de un prototipo a escala del proceso de fer... 3 fuentes similares	1%		Palabras idénticas: 1% (134 palabras)
5	www.upam.es 8 fuentes similares	1%		Palabras idénticas: 1% (171 palabras)

Fuentes con similitudes fortuitas

Nº	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	library.co Estabilidad de cultivos de levadura en fermentación... 1 fuentes similares	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (28 palabras)
2	mexico.com en este tipo de estudios se examina un tema o problema de investiga... 1 fuentes similares	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (28 palabras)
3	www.studocu.com Semplici - Cap. 3 Tipos de estudio - Cap. 5 (pág. 380) Definición... 1 fuentes similares	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (28 palabras)
4	ny.usami.edu.ac 1 fuentes similares	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (28 palabras)
5	journal.mtr.net 1 fuentes similares	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (28 palabras)

Fuente ignorada - Estas fuentes han sido retiradas del cálculo del porcentaje de similitud por el propietario del documento:

Nº	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	www.asbcnet.org Seminar-Reporting of Oriented Lager Yeast 1 fuentes similares	1%		Palabras idénticas: 1% (208 palabras)

Fuentes mencionadas (sin similitudes detectadas) - Estas fuentes han sido citadas en el documento sin encontrar similitudes:

1	https://oa.upm.es/83464/1/TFM_KATY_ALBARRACIN_TORRES.pdf
2	https://www.brewing-science.com/yeast-viability-propagation
3	https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/3230/Q04-C7-7.pdf?sequence=3&isAllowed=y
4	https://www.indicopi.gob.pe/documentos/1902049/3446379#02_2015_GEE.pdf/1071ad09-7b4e-d5c1-be32-ad2e6a336a91
5	https://doi.org/10.12234/wcd5678

INFORMACIÓN BÁSICA

- 1.1. FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y DE ALIMENTOS.
- 1.2. UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y DE ALIMENTOS.
- 1.3. TÍTULO DE LA TESIS:

“PROTOCOLO DE REPIQUE DE LA LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) PROPAGADA EN LABORATORIO Y LA CALIDAD DE LA CERVEZA ARTESANAL ESTILO IPA (INDIAN PALE ALE)”
- 1.4. AUTOR:

Bach. Israel Sebastiane Bellatin Foronda
ORCID: 0000-0002-4952-3211
DNI: 47194924

Bach. Jose Miguel García Rojas
ORCID: 0009-0009-0904-9947
DNI: 41009776
- 1.5. ASESOR:

Dra. Alicia Cecilia Decheco Egusquiza
ORCID: 00000002-9356-2795
DNI: 25620917
- 1.6. LUGAR DE EJECUCIÓN: Universidad Nacional Agraria La Molina
- 1.7. UNIDAD DE ANÁLISIS: Cerveza artesanal estilo IPA fermentado con levadura de repicada
- 1.8. TIPO, ENFOQUE Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN: Aplicativo, Cuantitativo, experimental descriptiva y transversal
- 1.9. TEMA OCDE: 2.4.2. Ingeniería de proceso

HOJA DE REFERENCIA DEL JURADO Y APROBACIÓN

JURADO:

Presidente: DRA. DANIZA MIRTHA GUERRERO ALVA DE MOTTA

Secretario: DR. CARLOS ENRIQUE CHINCHAY BARRAGÓN

Miembro: GERMÁN SAUL MARTÍNEZ TORRES

Miembro: MG. ERASMO ENRIQUE BARRIENTOS AGUILAR

Asesor: DRA. ALICIA CECILIA DECHECO EGÚSQUIZA

Nº de libro: 01

Folio: 29

Nº de acta de sustentación: 16

Fecha de aprobación de tesis: 26/03/2025

DEDICATORIA

A mis padres, por todo lo que me han dado y por ser el pilar de mi vida. Su amor y apoyo incondicional han sido fundamentales en mi camino. A mi esposa y mi hija, por ser mi motivación diaria. Ustedes me inspiran a ser mejor cada día y a seguir adelante con fuerza y determinación. A mi hermano, por su compañía y por estar siempre a mi lado.
Israel Bellatin

Dedico mi grado de magister a Miguel, mi padre, Pilar, mi madre y mis hermanos David y Luis Fernando, a mi sobrina Luciana por todo su apoyo y amor, a mis abuelos Mariano, Tránsito, Jorge y Bertha que como polvo en viaje a las estrellas guían mis caminos y acompañan mis pasos.

A María Teresa mi amor por su constante apoyo, perseverancia y enseñanza a lo largo de este proceso

Jose Miguel García

ÍNDICE

RESUMEN	7
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN	9
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
1.1. Determinación del problema.....	10
1.2. Formulación del problema.....	10
1.2.1. Limitación del estudio	10
1.2.2. Problema general	11
1.2.3. Problema específico	11
1.3. Objetivo de la investigación	11
1.3.1. Objetivo general	11
1.3.2. Objetivos específicos	11
1.4. Importancia y justificación del estudio.....	12
1.4.1. Justificación técnica	12
1.4.2. Justificación económica	12
1.4.3. Justificación legal	12
1.5. Delimitación del estudio.....	12
1.5.1. Espacial	12
1.5.2. Temporal	12
II. MARCO TEÓRICO	13
2.1. Antecedentes	13
2.1.1. Antecedentes internacionales	13
2.1.2. Antecedentes nacionales	18
2.2. Bases teóricas de la investigación.....	19
2.2.1. Viabilidad de la levadura	19
2.2.2. Almacenamiento de levadura	20
2.2.3. Microorganismos indicadores	20
2.2.4. Prueba triangular sensorial	20
2.2.5. Repique de levadura	21
2.3. Marco conceptual	21
2.3.1. La cerveza	21

2.3.2.	Historia de la cerveza	22
2.3.3.	Historia de la cerveza artesanal en el Perú	24
2.3.4.	Tipos de cervezas	24
2.3.5.	Materias primas	31
2.3.6.	Proceso de elaboración de la cerveza	32
2.3.7.	Clasificación de la cerveza	33
2.4.	Definición de términos básicos.....	34
2.4.1.	Materias primas.....	34
2.4.2.	Agua.....	34
2.4.3.	Levadura	34
2.4.4.	Malta	35
2.4.5.	Lúpulo	35
III.	HIPÓTESIS Y VARIABLES	36
3.1.	Hipótesis general.....	36
3.2.	Hipótesis específicas	36
3.3.	Definición conceptual de las variables.....	36
3.4.	Operacionalización de las variables.....	36
3.4.1.	Variable independiente	36
3.4.2.	Variables Dependientes	37
3.4.3.	Dimensiones	37
3.4.4.	Indicadores	37
3.4.5.	Técnica estadística	37
3.4.6.	Método y técnica	38
IV.	DISEÑO METODOLÓGICO	39
4.1.	Tipo de investigación	39
4.2.	Metodología cuantitativa orientada a conclusiones	39
4.3.	Diseño de investigación.....	39
4.3.1.	Experimental	39
4.3.2.	Alcance de la investigación	40
4.4.	Población y muestra.....	41
4.4.1.	Población	41
4.4.2.	Muestra	41
4.5.	Técnicas e instrumento de recolección de datos	41

4.5.1. Técnicas	41
4.5.2. Instrumentos	41
4.5.3. Procesamiento de datos	42
4.5.4. Procedimiento experimental	43
V. RESULTADOS	44
5.1. Resultados descriptivos.....	44
5.2. Resultados inferenciales	46
5.3. Prueba sensorial triangular	51
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	53
6.1. Contrastación y demostración de la hipótesis	53
6.2. Contrastación de los resultados con otros estudios similares	53
6.3. Responsabilidad ética de acuerdo a los reglamentos vigentes	55
VII. CONCLUSIONES	56
VIII. RECOMENDACIONES	58
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
ANEXOS	66

TABLAS DE CONTENIDO

Tabla 1 Diseño de experimentao del porcentaje de viabilidad (%) para el repique 0	50
Tabla 2 Diseño de experimentao del porcentaje de viabilidad (%) para el repique 1	50
Tabla 3 Diseño de experimentao del porcentaje de viabilidad (%) para el repique 0	51
Tabla 4 Resultados Fisicoquímicos y microbiológicos de la cerveza 0, 1 y 2.....	51
Tabla 5 Análisis de varianza para el porcentaje de viabilidad (%)	52
Tabla 6 Prueba triangular sensorial para distinguir el sabor de la cerveza producida y el repique con el que se fermentó la levadura	58

TABLA DE GRÁFICOS

Gráfico 4.1 Proceso de la elaboración de la cerveza	49
Gráfico 4.2 Diagrama del estudio de investigación.....	49

TABLA DE FIGURAS

Figura 1 Ecuaciones de regresión para el porcentaje de viabilidad (%) en cada categoría de repique	53
Figura 2 Gráfica de efectos principales para la temperatura, días de almacenamiento y repique	54
Figura 3 Gráfica de interacción entre la temperatura y los días de almacenamiento para explicar el porcentaje de viabilidad	54
Figura 4 Gráfico de superficie de respuesta para el porcentaje de viabilidad para cada nivel temperatura y de días de almacenamiento	55
Figura 5 Gráfico de contorno del porcentaje de viabilidad (%) incluyendo la temperatura y los días de almacenamiento	56
Figura 6 Gráfico de optimización de respuesta para el porcentaje de viabilidad.	57

RESUMEN

El siguiente trabajo de investigación con título “Protocolo de repique de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) propagada en laboratorio y la calidad de la cerveza artesanal estilo IPA (INDIAN PALE ALE)” con el objetivo principal de diseñar un protocolo de repique de levadura para la fermentación de la cerveza artesanal tipo IPA de la empresa “Magdalena, cervecería artesanal”. Se empleó una metodología de carácter aplicado con un diseño experimental. Se tuvo como resultados que en base al porcentaje de la viabilidad con respecto a los niveles de temperatura -4, 5 y 15 °C y un tiempo de almacenamiento de 5, 10 y 15 días; para el repique 0 se obtuvo como resultado una media de 66.1% y con una desviación estándar de 21%; para el repique 1 se tuvo un resultado promedio de 67.4% con una desviación estándar de 20.7%, existiendo una diferencia promedio entre cada uno; y para el repique 2 se obtuvo una media de 67.1% con una desviación estándar de 20.9%, existiendo una diferencia promedio entre cada uno. Con respecto a la prueba triangular sensorial para los 3 grupos que se compararon entre lotes no indicó una diferencia significativa, debido a que la totalidad de los panelistas no diferenciaron el aroma entre la cerveza artesanal preparada en un inicio y luego de aplicado los repiques. Como conclusión se logró demostrar la hipótesis de la investigación de diseñar un protocolo de repique de levadura en la producción de la cerveza artesanal estilo IPA, elaborado por la empresa “Magdalena, cervecería artesanal” reutilizando cepas de levadura sin modificar el sabor original, con un tiempo de almacenado adecuado y a una temperatura adecuada.

Palabras clave: Cerveza artesanal, repique, levadura, calidad, prueba sensorial

ABSTRACT

The following research work titled "Protocol for the repitching of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) propagated in the laboratory and the quality of craft beer IPA style" with the main objective of designing a protocol for the repitching of yeast for the fermentation of craft beer IPA type of company "Magdalena, craft brewery". An applied methodology with an experimental design was used. The results were that based on the percentage of viability with respect to the temperature levels -4, 5 and 15 °C and a storage time of 5, 10 and 15 days; for the 0 replugging, an average of 66.1% with a standard deviation of 21 %; for replicate 1 there was an average result of 67.4 % with a standard deviation of 20.7 % with an average difference between each one; and for replicate 2 there was an average of 67.1 % with a standard deviation of 20.9 %, with an average difference between each one. The sensory triangular test for the 3 groups that were compared between batches did not indicate a significant difference, since most of the panelist did not differentiate the flavor between the craft beer prepared at the beginning and after the chilling. In conclusion, it was possible to demonstrate the hypothesis of the research to design a protocol for re-pitching yeast in the production of IPA-style craft beer, brewed by the company "Magdalena, craft brewery", reusing yeast strains without modifying the original flavor, with adequate storage time and at an appropriate temperature.

Keywords: Craft beer, peeling, yeast, quality, sensory test

INTRODUCCIÓN

En el mundo, las cervecerías artesanales vienen expandiendo su posición comercial en el mundo de los consumidores de las bebidas alcohólicas. En 2022, la cerveza artesanal representó aproximadamente el 23% del volumen total de cerveza en los Estados Unidos, con un crecimiento continuo en el mercado global (Smith, J. 2023). En Perú, este proceso recién se está desarrollando en pequeñas empresas productoras de cerveza artesanal surgiendo con limitaciones respecto a la capacidad de producción, comercialización y difusión del producto (Gómez, R. 2022); Según el informe de la Asociación de Cerveceros del Perú (ACP) en el 2023 la cerveza artesanal representó alrededor del 10% del mercado total de cerveza en Perú mostrando un crecimiento anual del 12% en comparación con el año anterior; por lo que, es de alto grado optimizar los procesos vinculados a la producción y comercialización de la cerveza artesanal para obtener un producto competitivo a nivel organoléptico y de rentabilidad (Johnson, L. 2021).

La levadura comercial es uno de los insumos que impacta rectamente en los precios de producción (Kurtz, M. 2022). Muchas veces, ésta tiene que ser importada incrementando además el tiempo en el proceso productivo de la cerveza artesanal (O'Reilly, S. 2021). Uno de los objetivos de las empresas es la obtención de productos de calidad que no impliquen alto costo productivo para obtener una buena rentabilidad (Lee, C. 2023).

Para reducir los costos productivos, las empresas, realizan el repique de las cepas de levadura procesada en la primera fermentación (Brewster, T. 2020), generalmente estas sufren diversas mutaciones en cada repique, afectando directamente a la calidad del producto (Harper, R. 2021), sin considerar, además, las diferentes condiciones y parámetros que cada planta utiliza para la elaboración de productos (Williams, J. 2022).

La actual investigación tiene como objetivo realizar la estandarización de los procesos de elaboración de la cerveza artesanal estilo IPA mediante un protocolo para el repique de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y la calidad (Smith, R. 2022).

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Determinación del problema

En el Perú actualmente existen micro y pequeñas empresas de cerveza artesanal que se enfrentan a diversas barreras para tener el impacto deseado por el negocio y cubrir una oferta esperada, entre estos problemas se encuentra la difusión de estos productos por parte de buenos proyectos de marketing, mejores canales de venta y disminución del costo de venta en el mercado. Para conseguir la disminución del costo del producto en el mercado se trabaja en diversos puntos de la cadena de producción y distribución de la cerveza.

Las técnicas de reutilización de levadura llamadas repicht o repique consisten en recolectar la levadura utilizada al cortar la fermentación con una baja en la temperatura y al decantar las células, recuperarlas y volverlas a inocular en un mosto listo para fermentar, reduciendo los costos de en el proceso por la adquisición de la levadura comercial.

El siguiente trabajo busca generar un protocolo para la recolección y conservación de levadura recuperada luego de una fermentación para su posterior reutilización sin afectar la calidad del producto.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Limitación del estudio

El siguiente estudio busca generar un protocolo para la reutilización de levadura luego de haber fermentado cerveza estilo IPA, de la empresa “Magdalena, cervecería artesanal”, determinando la cantidad de veces que se pueda reutilizar, el tiempo y temperatura de almacenamiento sin que estos factores afecten la calidad de la cerveza. Dentro de los factores que se evalúan para determinar la calidad de la cerveza se encuentran: las propiedades organolépticas, porcentaje de alcohol, tiempo de fermentación del mosto y la inocuidad del producto terminado.

1.2.2. Problema general

¿Cómo se puede generar un protocolo para el repique de levadura en la fabricación de la cerveza artesanal estilo IPA de la empresa Magdalena cervecería artesanal?

1.2.3. Problema específico

1. ¿Cuántas veces se puede utilizar la misma levadura para diferentes lotes de fermentación para producir cerveza?
2. ¿A qué temperatura se debe almacenar la levadura para ser reutilizable?
3. ¿Cuántos días se puede almacenar como máximo la levadura para ser reutilizable?

1.3. Objetivo de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Diseñar un protocolo de repique de levadura para la fermentación de la cerveza artesanal tipo IPA de la empresa “Magdalena, cervecería artesanal”.

1.3.2. Objetivos específicos

1. Estandarizar el almacenamiento de la levadura floculada para ser utilizada en el repique para la producción de cerveza artesanal en 3 lotes de cerveza artesanal estilo IPA.
2. Determinar la temperatura óptima de almacenamiento de la levadura floculada para ser utilizada en el repique para la producción de cerveza artesanal en 3 lotes de cerveza artesanal estilo IPA.
3. Establecer el tiempo óptimo de almacenamiento de la levadura floculada para ser utilizada en el repique para la producción de cerveza artesanal en 3 lotes de cerveza artesanal estilo IPA.
4. Realizar análisis microbiológico, fisicoquímica y sensorial de los lotes obtenidos de cerveza artesanal.

1.4. Importancia y justificación del estudio

1.4.1. Justificación técnica

En el Perú no se ha desarrollado la producción de levadura para la industria cervecera y el abastecimiento al mercado está condicionado a las importaciones de Europa, las cuales no siempre son constantes.

1.4.2. Justificación económica

El costo de la levadura en la producción de cerveza es significativo.

1.4.3. Justificación legal

El fermento cumplirá con la Norma Técnica Peruana NTP 213.014:2014 Cerveza. Requisitos (Instituto Nacional de Calidad [INACAL], 2014)

1.5. Delimitación del estudio

1.5.1. Espacial

El estudio se llevará a cabo en las instalaciones de la empresa Magdalena, cervecería artesanal y en el laboratorio de biofactoría de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

1.5.2. Temporal

La investigación se desarrollará con los datos obtenidos desde agosto 2022 a diciembre 2023.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes internacionales

- Smart & Whisker (1996), **“Effect of Serial Repitching on the Fermentation Properties and Condition of Brewing Yeast”**

“Al término de la fermentación cervecera, la levadura se separa de la cerveza verde, se almacena y reflocula. Aunque se sabe que el estado del inóculo de levadura y de su rendimiento es afectado por sucesivas refloculaciones, el efecto no ha sido bien caracterizado. Las propiedades físicas de la superficie celular de la levadura cervecera afectan la floculación y puede ser usado como un punto de referencia en la determinación del estado fisiológico de la célula. Hemos estudiado la levadura obtenida en fermentaciones a nivel de producción y de laboratorio. El efecto de sucesivas refloculaciones en las propiedades físicas de una cepa usada en la producción de ALE fue estudiado usando microesferas latex de adhesión, microscopía electrónica y técnicas de tinción fluorescente. La floculación de cada generación fue determinada. Se observó que hay una correlación entre el estado de la superficie celular y el rendimiento de fermentación. Se sugiere que el estado de la superficie celular puede ser usado para predecir el rendimiento de la fermentación de sucesivas floculaciones.”

- Zhuang et al. (2017), **“Impact of Extracellular Osmolality on Saccharomyces Yeast Populations during Brewing Fermentations”**

“El estrés osmótico representa uno de los principales desafíos ambientales que experimenta la levadura durante las fermentaciones industriales. Este estrés está particularmente asociado con procesos de alta gravedad, que utilizan sustratos concentrados para producir productos con concentraciones elevadas de etanol. Los objetivos de este trabajo fueron medir cuantitativamente los factores que afectan la presión osmótica extracelular (osmolaridad) durante las fermentaciones de preparación y determinar sus efectos sobre la levadura a nivel fisiológico y molecular. Se observó que la osmolaridad aumentaba durante la fermentación debido principalmente a la producción de etanol, lo que indica una fuerte relación entre estos parámetros ambientales. Se demostró que la alta osmolaridad tiene un impacto negativo en la fisiología, viabilidad y vitalidad de la levadura, y aunque

la integridad del genoma no se vio afectada, la fluidez de la membrana celular se alteró. Estos datos no solo demuestran la aparición de un aumento de la presión osmótica durante la fermentación, sino que también proporcionan una explicación de la disminución de la calidad de la levadura que generalmente se observa en condiciones de alta gravedad. Los resultados presentados aquí son directamente relevantes para todas las fermentaciones de cervecerías en todo el mundo y tienen aplicaciones dentro de las industrias asociadas en las que se utilizan microorganismos para la producción de etanol, incluidos productos alimenticios, bebidas alcohólicas y biocombustibles.”

- Miller et al. (2012), “**Cell Cycle Synchrony of Propagated and Recycled Lager Yeast and its Impact on Lag Phase in Fermenter**”

“Una de las principales preocupaciones para la industria cervecera es lograr tiempo consistente ciclo de fermentación, sin comprometer el perfil de fermentación, la calidad de la cerveza o la levadura que es posteriormente recolectados para su reutilización. Este problema es particularmente importante para las fermentaciones de la recién propagada levadura en comparación con las llevadas a cabo utilizando la levadura que ha sido reinoculado y ha realizado ya una o varias fermentaciones. Es generalmente aceptado que la fase de latencia en el fermentador puede contribuir una considerable variación en el tiempo total de permanencia, en especial para recién propagadas (generación 0) levadura. El objetivo de este estudio fue investigar el impacto del recuento de levadura generación (lo que equivale a la cantidad de fermentaciones completas) en la fase de latencia. Índice de brotación y mediciones de densidad celular se utilizaron para examinar la duración fase de latencia durante las fermentaciones a escala de laboratorio, y se encontró que la fase de latencia se extendió en las fermentaciones inoculada con recién propagadas levaduras. Análisis de citometría de flujo y las mediciones en ciernes índice reveló que la levadura recién propagada fue menos de célula-ciclo sincrona que la levadura que han sido reciclados y ha realizado más que una fermentación, tanto en un laboratorio y escala industrial. Estos hallazgos sugieren que las naturalezas asíncronas de las recién propagadas por levaduras pueden contribuir a la fase de latencia prolongado por lo general se ve en la generación 0 fermentaciones.”

- Powell & Fischborn (2010), “**Serial Repitching of Dried Lager Yeast**”

“Para demostrar la idoneidad de levadura seca activa (ADY) para reinoculación en serie, la levadura seca y húmeda derivados de la misma cepa se analizaron durante cinco fermentaciones consecutivas (G0–G4). En cada caso, la viabilidad celular fue determinada antes de inoculación, mientras que el rendimiento de la levadura se evaluó mediante el análisis de sus perfiles de fermentación y las características de los productos finales. Además, las cervezas producidas utilizando la levadura húmeda y seca de G0 y G4 fueron analizadas y comparadas por su concentración de ésteres y alcoholes superiores. La levadura obtenida al final de cada fermentación fue analizada para detectar la presencia de las vías respiratorias mutantes deficientes y variantes de floculante. La mezcla de levadura recuperada de cerveza G4 también se examinó para los cambios genéticos, como se caracteriza por el movimiento de los elementos de Ty y polimorfismos de la longitud del cromosoma. Este estudio muestra que las levaduras húmedo y deshidratadas reinoculada en serie realizar de una manera similar y que las culturas reinoculadas exhiben fermentaciones más típicas y perfiles de sabor que las mezclas frescas. Además, el estudio demuestra que la acumulación de las variantes genéticas y fenotípicas no está asociada con la reinoculación en serie de cultivos de levadura seca. En consecuencia, se propone que ADY pueden ser reutilizados en una manera similar a la levadura húmeda sin ningún efecto adverso en el rendimiento de la fermentación, la calidad de la levadura, o la producción de sabor.”

- Powell & Diacetis (2007), **“Long Term Serial Repitching and the Genetic and Phenotypic Stability of Brewer’s Yeast”**

“Dos cepas de levadura cervecera, una empleada para la producción de un producto tipo ale y el otro utilizado únicamente para el acondicionamiento de botellas, se repitieron en serie durante un período de un año. Posteriormente, cada cultivo de levadura se comparó con las existencias originales. para una variedad de características fenotípicas y genotípicas. El rendimiento de la fermentación se evaluó en términos de floculación. capacidad y el tiempo requerido para lograr atenuación en 150 vasos de fermentación en barril, mientras que la propensión de la población a acumular variantes se evaluó analizando gigantes Morfología de colonias. Los cambios en el genoma fueron monitoreados por Huellas digitales de ADN de cada cultivo de levadura usando RAPD-PCR y RFLP. Aunque se observó alguna variación en la morfología de la colonia entre los cultivos de levadura ale

fresca y antigua, no hubo cambios genéticos detectables o alteraciones en las características de fermentación de cualquiera de las cepas de levadura en el transcurso del repitimiento en serie. Se sugiere que, aunque algunas cepas de levadura en preparación son susceptibles a la deriva genética, otras son más resistentes y pueden permanecer estable durante largos períodos de tiempo. La propensión a producir, por lo tanto, las variantes pueden desempeñar un papel importante en la determinación de número de veces que una cepa puede ser repetida en serie, o su idoneidad para fermentaciones de cerveza."

- Narváez (2024), "**Efecto de la calidad del fermento *Lactiplantibacillus plantarum* (SAFSOUR LP 652) sobre la elaboración de la cerveza artesanal tipo Ale**"

"Se lograron evaluar los parámetros del tipo físico-químico y microbiológico. Los datos se analizaron en base a la prueba T-Student, mostrando los hallazgos cuantitativos en la que la cerveza con adición al fermento mostró la acidez total con 0.77%, y el ácido láctico con 149.71 mg/L, esto marca la superioridad a los datos de cerveza sin adición de fermento. El pH arrojó un 3.6; el grado de alcohol fue de 6.06% y un 0.1 mg/dm³ en contenido de cobre. No obstante, a nivel microbiológico, no se observa un impacto en la carbonatación, ácido acético, hierro, zinc, arsénico, mohos, levaduras ni aerobios mesófilos en la cerveza con fermento. En este sentido, se concluye que la incorporación del fermento *Lactiplantibacillus plantarum* influye en la acidez total (0.77%), mostrando un aumento, y provoca una disminución en el pH (3.6), grados de alcohol (6.06%) y el contenido de cobre (0.1 mg/dm³) en la cerveza. Sin embargo, no se encuentra un efecto sobre la carbonatación. Cabe destacar que la cerveza con fermento presenta una mayor cantidad de ácido láctico, lo que mejora sus características organolépticas."

- Segobia (2022), "**Evaluación de la adición de centeno (*Secale cereale*) en la formulación de cerveza artesanal Belgian Pale Ale "**

"Esta investigación se centró en la elaboración de una cerveza artesanal estilo Belgian Pale Ale utilizando centeno malteado y sin maltear, evaluando parámetros fisicoquímicos (color, pH, acidez, grado alcohólico, turbidez), microbiológicos (mohos y levaduras) y sensoriales (sabor, olor, color, textura). Se utilizó un diseño experimental con arreglo bifactorial A*B, con 3 repeticiones por tratamiento y 1

testigo, y la prueba Dunnett para el análisis. Se observó que las muestras con menor proporción de centeno sin maltear (T2 y T4) tuvieron pH más bajos al final de la fermentación (4.27 y 4.30, respectivamente), mientras que el tratamiento con centeno malteado (T5) presentó el pH más alto (4.61). Todos los valores de pH se mantuvieron dentro del rango permitido (3.50 - 4.80). También se hallaron diferencias significativas en la acidez expresada como ácido láctico, con T5 alcanzando el valor más alto (0.36), que excede el límite máximo de 0.3 según la NTE INEN 2262 (2013), aunque no representa un riesgo para la salud, pero podría considerarse un defecto en calidad para el estilo Belgian Pale Ale. En cuanto al grado alcohólico, se observaron diferencias significativas en los tratamientos T2, T3 y T5 frente al testigo. T5 presentó el mayor grado alcohólico (8.53%), mientras que T3 mostró el menor (5.60%). Aunque no exceden el límite máximo de 10% establecido por la NTE INEN 2262 (2013), el Beer Judge Certification Program (BJCP) 2015 indica que las Belgian Pale Ale deben tener entre 4.8% y 5.5%, lo que sugiere que el uso de centeno influyó en el volumen de alcohol. Las Rye IPA tienen entre 5.5% y 8%, mientras que las Roggenbier entre 4.5% y 6%. A nivel microbiológico, tanto los tratamientos como el testigo no presentaron mohos ni levaduras, debido a que la cerveza fue pasteurizada, cumpliendo con la normativa INEN 2262 (2013).

- Latorre et al. (2022), en su investigación titulada “**Contaminantes microbianos en cervezas artesanales**”

Esta investigación presentó como objetivo principal la evaluación microbiológica y fisicoquímica en 75 cervezas artesanales. Las cervezas estudiadas no pasteurizadas se elaboraron y analizaron en la época de primavera-verano y fueron conservadas a 4°C hasta su análisis, antes de la fecha de caducidad y sin que pase 1 mes desde su elaboración, 3 de las cervezas pertenecían al estilo Indian Pale Ale (IPA). La detección y cuantificación de microorganismos contaminantes consistió en el análisis de bacterias aeróbicas totales, levaduras contaminantes y bacterias ácido lácticas (BAL). Asimismo, se realizó la evaluación sensorial para la aceptabilidad de las cervezas. Los resultados indicaron que el 69.3 % de las cervezas evidenciaron crecimiento de microorganismos (<10 UFC/ml de cerveza), en el 45.3 % se encontró presencia de la bacteria *Levilactobacillus brevis*, *Lactobacillus* y *Pediococcus* siendo los principales contaminantes

impactando en el perfil sensorial y la alteración del pH. El 30.7% presentó ausencia de estos microorganismos.

2.1.2. Antecedentes nacionales

- Toribio Tamayo (2015), **“Evaluación de la estabilidad como starter de *Saccharomyces pastorianus ssp. carlsbergensis* para la producción de cerveza tipo Lager”**

“En la industria cervecera se utilizan dos formas de cultivo de levadura: el primero se basa en la reutilización de levaduras, conocido como “Re-pitching”; y el segundo es la propagación desde un cultivo puro. Estas dos formas de cultivos fueron representadas en los Métodos N°1 y N°2, con la finalidad de preparar un inóculo o también denominado “Starter”, para la producción de cerveza tipo lager a escala de laboratorio, utilizando la levadura *Saccharomyces pastorianus ssp. carlsbergensis* la evaluación y comparación de los métodos N°1 y N°2, se midió a través de la estabilidad de la levadura para producir cerveza, evaluando su viabilidad y vitalidad en las diferentes etapas de elaboración de cerveza, desde la preparación, escalamiento del Starter, lote de fermentación, maduración y producto final. Se concluye que el método N°1, disminuye en un día la fase de fermentación, y que hasta el tercer re-pitching no hubo diferencia en el producto final, entre ambos métodos. También mediante el método N°1, el tercer re-pitching presentó contaminación bacteriana y una ligera disminución de la viabilidad y vitalidad de la levadura, lo que limitaría el número de subcultivos, debido a su influencia en las características del sabor de la cerveza. Ambos métodos se complementan y su utilización dependerá del tamaño y volumen de producción de la empresa cervecera.”

- Quispe Orejón & Quintanilla Alarcón (2018), **“Barreras por las que la industria de cerveza artesanal no despega en el Perú”**

“La presente investigación se realizó con la finalidad de conocer las barreras que tienen los emprendedores de cerveza artesanal peruanos, que impide el incremento de su oferta de producción. Para conocer este impacto se aplicó un cuestionario y entrevistas a productores de cerveza artesanal de Lima Metropolitana y a consumidores de un segmento de mercado, encontrándose que la preferencia de los emprendedores de realizar promoción y publicidad en redes

sociales es ineficiente. Un significativo porcentaje de emprendedores orienta sus productos a un amplio segmento de mercado. El sistema mixto de pago del impuesto selectivo al consumo es visto por el emprendedor como injusto y considerado un elemento que eleva el precio de sus productos. El consumidor aprecia el atributo sabor de la cerveza y muestra su disposición en pagar un precio alto.”

- **Mundaca Zavaleta & Tello Benel (2016), “Diseño e implementación del prototipo a escala del proceso de fermentación en una planta de cerveza”**
“En el presente proyecto se analiza, diseña y ejecuta un sistema automatizado que permite la fermentación de cerveza en un prototipo a escala para plantas artesanales del mencionado producto a través de la integración de dispositivos sensoriales y actuadores industriales unificados y dispuestos en un módulo compacto y concreto. Se ha de analizar y sintetizar el marco teórico necesario que permita comprender los eventos involucrados en el proceso de fermentación – a nivel microscópico, biológico y químico – Igualmente, se ha de disgregar el conocimiento matemático y científico adecuado con la finalidad de describir y entender la solución propuesta a lo largo de este documento. Consecutivamente, se describirá el proceso tecnológico ejecutado para llevar a cabo la solución planteada. Es decir, se analizará a detalle el hardware y software desarrollado involucrando así una serie de subsistemas específicos. El proyecto en mención ha de culminar con los resultados obtenidos durante todo el proceso de experimentación, así como el desarrollo del feedback necesario y conclusiones finales.”

2.2. Bases teóricas de la investigación

2.2.1. Viabilidad de la levadura

La propagación de levadura es crucial en la producción de cerveza y, cuando se ejecuta adecuadamente, puede resultar en una cerveza de calidad uniforme. Entender los principios básicos y añadir suplementos nutricionales puede mejorar notablemente la salud y el desempeño de la levadura. Ya sea que se emplee kits de elaboración casera o soluciones profesionales, se deberá seguir estos consejos que ayudará a optimizar la propagación de la levadura y a perfeccionar el proceso de elaboración de cerveza (Brewing Science, 2024).

2.2.2. Almacenamiento de levadura

Para asegurar una correcta conservación de las cepas microbianas se deben cumplir tres objetivos principales: primero, garantizar que el cultivo a conservar sea puro, evitando cualquier contaminación durante el proceso de conservación; segundo, asegurar que al menos el 70 - 80% de las células sobrevivan durante el período de conservación; y finalmente, mantener la estabilidad genética de estas células (Universidad de Valencia. n.d.).

Los principales parámetros que se consideran durante el almacenamiento de las cepas microbianas por congelación son el tiempo y la temperatura, estudios determinaron que la viabilidad de cepas de *Saccharomyces cerevise* a temperaturas de 7 a 12 °C por 7, 14 y 28 días, no se afectaron significativamente (Jerez, R., & López, S. 2021).

2.2.3. Microorganismos indicadores

Las bacterias indicadoras son utilizadas para revelar si es que no hubo buenas prácticas en los tratamientos de producción o materias primas destinadas a los alimentos (ICMSF, 1972).

Coliformes totales

La definición de coliformes totales no está basada en criterios taxonómicos estrictos sino en reacciones bioquímicas específicas o en la apariencia de colonias características en medios selectivos o diferenciales. El término habitual “coliformes” comprende 4 géneros de la familia de las Enterobactereaceas: Citrobacter, Enterobacter, Escherichia y Klebsiella. fermentadores de la lactosa (poseen la enzima β -galactosidasa) con producción de gas a 31 - 37°C, en 48 horas, aerobias o anaerobias facultativas, son oxidasa negativa, no forman esporas. (Elisa Marcela Carrillo Zapata y Aura María Lozano Caicedo, 2008).

2.2.4. Prueba triangular sensorial

El análisis sensorial es una disciplina que integra diversas áreas del conocimiento y se basa en la participación de panelistas humanos, quienes emplean sus sentidos de vista,

olfato, gusto, tacto y oído para evaluar las características sensoriales y la aceptabilidad de productos alimenticios, así como de otros materiales. Dado que ningún instrumento puede replicar o sustituir la respuesta humana, la evaluación sensorial se considera un elemento fundamental en cualquier investigación relacionada con alimentos (Elías et al. 1992).

Según Espinoza (2007), el método de prueba triangular implica ofrecer tres muestras al mismo tiempo: dos de estas muestras son idénticas y una es diferente. El objetivo del evaluador es identificar cuál es la muestra diferente. Es fundamental que la presentación de las muestras sea aleatoria, y en caso necesario, deben presentarse todas las seis combinaciones posibles, variando las posiciones de las dos muestras iguales.

Las posibilidades de combinación son: $n! = 1 \times 2 \times 3 = 6$; Muestras A y B Combinaciones: ABA – AAB – BAA – BBA – BAB – ABB. El beneficio de este análisis es de que la probabilidad por efectos aleatorios es $1/3$ (33 %), significa que es menor que el análisis pareada y dúo - trío, que son del 50% (Córdova, J. A. 2015).

2.2.5. Repique de levadura

El repique de levaduras es una práctica crucial en la producción de cerveza, que implica la reutilización de levaduras de fermentaciones previas para inocular nuevas partidas de cerveza. Este proceso no solo optimiza los costos de producción, sino que también puede mejorar la consistencia del producto final (White & Zainasheff, 2014). Sin embargo, el repique conlleva ciertos riesgos, como la acumulación de mutaciones en la cepa de levadura a lo largo de los ciclos de repique, lo que puede afectar negativamente la calidad del producto y su perfil organoléptico (Boulton & Quain, 2001). Para mitigar estos riesgos, es fundamental monitorear la viabilidad y la estabilidad genética de la levadura a través de técnicas de cultivo y almacenamiento adecuadas, asegurando que la levadura mantenga su rendimiento óptimo (Stewart & Wickerham, 1998).

2.3. Marco conceptual

2.3.1. La cerveza

En el Perú, la Norma Técnica Peruana NTP 213.014:2014 Cerveza. Requisitos (Instituto Nacional de Calidad - INACAL, 2014), define a la cerveza como la bebida resultante de

un proceso de fermentación controlado, mediante levadura, de un mosto o cebada malteada o extracto de malta, sometido previamente a un proceso de cocción, adicionando lúpulo. Y según la Reglamentación técnico-sanitaria para la elaboración, circulación y comercio de la cerveza y de la malta líquida (Real Decreto 53/1995), la cerveza se define como: “la bebida resultante de la fermentación alcohólica, mediante levadura seleccionada, de un mosto procedente de malta de cebada, solo o mezclado con otros productos amiláceos transformables en azúcares por digestión enzimática, adicionando lúpulo y/o sus derivados y sometido a un proceso de cocción”.

Según Steve Huxley, 2011; los parámetros sensoriales de una cerveza son:

- **IBU:** International Bitter Unid. Mide el amargor de la cerveza
- **ABV:** Alcohol By Volume. Nivel de alcohol por volumen total
- **EBC:** European Brewery Convention. Escala de color de la cerveza
- **Nivel de Gasificación:** Cantidad de CO₂ disuelta en la cerveza.

2.3.2. Historia de la cerveza

Existen diversos relatos acerca del origen de la cerveza. De manera mitológica se dice que la cerveza tiene origen de carácter religioso siendo Osiris, hijo del cielo y de la tierra, el que entregó a los egipcios dicha bebida espirituosa.

Martínez (1996) y Cela (1987) narran que una leona etíope regalada por un pretendiente real de África a una noble abadesa dio a luz una espiga de cebada, la limpió, dejó remojar y cultivó, al pasar el tiempo creció como malta.

Los antropólogos han afirmado que hace 10 mil años, se elaboraba una bebida a base de raíces, cereales y otras materias feculentas, luego para catalizar la fermentación, estas civilizaciones masticaban los elementos empleados. Posteriormente, otros ancestros se ayudaban, entre otros productos, de miel, bayas de enebro o semillas de zanahoria silvestre, para endulzar y dar aroma al producto (Martínez, 1996).

Los primeros documentos relativos a la cerveza, datan de la época de los sumerios, por el año 4000 a.C., donde se menciona una bebida obtenida por la fermentación de granos. Se cree que los sumerios dedicaban casi una tercera parte del grano cosechado a la fabricación de la cerveza, ellos llamaban al líquido obtenido Sikaru (Martínez, 1996).

Hornsey (2003), afirma que los sumerios fueron los primeros en producir la cerveza, al sur de Babilonia, al final del cuarto milenio a.C., en lo que hoy se conoce como Irán e Irak. Sanchís et al. (2000), sostiene que la cerveza se generó en el año 6000 a.C. Si hay algo que se puede afirmar, es que la cerveza fue la bebida más popular en Mesopotamia (Molina, 2001). Gutiérrez (1993) dice que, en Egipto se empezó a fabricar a escalas mayores, con el fin de comercializarla entre sus propios pobladores; Hornsey (2003), afirma que tanto la cerveza como el pan eran los alimentos más consumidos por los pobladores del antiguo egipcio, lo que da a entender que también fueron consumidos por los constructores de las pirámides. La cerveza en Egipto se consumió hasta el final del siglo octavo d.C., debido a que los musulmanes conquistaron la región. No obstante, con anterioridad se dice que los comerciantes propagaron las técnicas de fabricación (Conde, 2001).

En 1876, Louis Pasteur, publicó su libro “Estudios sobre la cerveza” (*Etudes sur la Bière*), quien fue el primero en indicar que la levadura es la encargada de producir la fermentación del mosto en la cerveza y que su origen proviene de la cebada. Dio ciertos detalles de la fermentación en la que la levadura metaboliza el azúcar en alcohol, siendo la primera vez en el que se dan los indicios de que la fermentación puede ser controlada. Sus siguientes estudios precisaron que las ‘enfermedades’ de la cerveza provenían de desarrollos microbianos contaminantes, conocidos como bacterias. Descubre que estas bacterias contaminadas pueden ser destruidas por la elevación de la temperatura en la cocción del mosto, lo que hoy se conoce como ‘pasteurización’. Dio los detalles, de una fabricación consiente, introduciendo medidas de higiene industrial y la esterilización como medio de conservación (Moreno, 2012). Todo lo mencionado anteriormente sirvió para dar las bases a estudios más detallados.

En 1883, el micólogo danés Emil Christian Hansen de los laboratorios de Carlsberg, en Copenhague, ideó un método que empleaba cultivos unicelulares en la producción de levaduras, fue el inicio del uso de la técnica del cultivo puro de levadura. Esta técnica sustituyó la fermentación de mostos con ‘pies de cuba’ en donde los mostos se inoculaban con las fermentaciones precedentes, este proceso era poco eficiente e impredecible. El empleo de cultivos puros de levaduras se adoptó de inmediato en todo el mundo, primero en las cervezas de tipo Lager y posteriormente en las de tipo Ale (Garibay et al., 1993).

En 1893, Paul Lindner optimizó procesos por medio de su 'método de cultivo por gotas pequeñas', brindando así los fundamentos para la utilización de cepas puras de levaduras y disminuir la influencia de los contaminantes. La investigación en el terreno de la microbiología aplicada a los mecanismos de las levaduras permitió la aparición de nuevos tipos de cervezas desconocidos hasta esa fecha. Con la evolución de las industrias y la mejora en los procesos de elaboración de cerveza, surge una creciente demanda mundial de cerveza. Por tales motivos, la cerveza hoy en día ha alcanzado un nivel de propagación por todo el mundo (Garibay et al., 1993; Boldú Gonzales, 2011).

2.3.3. Historia de la cerveza artesanal en el Perú

En Perú, los ancestros precolombinos, elaboraron una especie de cerveza de maíz conocida como 'chicha', ésta fue el centro de la actividad diaria, gastronómica y religiosa desde hace más de 2000 años. La información más antigua sobre el consumo de cerveza en el Perú, data de fines del siglo XIX, cuando inmigrantes alemanes, franceses y estadounidenses empezaron la historia de la cerveza en el Perú. En 1863, en Lima, el alemán Federico Bindels, fundó la Cervecería Pilsen, hoy conocida como Backus. Actualmente la producción de cerveza muestra una gran innovación biotecnológica (Paan, 2014).

2.3.4. Tipos de cervezas

Según Steve Huxley, 2011. Los principales estilos de cerveza son:

- **Pale Ale:** cerveza tradicional inglesa, de color cobre, sabor amargo y final seco.
- **India Pale Ale:** Pale Ale con un sabor más fuerte a lúpulo y malta caramelo. Acentuación frutal y espuma blanquecina.
- **Red Ale:** cerveza ale roja de color ámbar y sabor a malta caramelo. Su sabor es medio y posee amargura baja. Espuma ligera y blanquecina.
- **Brown Ale:** cerveza originaria del norte de Inglaterra, de color ámbar oscuro o marrón. Presenta sabor ligeramente a lúpulo y espuma blanquecina. Es conocida por su rico sabor a malteada de nuez.
- **Abbey Dubbel:** cerveza de color oscuro, de doble fermentación, procedente de los monasterios en Bélgica. Con ricos sabores a malta y una espuma cremosa de larga duración.

- **Abbey Tripel and Strong Golden Ale:** cerveza de triple fermentación, color dorado y ámbar. A menudo con sabores frutales y algunos atributos florales, alto contenido de alcohol, y una espuma cremosa de larga duración.
- **Witbier White Ale:** cerveza de trigo sin filtrar, generalmente turbia con tonos amarillos de color dorado. Sabor fresco moderadamente dulce, a menudo con notas cítricas y una espuma blanca.
- **Saison:** cerveza dorada originada en las cervecerías belgas, con una textura seca, muy frutal, su espuma es de color marfil de larga duración que produce el clásico 'encaje belga' que se ve en las paredes de la copa.
- **Lambic:** cerveza amarga que tiene un color pálido y sabores terrosos, frutales, un final muy seco, su espuma es muy espesa.
- **Bavarian Weizen/Weissbier:** cerveza de trigo, originaria del sur de Alemania. Es turbia y cuenta con un color pálido o de color ámbar, sabores de plátano y con acentuación a clavo de olor. Su espuma es blanca de larga duración.
- **American Wheat:** cerveza de trigo, originaria de Estados Unidos. Es pálida con un color dorado, su espuma es de larga duración y blanca. Generalmente es más amarga que las cervezas de trigo alemanas.
- **Weizenbock:** cerveza de trigo alemana con un color entre ámbar oscuro y dorado oscuro. Es turbia en apariencia y cuenta con un aroma y sabor frutal. Su espuma es de color marrón claro, y de larga duración.
- **Pilsner (Bohemian y Bavarian):** elaborada por primera vez en la República Checa (Bohemia). Es de color claro, cuenta con una luz de color dorado intenso y espuma blanca. La Pilsner de Bohemia fue posteriormente adaptada a las condiciones de elaboración de la cerveza en Alemania.
- **Dortmunder:** cerveza de gran cuerpo, con un sabor más a lúpulo que la Pilsner.
- **Standard American Lager:** cerveza de color pálido amarillo, muy burbujeante y con espuma blanca espumosa que se disipa rápidamente.
- **Oktoberfest:** cerveza color ámbar, originaria de Alemania. Es una cerveza con claridad luminosa, con un rico aroma a malta alemana.
- **Munich Dunkel:** cerveza de estilo bávaro, muy suave con un fuerte sabor a malta, un poco dulce y espuma de color marrón claro cremoso.
- **American Amber Lager:** versión artesanal de la cerveza lager. Esta cerveza está llena de sabor, con gustos caramelo y con más aroma a lúpulo que sus predecesoras europeas.

- **Bock:** cerveza de color ámbar profundo e intenso con sabor a malta tostada. La Bock presenta una pequeña presencia de lúpulo y una gran espuma cremosa de color blanco.
- **Doppelbock:** una versión más oscura de Bock con sabor a malta muy fuerte, gran aroma a caramelo y un mayor contenido de alcohol.
- **Fruit or spiced beer:** cervezas con alto sabor frutal y/o especias, no consideradas dentro de otro estilo tradicional.
- **Hyper-Beers:** con un contenido de alcohol superior al 20 %, estas cervezas especiales pueden tener un sabor y la audacia similar al jerez u oporto.
- **Stout:** cerveza de Irlanda de color negro fuerte y muy cremosa, con un fuerte sabor a malta tostada.
- **Porter:** cerveza oscura muy sabrosa (más ligera que la Stout) con malta tostada o sabores de cebada, en ocasiones chocolate.
- **Russian imperial Stout:** cerveza negra extra-fuerte, fue muy popular en la corte imperial de Rusia, con un carácter intenso y sabores a fruta asada. Alto contenido de alcohol, su espuma es de color intenso bronceado.
- **Barley Wine:** cerveza muy fuerte originaria de Inglaterra, de color rojo oscuro, que a menudo contienen frutos secos y caramelo.

Perfiles usuales para cada estilo de cerveza mencionado:

Pale Ale

- **IBU:** 30-50
- **ABV:** 4.5-6.5%
- **EBC:** 10-20
- **Nivel de Gasificación:** Moderado a alto

India Pale Ale (IPA)

- **IBU:** 40-100
- **ABV:** 5.5-7.5%
- **EBC:** 10-20
- **Nivel de Gasificación:** Alto

Red Ale

- **IBU:** 20-40
- **ABV:** 4.5-6.0%

- **EBC:** 20-40
- **Nivel de Gasificación:** Moderado

Brown Ale

- **IBU:** 20-40
- **ABV:** 4.0-5.5%
- **EBC:** 30-60
- **Nivel de Gasificación:** Bajo a moderado

Abbey Dubbel

- **IBU:** 15-25
- **ABV:** 6.5-7.5%
- **EBC:** 50-100
- **Nivel de Gasificación:** Bajo a moderado

Abbey Tripel and Strong Golden Ale

- **IBU:** 25-40
- **ABV:** 7.5-9.5%
- **EBC:** 20-40
- **Nivel de Gasificación:** Moderado a alto

Witbier (White Ale)

- **IBU:** 8-20
- **ABV:** 4.5-5.5%
- **EBC:** 5-15
- **Nivel de Gasificación:** Alto

Saison

- **IBU:** 20-35
- **ABV:** 5.0-7.0%
- **EBC:** 10-25
- **Nivel de Gasificación:** Alto

Lambic

- **IBU:** 0-10

- **ABV:** 4.0-6.0%
- **EBC:** 5-15
- **Nivel de Gasificación:** Moderado a alto

Bavarian Weizen/Weissbier

- **IBU:** 8-15
- **ABV:** 4.0-5.5%
- **EBC:** 10-20
- **Nivel de Gasificación:** Alto

American Wheat

- **IBU:** 10-20
- **ABV:** 4.0-5.5%
- **EBC:** 10-20
- **Nivel de Gasificación:** Alto

Weizenbock

- **IBU:** 15-30
- **ABV:** 6.5-8.0%
- **EBC:** 30-50
- **Nivel de Gasificación:** Moderado

Pilsner (Bohemian y Bavarian)

- **IBU:** 30-45
- **ABV:** 4.5-6.0%
- **EBC:** 8-20
- **Nivel de Gasificación:** Alto

Dortmunder

- **IBU:** 20-30
- **ABV:** 5.0-6.0%
- **EBC:** 15-25
- **Nivel de Gasificación:** Moderado a alto

Standard American Lager

- **IBU:** 8-20
- **ABV:** 4.0-5.0%
- **EBC:** 6-12
- **Nivel de Gasificación:** Alto

Oktoberfest

- **IBU:** 20-30
- **ABV:** 5.0-6.0%
- **EBC:** 20-30
- **Nivel de Gasificación:** Moderado

Munich Dunkel

- **IBU:** 20-30
- **ABV:** 4.5-5.5%
- **EBC:** 30-50
- **Nivel de Gasificación:** Bajo a moderado

American Amber Lager

- **IBU:** 20-30
- **ABV:** 4.5-5.5%
- **EBC:** 20-30
- **Nivel de Gasificación:** Moderado

Bock

- **IBU:** 20-30
- **ABV:** 6.0-7.5%
- **EBC:** 30-50
- **Nivel de Gasificación:** Bajo a moderado

Doppelbock

- **IBU:** 20-30
- **ABV:** 7.0-12.0%
- **EBC:** 50-100
- **Nivel de Gasificación:** Bajo

Fruit or Spiced Beer

- **IBU:** 10-30 (varía según el estilo)
- **ABV:** 4.0-8.0% (varía según el estilo)
- **EBC:** 5-30 (varía según el estilo)
- **Nivel de Gasificación:** Moderado a alto (varía según el estilo)

Hyper-Beers

- **IBU:** 30-60 (varía según el estilo)
- **ABV:** >20%
- **EBC:** 20-80 (varía según el estilo)
- **Nivel de Gasificación:** Bajo a moderado (varía según el estilo)

Stout

- **IBU:** 30-60
- **ABV:** 4.0-7.0%
- **EBC:** 70-120
- **Nivel de Gasificación:** Bajo a moderado

Porter

- **IBU:** 20-40
- **ABV:** 4.0-6.0%
- **EBC:** 40-70
- **Nivel de Gasificación:** Bajo a moderado

Russian Imperial Stout

- **IBU:** 50-80
- **ABV:** 8.0-12.0%
- **EBC:** 70-120
- **Nivel de Gasificación:** Bajo

Barley Wine

- **IBU:** 40-100
- **ABV:** 8.0-12.0%
- **EBC:** 20-50
- **Nivel de Gasificación:** Bajo a moderado

2.3.5. Materias primas

- **Agua**

El 95% de la cerveza es agua, para una buena producción de cerveza es necesario tener una buena fuente de abastecimiento de agua con las características fisicoquímicas y microbiológicas necesarias para un buen desarrollo del proceso; se dice que aguas ricas en sulfato cálcico son ideales para la producción de cerveza Pale Ale, por otro lado, las aguas blandas son las que mejor se aprovechan para cervezas tipo Lager, aguas ricas en bicarbonato de calcio mejoran el sabor de las cervezas oscuras, otro aspecto en el que el agua tiene gran relevancia es en el proceso de limpieza. Siendo indispensable que el agua tenga sus parámetros indicados para una satisfactoria limpieza (Palmer, J., & Kaminski, C, 2009).

- **Levadura**

Las levaduras son organismos eucariotas, su principal función es transformar los azúcares en alcohol y dióxido de carbono, poseen reproducción tipo sexual y asexual (Jamil Zainasheff, 2014). Señala además que, los aspectos generales en el uso de la levadura en la fermentación de la cerveza son:

- Tipos de levadura empleadas en la preparación de las cervezas.
- Bioquímica de las levaduras al fermentar el mosto.
- Reutilización de la levadura para la producción de cerveza '*repitch*'.
- Daños generados por la reutilización de la cepa en su reutilización para fermentar.

- **Malta**

La malta puede provenir de diversos granos de cereales, siendo los de la cebada los más adecuados para el proceso de fermentación.

Las fuentes de carbono utilizadas por las levaduras varían desde los carbohidratos hasta los aminoácidos. Además, la capacidad de utilizar ciertos tipos de azúcares ha sido tradicionalmente empleada para la caracterización de las distintas razas que esta especie presenta. Entre los azúcares que puede utilizar están monosacáridos como la glucosa, fructosa, y manosa, entre otros. También son capaces de utilizar disacáridos como la maltosa y la sacarosa y trisacáridos como la rafinosa. Uno de los azúcares que no puede metabolizar es la lactosa, utilizándose este azúcar para distinguir esta especie de *Kluyveromyces lactis*. (John Mallett, 2014).

La cebada (*Hordeum vulgare*) pertenece a la familia Gramineae, originaria del Asia oriental, habiendo dos variedades, cebada cervecera y cebada de dos carreras, la última es la más recomendada para la elaboración de cerveza ya que contiene la mayor cantidad de azúcares fermentables, el grano de cebada posee tres partes, cáscara, embrión y endospermo. El último es la reserva de la planta para recibir nutrientes, siendo almidón duro e insoluble (Miller, T, 2021).

Cuando las condiciones son las adecuadas, el embrión libera unas sustancias, principalmente ácido giberélico, activando las enzimas que catalizan las proteínas y el almidón a formas más solubles. La malta se puede manipular midiendo el tamaño del embrión, para cervezas tipo Lager se busca una malta 'Lager Malt', acortando el brote, habiendo mayor cantidad de azúcares y conteniendo proteínas de mayor peso molecular siendo más complicado su digestión a aminoácidos, una malta para producir una cerveza tipo Pale Ale, se usa 'Pale Malt', habiendo desarrollado más el crecimiento del brote (Harrison, L. 2021).

- **Lúpulo**

El lúpulo (*Húmulus lupulus*), es una planta de la familia Cannabaceae cuyos frutos tienen como fin darle aromas agradables a la cerveza y sabores con tonos amargos, solo se utilizan las flores de la planta femenina antes de que sean fecundadas. Los conos contienen en su interior glándulas que poseen resinas, siendo estas las que aportan los aromas y sabores deseados (Stan Hieronymus, 2012).

2.3.6. Proceso de elaboración de la cerveza

Según Mendoza et al. (2022), el proceso de elaboración de cerveza artesanal consta de las siguientes etapas fundamentales:

- **Recepción de Materias Primas:** Se reciben y verifican los ingredientes como la malta, lúpulo, levadura y agua.
- **Molienda:** La malta se muele para facilitar la extracción de los azúcares durante la maceración.

- **Maceración:** La mezcla de malta molida con agua caliente tiene como objetivo activar las enzimas responsables de convertir los almidones presentes en la malta en azúcares fermentables.
- **Lavado del Grano:** Después de la mezcla, se procede a separar el líquido azucarado, conocido como mosto, de los sólidos de la malta, logrando obtener un mosto claro.
- **Cocción:** El mosto se lleva a ebullición y se incorpora el lúpulo para contribuir con el amargor, sabor y aroma característicos de la cerveza.
- **Enfriado:** Se procede a enfriar rápidamente el mosto para detener el proceso de cocción y prepararlo para la fermentación.
- **Fermentación:** Se añade la levadura al mosto con el fin de iniciar la fermentación, donde los azúcares se convierten en alcohol y dióxido de carbono.
- **Maduración:** La cerveza fermentada se deja reposar para permitir que los sabores se desarrollen y se vuelvan más suaves con el tiempo.
- **Embotellado:** La cerveza se embotella, y se puede realizar la carbonatación de forma natural (añadiendo azúcar) o forzada (inyectando CO₂).

2.3.7. Clasificación de la cerveza

La amplia diversidad de la cerveza hace que su clasificación sea una tarea desafiante incluso para los expertos más experimentados. Esta complicación surge de la interacción de múltiples variables que influyen en sus características. González (2017), indica que se puede abordar esta clasificación desde diferentes perspectivas:

- Una forma de clasificar la cerveza es por su aspecto, que se basa en rasgos visuales como el color y la turbidez. Por ejemplo, algunas cervezas se caracterizan por tener tonalidades más oscuras mientras que otras son más claras.
- Otro enfoque es clasificarla según el método de elaboración. Algunas cervezas, como las ahumadas, permiten que el humo de la leña impregne el grano, otorgándoles un aroma distintivo. Por otro lado, las cervezas de doble malta tienen un mayor contenido alcohólico debido a su proceso de elaboración.
- También se puede clasificar según los ingredientes empleados. A menudo, se sustituyen algunos elementos básicos por cereales como trigo, avena, centeno o maíz, ya sea por razones técnicas o económicas.

- La procedencia también es un criterio de clasificación relevante. Las cervezas pueden ser alemanas, belgas, británicas, americanas, escocesas, entre otras, cada una con características distintivas que reflejan su origen geográfico y cultural.
- Finalmente, se pueden clasificar según el tipo de fermentación. Aquí encontramos dos grandes grupos: las cervezas Ale, que se elaboran a altas temperaturas, y las cervezas Lager, que requieren ambientes fríos para su fermentación. Esta distinción en el proceso de fermentación influye en el sabor y las características finales de la cerveza.

2.4. Definición de términos básicos

2.4.1. Materias primas

En la elaboración de cerveza, las materias primas fundamentales son el agua, la malta de cebada, el lúpulo y la levadura. Cada una de estas materias primas desempeña un papel esencial en el proceso de producción de la cerveza artesanal, contribuyendo con sabores, aromas y atributos distintivos a la bebida final (López Cantos et al., 2023).

2.4.2. Agua

El agua representa aproximadamente el 90% de la composición de la cerveza y desempeña un papel fundamental en varios aspectos del proceso de elaboración. Se encarga de disolver los ingredientes, extraer los sabores de la malta y el lúpulo, y facilitar la fermentación con la levadura. La calidad del agua utilizada ejerce un impacto significativo en el sabor y el perfil aromático de la cerveza final (Rettberg et al., 2018).

2.4.3. Levadura

La levadura desempeña un papel crucial en el proceso de elaboración de la cerveza, siendo el agente responsable de la fermentación. Durante este proceso, convierte los azúcares presentes en el mosto en alcohol y dióxido de carbono. Además de su función fermentativa, la levadura también ejerce una influencia significativa en el perfil de sabores y aromas de la cerveza, la cual varía según el tipo de cepa utilizada (Rettberg et al., 2018).

2.4.4. Malta

La malta de cebada aporta los azúcares necesarios para la fermentación, así como sabores y colores característicos. Durante el proceso de malteado, los granos de cebada germinan y se secan, lo que activa enzimas que convierten el almidón en azúcares fermentables (Nardini & Garaguso, 2020).

2.4.5. Lúpulo

El lúpulo se utiliza principalmente como agente de amargor para equilibrar la dulzura de la malta, pero también aporta sabores florales y aromas, cítricos o herbales a la cerveza. Además, el lúpulo actúa como conservante natural y contribuye a la estabilidad de la cerveza (Nardini & Garaguso, 2020).

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. Hipótesis general

Se puede diseñar un protocolo de repique de levadura en la producción de la cerveza artesanal estilo IPA, elaborado por la empresa Magdalena, cervecería artesanal.

3.2. Hipótesis específicas

- Se puede reutilizar las cepas de levadura para fermentar cerveza una cierta cantidad de veces, sin modificar el sabor original.
- Se puede reutilizar las cepas de levadura para fermentar cerveza siempre que sea almacenado a una temperatura adecuada.
- Se puede reutilizar las cepas de levadura para fermentar cerveza siempre que se almacene un tiempo determinado.

3.3. Definición conceptual de las variables

- Diferencia significativa entre los grupos de cerveza: es el nivel de diferencia que pueden percibir los consumidores a través de un análisis sensorial triangular y la evaluación estadística de los resultados.
- Viabilidad de levaduras: estudio que permite calcular cuantas levaduras quedan vivas en una determinada porción de biomasa.
- Grado de alcohol: El grado de alcohol en las cervezas, también conocido como alcohol por volumen (ABV, por sus siglas en inglés), es una medida de la cantidad de etanol presente en la bebida, la Métrica de Alcohol por Volumen (ABV) se expresa como un porcentaje del volumen total de la bebida respecto al del etanol presente en la bebida.

3.4. Operacionalización de las variables

3.4.1. Variable independiente

- Tiempo de almacenamiento de la levadura repicada.
- Temperatura de almacenamiento de la levadura repicada.

3.4.2. Variables Dependientes

- Grado de alcohol producido en un número de días determinados de fermentación.
- Viabilidad de la levadura.
- Diferencia significativa entre los lotes de cerveza producidos en el estudio.

3.4.3. Dimensiones

- Temperatura de congeladora.
- Temperatura de la levadura.
- Cantidad de días.
- Número de veces que se utiliza la levadura.
- Recuento de levaduras.
- Recuento de levaduras viables.
- Densidad del mosto.
- Prueba triangular.

3.4.4. Indicadores

- Grados centígrados (C°).
- Número de días que puedes almacenar biomasa de levadura.
- Cuantas veces la misma levadura puede fermentar mosto.
- UFC.
- Células por m².
- El peso de un litro de mosto (g/m³).
- Grados Brix (Bx°).
- Diferencias significativas.

3.4.5. Técnica estadística

- Pruebas experimentales.
- Análisis estadísticos de datos:

- Método Taguchi
- Método de la superficie de respuesta (MSR)
- Análisis de varianza (ANOVA)
- Prueba de Duncan
- Prueba triangular sensorial

3.4.6. Método y técnica

- Método: Cuantitativa.
- Técnica: Experimental.

IV. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1. Tipo de investigación

El presente estudio de investigación reúne las condiciones necesarias para ser denominado como investigación aplicada.

4.2. Metodología cuantitativa orientada a conclusiones

El objeto de estudio es externo al sujeto que lo investiga, tratando de lograr la máxima objetividad y obtener resultados numéricos para algunas variables y establecer una comparación con resultados obtenidos por otros autores.

4.3. Diseño de investigación

4.3.1. Experimental

Se realiza una serie de procesos que modifican los datos existentes para el análisis, propiciando nuevos conceptos debido a la propuesta que se va a realizar. Así mismo se llevarán a cabo en laboratorios varios de los análisis en el producto final.

Se manipulan las variables, en este caso, como variable de respuesta se usa el análisis sensorial para la cerveza artesanal obtenida con levaduras repicadas.

- Viabilidad de levadura durante su almacenamiento: Se propagará levadura *Saccharomyces cerevisiae* de la marca STAR PARTY ALE en el laboratorio de Biorefinería De La Universidad Nacional Agraria La Molina (anexo 1) con la finalidad de tener una levadura desde un repique 0 homogénea y suficiente para los ensayos, hasta alcanzar un crecimiento de 1,3 log, se almacenará la levadura obtenida durante 15 días a distintas temperaturas y se realizarán el conteo de levadura a los 5, 10 y 15 días (anexo 3), por triplicado, se tomará el promedio, la desviación estándar y el análisis de varianza para evaluar la correlación de los datos. Una vez determinado el tiempo y temperatura óptima de almacenamiento de la levadura, Se volverá a propagar levadura del mismo modo desde un sobre de levadura *Saccharomyces cerevisiae* de la marca STAR PARTY ALE, en paralelo una porción se almacenará el tiempo óptimo máximo y se utilizará para

fermentar 50 L mosto de cebada con lúpulo para generar cerveza estilo IPA y la otra porción se almacenará durante 15 días a distintas temperaturas y se realizarán el conteo de levadura a los 5, 10 y 15 días, por triplicado, se tomará el promedio, la desviación estándar y el análisis de varianza para evaluar la correlación de los datos, posterior a la fermentación, en paralelo una porción se almacenará el tiempo optimo máximo y se utilizará para fermentar 50 L mosto de cebada con lúpulo para generar cerveza estilo IPA y la otra porción se almacenará durante 15 días a distintas temperaturas y se realizarán el conteo de levadura a los 5, 10 y 15 días, por triplicado, se tomará el promedio, la desviación estándar y el análisis de varianza para evaluar la correlación de los datos 2 veces consecutivas.

- Prueba sensorial: una vez obtenido los 3 lotes de cerveza fermentado consecutivamente con la misma levadura luego de su almacenamiento optimo, Se realizará una prueba triangular de 30 panelistas y los datos obtenidos serán sometidos a la prueba de Duncan para corroborar si existe diferencia significativa entre los 3 lotes.

4.3.2. Alcance de la investigación

La investigación es de tipo exploratoria, pues, se realiza cuando el objetivo es examinar un tema o problema de investigación poco estudiado, del cual se tienen muchas dudas o no se ha abordado antes. Es decir, cuando la revisión de la literatura revela que tan solo hay guías no investigadas e ideas vagamente relacionadas con el problema de estudio, o bien, si se desea indagar sobre temas y áreas desde las perspectivas de los autores.

Así mismo la investigación es descriptiva, pues este tipo de investigación se basa en la descripción de eventos, situaciones o hechos, los estudios descriptivos buscan especificar las propiedades, las características y los aspectos importantes del fenómeno que se somete a análisis.

La investigación es del tipo cuantitativa, ya que obtiene resultados como porcentaje de viabilidad, porcentaje del grado alcohólico, entre otros.

4.4. Población y muestra

4.4.1. Población

El universo de la población materia de estudio está conformado por las bebidas denominadas cervezas, producidas de manera artesanal.

4.4.2. Muestra

Para determinar las condiciones óptimas de almacenamiento, se combinan las 3 variables dependientes con 3 niveles cada uno, teniendo 27 combinaciones en total. Cada muestra tiene 3 repeticiones de la variable independiente.

Para determinar el grado de diferencia en la fermentación de cada repique, se combinan las 3 variables dependientes con 2 niveles cada uno, teniendo 6 combinaciones en total. Cada muestra tiene 3 repeticiones más.

4.5. Técnicas e instrumento de recolección de datos

4.5.1. Técnicas

La técnica que utilizará este estudio es la evaluación sensorial, y los análisis de resultados para la optimización se realiza con la metodología de superficie de respuesta, usando el programa MINITAB.

Se determinarán las condiciones óptimas de almacenamiento, se utiliza la técnica de recuento de células en cámara de Neubauer y tinción de células para determinar su viabilidad.

Para conocer el grado alcohólico de la cerveza se usó la técnica de gravimetría. Se determinará que el producto es inocuo analizando los parámetros de coliforme por filtración usando el reactivo chromocult® y recuento total de aerobios mesófilos por petrifilm.

4.5.2. Instrumentos

- La evaluación sensorial mediante prueba triangular.

- Microscopio.
- Cámara de Neubauer.
- Software MINITAB.
- Cabina de seguridad.
- Material de laboratorio estéril.
- Balanza analítica.
- Tanque fermentador de acero inoxidable.
- Barril fermentador.
- Cabina sensorial.
- Medios de cultivo.
- Brixómetro.
- Densímetro en escala gravedad.
- pH-metro.

4.5.3. Procesamiento de datos

- **Evaluación sensorial**

Se utilizarán pruebas sensoriales triangulares para evaluar si los panelistas llegan a percibir diferencias entre cada uno de los grupos evaluados, el panel indica que atributo de la cerveza es el diferenciador.

Los resultados se evaluarán a través de la prueba de Duncan para determinar si existe diferencia significativa entre cada una de las cervezas generadas.

Los puntajes numéricos para cada muestra se tabularán y analizarán utilizando el análisis de varianza (ANOVA), para determinar si existen diferencias significativas en el promedio de los puntajes asignados a las muestras y se realiza una prueba de Tukey para comprobar si existe o no diferencia significativa entre las muestras.

- **Etapa de screening**

El diseño usado es diseño factorial 3k con puntos centrales para 9 tratamientos que estime la existencia de la curvatura. Las variables consideradas serán:

- Control de concentración de alcohol por densímetro.
- Control de la degradación de los azúcares por brixómetro.

- **Etapa de optimización final**

Se utilizará el método Taguchi para determinar las variables más relevantes y el método de la superficie de respuesta, la metodología de superficie de respuesta (MSR) es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas útiles para modelar y analizar problemas en los cuales una respuesta de interés es influenciada por varias variables, siendo el objetivo optimizar esta respuesta.

4.5.4. Procedimiento experimental

- **Proceso de elaboración de la cerveza**

Gráfico 4.1

PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA CERVEZA



Fuente: Elaboración propia

Gráfico 4.2

Diagrama del estudio de investigación



Fuente: Elaboración propia

V. RESULTADOS

5.1. Resultados descriptivos

Tabla 1

Diseño de experimento del porcentaje de viabilidad (%) para el repique 0

Temperatura (°)	Días										
	5				10				15		
-4 °	65	61	59		50	63	54		48	52	55
5 °	96	95	92		87	91	84		91	87	81
15 °	79	72	65		62	51	66		30	27	22

$$\bar{y} = 66.1$$

$$\bar{\sigma}_y = 21$$

En la tabla 1, se revelan los valores para el porcentaje de viabilidad del repique 0, para los diferentes niveles de temperatura y de días, de esa forma se obtiene un promedio de 66.1% y una desviación estándar de 21%, indicando que los valores tendrían una diferencia promedio de 21 unidades.

Tabla 2

Diseño de experimento del porcentaje de viabilidad (%) para el repique 1

Temperatura (°)	Días										
	5				10				15		
-4 °	68	55	68		59	58	55		52	51	58
5 °	91	93	98		85	92	91		82	91	87
15 °	77	73	71		59	62	64		30	23	26

$$\bar{y} = 67.4$$

$$\bar{\sigma}_y = 20.7$$

En la tabla 2, se revelan los valores para el porcentaje de viabilidad del repique 1, para los diferentes niveles de temperatura y días de almacenamiento, de esa forma se obtiene un promedio de 67.4% y una desviación estándar de 20.7%, indicando que los valores tendrían una diferencia promedio entre cada dato.

Tabla 3

Diseño de experimento del porcentaje de viabilidad (%) para el repique 2

Temperatura (°)	Días										
	5			10			15				
-4 °	69	57	63		55	61	52		54	52	55
5 °	92	95	97		86	90	92		90	86	87
15 °	71	75	72		53	66	62		31	24	26

$\bar{y} = 67.1$
 $\bar{\sigma}_y = 20.9$

En la tabla 3, se publican los valores para el porcentaje de viabilidad del repique 2, para los diferentes niveles de temperatura y días de almacenamiento, de esa forma se obtiene un promedio de 67.1% y una desviación estándar de 20.9%, indicando que los valores tendrían una diferencia promedio entre cada dato.

Tabla 4

Resultados Fisicoquímicos y microbiológicos de la cerveza 0, 1 y 2

Análisis Fisicoquímicos			
Parámetros	Cerveza 0	Cerveza 1	Cerveza 2
Alcohol	6.5 %	6.5 %	6.7 %
IBU	35	35	32
Gravedad específica inicial	1057	1052	1054
Gravedad específica final	1010	1010	1010
Grados brix inicial	14	14	14
Acidez	4.2	4.4	4.1
Análisis Microbiológicos			
Parámetros	Cerveza 0	Cerveza 1	Cerveza 2
Recuento de aerobios mesófilos	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC
Recuento de mohos	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC

Recuento de coliformes	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC
Identificación de lactobacillus/ pediococcus	Positivo CT 33	Positivo CT 33	Positivo CT 33

En la tabla 4, se publican los valores para los análisis fisicoquímicos y microbiológicos.

5.2. Resultados inferenciales

Tabla 5
Análisis de varianza para el porcentaje de viabilidad (%)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	6	30977.1	5162.9	128.74	0.000
Lineal	4	6470.8	1617.7	40.34	0.000
Temperatura	1	224.1	224.1	5.59	0.021
Días	1	6222.3	6222.3	155.16	0.000
Repique	2	24.4	12.2	0.3	0.739
Cuadrado	1	21432.6	21432.6	534.43	0.000
Temperatura*Temperatura	1	21432.6	21432.6	534.43	0.000
Interacción de 2 factores	1	3105	3105	77.43	0.000
Temperatura*Días	1	3105	3105	77.43	0.000
Error	74	2967.7	40.1		
Falta de ajuste	20	1917	95.8	4.93	0.000
Error puro	54	1050.7	19.5		
Total	80	33944.8			

$$R^2 = 91.26\%$$

En la tabla 5, se observan los resultados del análisis de varianza para el porcentaje de viabilidad (%). De esa forma, la temperatura obtiene un valor-p significativo ($p=0.021 < 0.05$), al igual que los días ($p=0.000 < 0.05$), ello indica que ambos factores son determinantes para explicar el porcentaje del modelo del porcentaje de viabilidad, en otras palabras, se obtuvo diferencias significativas para los promedios de cada nivel de los factores (temperatura y días de almacenamiento). Asimismo, se optó por agregar la temperatura como factor cuadrático y la interacción entre la temperatura y los días de

almacenamiento para mejorar la explicación del modelo de porcentaje de viabilidad, en donde cada factor no lineal obtuvo valores-p significativos ($p = 0.000 < 0.05$). Por otra parte, el repique fue un factor que obtuvo valores-p no significativos ($p = 0.739 > 0.05$), lo que significa que cada categoría del repique se obtuvo similares promedios del porcentaje de viabilidad. Por último, el modelo en general fue significativo ($p = 0.000 < 0.05$), lo que se traduce que es adecuado para explicar de buena forma el porcentaje de viabilidad (%), es importante destacar que el coeficiente de determinación fue igual a 91.26%, este indicado señala el porcentaje de variabilidad explicada por parte del modelo, o sea, que el modelo estimado, explica el 91.26% de la variabilidad de la variable dependiente porcentaje de viabilidad, siendo muy bueno para el análisis.

Figura 1
Ecuaciones de regresión para el porcentaje de viabilidad (%) en cada categoría de repique

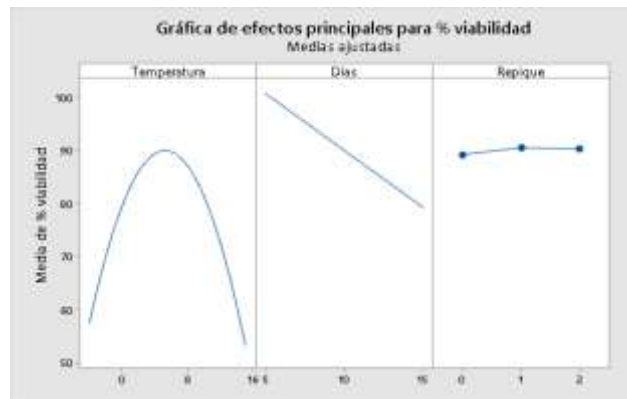
Ecuación de regresión en unidades no codificadas	
Repique	
0	% viabilidad = $89.49 + 5.959 \text{ Temperatura} - 1.073 \text{ Dias}$ $- 0.3836 \text{ Temperatura} * \text{Temperatura} - 0.1954 \text{ Temperatura} * \text{Dias}$
1	% viabilidad = $90.75 + 5.959 \text{ Temperatura} - 1.073 \text{ Dias}$ $- 0.3836 \text{ Temperatura} * \text{Temperatura} - 0.1954 \text{ Temperatura} * \text{Dias}$
2	% viabilidad = $90.52 + 5.959 \text{ Temperatura} - 1.073 \text{ Dias}$ $- 0.3836 \text{ Temperatura} * \text{Temperatura} - 0.1954 \text{ Temperatura} * \text{Dias}$

Nota. Resultados obtenidos a través del programa Minitab 19

En la figura 1, se detallan las ecuaciones de regresión para el porcentaje de viabilidad para cada categoría del repique. Aunque se haya encontrado que no existe diferencia para cada tipo de repique, se optó por tomar en cuenta cada categoría, de esta forma, se puede predecir el porcentaje de viabilidad estimado para cada condición de temperatura y días de almacenamiento dados.

Figura 2

Gráfica de efectos principales para la temperatura, días de almacenamiento y repique

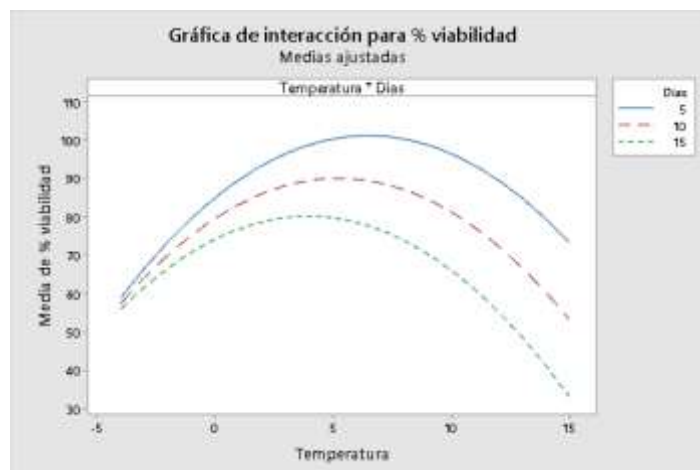


Fuente: Elaboración propia

En la figura 2, se observan los gráficos de efectos principales para la temperatura, días y el repique. En la temperatura, se aprecia que la relación con el porcentaje de viabilidad es de forma no lineal (cuadrática), también es relevante destacar, que se obtiene un mayor valor de porcentaje de viabilidad, cerca de las temperaturas de 5 °. Con respecto a los días, se detalla una relación lineal con la variable dependiente y que a medida que pasan los días el porcentaje de viabilidad disminuye. Por otro lado, el repique no tiene mucha diferencia para cada categoría señalada, pues se obtienen promedios casi iguales.

Figura 3

Gráfica de interacción entre la temperatura y los días de almacenamiento para explicar el porcentaje de viabilidad.

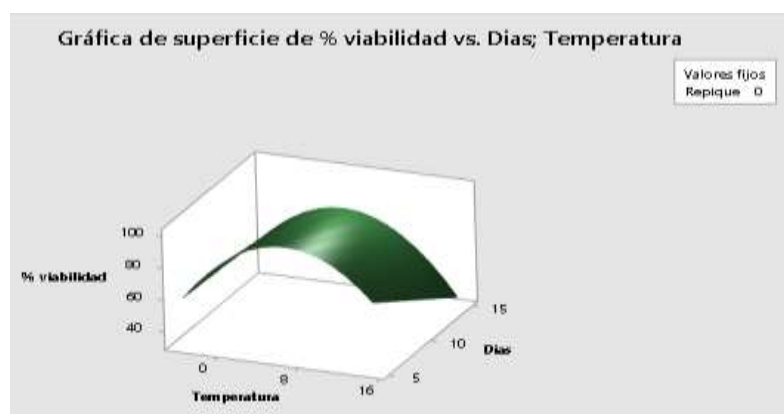


Fuente: Elaboración propia

En la figura 3, se muestra gráficamente la interacción entre la temperatura y los días de almacenamiento, con ello mencionado, en la temperatura de 5°C se obtienen mejores valores del porcentaje de viabilidad, y que el día 5 de almacenamiento, se obtiene mejores valores en la variable respuesta. Entonces, se logra identificar que en la temperatura de 5°C y día 5 de almacenamiento, se obtiene mejores porcentajes de viabilidad.

Figura 4

Gráfico de superficie de respuesta para el porcentaje de viabilidad para cada nivel temperatura y de días de almacenamiento

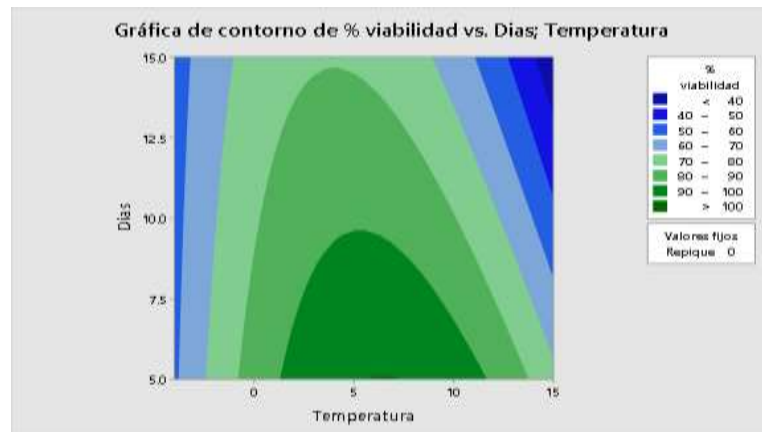


Fuente: Elaboración propia

Se muestra en la figura 4, el gráfico de superficie de respuesta para el porcentaje de viabilidad, incluyendo los factores de temperatura y días de almacenamiento. Observándose la curva entre la temperatura y el porcentaje de viabilidad., al igual que la relación de los días. Este nos ayudará a identificar los puntos en los ejes X e Y, para optimizar la variable respuesta.

Figura 5

Gráfico de contorno del porcentaje de viabilidad (%) incluyendo la temperatura y los días de almacenamiento

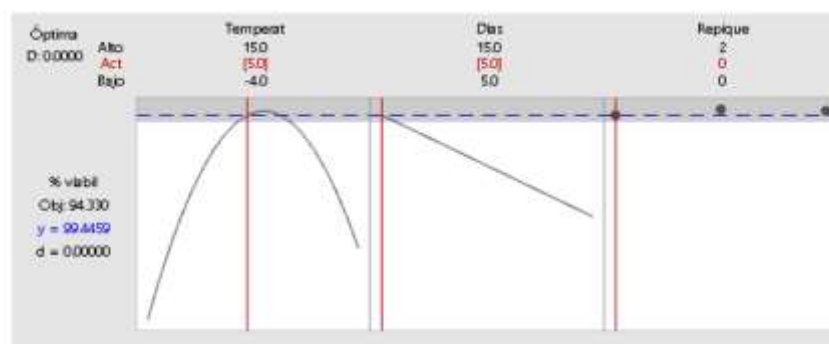


Fuente: Elaboración propia

El gráfico mostrado en la figura 5, muestra las áreas donde se obtienen los mayores valores de viabilidad, de esa manera el área azul indica valores menores a 40% y el verde oscuro valores mayores a 90%. Con ello mencionado, se halla que en el intervalo de 1°C - 10°C y que en los días 5 a 8, se encuentra el área con los mayores valores obtenidos del modelo.

Figura 6

Optimización de respuesta para el porcentaje de viabilidad



Predicción

EE de		IC de 95%		IP de 95%	
Ajuste	ajuste				
99.4459	1.79431	(95.8706;	103.021)	(86.3309;	112.561)

En la figura 6, se obtiene el punto máximo óptimo del porcentaje de viabilidad. Es por ello, que bajo las condiciones de temperatura de 5°C y 5 días de almacenamiento se obtiene un aproximado de 99.45% de porcentaje de viabilidad, en dicha predicción se tomó en cuenta el repique 0, aunque es indiferente este último dato, ya que los valores para cada categoría de repique se hallaron que no existe diferencias significativas, indicando que se obtendrán similares valores. Entonces se concluye que, bajo la temperatura de 5°C y 5 días de almacenamiento se obtiene el punto óptimo máximo de 99.45% de porcentaje de viabilidad.

5.3. Prueba sensorial triangular

Se realizó el análisis sensorial discriminativo-triangular, realizado por diferentes panelistas, con el propósito de determinar si hay diferencia significativa entre las muestras.

Ho: Los panelistas no perciben diferencias entre los lotes producidos de los repiques.

H1: Los panelistas perciben diferencias significativas entre los lotes.

Tabla 6

Prueba triangular sensorial para distinguir el sabor de la cerveza producida y el repique con el que se fermentó la levadura

Lotes	N	Acertaron	No acertaron	Probabilidad	Decisión
R055 VS R155	47	9	38	0.990	No se diferencia
R255 VS R055	33	7	26	0.957	No se diferencia
R155 VS R255	42	9	33	0.968	No se diferencia

En la tabla 6, se obtienen los resultados de las pruebas sensoriales triangulares, para cada lote de repique producido, en donde se compara el sabor de la cerveza producida en cada lote. De esa forma, se obtiene que en la primera prueba realizada para los lotes R055 y R155 no se hallaron diferencias significativas ($p= 0.990 > 0.05$), puesto que de las 47 pruebas solo hubo 9 aciertos, o sea los panelistas no diferenciaron el sabor de la cerveza producida de cada lote. Asimismo, para la comparación de R255 y R055, tampoco se hallaron diferencias en el sabor, al solo haber 7 aciertos de las 33 pruebas

hechas, evidencia que se logra corroborar en la prueba estadística ($p=0.957>0.05$), aceptando la hipótesis nula de no diferencia de sabor. Por último, en la última comparación de R155 y R255, los panelistas tampoco hallaron diferencias en el sabor, debido a que de las 42 pruebas solo en 9 ocasiones acertaron, obteniendo un valor no significativo en dicha prueba ($p=0.968>0.05$), lo que se traduce que, para dicha prueba triangular, tampoco se halló diferencias en el sabor por parte de los panelistas. En conclusión, se logra comprobar que no se halló diferencia significativa entre el sabor de la cerveza producida y el repique con el que se fermentó la levadura hasta el 3er repique.

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1. Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados

De la Hipótesis General planteada: “Se puede diseñar un protocolo de repique de levadura en la producción de la cerveza artesanal estilo IPA, elaborado por la empresa “Magdalena, cervecería artesanal””, se obtiene los siguientes resultados:

- Para el repique (0) se obtuvo un promedio del 66.1% con una desviación estándar del 21%, indicando que los valores tendrían una diferencia promedio de 21 unidades.
- Para el repique (1) se tuvo un promedio de 67.4% con una desviación estándar de 20.7%, indicando así que los valores tuvieron una diferencia promedio entre cada dato.
- Para el repique (2) un promedio de 67.1% y un 20.9 % de desviación estándar, indicando que los valores tuvieron entre cada dato una diferencia promedio en base al porcentaje de viabilidad para los diferentes niveles de días de almacenamiento y temperatura.

Los porcentajes de viabilidad tienen resultados óptimos cuando se tiene una temperatura de 5°C y con el día 5 de almacenamiento con un 99.45 % de viabilidad.

Con respecto a la prueba triangular sensorial los diferentes panelistas sometidos a las pruebas indicaron que no percibieron una diferencia de sabores, para ello se evaluó de la siguiente manera R055 VS R155, R0255 VS R055 y R155 VS R255 para lo cual se tuvo como resultado que no hubo diferencias significativas aprobándose la hipótesis nula al no diferenciar el sabor en los diferentes lotes.

6.2. Contrastación de los resultados con otros estudios similares

Los resultados obtenidos se verifican con las bases teóricas y los antecedentes del proyecto, teniendo en cuenta los objetivos e hipótesis de la investigación, con la finalidad de hallar relaciones significativas. (Montecinos Mamani, 2022), en su proyecto titulado “Implementación de procedimientos de reutilización de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) para la ejecución en segundo proceso fermentativo de cervezas de producciones mínimas elaboradas en la Cervecería Artesanal Niebla Brewing Company SRL” en el cual diseñaron un procedimiento que sea aséptico con respecto al muestreo

de levaduras en unos fermentadores con capacidad de 500 L., para posteriormente realizar un análisis microbiológico y evaluar la ausencia o presencia de microorganismos que pueden resultar ser dañinos al momento de reutilizar levaduras en su siguiente fermentación; el diseño con respecto al procedimiento logró recircular la levadura que se recuperó y se obtuvieron productos de muy buena calidad logrando aminorar gastos en la materia prima como lo es la levadura.

De igual forma en el estudio de (Cruz Daza & Meyer Sanchez, 2019) en su proyecto titulado “Evaluación de la reutilización de levadura *Saccharomyces cerevisiae* para la implementación en un segundo proceso fermentativo de la cerveza tipo Pale Ale Belga producida en la Cervecería Moonshine” realizaron también de forma previa una evaluación de los parámetros microbiológicos para establecer las óptimas condiciones del cultivo para poder reutilizar la levadura, todo proceso de fermentación y reutilización se realizó por duplicado para poder realizar una mejor comparativa entre las cervezas de referencia y las cervezas elaboradas; la cerveza elaborada por el método de Re-pitching tuvo un mejor resultado que la realizada por Moonshine.

Por otro lado, en la investigación de (Salazar Garavito, 2020) titulada “Evaluación del efecto de la reutilización de la levadura para el proceso de fermentación en la producción de cerveza artesanal del estilo Blonde Ale en la empresa Cervecería OD Colombia” obtuvieron un porcentaje del 76% con respecto al rendimiento de las fermentaciones, la segunda y tercera generación mostró un rendimiento menor en comparación con la primera del 0,4 % y 2,7 % respectivamente; con respecto a las propiedades sensoriales se mantienen en las 3 generaciones de la levadura y con ello pueden cumplir con todos los requerimiento de calidad de un producto final.

Asimismo, en la investigación de Narváez (2024) en su proyecto titulado “Efecto de la calidad del fermento *Lactiplantibacillus plantarum* (SAFSOUR LP 652) sobre la elaboración de la cerveza artesanal tipo Ale” realizó una evaluación de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos. A nivel microbiológico el fermento no obtuvo un impacto significativo, con respecto a los valores fisicoquímicos los valores obtenidos fueron los siguientes: Aumentando la acidez total a 0.77%, con una disminución en el pH a 3,6 y los grados de alcohol con un porcentaje de 6.06% en la cerveza.

De igual manera en la investigación de Segobia (2022) en su estudio “Evaluación de la adición de centeno (*Secale cereale*) en la formulación de cerveza artesanal Belgian Pale Ale” evaluó los parámetros fisicoquímicos, el pH se mantuvo en un rango de 3.50 – 4.80, un grado alcohólico de 8.53% siendo el mayor de todos los tratamientos; la investigación indica que las Belgian Pale Ale deben tener entre 4.8 % y 5.5 %. A nivel microbiológico no se presentaron resultados significativos ya que todos cumplieron con la normativa INEN 2262.

En la investigación de Latorre et al. (2022) titulada “Contaminantes microbianos en cervezas artesanales” se evaluaron 75 tipos de cervezas de las cuales 3 pertenecían al estilo Indian Pale Ale (IPA) en los cuales se evidenciaron crecimiento de microorganismos (<10 UFC/ml de cerveza) encontraron presencia de la bacteria *Levilactobacillus brevis*, *Lactobacillus* y *Pediococcus* siendo los principales contaminantes impactando en el perfil sensorial y la alteración del pH.

6.3. Responsabilidad ética de acuerdo a los reglamentos vigentes

El autor de este presente trabajo de investigación autentifica que los resultados obtenidos para la realización de este proyecto son originales y reales. Y además se hace responsable por la información declarada en el presente trabajo en base al Reglamento del Código de Ética de la Investigación de la Universidad Nacional Del Callao.

VII. CONCLUSIONES

- 7.1. Con respecto al primer objetivo específico “Estandarizar el almacenamiento de la levadura floculada para ser utilizada en el repique para la producción de cerveza artesanal en 3 lotes de cerveza artesanal estilo IPA”. Primero se aseguró una correcta conservación de las cepas microbianas, evitando la contaminación durante el proceso, luego se aseguró que las células sobrevivan al menos un 70-80 % durante el período de conservación y por último se mantuvo la estabilidad genética de las células. Para un correcto almacenamiento se consideraron diferentes tiempos (5, 10 y 15 días) y diferentes temperaturas (-4, 5, 15 °C).
- 7.2. Con respecto al segundo objetivo específico “Determinar la temperatura óptima de almacenamiento de la levadura floculada para ser utilizada en el repique para la producción de cerveza artesanal en 3 lotes de cerveza artesanal estilo IPA”. Para el repique 0, 1 y 2 se evaluaron a las temperaturas de -4, 5 y 15 °C, con un porcentaje de viabilidad de 66.1 %, 67.4 % y 67.1 % respectivamente. Los mejores porcentajes de viabilidad con un 99.45 % fue a una temperatura óptima de 5°C
- 7.3. Con respecto al tercer objetivo específico “Establecer el tiempo óptimo de almacenamiento de la levadura floculada para ser utilizada en el repique para la producción de cerveza artesanal en 3 lotes de cerveza artesanal estilo IPA”. Para el repique 0, 1 y 2 se evaluaron a los tiempos de 5, 10 y 15 días, con un porcentaje de viabilidad de 66.1%, 67.4% y 67.1% respectivamente. Los mejores porcentajes de viabilidad con un 99.45% fue a los 5 días de almacenamiento, representando un óptimo punto máximo.
- 7.4. Con respecto al cuarto objetivo específico: “Realizar análisis microbiológicos, fisicoquímicos y sensorial de los lotes obtenidos”. La prueba triangular sensorial se realizó en 3 grupos diferenciados por lotes. El lote R055 VS R155 se realizó con 47 panelistas de los cuales 9 acertaron y diferenciaron el sabor y 38 de ellos no lograron diferenciar; el lote R255 VS R055 se realizó con 33 panelistas de los cuales 7 acertaron y diferenciaron el sabor y 26 de ellos no lograron diferenciar; el lote R155 VS R255 se realizó con 42 panelistas de los cuales 9 acertaron y diferenciaron el sabor y 33 de ellos no lograron diferenciar. Todos estos resultados indicaron que no se halló una diferencia significativa con respecto al sabor entre el sabor de la cerveza producida al inicio y luego de aplicado los repiques. Se

realizó la evaluación fisicoquímica; para la cerveza 0 se obtuvo 6.5% de alcohol, 35 IBU, 1057 de gravedad específica inicial, 1010 de gravedad específica final, 14 grados Brix inicial y una acidez de 4.2; para la cerveza 1 se obtuvo 6.5% de alcohol, 35 IBU, 1052 de gravedad específica inicial, 1010 de gravedad específica final, 14 grados Brix inicial y una acidez de 4.4; para la cerveza 2 se obtuvo 6.7% de alcohol, 32 IBU, 1054 de gravedad específica inicial, 1010 de gravedad específica final, 14 grados Brix inicial y una acidez de 4.1.

- 7.5. En la evaluación microbiológica para los 3 lotes de cerveza, se obtuvo lo siguiente: El recuento de aerobios mesófilos (<10 UFC), el recuento de mohos (<10 UFC), el recuento de coliformes (<10 UFC) y por último la identificación de lactobacillus/pediococcus (positivo CT 33).

VIII. RECOMENDACIONES

- 8.1. Mejorar las condiciones de fermentación para poder seguir reutilizando la levadura y poder evaluar un mejor rendimiento, considerando las pruebas microbiológicas para garantizar la obtención de un producto de calidad.
- 8.2. La levadura aplicada por una reutilización consecutiva se podría aplicar al mismo estilo de cerveza artesanal estilo IPA, pero elaborada con otro tipo de levadura y realizar comparación en base a su rendimiento y su viabilidad.
- 8.3. Aplicar la prueba triangular sensorial a un número mayor de panelistas y tener una muestra más representativa para una evaluación óptima de resultados.
- 8.4. Realizar más pruebas con respecto a la temperatura y días de almacenamiento para ampliar el rango de datos óptimos en la elaboración de cerveza artesanal estilo IPA.
- 8.5. La levadura del proceso de fermentación para la obtención de cerveza artesanal estilo IPA puede ser reutilizada para realizar otro proceso de fermentación de otro estilo de cerveza y realizar la correspondiente comparación con los resultados obtenidos en este estudio de investigación.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albarracín Torres, K. (2020). Estudio de parámetros para la propagación de cepas de levadura en la producción de cerveza [Tesis de máster, Universidad Politécnica de Madrid]. https://oa.upm.es/63464/1/TFM_KATY_ALBARRACIN_TORRES.pdf

Boldú, A. (2011). Projecte d'una planta de fabricació de la cervesa [Tesis de grado]. Universidad Politécnica de Cataluña.

Boletín Oficial del Estado. (1995). Real Decreto No 53/1995 - Reglamentación técnico-sanitaria para la elaboración, circulación y comercio de la cerveza y de la malta líquida (Número 34, pp. 4271-4274).

Brewing Science. (n.d.). Yeast viability and propagation. Retrieved August 4, 2024, from <https://www.brewing-science.com/yeast-viability-propagation>

Carrillo Zapata, Elisa Marcela y Aura María Lozano Caicedo. 2008. Validación del método de detección de Coliformes totales y fecales en agua potable utilizando agar chromocult . Bogotá.

Cela, C. (1987). Loa del noble arte de beber cerveza. 21 Congreso Internacional de la European Brewery Convention.

Conde, M. (2001). La cerveza en el Egipto antiguo: procesos de fabricación y variedades. En M. Molina, M. Conde., y J. M. Serrano (Eds.), La cerveza en la antigüedad (pp. 39-62). Fundación Cruzcampo.

Córdova, J. A. (2015). Evaluación de métodos de conservación de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* para la producción de cerveza artesanal [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Repositorio institucional de la Universidad Nacional Agraria La Molina. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/3230/Q04-O7-T.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

Coronado Saleh, J., Rivas Castillo, J. M., & Ledesma Goyzueta, Luis. (2015). Dinámica de mercado en el largo plazo: El caso de la industria de Cerveza en el Perú. Indecopi – Gerencia de Estudios Económicos. https://www.indecopi.gob.pe/documents/1902049/3846379/%2302_2015_GEE.pdf/f097ad09-7b4a-d5c5-be32-ad2e6a3b6a91

Elías, LG; Jeffery, LE; Watts, BM; Ylimaki, GL. 1992. Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos. Ottawa, Canadá, Internacional Development Research Centre.

Espinoza, J. 2007. Evaluación sensorial de los alimentos. La Habana, Cuba, Editorial Universitaria. 116 p.

García Garibay, M., Quintero Ramirez, R., & López-Munguía Canales, A. (1993). Biotecnología alimentaria. México Limusa.

Gómez, R. 2022. La Cerveza Artesanal en Perú: Oportunidades y Desafíos. Editorial Andes.

González, M. (2017). Principios de Elaboración de las Cervezas Artesanales. Lulu.com.

Gutiérrez, E. (1993). La cerveza. Editorial Alicia Gonzales S.L.

Harper, R. 2021. The Effects of Yeast Propagation on Beer Quality. Journal of Brewing Science.

Harrison, L. (2021). El papel del ácido giberélico en la producción de malta. Journal of Brewing Science, 34(2), 112-123. <https://doi.org/10.1234/abcd5678>.

Hieronimus, S. (2012). For the love of hops: The practical guide to aroma, bitternes, and the culture of hops. Brewers Publications.

Hornsey, I. S. (2003). Elaboración de cerveza. Microbiología, bioquímica y tecnología. Editorial Acribia S.A.

ICMSF, 172, Significado de los microorganismos y de sus toxinas en los alimentos, España, León46) Diana Fernanda Olvera Castelán, 2007, Frecuencia y comportamiento de Salmonella y microorganismos indicadores de higiene en jugo de zanahoria, Hidalgo, México.

INACAL. (2022). NTP 213.014:2022. CERVEZA. Requisitos. 4a Edición.

Instituto Nacional de Calidad. (2014). Norma Técnica Peruana. Cerveza. Requisitos (NTP 213.014:2014).

Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI). (2016). NTP 213.014:2016, Cerveza - Determinación de la estabilidad del sabor. El peruano <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/1574012/Aprueban%20Normas%20T%C3%A9cnicas%20Peruanas.pdf>.

Jerez, R., & López, S. (2021). Evaluación de métodos para la conservación de cepas microbianas. Research, Society and Development, 10(4), 1-10. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i4.12211>.

Johnson, L. 2021. Craft Beer Production and Marketing Strategies. Routledge.

Kurtz, M. 2022. The Economics of Brewing: Ingredients and Costs. Brewing Science Journal.

Latorre, M., Bruzone, M., García, V., & Libkind, D. (2022). Contaminantes microbianos en cervezas artesanales embotelladas de la Patagonia andina argentina. Revista Argentina de Microbiología. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2022.05.006>

Lee, C. 2023. Maximizing Profitability in Craft Beer: Strategies and Solutions. Brewer's Publications.

López Cantos, M. Á., Mora Villafuerte, A. N., Palacios Castro, C. R., & García-Loor, G. M. (2023). Proceso de Producción de Cerveza Artesanal. Explorando dos Formulaciones: IPA al Estilo Británico y Tripel Belga. Revista Científica Y Arbitrada Del

Observatorio Territorial, Artes Y Arquitectura: FINIBUS, 6(11), 1–14.
<https://publicacionescd.uleam.edu.ec/index.php/finibus/article/view/606>

Mallett, J. (2015). Malt: A practical guide from field to brewhouse. Brewers Publications.
<https://www.google.com.pe/books/edition/Malt/w-8sCQAAQBAJ>.

Martínez, F. (1996). La cerveza en España. Cerveceros de España. Ediciones El Viso.

Mendoza, J., Pihuave, L., & Velásquez, M. (2022). Análisis comparativo del valor nutricional de la cerveza artesanal y la cerveza industrial. Revista Ciencia UNEMI, 15(38), 61-72. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8374921>

Miller, K., Box, W., Boulton, C., y Smart, K. (2012). Cell Cycle Synchrony of Propagated and Recycled Lager Yeast and its Impact on Lag Phase in Fermenter, Revista de la Sociedad Estadounidense de Químicos Cerveceros, 70(1), 1-9. doi:10.1094/ASBCJ-2011-1216-01

Miller, T. (2021). Estudio sobre la cebada y su uso en la elaboración de cerveza (Informe No. 22). Instituto de Investigación Agrícola.
<https://www.institutoagricola.org/informes/22>.

Molina, M. (2001). La cerveza en la antigua Mesopotamia. En M. Molina, M. Conde., y J. M. Serrano (Eds.), La cerveza en la antigüedad (pp. 15-38). Fundación Cruzcampo.

Moreno, A. (2012). El sector cervecero español en el siglo XX. Una visión desde dentro: El Alcázar. Investigadores de Historia Económica, 9(3), 165-174.
<https://recyt.fecyt.es/index.php/IHE/article/view/70557/42702>

Mundaca Zavaleta, M., & Tello Benel, R. (2016). Diseño e implementación del prototipo a escala del proceso de fermentación en una planta de cerveza [Tesis de licenciatura, Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas]. <http://hdl.handle.net/10757/620979>

Nardini, M., & Garaguso, I. (2020). Characterization of bioactive compounds and antioxidant activity of fruit beers. Food Chemistry, 305, 125437.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125437>

Narváez, J. (2024). Efecto de la calidad del fermento *Lactiplantibacillus plantarum* (SAFSOUR LP 652) sobre la elaboración de la cerveza artesanal tipo Ale [Tesis de licenciatura, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/22940>

O'Reilly, S. 2021. Challenges in Craft Beer Production: Ingredient Management and Supply Chain Issues. *Craft Brewers Review*.

Paan, C. (24 de Abril de 2014). La llegada de la cerveza al Perú: 151 años de historia. *El comercio*. <https://elcomercio.pe/economia/negocios/llegada-cerveza-peru-151-anos-historia-313285-noticia/>

Powell, C., y Diacetic, A. (2007). Long Term Serial Repitching and the Genetic and Phenotypic Stability of Brewer's Yeast. *Revista del Instituto de Elaboración de Cerveza*, 113(1), 67-74. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2007.tb00258.x>

Powell, C., y Fischborn, T. (2010). Serial Repitching of Dried Lager Yeast, *Revista de la Sociedad Estadounidense de Químicos Cerveceros*, 68(1), 48-56, doi: 10.1094/ASBCJ-2010-0125-01

Quispe Orejón, E. R. (2018). La industria de la cerveza artesanal en el Perú y su proyección en el mercado peruano [Tesis de maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/7969>

Quispe Orejón, E. R., & Quintanilla Alarcón, G. (2018). Barreras por las que la industria de cerveza artesanal no despegar en el Perú. *Industrial Data*, 21(1), 53-62. <https://doi.org/10.15381/idata.v21i1.14911>

Real Decreto 53/1995, de 20 de enero, por el que se aprueba la Reglamentación técnico-sanitaria para la elaboración, circulación y comercio de la cerveza y de la malta líquida. *Boletín Oficial del Estado*, 34, de 9 de febrero de 1995. <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-1995-3394>

Redacción EC. (2014, abril 24). La llegada de la cerveza al Perú: 151 años de historia. El Comercio. <https://elcomercio.pe/economia/negocios/llegada-cerveza-peru-151-anos-historia-313285-noticia/>

Rettberg, N., Biendl, M., & Garbe, L.-A. (2018). Hop Aroma and Hoppy Beer Flavor: Chemical Backgrounds and Analytical Tools—A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 76(1), 1-20. <https://doi.org/10.1080/03610470.2017.1402574>

Rodríguez, L. (2022). La cerveza, una bebida con historia. *Revista Española de Nutrición Comunitaria*, 28(Supl. 2), 47-49. https://www.renc.es/imagenes/auxiliar/files/RENC_2022_SUP_2_art_18.pdf

Sanchís, V. (2004). Aspectos tecnológicos y nutritivos de la cerveza. IV Congreso de Verano Interdisciplinar. *Avances de la ciencia y la tecnología*, 65-72.

Segobia, S. (2022). Evaluación de la adición de centeno (*Secale cereale*) en la formulación de cerveza artesanal Belgian Pale Ale. <https://doi.org/10.29019/enfoqueute.830>

Smart, K. A., & Whisker, S. (1996). Effect of Serial Repitching on the Fermentation Properties and Condition of Brewing Yeast. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 54(1), 41-44. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-54-0041>

Smith, J. 2023. *The Craft Beer Revolution: Trends and Insights*. HarperCollins.

Smith, R. 2022. Yeast Management and Quality Control in IPA Production. *International Brewing Journal*.

Steve Huxley, (2011). *La Cerveza Poesía Líquida*. Editorial Trea. Madrid, España.

Stewart, G. G., & Wickerham, L. J. (1998). Factors influencing yeast viability and fermentation performance in brewing. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 56(2), 78-83. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-56-0078>.

Toribio Tamayo, K. (2015). Evaluación de la estabilidad como starter de *Saccharomyces pastorianus* ssp. *carlsbergensis* para la producción de cerveza tipo Lager [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria La Molina]. <https://hdl.handle.net/20.500.12996/1894>

Universidad de Valencia. (n.d.). Conservación de cepas microbianas. Universitat de València. https://www.uv.es/cect2/87_Consevacion_cepas_microbianas

White, C., & Zainasheff, J. (2014). Yeast: The practical guide to beer fermentation. Brewers Publications. <https://www.google.com.pe/books/edition/Yeast/Q82QAwwAAQBAJ>

Williams, J. 2022. Factors Affecting Fermentation: A Comprehensive Review. International Journal of Brewing.

Zhuang, S., Smart, K., & Powell, C. (2017). Impact of Extracellular Osmolality on *Saccharomyces* Yeast Populations during Brewing Fermentations. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 75(3), 244-254. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2017-3505-01>

ANEXOS

Propagación de la levadura

- 1) Starter de levadura: Como starter inicial se utilizó la cepa comercial OYL-404 Star Party de la marca Omega yeast con una presentación de 150 mL el cual contiene una cantidad de $1,2 \times 10^{11}$ de células totales, suficiente para producir 20 L de cerveza. Se buscó obtener levadura suficiente para 400 L de mosto en ambas ocasiones.

Sí: para fermentar 20 L de mosto se requieren $1,2 \times 10^{11}$ cel en total.

$$\frac{20 L}{1.2 \cdot 10^{11}} = \frac{400 l}{X}$$

Para fermentar 400 L de mosto se requieren de $3.2 \cdot 10^{12}$

Para entender el crecimiento requerido en términos de logaritmos:

- Cálculo de logaritmos de las cantidades

$$\log(2 \times 10^{11}) = \log(2) + \log(10^{11}) = \log(2) + 11$$

$$\log(4 \times 10^{12}) = \log(4) + \log(10^{12}) = \log(4) + 12$$

$$\log(4) = \log(2^2) = 2\log(2)$$

- Diferencia de logaritmos:

$$\log(4 \times 10^{12}) - \log(2 \times 10^{11}) = [2\log(2) + 12] - [\log(2) + 11]$$

Simplificando:

$$2\log(2) + 12 - \log(2) - 11 = \log(2) + 1$$

- Resultado aproximado:

$$\log(2) + 1 \approx 0.301 + 1 \approx 1.301$$

Se obtuvo un aumento de 1.3 logaritmos respecto a la cantidad de levaduras iniciales.

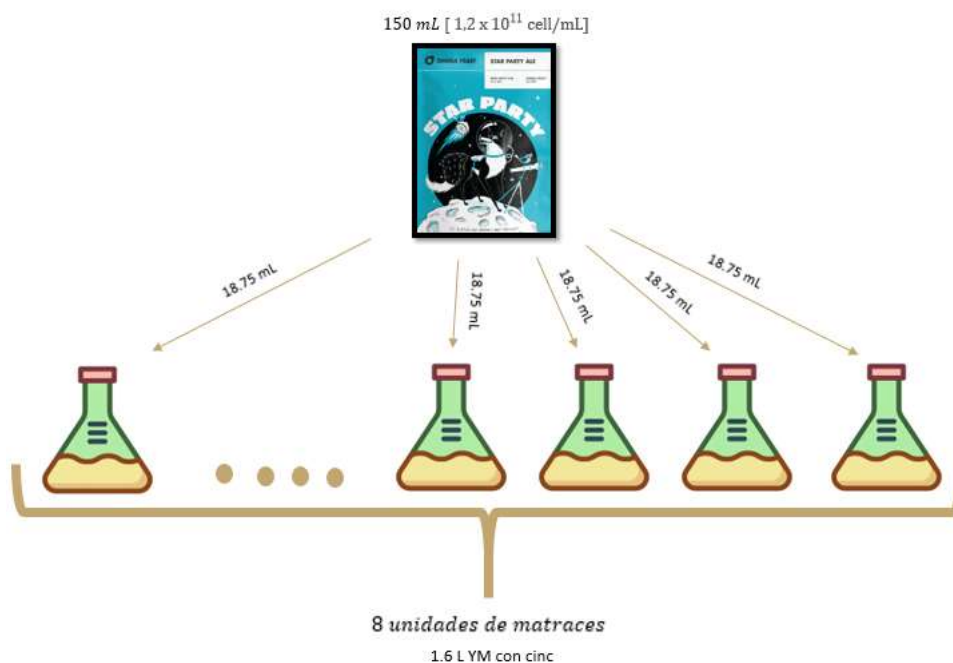
- 2) Preparación del medio de cultivo: El caldo de malta de levadura YM es un medio formulado por:

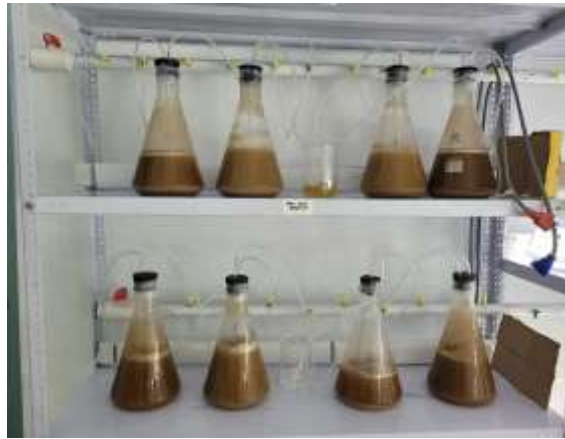
Medio de propagación YM	
Dextrosa	10 g
Peptona	5 g
Extracto de malta	3 g
Extracto de levadura	3 g

Especializado para el crecimiento de levaduras. Para el presente estudio se utilizó 12.8 L del medio mejorado por Kathy Albarracín en el 2020.

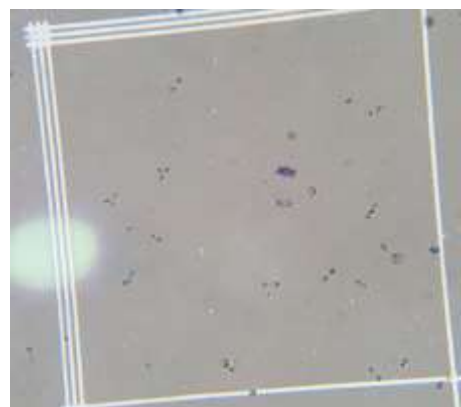
Medio de propagación YM con cinc	
Dextrosa	10 g
Peptona	5 g
Extracto de malta	3 g
Extracto de levadura	3 g
Cinc	0.2 ppm

Dividido en 8 matraces y aireados por un blower con un filtro y un airlock para la expulsión de gases.





- 3) Crecimiento y conteo de las células: Se tomaron muestras diarias de cada matraz a través del aireador con una jeringa, homogenizando el sistema previamente, hasta obtener la concentración necesaria. El conteo se realizó por microscopía con una cámara de Neubauer y para determinar la viabilidad se usó azul de metileno. Las células que se tiñen son las inviables, ya que el azul de metileno pudo difundirse a través de su membrana. Una vez alcanzada la concentración, se cortó la propagación colocando los matraces en una cámara de refrigeración a 4 °C.



- 4) Cosecha: Por efecto del frío de la cámara, la levadura decantó en 2 días, se extrajo el medio sobrenadante a través de sifón, dejando en la levadura en el fondo de los matraces, por último, se juntó la biomasa en un solo matraz y se almacenó para realizar los conteos respectivos.

