

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos

Programa de Posgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos

Especialidad en Almacenamiento y Procesamiento de Granos

**“USO DE MALTA DE SORGO PARA LA ELABORACIÓN DE UNA
CERVEZA TIPO ALE CON BAJO CONTENIDO DE ALCOHOL”**

TESIS

Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA EN ALIMENTOS

Presenta:

Biól. Karen Ileana López Peraza

Hermosillo, Sonora

28 de febrero de 2020

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

APROBACIÓN

“Uso de malta de sorgo para la elaboración de una cerveza tipo ale con bajo contenido de alcohol”

Biól. Karen Ileana López Peraza

Dr. Erick Heredia Olea
Director de Tesis

Dra. Guadalupe Amanda López Amada
Co-Directora de Tesis

Dr. Sergio Román Serna Saldívar
Miembro del comité de Tesis

Dr. Francisco Rodríguez Félix
Miembro del comité de Tesis

Hermosillo, Sonora a 28 de 2020.

Asunto: Cesión de derechos

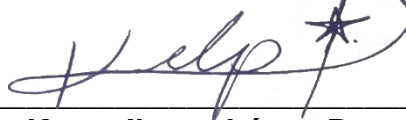
**UNIVERSIDAD DE SONORA
P R E S E N T E.**

Por este conducto hago constar que soy autor y titular de la obra denominada "Uso de Malta de Sorgo para la Elaboración de una Cerveza tipo Ale con Bajo Contenido de Alcohol" en los sucesivo LA OBRA, realizada como trabajo terminal con el propósito de obtener el Grado de Maestro en Ciencia y Tecnología en Alimentos en virtud de lo cual autorizo a la Universidad de Sonora (UNISON) para que efectúe la divulgación, publicación, comunicación pública, distribución, distribución pública, distribución electrónica y reproducción, así como la digitalización de la misma, con fines académicos o propios de la institución y se integren a los repositorios de la universidad, estatales, regionales, nacionales e internacionales.

La UNISON se compromete a respetar en todo momento mi autoría y a otorgarme el crédito correspondiente en todas las actividades mencionadas anteriormente.

De la misma manera, manifiesto que el contenido académico, literario, la edición y en general cualquier parte de LA OBRA son de mi entera responsabilidad, por lo que deslindo a la UNISON por cualquier violación a los derechos de autor y/o propiedad intelectual y/o cualquier responsabilidad relacionada con la OBRA que cometa el suscrito frente a terceros.

ATENTAMENTE



Karen Ileana López Peraza



LIC. GILBERTO LEÓN LEÓN
Abogado General
UNIVERSIDAD DE SONORA

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá, por siempre ser mi fortaleza a pesar de los momentos difíciles que nos tocó pasar como familia, eres una guerrera. Nuestro Bebé siempre nos estará cuidando. ¡Te amamos Alex!

A Leonardo, por ser un gran compañero de vida, gracias por ser parte de mi vida y por tu apoyo incondicional.

A la Familia Baez Castillo, por sus enormes muestras de cariño y apoyo durante mi estancia en Sonora, gracias por compartir maravillosos momentos en familia.

A la Dra. Guadalupe López Ahumada, por su compromiso y apoyo brindado, gracias por creer en la investigación de cerveza, sin su ayuda no hubiera sido posible realizar este trabajo de investigación. Por creer y apoyar incondicionalmente a los estudiantes, por demostrar que con perseverancia se pueden lograr grandes cosas. Voy a extrañar ir a su cubículo, siempre fue muy grato pasar tiempo con usted y Felipe.

Al Dr. Erick Heredia Olea y al Dr. Sergio Serna Saldívar, por el apoyo brindado para la realización de este trabajo, gracias por su excelente trato y recibimiento durante la estancia en el Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey (ITESM).

A Cindy, por tu tenacidad y perseverancia en trabajar con lo que nos gusta, la cerveza, y sobre todo por apoyarme y ser parte del proyecto de Ciencia y Tecnología Cervecera, sin tu ayuda no hubiera sido posible.

A mis compañeros de laboratorio en el Tec de Monterrey Joel y Stephey, por el apoyo y consejos brindado, sobre todo cuando me sentía perdida en el laboratorio del Tec.

DEDICATORIA

A mi hermano, ser de luz que trasciende más allá del tiempo y el espacio.

Te amo

“Que el viento siempre este a tu espalda y el sol brille en tu frente y que los vientos del destino te lleven lejos a danzar con las estrellas”

RESUMEN

La producción de cerveza con bajo contenido de alcohol ha incrementado por la demanda de bebidas que tengan un efecto positivo sobre la salud del consumidor, sin embargo, su elaboración representa un reto para la industria debido al deterioro de sus propiedades organolépticas por la pérdida de compuestos aromáticos, la reducción de los diferentes alcoholes y los indeterminados cambios durante el proceso de remoción del etanol provocando el rechazo del consumidor. El potencial uso de grano de sorgo para producir cervezas con bajos niveles de etanol ha sido estudiado debido a que posee una baja actividad amilolítica para la obtención de azúcares fermentable por su deficiencia en la enzima β -amilasa, así como, el empleo de la cepa *Saccharomyces ludwigii* la cual ha sido ampliamente estudiada en la elaboración de cerveza con bajo contenido de alcohol debido a su inhabilidad de metabolizar maltosa, principal azúcar fermentable presente en el mosto. El objetivo del presente estudio fue producir cervezas con bajo contenido de alcohol evaluando sus características fisicoquímicas y organolépticas.

Se elaboró malta de sorgo rojo variedad DKS74 y se realizó su caracterización físico-químicas. Se produjeron 9 mostos a partir de malta de cebada comercial (MC), malta de sorgo (MS) y mezcla de malta de sorgo con malta de cebada (MC+MS) en proporción 70:30 respectivamente, fermentado los mostos de manera individual y en cocultivo con *Saccharomyces cerevisiae* (SC) y *Saccharomyces ludwigii* (SL) para evaluar su efecto en la producción de etanol y en la aceptabilidad del producto. Los mostos obtenidos se ajustaron a 12 °Brix y fueron fermentados por 120 horas a una temperatura de $18^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Transcurrido el tiempo de fermentación, se obtuvieron cervezas elaboradas con malta de sorgo con un contenido de etanol del 0.66%-2.76%, de 0.9%-3.65% en cervezas producidas con mostos de cebada y de 1.52%-5.62% para las elaboradas

con la mezcla malta de sorgo y malta de cebada. El mosto de sorgo fermentado de manera individual con SL presentó el contenido de alcohol más bajo con el 0.66%, sin embargo, acorde con la evaluación sensorial, fue catalogada como la más desagradable en base a los atributos sensoriales evaluados. La cerveza producida con la mezcla de malta de sorgo y malta de cebada y fermentada con SL presentó un porcentaje de etanol del 1.52%, siendo considerada una cerveza con bajo contenido de alcohol. La adición proporcional de la malta de cebada tuvo un efecto sobre las propiedades sensoriales del producto y en el porcentaje de etanol. La cerveza producida a partir de la mezcla MC+MS y fermentada en cocultivo SL+SC presentó un porcentaje de etanol del 2.76%, valor cercano al rango establecido para cervezas reducidas en etanol (<2.5% v/v), así como un efecto positivo sobre las características organolépticas. Es necesario seguir investigando sobre el efecto del uso de distintos granos malteado y cepas en la elaboración de cervezas con niveles bajos de etanol para mejorar sus propiedades organolépticas

Esta investigación evidencia que es factible producir cervezas con bajos niveles de etanol y con buenas características organolépticas a partir del uso de malta de sorgo y malta de cebada fermentados de forma individual y en cocultivo.

ÍNDICE

APROBACIÓN	i
DERECHOS DE AUTOR	ii
AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIA	iii
RESUMEN	iv
CONTENIDO	vi
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABLAS	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
ANTECEDENTES.....	8
MARCO TEÓRICO.....	8
Cerveza.....	8
Historia.....	9
Cerveza artesanal.....	10
Cerveza con bajo contenido de alcohol.....	11
Métodos de obtención.....	11
Materia prima.....	13
Cebada.....	13
Sorgo.....	17
Lúpulo.....	21

Levadura.....	22
Agua.....	23
Procesos Tecnológicos.....	24
Proceso de Malteado.....	24
Remojo.....	24
Germinación.....	25
Secado y tostado.....	25
Fermentación.....	26
Filtración.....	27
Pasteurización.....	27
Proceso de elaboración de cerveza.....	29
Molienda.....	29
Macerado.....	29
Lautering y sparge.....	31
Hervor del mosto y aromatizado.....	31
Enfriado.....	32
Fermentación.....	32
Maduración.....	32
Envasado y almacenamiento.....	33
HIPÓTESIS.....	34
OBJETIVOS.....	34
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	34

MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
Materia Prima.....	35
Producción de cerveza.....	36
Elaboración de malta de sorgo.....	36
Recepción y limpieza del grano.....	36
Remojo.....	36
Germinación.....	36
Secado.....	37
Producción de mostos.....	37
Molienda.....	39
Maceración.....	39
Lautering y sparge.....	39
Hervor y aromatizado.	39
Fermentación.....	40
Maduración.....	41
Embotellado.....	41
Análisis de la malta de sorgo y malta de cebada.....	43
Humedad.....	43
Porcentaje de germinación del grano.....	43
Pérdida de materia seca.....	44
Contenido de almidón.....	44
Almidón total para harina de sorgo.....	45

Almidón total para malta de sorgo y malta de cebada.....	45
Contenido de proteína.....	46
Actividad enzimática.....	48
α-amilasa para harina de sorgo.....	48
α-amilasa para malta de sorgo y malta de cebada.....	49
β-amilasa	50
Amiloglucosidasa.....	51
Perfil reológico de los almidones de las maltas.....	52
Análisis de mostos y cervezas.....	54
Evaluación de grados plato.....	54
pH del mosto.....	54
Amino nitrógeno libre (AAN).....	55
Azúcares fermentables	56
Color de la cerveza.....	56
Unidades de amargo	57
Evaluación sensorial.....	57
Diseño experimental.....	58
Análisis estadístico.....	58
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	60
Análisis fisicoquímicos de la malta de sorgo y malta de cebada.....	60
Análisis del mosto y cerveza con bajo contenido de alcohol.....	70
CONCLUSIÓN.....	91

RECOMENDACIONES.....	92
REFERENCIAS	93

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Representación esquemática del grano de cebada.....	14
2	Representación esquemática del grano de sorgo.....	18
3	Representación esquemática del proceso de elaboración de cerveza artesanal.....	30
4	Representación esquemática del proceso de elaboración de cerveza.....	38
5	Diseño del sistema de fermentación.....	42
6	Resultado del análisis de viscosidad por RVA y el efecto del proceso de malteado sobre la baja viscosidad de la malta de sorgo respecto a la harina de sorgo.....	69
7	Resultado del análisis de viscosidad por RVA y el efecto del proceso de malteado sobre la baja viscosidad de la malta de sorgo y malta de cebada.....	69
8	Consumo de azúcares respecto a la formación de etanol en el tiempo de fermentación de cervezas con bajo contenido de alcohol.....	82

LISTA DE TABLAS

TABLA		Página
1	Producción de cerveza con bajo contenido de alcohol por medio de procesos biológicos.....	7
2	Composición proximal del grano de cebada.....	16
3	Composición proximal del grano de sorgo.....	19
4	Descripción de los tratamientos evaluados.....	59
5	Composición proximal de sorgo, malta de sorgo y malta de cebada.....	62
6	Comparación de las actividades de α y β amilasa de la malta de sorgo y cebada.....	66
7	Grados Brix, pH y volumen final de los mostos elaborados para los distintos tratamientos en la producción de cerveza con bajo contenido de alcohol.....	71
8	Contenido de azúcares y alfa amino nitrógeno libre de los mostos evaluados para la producción de cerveza con bajo contenido de alcohol.....	74
9	Resultados de pH, amino nitrógeno libre (AAN), etanol y rendimiento en la producción de cerveza con bajo contenido de alcohol.....	79
10	Resultados del color de la cerveza para los diferentes tratamientos evaluados.....	85
11	Resultado de las Unidades de Amargor (UA) de los tratamientos evaluados.....	87
12	Resultados de la evaluación sensorial de los tratamientos evaluados.....	90

INTRODUCCIÓN

La cerveza es la bebida alcohólica fermentada de producción mundial más popular y consumida en el mundo, elaborada a partir de una mezcla de cebada germinada (malta), agua, flor de lúpulo y levadura, cuya popularidad surge de los agradables atributos sensoriales, nutricionales y medicinales que promueven la salud del consumidor (Mittelman, 2008; Sohrabvandi *et al.*, 2010; Deželak *et al.*, 2014; Alcantara, 2016). Sin embargo, la industria cervecera emplea adjuntos y aditivos químicos durante el proceso que promueven el deterioro en las propiedades funcionales y sensoriales (Liguori, 2016), lo que ha impulsado un cambio en el mercado y en las preferencias del consumidor por cerveza tipo artesanal. Para su elaboración no se utilizan adjuntos ni aditivos químicos que alteren la composición y desarrollo natural del proceso fermentativo. Además, de que en ocasiones no se somete a procesos tecnológicos como filtrado y pasteurizado manteniendo inalterada las características sensoriales, confiriendo cualidades paliativas más complejas que las que ofrece la cerveza comercial, así como un mayor valor nutrimental contribuyendo al balance de una dieta saludable (Giovenzana *et al.*, 2014; Elzinga *et al.*, 2015; Mudura *et al.*, 2016; Alcántara *et al.*, 2016).

Aunado a ésta emergente industria está la producción de cerveza reducida en alcohol. La permisiva legal sobre el contenido de alcohol varía entre las naciones, sin embargo, se clasifican de manera general en a) cervezas con bajo contenido de alcohol, que son aquellas con un contenido de 0.5%-1.5% (v/v) de alcohol y b) libres de alcohol, conteniendo entre 0.05%-0.5% (v/v) de alcohol (Montanari *et al.*, 2009; Purwasasmita *et al.*, 2015).

La manufactura de cervezas con bajo contenido de alcohol ha incrementado debido a la demanda de bebidas que tengan un efecto positivo a la salud, se ha reportado que los compuestos disueltos en la matriz alimentaria tienen propiedades antibacterianas, antiinflamatorias, anticancerígenas, antioxidantes y antimelanogénicas que tienen un efecto positivo sobre padecimientos neurodegenerativos, cardiovasculares, gastrointestinales, osteoporosis, diabetes, entre otros padecimientos, además por dichas propiedades, es recomendada a deportistas de alto rendimiento, mujeres embarazadas y personas bajo tratamiento médico (Sohrabvandi *et al.*, 2010; Müller *et al.*, 2017).

La industria de las cervezas con bajo contenido de alcohol no ha prosperado debido al deterioro de las propiedades organolépticas resultado de los procesos físicos y biológicos que se emplean para su elaboración que afectan principalmente el sabor por la reducción de ésteres, aldehídos aromáticos e indeterminados cambios en los componentes durante el proceso de remoción de etanol que ocasionan el rechazo del consumidor (Olmo *et al.*, 2014). Por estos motivos esta investigación propone el uso de procesos biológicos como el uso de grano de sorgo malteado y levadura no convencional para el control en la formación de etanol y como estrategia viable para mejorar las cualidades sensoriales de una cerveza tipo *ale* con bajo contenido de alcohol.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

ANTECEDENTES

La elaboración de cervezas con bajo contenido de alcohol ha tenido diferentes razones para su producción a lo largo de la historia. Durante la primera y segunda guerra mundial (1914-1918 y 1939-1945 respectivamente) hubo una la escasez de materias primas lo que encauzó la producción de cerveza con bajo contenido de extracto de malta y por ende bajo contenido de alcohol. Por otro lado, durante la prohibición de fabricación, venta y consumo de alcohol en Estados Unidos (1919-1933) aumentó la producción de este tipo de cervezas, sin embargo, su venta y producción fue cesando ya que no cumplían con las expectativas del mercado. Actualmente ha incrementado la tendencia en la producción y el comercio de este producto, ejemplo claro es Europa, ya que se reporta un aumento del 50% en las ventas de cerveza con bajo contenido de alcohol, atribuyendo este incremento anual a las intervenciones legislativas que restringen el consumo de alcohol, a la creciente tendencia de un estilo de vida más saludable debido a la concientización de los consumidores sobre los beneficios del consumo moderado de cerveza (Lehnert *et al.*, 2009; Strejc *et al.*, 2013).

A finales del siglo XX las cervecerías buscaron ampliar la variedad de cerveza con bajo contenido de alcohol motivados por el aumento en la elaboración de nuevos productos con mercados altamente competitivos, que impactaran positivamente en la salud del consumidor. La cerveza se elabora con malta de cebada y lúpulo que poseen compuestos fenólicos como cumarinas, catequinas, proantocianidinas, flavonoides derivados del ácido benzoico y cinámico, así como α -ácidos con pro-

propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimutagénicas, que actúan sobre radicales libres y como quelante de metales previniendo enfermedades asociadas con el estrés oxidativo como cáncer, diabetes, padecimientos neurodegenerativos, gastrointestinales, además con efecto cardioprotector, relajante reducción del riesgo de demencia y mejoran la función cognitiva (Sohrabvandi *et al.*, 2010; Müller *et al.*, 2017).

Diversos estudios han reportado las cualidades benéficas al consumir cerveza con bajo contenido de alcohol. Pérez-Medina *et al.* (2015) reportó la disminución de las propiedades antioxidantes de la leche humana en los primeros días y meses posteriores al parto, además demostraron que la ingesta de cerveza baja en alcohol aumentó el contenido de compuestos antioxidantes y en consecuencia su actividad protectora de la leche materna evitando los daños producidos por estrés oxidativo en el recién nacido. Por otro lado, Yoon-Jung *et al.* (2017) demostraron que el consumo de bebidas con bajo grado de alcohol se asocia con la disminución en la incidencia de cáncer de pulmón, tiroides y neoplasia hematológica en hombres y mujeres. Ogihara *et al.* (2000) reportaron que el consumo moderado de alcohol está asociado con la reducción de infección por *Helicobacter pylori*, bacteria Gram-negativa que coloniza el epitelio gástrico causando padecimientos como gastritis crónica, úlcera péptica entre otros desórdenes gastrointestinales. Asimismo, Nishiwaki *et al.* (2017) concluyeron que la ingesta de cerveza con bajo grado alcohólico induce la reducción de la rigidez arterial asociada con padecimientos cardiovasculares. Igualmente, Peña *et al.* (2007) y Chiva-Blanch *et al.* (2014) reportan que el silicio presente en la cerveza es capaz de interferir en la cinética del aluminio ejerciendo protección frente al efecto tóxico de este metal, así como el incremento en la densidad ósea debido a que el silicio ayuda a fijar el calcio en los huesos disminuyendo el riesgo de osteoporosis, por lo que el consumo moderado de cerveza tiene un efecto positivo en la salud.

Por otro lado, la organización mundial de la salud (OMS, 2015) reportó que el consumo nocivo de alcohol es un factor causal de 200 enfermedades como neoplasias, trastornos mentales, desorden del sistema digestivo, obesidad, deficiente absorción de vitaminas, etcétera, que provoca 3.3 millones de muertes a nivel mundial y que representan el 5.9% de las defunciones. Aunado a los problemas de consumo de alcohol tenemos el efecto negativo en mujeres embarazadas causando efectos en el correcto desarrollo del feto, deformidades faciales, problemas neurológicos, entre otros, así como violencia doméstica, accidentes vehiculares por mencionar algunos (Hankin *et al.*, 2006).

En América Latina el consumo de alcohol es más elevado comparado con el resto del mundo. Chile tiene el primer lugar de consumo de alcohol con 9.6 L per cápita, mientras que México ocupa el décimo lugar consumiendo 7.2 L de alcohol per cápita. Además, la Encuesta Nacional del Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco (ENCODAT) 2016-2017 reportó que el consumo de bebidas alcohólicas entre adolescentes de 12-17 años aumentó un 125%. Debido a esto es primordial desarrollar nuevas estrategias para hacer frente a la problemática siendo una opción factible una cerveza con bajo contenido de alcohol que conserve características sensoriales similares comparadas contra una cerveza comercial, así como las propiedades benéficas que aporta a la salud del consumidor por su manufactura de forma artesanal.

Hasta ahora, la producción de cerveza con bajo contenido de alcohol representa un gran reto para la industria cervecera debido a que los procesos que se utilizan para remover y/o controlar el contenido de alcohol promueven la reducción de los parámetros aceptables de una cerveza como el color, el amargor y la estabilidad espumante, además de ser más propensa a la contaminación microbiana principal-

mente por bacterias ácido lácticas, bacterias ácido acéticas y algunas bacterias ocasionando la disminución de las cualidades agradables debido a los compuestos derivados del metabolismo secundario, así como la reducción de compuestos volátiles como ésteres, aldehídos, cetonas y alcoholes durante los procesos de elaboración y desalcoholización confiriendo un sabor inmaduro y en consecuencia el rechazo del consumidor provocando pérdidas económicas (Sohrabvandi *et al.*, 2010; Olmo *et al.*, 2014).

Los métodos de elaboración de cervezas con bajo contenido de alcohol se clasifican en físicos y biológicos. Los métodos físicos se basan en la eliminación selectiva del etanol una vez fermentada la cerveza, se dividen en procesos térmicos como la evaporación, rectificación y extracción con alta presión de CO₂, y procesos por membranas como la osmosis inversa. Mientras que los métodos biológicos implican el control en la formación de etanol, incluyen cambios en la fermentación, la modificación del régimen de maceración y el uso de levadura no convencional (Blanco *et al.*, 2016). Estos procesos repercuten en las características sensoriales de la cerveza confiriéndole un sabor artificial e inmaduro, así como la falta de sabor por eliminación del etanol y otros alcoholes resultando en la pérdida de compuestos favorables (Olmo *et al.*, 2014, Ivanov *et al.*, 2016). Los procesos biológicos para la elaboración de cerveza con bajo contenido de alcohol tienen más ventajas que los procesos físicos debido a que se puede llevar a cabo con el equipo existente en la cervecería al hacer cambios en la fermentación y maceración además de que no se requieren inversión extra, esto ha sido reportado por diversos estudios (**Tabla 1**).

Tabla 1. Investigaciones sobre la producción de cerveza con bajo contenido de alcohol por medio de procesos biológicos.

Van Lersel <i>et al.</i> , 1995	Condiciones de estrés (baja temperatura, limitando las condiciones anaeróbicas y contenido de azúcares) durante la fermentación con <i>Saccharomyces cerevisiae</i> produjo cerveza con <0.08%.
De Francesco <i>et al.</i> , 2014	Uso de <i>Saccharomyces ludwigii</i> como levadura no convencional para la producción de cervezas con bajo contenido de alcohol.
Elgorashi <i>et al.</i> , 2016	El aumento en la temperatura y el tiempo durante la germinación del grano de sorgo mejoró la actividad de enzimas hidrolíticas.
Ivanov <i>et al.</i> , 2016	Se obtuvo un contenido de alcohol de 1.5% con maceración escalonada con un incremento del 1.5°C / min y una fermentación de 7°C.
Parise <i>et al.</i> , 2017	Elaboración de cerveza a base de malta y fermentada con <i>Saccharomyces ludwigii</i> produjo 1.12% (v/v alcohol).

MARCO TEÓRICO

Cerveza

La cerveza es una bebida alcohólica popular milenaria cuya producción es considerada como el proceso biotecnológico más antiguo conocido por el hombre (Hughes & Baxter, 2001). Es una bebida hecha con cereales malteados (principalmente cebada) y no malteados, agua y lúpulo y que es fermentada mediante levaduras seleccionadas (FAO, 1994). Es una bebida tradicional y uno de los alimentos más queridos de la humanidad. Se produce en todo el mundo y para la mayoría de las sociedades es una bebida de elección (Deželak *et al.*, 2014).

Las cervezas se dividen en dos grandes familias dependiendo de la fermentación y cepa de levadura utilizada, las *Lager* son aquellas cervezas que fermentan a una temperatura entre los 7°C -13°C utilizando la levadura *Saccharomyces carlbergis* y las cepas flocculan en el fondo del reactor cilindrocónico; mientras que las *Ales* son las que fermentan entre los 15°C -20°C, usando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y las cepas flocculan en la parte superior del fermentador (Hughes & Baxter, 2001; Briggs, 2004). Esto da lugar a diversos estilos de cerveza con características organolépticas particulares impartidos por la levadura, las maltas, los lúpulos y el agua, siendo la diferencia entre los estilos son las variaciones en la materia prima y el tipo de fermentación, además de que cada zona geográfica tiene sus propios estilos de cerveza (Palmer, 2006).

Historia

Entre las bebidas alcohólicas, la cerveza se remonta al comienzo de la existencia de la civilización humana, casi todas las civilizaciones tienen algún registro de consumo de bebidas fermentadas (Mittelman-Amy, 2008). Los datos más antiguos datan de hace 7,000 años A.C en China donde se elaboraba el *Kui*, bebida fermentada a base de granos. Otro registro sobresaliente es en Mesopotamia los sumerios hace 6,000 años elaboraban el *Sikaru*, bebida fermentada a base de granos cuya elaboración quedó registrada en tablillas de arcilla, manufacturada exclusivamente por mujeres que ofrecían a Nikansi, diosa de la elaboración de la cerveza. La técnica de elaboración de fermentos se extiende a Egipto donde elaboraban en *Zhytum* o vino de cebada, el cual consistía en miga de pan hidratada y reposada en vasijas durante varios días y fermentada por acción del sol obteniendo una bebida alcohólica con aporte energético, por lo que era utilizada como moneda de pago para los obreros (Vaughan y Van Sinderen, 2005).

La cerveza se extendió desde Medio Oriente hasta Europa donde se convirtió en la bebida alcohólica más importante, y con ello el perfeccionamiento de la elaboración de cerveza, ya que fue hasta la edad media en las abadías donde monjes mejoran el aspecto, aroma y sabor de la cerveza al añadir flor de lúpulo al mosto, que actúa como un agente conservador y antimicrobiano natural, aportando aromas y sabores amargos. Por otro lado, la naturaleza vital de la levadura no fue reconocida quedando manifiesto en la ley de pureza de la cerveza alemana por el duque Albrecht IV en 1493 donde se estipuló el uso único de cebada malteada, lúpulo y agua; no fue hasta 1876 cuando Luis Pasteur demostró que las levaduras eran las responsables de la fermentación alcohólica (Briggs, 2004).

Cerveza Artesanal

La cerveza artesanal es una bebida fermentada elaborada con grano malteado (cebada, trigo, sorgo, centeno, etc.), lúpulo, levadura y agua, no utiliza productos transgénicos ni aditivos químicos que alteren su composición y el desarrollo natural del proceso fermentativo, producida en pequeñas cervecerías de propiedad independiente ajena a cualquier consorcio, grupo o sociedad dedicada a la comercialización o producción de cerveza diversa a la artesana (ACERMEX, 2016).

La industria independiente incorpora prácticas tradicionales de elaboración y de ingredientes utilizando insumos de alta calidad como el uso de malta 2 hileras a diferencia de la cerveza industrial que emplea malta de 6 hileras así como adjuntos de baja calidad como arroz y maíz, además cuya responsabilidad social radica en elaborar productos benéficos a la salud y el consumo de lo natural, discrepando de las grandes cerveceras nacionales e internacionales ya que emplean ingredientes de mayor calidad, así como un amplio rango de componentes no tradicionales como frutas, hierbas, café, cacao, nueces, vegetales, cereales no malteados, etc., permitiendo una capacidad de elaboración más amplia dando lugar a una gran gama de cervezas con diversos aromas y sabores más complejos que la cerveza comercial (Hui *et al.*, 2014; Elzinga *et al.*, 2015; Peters *et al.*, 2017).

En México la industria cervecera independiente surge en 1995 como resultado de iniciativas personales y posteriormente por otras empresas, incorporando al mercado productos con una variedad de sabores y cualidades únicas. Actualmente los principales estados productores de cerveza artesanal son Baja California, Jalisco y Ciudad de México. No obstante, la industria en México se enfrenta a diferentes obstáculos como la insuficiencia de abasto de los distintos insumos, gastos en la im-

portación de los mismos, impuestos mucho más elevados y poca publicidad comparados con las cervecerías industriales nacionales (Cervecería Cuauhtémoc Motezuma ahora propiedad de la holandesa Heineken y Grupo Modelo de la belga-brasileña AB Inbev) (Guillén *et al.*, 2016) así como la escasa normativa sanitaria que regule a las micro cervecerías, inclusive hay una ausencia en la legislación establecida por el *CODEX Alimentarius* sobre este tipo de cervezas, contrario a lo que ocurre con la cervezas industriales cuyas normas son utilizadas como marco legal y técnico, limitando a los micro productores ampliar su rango de comercialización y obstaculizando la solicitud de permisos (Bigeon *et al.*, 2016).

Cerveza con Bajo Contenido de Alcohol

Es una bebida a base de malta con bajo contenido alcohólico y calórico, con nutrientes y propiedades fisiológicamente positivas en la salud. Las cervezas con bajo contenido de alcohol tienen distintas clasificaciones dependiendo de la región donde se manufacturen y las normativas de ley que implemente el estado. En América se clasifican en: cervezas reducidas en alcohol las que poseen debajo de 2.5% (v/v), cervezas bajas en alcohol con no más del 1.5% de alcohol por volumen y cerveza libre de alcohol con un contenido ≤ 0.5 % por volumen (Purwasasmita *et al.*, 2015, Ivanov *et al.*, 2016; Andrés-Iglesias *et al.*, 2016).

Métodos de Obtención

Los procesos para la obtención de cerveza con bajo grado alcohólico se dividen en biológicos y físicos; los métodos físicos se basan en eliminar el alcohol una vez

fermentada la cerveza. Algunos métodos utilizados son la ósmosis inversa que consiste en emplear membranas semipermeables bajo condiciones de alta presión (Alcantara *et al.*, 2016); la destilación osmótica, proceso isotérmico que actúa como agente decapante que minimiza la pérdida de compuestos volátiles y con notable reducción de CO₂ incrementando la turbidez de la cerveza (Liguori *et al.*, 2015); la destilación por membrana, proceso térmico donde la membrana interviene como barrera entre dos fases evitando la pérdida de compuestos y la utilización de membranas no porosas donde se aplican condiciones de vacío que generan la fuerza necesaria para transferir el etanol por difusión a través de la membrana (Purwasasmita *et al.*, 2015). Se ha reportado que al emplear métodos físicos se pierden compuestos volátiles, aproximadamente 77% de alcoholes de fusel, 99% de esterés y 93% de aldehídos, deteriorando el perfil organoléptico de la cerveza utilizando equipo extra lo que se traduce en inversión (Müller *et al.*, 2017).

Mientras que los métodos biológicos se basan en controlar la formación de alcohol a través de diferentes métodos como el uso de levadura no convencional que produzca menos del 1% de alcohol. Se ha reportado que *Saccharomyces ludwigii* produce bajos niveles de alcohol debido a su parcial inhabilidad para fermentar maltosa, principal azúcar fermentable en el mosto, lo que puede resultar en cervezas sumamente dulces repercutiendo de manera negativa en el perfil de la cerveza (Sohrabvandi *et al.*, 2010; De Francesco *et al.*, 2015; Parise *et al.*, 2017); modificaciones en la temperatura de maceración para obtener un mosto con bajo contenido de azúcares fermentables controlando la formación de alcoholes; limitando el metabolismo de la levadura por modificaciones en los parámetros de fermentación, cómo el fermentar a bajas temperaturas (7°C) disminuyendo la síntesis de alcohol (Ivanov *et al.*, 2016) o la interrupción del proceso fermentativo resultando en cervezas con sabores dulces (Olmo *et al.*, 2014) ; también se emplea la adición de levadura fresca antes de la maduración para impartir estabilidad coloidal y calidad sensorial al producto (Moreira da Silva y De With, 2008). En general los procesos biológicos para la producción de cerveza con bajo contenido de alcohol tienen ventaja

sobre los métodos físicos ya que reflejan un mejor perfil organoléptico además de que se pueden elaborar con modificaciones en el proceso de maceración y fermentación (Ivanov *et al.*, 2016).

Materia Prima

Cebada. La cebada (*Hordeum vulgare*) es una planta herbácea anual de la familia *Poaceae* (gramíneas) de fecundación autógama, con espigas prolongadas, su fruto es cariósipide seca que no abre con la madurez y el pericarpio se encuentra pegado a la semilla (**Figura 1**). Es un grano altamente adaptado ya que puede crecer en rangos de clima que van de subárticos a subtropicales, siendo el clima templado a moderadamente seco el ideal para su cultivo. La FAO reporta una producción de 141, 277,993 toneladas en 2016, siendo Rusia el productor número uno, mientras que México ocupa el 32° lugar con una producción de 845,707 toneladas (Atlas Agroalimentario, 2017).

La cebada domesticada se clasifica en 6 hileras (six-row en inglés, 6R) y 2 hileras (two-row en inglés, 2R) dependiendo del arreglo físico de la espiga. La cebada de dos hileras presenta menor contenido de proteína que la de seis hileras y es la más utilizada en la producción de malta, mientras que la cebada de 6 hileras posee alto contenido proteico y es destinada a forraje (FAO, 2009), por lo que el contenido de proteína idóneo para la elaboración de cerveza artesanal es entre 9-12%.

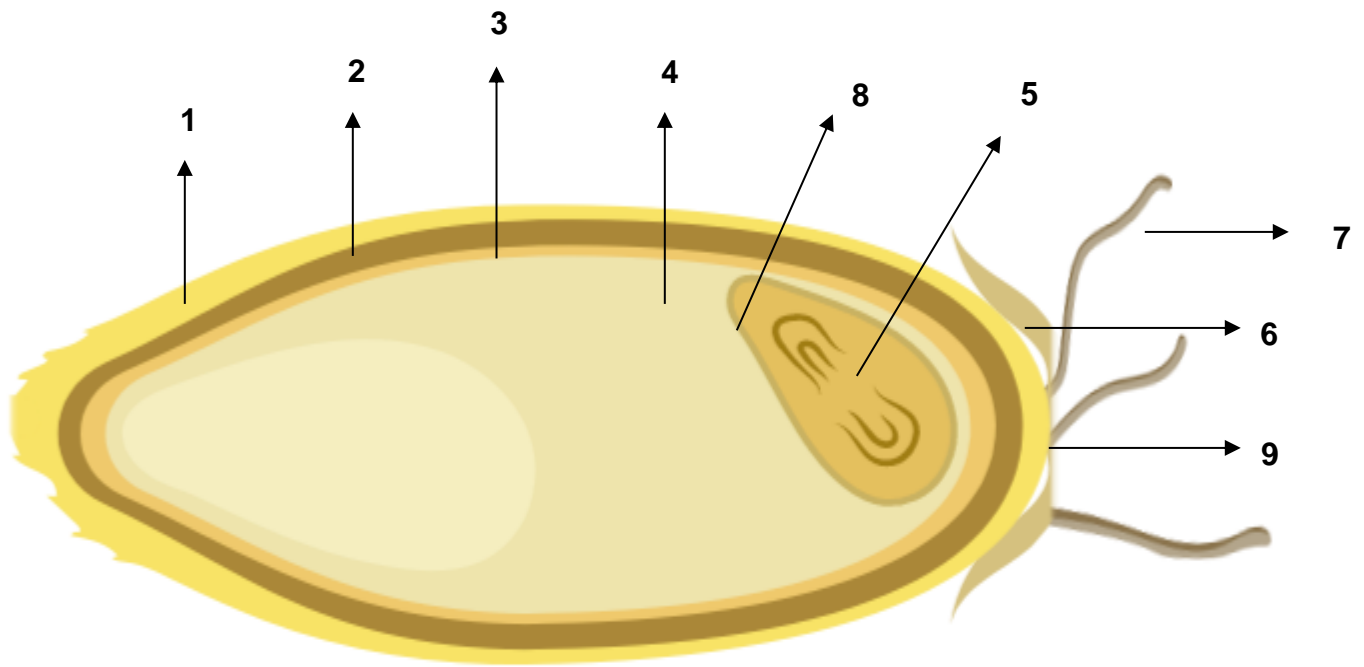


Figura 1. Representación esquemática del grano de cebada malteado donde:
1) pericarpio, 2) testa, 3) capa aleurona, 4) endospermo almidonoso, 5) germen,
6) plúmula, 7) raicillas, 8) escutelo, 9) micropilo.

Los cereales, como la cebada, están formados por tres estructuras anatómicas esenciales: pericarpio, germen y endospermo. El pericarpio representa el 18% del peso seco del grano y tienen la finalidad de proteger al grano, se encuentra lignificado, seguido por la testa la cual consta de dos capas cuticuladas donde se encuentran polifenoles y antocianidinas además de que “sella” en interior del exterior evitando el movimiento de sustancias como azúcares, proteínas, aminoácidos, et- cetera. El germen compone el 3.5% del grano de cebada, el eje embrionario está formado por el coleóptilo y la coleorhiza o raíces embrionarias, además es rico en azúcares simples. El endospermo representa el 78.5% de la cebada y es fundamentalmente almidonoso, es un tejido muerto de células de paredes delgadas con gránulos de almidón incrustado en una matriz proteica, las paredes celulares son principalmente glucanos; mientras que la capa aleurona es rica en proteínas, fibra, triglicéridos, azúcares y otros compuestos químicos (Briggs, 2004).

En cuanto a la composición química de la cebada (**Tabla 2**), los carbohidratos representan el 80%, siendo el almidón el principal elemento formado por moléculas de amilopectina, polisacárido unido por enlaces α 1-4 y ramificaciones en el enlace α 1-6, y amilosa formada por cadenas lineales de glucosa unidas por enlace α 1-4, ambas fracciones se almacenan en forma de gránulos al interior de las células del endospermo; mientras que la segunda fracción más abundante con el 12% son las proteínas, y los lípidos se encuentran en baja proporción siendo la fracción más abundante los triglicéridos (Serna-Saldívar, 1996). Durante la germinación las lipasas darán lugar a la liberación de los ácidos grasos, si el grano de cebada se almacena incorrectamente propiciará la formación de ácidos grasos libres insaturados como el ácido oleico y linoleico y saturados como el ácido palmítico, (Cozzolino y Degner, 2016). El grano de cebada es una fuente importante de vitaminas del complejo B las cuales se encuentran en la capa aleurona como la tiamina, riovflavina, niacina y piridoxinas y es deficiente en vitaminas liposolubles y vitamina B₁₂, así como de compuestos fenólicos con capacidad antioxidante (Molina-Cano, 1986).

Tabla 2. Composición proximal de la cebada¹.

Componente químico	Contenido (%)
Proteína	11.5 7.5-15.6
Extracto etéreo	2.2 1.8-2.6
Fibra cruda	5.6 5.3-5.9
Cenizas	2.9 2.6-3.1
Extracto libre de nitrógeno	77.8 72.8-82.8

¹ Valores expresados en base seca. El número superior indica el promedio y valor inferior es el intervalo dentro del cual se encuentran estos valores (Serna-Saldívar, 2013).

Sorgo. El sorgo (*Sorghum bicolor* (L). Moench) es una planta perteneciente a la familia *poaceae* originaria de la India, adaptada a climas cálidos, áridos o semiáridos y capaz de tolerar sequías, con una producción mundial de 63,930,558 toneladas (FAO, 2016). México ocupa el segundo lugar con una producción de 8,394,057 toneladas, solo por debajo de Estados Unidos (Atlas Agroalimentario, 2017). Las semillas son esféricas de color rojizo, negro o amarillento, miden ~3 mm cuyo principal destino es a la industria pecuaria y en menor proporción a la industria alimentaria a pesar de ser una excelente fuente de nutrientes, cuya diversidad ha llevado a una clasificación en base a su aplicación agrupándose en: sorgo dulce, sorgo forrajero, sorgo escobero y sorgo granifero (SAGARPA, 2017).

El sorgo, como todos los cereales, esta formado por tres estructuras esenciales: pericarpio, gérmen y endospermo (**Figura 2**), cuya composición química (**Tabla 3**) permuta debido al extenso número de variedades existentes. La capa externa del grano es el pericarpio, en el caso del sorgo se encuentra envuelto en por una cutícula cerosa, seguida por la testa, que esta formada por un par de células estratificadas que dependiendo la variedad pueden estar pigmentadas y contener taninos condensados (Serna-Saldívar, 1996).

El gérmen funciona como almacén primario de nutrientes y representa el 9.4% del grano, comprende al escutelum y axis embrionario, que a su vez esta formado por la plúmula y la radícula que darán paso a las raíces y el cuerpo vegetativo. Además se producen gran parte de las enzimas para la germinación del grano. Por último el endospermo, que comprende la capa aleurona y el endospermo vítreo, periférico y almidonoso, representa el 84.2% del grano (Serna-Saldívar, 1996).

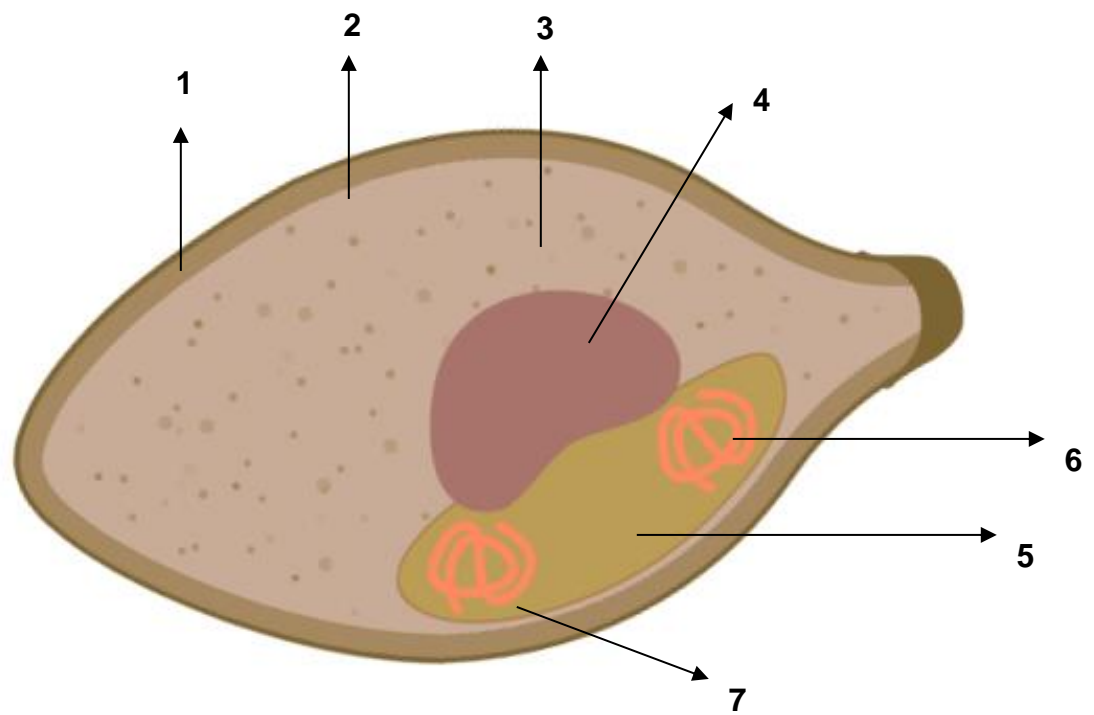


Figura 2. Representación de grano de sorgo donde: 1) pericarpio y testa, 2) capa aleurona, 3) endospermo vítreo, 4) endospermo almidonoso, 5) germen, 6) raicillas, 7) acrospira.

Tabla 3. Composición proximal del sorgo¹.

Componente químico	Contenido (%)
Proteína	11.0 7.3-15.6
Extracto etéreo	3.2 0.5-5.2
Fibra cruda	2.7 1.2-6.6
Cenizas	1.8 1.1-4.5
Extracto libre de nitrógeno	81.3 68.1-89.9

¹Valores expresados en base seca. El número superior indica el promedio y valor inferior es el intervalo dentro del cual se encuentran estos valores (Serna-Saldívar, 2013).

En la capa aleurona es donde se sintetizan enzimas requeridas en la germinación; el endospermo periférico se caracteriza por elevado contenido de proteína, mientras que el endospermo vítreo y almidonoso tienen mayor proporción de almidón, cuya diferencia radica en que en el endospermo vítreo no existen espacios de aire y los gránulos de almidón poseen mayor concentración proteica, contrario al endospermo almidonoso, donde el contenido de ambos determina la densidad y dureza del grano (Serna-Saldívar, 1996).

El sorgo es destinado principalmente al sector pecuario, sin embargo, en África y Asia se destina para la producción de alimentos como panes, atoles y harinas, así como en la producción de malta diastática y no diastática destinadas en la producción de jarabes y bebidas alcohólicas (Serna-Saldívar, 1996). Se ha reportado que la cerveza producida a base de sorgo posee beneficios nutricionales debido a que es una excelente fuente de hierro, magnesio, fósforo y manganeso, además de contener azúcares como fructosa, glucosa, rafinosa y estaquiosa y cuando se maltea el grano, maltosa, maltotriosa e isomaltosa (Elgorashi *et al.*, 2016).

El grano de sorgo es considerado un potencial sustituto en la industria cervecera debido a que es un cereal que tiene mayor actividad enzimática reduciendo costos en la importación de cebada y otros cereales, sin embargo posee deficiencia de la enzima B-amilasa siendo una excelente opción para la producción de cerveza libre de gluten dada su baja actividad diastática (Del Pozo-Insfran *et al.*, 2004) obteniendo mostos con mayor porcentaje de glucosa que de maltosa debido a esta deficiencia ya que beta amilasa es una enzima que ataca los enlaces α 1-4 liberando unidades de maltosa. Donde el proceso de malteado es crucial para la correcta activación de las enzimas y maximizar el rendimiento, siendo los principales factores que influyen en la germinación la temperatura y la humedad, donde temperaturas debajo de los 25°C disminuyen el porcentaje de germinación (Evans *et al.*, 1961).

Lúpulo. El lúpulo (*Humulus lupulus*) es una planta trepadora perteneciente a la familia de las *Canabinaceae*, nativo de las zonas templadas de América, Europa y Asia. El lúpulo fue adicionado a la cerveza por los monjes en abadías alemanas en el siglo XII y debido a su popularidad en 1516 se incluyó en el decreto de ley de pureza alemana que ordenaba la elaboración de cerveza solo con cebada, agua y lúpulo (Sakamoto, 2002), tendencia que rescató y transformó la industria artesanal. Posee estróbilos cónicos y las hojas son parecidas a la de la vid, en los conos verde claro se encuentran las glándulas de lupulina donde se almacenan las resinas, las cuales se clasifican en fracción α y β de acuerdo con la su solubilidad en hexano, así como aceites esenciales (Hughes y Baxter, 2001).

Los ácidos alfa son la fracción más importante, presenta 5 isoformas dependiendo de su cadena lateral: humulona, cohumulona, adhumulona, prehumulona y posthumulona los cuales son la principal fuente de amargor en la cerveza, aportando características que reflejan la calidad del producto como el carácter amargo ideal para balancear el dulzor que aporta la cebada malteada, la estabilidad espumante y la capacidad antimicrobiana por las resinas, aceites esenciales y polifenoles que posee (Palmer, 2006; Suzuki *et al.*, 2006). Contribuyen en gran medida en el potencial antioxidante, ya que se ha demostrado que los alfa ácidos tienen mayor habilidad de suprimir radicales libres, mientras que su isómero tiene menor capacidad antioxidante siendo el principal mecanismo por el cual actúan los alfa ácidos su acción como quelantes del hierro y removedores de radicales (Kunz *et al.*, 2014).

Por otro lado, la fracción β corresponde a las lupulonas que de acuerdo a su cadena lateral se clasifican en: colupulona adlupulona, prelupulona y postlupulona. Estos compuestos son similares a los alfa ácidos, pero no tienen aplicación en la elabo-

ración de cerveza, tienden a oxidarse durante el hervido del mosto confiriendo sabor poco amargo. Los aceites esenciales presentes en el lúpulo son hidrocarburos terpénicos, mircenol, humuleno y cariofileno, estos compuestos se encuentran por debajo del umbral de detección por lo que no aportan mucho aroma y sabor (Varnam y Sutherland, 1994).

Levadura. Las levaduras son hongos unicelulares que transforman glúcidos y aminoácidos en biomasa, dióxido de carbono y alcohol. Las bebidas fermentadas van de la mano con la historia moderna del hombre, no fue hasta 1890 cuando Luis Pasteur identificó la levadura como el responsable de la fermentación. En 1833 Emil Hansen aisló por vez primera una cepa pura de levadura, *Saccharomyces carlsbergii* utilizada para la fermentación de cervezas *Lager* y desde entonces se conoce que *Saccharomyces cerevisiae* se utiliza para fermentar las cervezas tipo *Ale*. En la elaboración de cerveza se debe enfriar el mosto para que los azúcares sean metabolizados por la levadura *S. cerevisiae* la cual flocula en la parte alta del reactor a una temperatura de 16°C-18°C mientras que *S. carlsbergii* flocula en la parte baja del reactor a una temperatura óptima de entre 7°C-13°C dada la disponibilidad de oxígeno (Hughes y Baxter, 2001; Palmer, 2006).

Una de las estrategias en la producción de cerveza con bajo contenido de alcohol es utilizar levadura no convencional como *Saccharomyces ludwigii*, una levadura no *Saccharomyces* que metaboliza principalmente glucosa, sacarosa y rafinosa y en menor medida maltosa, formando compuestos como etanol, dióxido de carbono y compuestos volátiles y no volátiles que contribuyen a la composición química y sensorial de las bebidas que fermentan (Mohammadi *et al.*, 2011). Acorde con lo reportado por De Francesco *et al.* (2014), este microorganismo es inhábil para metabolizar maltosa, pero sí otros azúcares teniendo como inconveniente la formación de un mosto azucarado y la producción de ácido láctico como metabolito secunda-

rio, y se ha reportado que ha condiciones anaeróbicas *S. ludwigii* es capaz de crecer, siguiendo un comportamiento metabólico similar al reportado en *S. cerevisiae* (Estela-Escalante *et al.*, 2011).

Agua. El agua representa más del 90% de la cerveza, su composición química tiene gran impacto en el producto final y dependiendo del estilo de cerveza son los requerimientos del agua. Gracias a los avances tecnológicos podemos conocer la composición química del agua dependiendo de la región de manufactura que ayuda a balancear la adición de sales minerales (Palmer y Kaminski, 2013).

Los principales iones que se deben de considerar son: calcio (Ca^{2+}) que determina la dureza del agua (50-100 ppm) además actúa como cofactor al aumentar la actividad de la enzima alfa amilasa y favorecer la acción de proteasas; magnesio (Mg^{2+}) influye en menor proporción en la dureza del agua sin embargo es necesaria para la fermentación con niveles óptimos 10-30 ppm; bicarbonato (HCO_3^-) que aumenta el pH y neutraliza la acidez del mosto en niveles dependiendo del estilo de cerveza a elaborar (para *Pale ale* 0-50 ppm, *Amber ale* 50-150 ppm y *Stout o Portes* 150-250 ppm); sulfatos (SO_4^{2-}) acentúan el amargos del lúpulo y junto con el Ca^+ y Mg^+ contribuye a la dureza del agua, si los niveles superan las 400 ppm se producirán sabores indeseados y desagradable; sodios (Na^+) ayuda a acentuar los sabores de la cerveza; cloruro (Cl^-) aporta sabor suave a bajas concentraciones ya que niveles por arriba de las 300 ppm aporta sabores similares a medicamento (Palmer y Kaminski, 2013).

El pH del agua es otro factor que influye en las características de la cerveza, el cual se ajusta por los iones ya que se requiere de un mosto ácido (pH 5.3) para que la enzima amilasa produzca mayor rendimiento en la extracción de azúcares requeridos en la fermentación (Palmer, 2014).

PROCESOS TECNOLÓGICOS

Proceso de malteado

El proceso de malteo se divide en tres etapas: remojo, germinación y secado, que tienen el objetivo de activar hormonas vegetales que induzcan la formación de enzimas hidrolíticas con el fin de obtener malta con la máxima actividad diastática y con características químicas particulares, a continuación, se describen las fases del proceso de malteado:

Remojo: tiene como objetivo inducir la activación de hormonas vegetales como giberelinas y citoquininas para llevar a cabo procesos fisiológicos a través de la hidratación del grano y a temperaturas entre los 12°C y 16°C hasta que la humedad del grano aumente hasta aproximadamente 44% (Serna-Saldívar, 1996). Si el remojo se hace a bajas temperaturas el agua penetrará más lento, a una temperatura elevada se favorece el desarrollo y proliferación de microorganismos (Molina-Cano, 1986) por lo que una rápida hidratación y germinación son necesarias para un malteado de buena calidad (Hugs, 1987). Durante esta etapa se debe airear el grano colocando una piedra difusora con el fin de obtener niveles de oxígeno necesarios para el proceso de respiración (Serna-Saldívar, 1996).

Geminación: tiene como objetivo modificar y sintetizar nuevos compuestos como enzimas necesarias para transformaciones químicas como la degradación de gránulos de almidón que facilitan su sacarificación, así como la división celular y el

crecimiento de la radícula (Serna-Saldívar, 1996). Suele llevarse a cabo a temperaturas de 16°C -20°C y una humedad que debe permanecer al 42%, con agitación para la eliminación de calor y dióxido de carbono generados en la respiración del grano (Briggs, 2004)

La combinación de humedad relativa, oxígeno y temperatura propician que se active el embrión e induzca la secreción de enzimas siendo las primeras que se activan lipasas, beta glucanasas, proteasas, peptidasas, dextrinasas y amilasas. La actividad enzimática se evidencia con la aparición de las raicillas y el crecimiento del cotiledón, proceso conocido como degradación, donde las maltas menos degradadas son aquellas donde las raicillas son 1.5 veces la longitud de la cebada siendo utilizadas para la elaboración de cervezas Lager, mientras que maltas con mayor degradación se emplean para elaborar cervezas Ales cuando el tamaño de la raicilla es hasta dos veces la longitud del grano (Briggs, 1998).

Secado-Tostado: este proceso inicia con el secado, donde se disminuye la humedad del grano de 45% a cantidades por debajo del 5% de forma gradual a través de elevadas temperaturas con el fin de frenar la germinación y cesar la actividad enzimática sin desnaturalizar las enzimas para mantener la actividad durante la maceración, donde dependiendo del tiempo y temperatura de secado se obtendrá a) maltas diastáticas (aquellas que han sido secadas a temperaturas próximas a 75°C manteniendo su actividad enzimática) y b) no diastáticas (aquellas que han sido secadas a temperaturas mayores a 100°C eliminando toda actividad enzimática) con una duración entre 16h y 60h dependiendo del tipo de malta la cual tendrá características organolépticas particulares (Henry, 1989). Además, el golpe de calor da lugar a las reacciones químicas y fisicoquímicas como la reacción de Maillard y de caramelización producidas por altas temperatura que propician el desdoblamiento de azúcares y aminoácidos dando lugar a la formación de melanoidinas, productos aromáticos como piranos, furanos y furanonas (Hugs, 1987; IICA, 1999).

Fermentación

Los microorganismos utilizan los carbohidratos presentes en el mosto, bajo condiciones anaeróbicas por medio de la vía glucolítica la levadura capta los azúcares y aminoácidos del mosto formando principalmente dos metabolitos secundarios: dióxido de carbono y etanol y energía (ATP) como se ilustra en la siguiente ecuación condensada:



Las levaduras producen gran cantidad de compuestos volátiles como alcoholes superiores, ésteres y aldehídos, siendo responsables de una gran parte de las características sensoriales de la cerveza (Hughes y Baxter, 2001). Sin embargo, en las cervezas con bajo contenido de alcohol hay una considerable pérdida de estos compuestos debido a los procesos por los que se elaboran las cervezas como fermentaciones incompletas o la evaporización.

Existen aproximadamente 1,500 especies de levaduras descritas, sin embargo, estimaciones indican que hay alrededor de 669,000 especies aún no descritas. Las especies más importantes de levaduras empeladas en la fermentación son las del género *Saccharomyces* agrupadas en el complejo de las *Saccharomyces sensu stricto*, las cepas que principalmente se utilizan en la elaboración de cerveza son: *Saccharomyces cerevisiae* para fermentar cervezas ale, donde la levadura opera a una temperatura entre los 18°C-22°C, y la cepa *Saccharomyces pastorianus* que se emplea para fermentar cervezas lager, las cuales requieren temperaturas entre los 8°C-15°C (Briggs, 2004).

En este trabajo utilizamos una levadura Ale no *Saccharomyces* llamada *Saccharomyces ludwigii*, la cual es considerada contaminante en la producción de bebidas fermentadas ya que utiliza rutas metabólicas comunes para la degradación de azúcares convirtiéndolos en etanol, dióxido de carbono y compuestos volátiles y no volátiles que contribuyen a la composición química y sensorial del producto, esta levadura ha sido estudiada para fermentar bebidas con bajo contenido de alcohol debido a que el etanol inhibe la viabilidad de las células provocando la disminución del contenido de esteroides presentes en la membrana celular afectando el transporte de azúcares, obteniendo bebidas con bajo contenido de alcohol (Escalante *et al.*, 2011).

Filtración

El propósito de la filtración es aclarar la cerveza, reducir bacterias y levaduras que se encuentren en la cerveza y estabilizar la cerveza por la eliminación de compuestos como polifenoles y proteínas. Siendo los métodos más utilizados la filtración frontal por filtro prensa o filtros Kieselguhr (roca sedimentaria compuesta por restos fosilizados) o por medio de microfiltración de flujo cruzado (Jeantet y Perrocheau, 2016).

Pasteurización

La producción de cerveza culmina con el proceso de pasteurización térmica cuyo objetivo es estabilizar la cerveza e incrementar su vida útil, sin embargo, este proceso puede llegar alterar el sabor. La medida de pasteurización para la cerveza es la unidad de pasteurización (UP) donde 1 UP equivale a 1 minuto a 60°C, siendo la

mínima pasteurización aplicada por cervecerías de 15 UP lo que equivale a 15 minutos a 60°C lo cual se estableció en función de la resistencia térmica de la levadura en su forma vegetativa (Milani y Silva, 2016).

PROCESO DE ELABORACIÓN DE CERVEZA

El proceso de elaboración (**Figura 3**) involucra 5 operaciones esenciales: malteado, maceración, aromatización, fermentación y maduración. A continuación, se describen los pasos para elaborar cerveza una vez obtenida la malta.

Molienda: el primer paso en la elaboración de la cerveza es la molienda del grano, cuyo objetivo es deshacer la mayor parte posible de β -glucanos de la pared celular del grano y parte de la fracción proteica insoluble permitiendo que las enzimas conviertan el almidón en sólidos solubles (Hughes y Baxter, 2001). Tradicionalmente la molienda se realiza con molinos de rodillos y un haz de luz entre los rodillos lo suficientemente abierto para quebrar el endospermo y no triturar las glumas (Guido *et al.*, 2007).

Maceración: la malta molturada se mezcla con agua caliente y se mantiene a una temperatura de 65°C durante una hora ya que a esta temperatura el almidón de la malta se gelatiniza haciéndolo más susceptible a la acción enzimática de la α -amilasa (hidrolizando los enlaces α 1-4 de la amilosa y amilopectina de manera aleatoria formando dextrinas no fermentables) y β -amilasa (hidroliza los enlaces α 1-4 hidrolizando los extremos reductores liberando moléculas de maltosa), mientras que las dextrinasas o pululanases hidrolizan enlaces α 1-6 y amiloglicosidasa enzima exoamilítica que hidroliza enlaces α 1-4 y α 1-6 liberando unidades de glucosa. Estas enzimas reducen la amilosa a maltosa, maltotriosa y glucosa fermentables

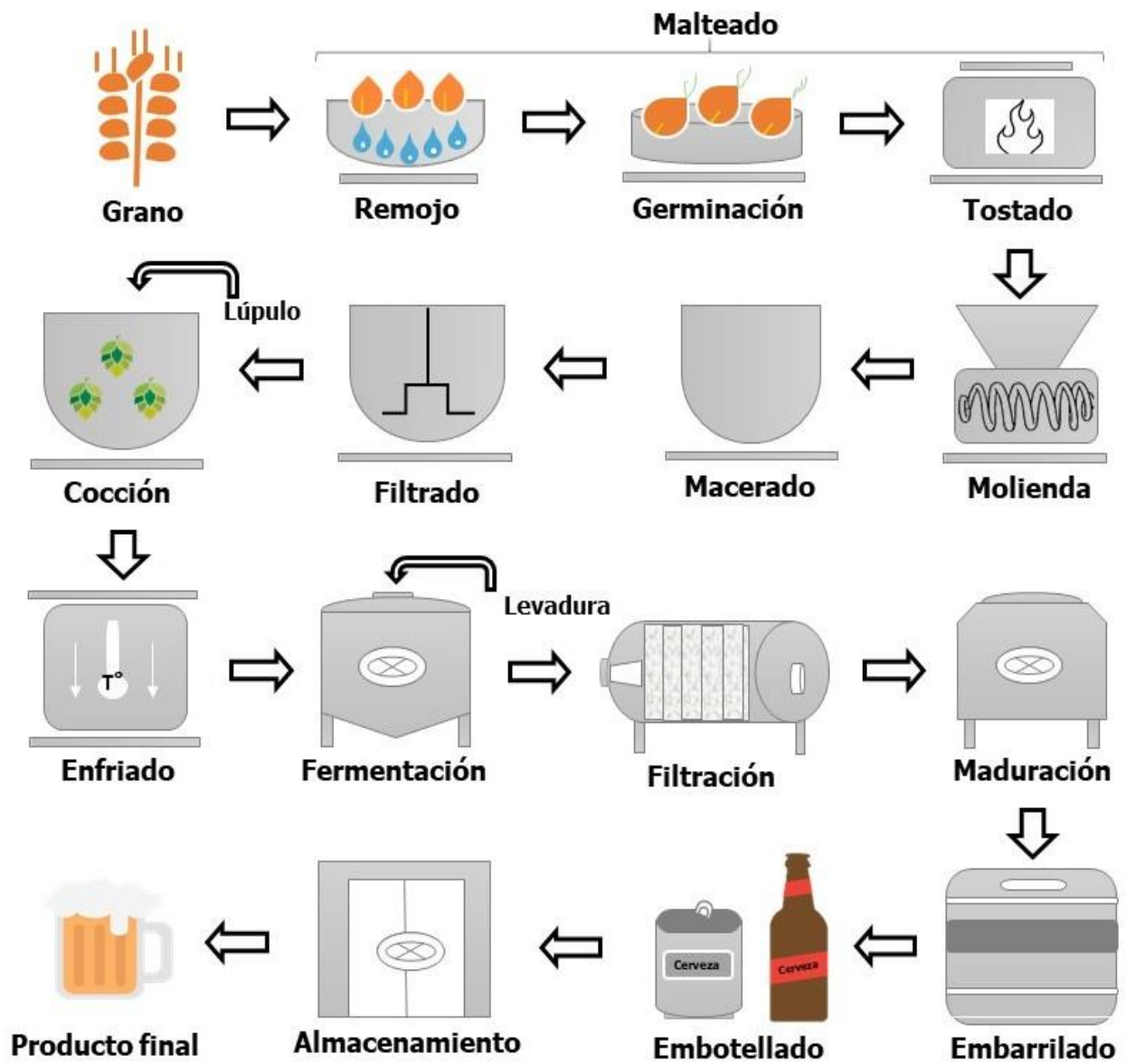


Figura 3. Esquema del proceso de elaboración de cerveza artesanal.

dando lugar a un mosto dulce (Hughes y Baxter, 2001; Barbado, 2003). Posteriormente se filtra el mosto y pasa a la olla de hervor.

Lautering y sparge: una vez completado el proceso de macerado, el mosto es transferido a un tanque para separar el grano gastado el cual sirve como una cama natural de filtración, donde el mosto es recirculado con el fin de disminuir la turbidez. El proceso se lleva a cabo a 65°C-70°C y el grano gastado es asperjado con agua a 75°C-80°C para diluir los azúcares simples que estén atrapado en él. Un deficiente y lento *lautering* causará pérdidas en el rendimiento de extracción, así como se presentarán problemas de filtración, sabor y estabilidad ya que afecta la viscosidad del mosto (Hough *et al.*, 1995; Bamforth, 2003; Serna-Saldívar, 2010).

Hervido del mosto o aromatización: después de haber obtenido el mosto, este se aromatiza con lúpulo y se somete a cocción intensa de 1.5h-2.5h, en donde las altas temperaturas propician que los α -ácidos (moléculas responsables del sabor amargo) se isomerizan formando iso- α -ácidos, y sean solubles en agua, se extraen aceites esenciales con aromas especiados y florales, además se esteriliza el mosto, se coagulan las proteínas, cesa la actividad enzimática y disminuye el pH (Hughes y Baxter, 2001). Además, se llevan a cabo reacciones químicas como las de Maillard, reacciones de pardeamiento no enzimático que involucra complejas transformaciones entre un azúcar reductor y un grupo amino dando lugar a compuestos como melanoidinas que propicia el aumento en el color, sabor y aroma del mosto (Gorostiaga, 2008) y dependiendo del estilo que se elabora serán las temperaturas y tiempos de ebullición, además se elimina el agua extra y se evaporan moléculas que dan olores indeseados.

Whirpool: después de la cocción se realiza el whirpool, que es un método de separación que se logra moviendo el mosto de forma circular creando un remolino

con el fin de que sólidos y otras partículas presentes en el mosto se acumulen en el centro favoreciendo su eliminación, con ello lograr un enfriado más rápido y eficaz (Briggs, 2004).

Enfriado: El mosto aromatizado pasa por un intercambiador de calor de flujo paralelo bajando hasta la temperatura de fermentación (Barbado, 2003), al llegar a los 7°C la proteína se ha insolubilizado, el mosto se vuelve a filtrar antes de pasar al fermentador (Serna-Saldívar, 1996). Durante el enfriamiento se produce una segunda separación de sólidos en el mosto, formado principalmente de proteínas, polifenoles y lípidos (Briggs, 2004).

Fermentación: la fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico donde levaduras descarboxilan el piruvato obtenido de la ruta Embden-Meyerhof-Parnas en acetaldehído el cual es reducido a etanol y dióxido de carbono. Una vez terminado el proceso de fermentación, la cerveza se deja un periodo de tiempo en reposo propiciando la decantación de la mayor parte de los sólidos producidos durante el proceso fermentativo por lo que se filtra para reducir la turbidez y sólidos microscópicos suspendidos como levadura, restos de malta y lúpulo (Palmer, 2006; Kim, 2013).

Maduración: es un periodo de tiempo para que repose la cerveza, este va a depender del tipo de cerveza. En las *Lagers* suele prolongarse varios meses mientras que las *Ale* son periodos de 1-2 meses. El remanente de levadura cataliza la reducción de compuestos como diacetilo, dioles, dicetonas que pueden dar lugar a sabores y aromas que perjudican la calidad de la cerveza, producen dióxido de carbono que carbonata la cerveza además de que se reducen compuestos volátiles indeseados (Hughes y Baxter, 2001; Palmer, 2006).

Filtración y pasteurización: la filtración propicia la reducción de turbidez, por lo general se utilizan filtros formados por fibras de celulosa cubierto con una capa

de 2mm de diatomea, microalgas compuestas en su mayoría de sílice que se encuentran en yacimientos de gran espesor. Una vez filtrada la cerveza pasa a em-barrilarse o embotellarse, en la macro industria se utiliza la pasteurización, proceso térmico que tienen la finalidad de inactivar las células vegetativas de los microorganismos y aumentar la vida de anaquel del producto garantizando su estabilidad. Este proceso se lleva a cabo en túneles de pasteurización con zonas de calentamiento, retención y enfriamiento (Briggs, 2004).

Envasado y almacenamiento: el embalaje de la cerveza debe realizarse de manera higiénica, cuidadosa y efectiva para garantizar que el cliente esté satisfecho con la calidad, cantidad y legalidad del producto, siendo la botella la más importante a nivel mundial, la cual puede ser retornable o no retornable y en general la presentación suele ser color ámbar, verde o transparente, siendo las ámbar las que brindan mayor protección a la cerveza contra la foto-oxidación (reacción con la luz) evitando la formación del compuesto 3-metil-2-buteno-1-tiol que se caracteriza por un aroma a zorrillo, además también las podemos encontrar en lata o barril (Briggs, 2004). Además de la exposición a la luz, es importante evitar que ingrese aire en la cerveza para evitar reacciones de oxidación, en producto final el oxígeno disuelto no debe pasar los 0.2 mg/lo. La temperatura de llenado debe ser 0°C-2°C y el contenido de dióxido de carbono puede ser de 2.1 ± 2.7 volúmenes dependiendo si está destinada a barril o lata/botella (Briggs, 2004).

La cerveza se deteriora con el tiempo, su vida útil puede variar de las 4 a 6 semanas para cerveza en barril, hasta 52 semanas en cerveza en botella o lata; por lo que las condiciones de almacenamiento son críticas para mantener la calidad del producto. La cerveza filtrada debe ser almacenada a temperaturas por encima de 0°C ya que temperaturas superiores a los 22°C pueden afectar la estabilidad de la cerveza (Briggs, 2004).

HIPÓTESIS

El uso de malta de sorgo y malta de cebada fermentadas de manera individual y en cocultivo con *Saccharomyces ludwigii* y *Saccharomyces cerevisiae* generarán una cerveza artesanal tipo ale con bajo contenido de alcohol con cualidades físico-químicas y organolépticas de alta aceptación para el consumidor.

OBJETIVOS

General

- 🍷 Elaborar una cerveza artesanal tipo *ale* con bajo contenido de alcohol evaluando sus propiedades químicas y organolépticas.

Específicos

- 🍷 Realizar la caracterización físico-química de las maltas de sorgo y cebada.
- 🍷 Elaborar una cerveza tipo *ale* con bajo contenido de alcohol utilizando las maltas de sorgo y fermentándolas con dos diferentes levaduras (*Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces ludwigii*) de manera individual y el cocultivo.
- 🍷 Caracterizar el consumo de azúcares y la producción de alcohol en las diferentes cervezas elaboradas a lo largo de la fermentación.
- 🍷 Evaluar la aceptación del producto por medio de análisis sensorial de las diversas cervezas elaboradas con malta de sorgo y cebada fermentadas con dos diferentes levaduras (*Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces ludwigii*) de manera individual y el cocultivo.

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Materias primas y reactivos

Se utilizó grano de sorgo variedad DKS-74 proveniente del estado de Nayarit el cual fue germinado y secado para obtener la malta de sorgo. Como adjunto se empleó malta de cebada comercial variedad *Vienna* la cual es utilizada como malta base aportando colores amarillo-dorado y aroma a pan tostado.

La cepa de levadura que se inoculó al mosto fue *Saccharomyces ludwigii* ya que se ha reportado que produce niveles bajos de etanol (0.5%), así como *Saccharomyces cerevisiae* del proveedor White Labs® San Diego, California.

Los lúpulos que se emplearon fueron aquellos con notas cítricas, florales y frutales como: *Cascade*, *Amarillo* y *Centennial* en comprimidos del proveedor Yakima Chief Hops® provenientes del valle de Yakima, Washington los cuales fueron almacenados en refrigeración a 4°C.

PRODUCCIÓN DE CERVEZA TIPO ALE CON BAJO CONTENIDO DE ALCOHOL

Elaboración de malta de sorgo

Recepción y limpieza del grano: los granos de sorgo se limpiaron de forma manual descartando granos rotos y materia extraña. Posteriormente se realizó un lavado con una solución de agua destilada al 0.2% (v/v) de hipoclorito de sodio por

10 minutos con agitación mecánica, se descartó el agua y se realizó un segundo lavado con agua estéril.

Remojo: se realizó siguiendo la metodología descrita por Serna-Saldívar (2012) y Elgorashi *et al.* (2016) con modificaciones. Los granos de sorgo se colocaron en agua estéril con 0.01% (v/v) de formaldehído a una temperatura de $28^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Se utilizó una bomba de aire (Elite 801) para asegurar condiciones aeróbicas. Una vez concluido el tiempo, se descartó el agua y se agregó agua estéril con 0.2% (v/v) de hipoclorito de sodio por 10 minutos, donde por cada kilogramo de grano se emplearon 2 litros de solución de remojo. Concluido el tiempo de remojo se descartó la solución de remojo para proseguir con la germinación.

Germinación: los granos sanitizados se esparcieron en una charola de germinación previamente sanitizada formando una capa no mayor a 2.5 cm de espesor, las cuales fueron colocadas en una cámara de incubación (BOD, Sheldon manufacturing acturing INC, USA) a una temperatura de $28^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ para el buen desarrollo enzimático (Djameh *et al.*, 2013), a una humedad relativa del 95% durante 120 horas. Cada 6 horas los granos fueron revueltos manualmente para liberar el CO_2 formado durante las reacciones de respiración y rehidratados con agua estéril cada 8 horas con el fin de homogenizar la germinación y prevenir el crecimiento de hongos y compensar la pérdida de evaporación. Se tomaron muestras para determinar el porcentaje de germinación.

Secado: el grano de sorgo germinado se colocó en un horno de convección (Electrolux, Suecia) a 50°C por 24 horas. Transcurrido este tiempo, el grano se enfrió a temperatura ambiente y se almacenó en bolsas plásticas autosellables para su posterior molienda y análisis.

Producción de mostos

Se elaboraron 3 tipos de mostos por triplicado correspondientes a cada tratamiento para la producción de cerveza con bajo contenido de alcohol (**Figura 4**). Se realizaron a partir de malta de cebada que fue el control, malta de sorgo rojo y malta de sorgo en combinación con malta de cebada. Los mostos fueron fermentados en cocultivo por las cepas *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomycodes ludwigii* individual y en cocultivo, se tomaron muestras a las 0, 12, 24, 48, 72, 96 y 120 horas, las cuales se colocaron en tubos de 15 mL y se almacenaron en un congelador a -20°C. La figura 4 muestra el proceso y las condiciones para la elaboración de mostos.

Proceso de elaboración de cerveza

Molienda: las maltas de cebada o sorgo fueron trituradas en un molino de rodillos estriados (3383-L10, Thomas Scientific, Swedesboro, Nueva Jersey, USA), con una separación de 0.5 mm entre rodillos. Ambos materiales molturados fueron tamizados en malla #20 para obtener un tamaño de partícula adecuado. Las maltas obtenidas fueron guardadas en bolsas plásticas para evitar que aumentara su contenido de humedad.

Maceración: Se colocaron 3.5 litros de agua por triplicado en ollas de 5 litros y se añadieron 0.21 g/L de cloruro de calcio, posteriormente se elevó la temperatura a 50°C-55°C y se añadió la malta de cebada para una eficiente hidrólisis del almidón, e inicial la acción proteolítica. Después se aumentó la temperatura a una velocidad de calentamiento de 1.5°C por minuto hasta alcanzar los 62°C-65°C por 30 minutos,

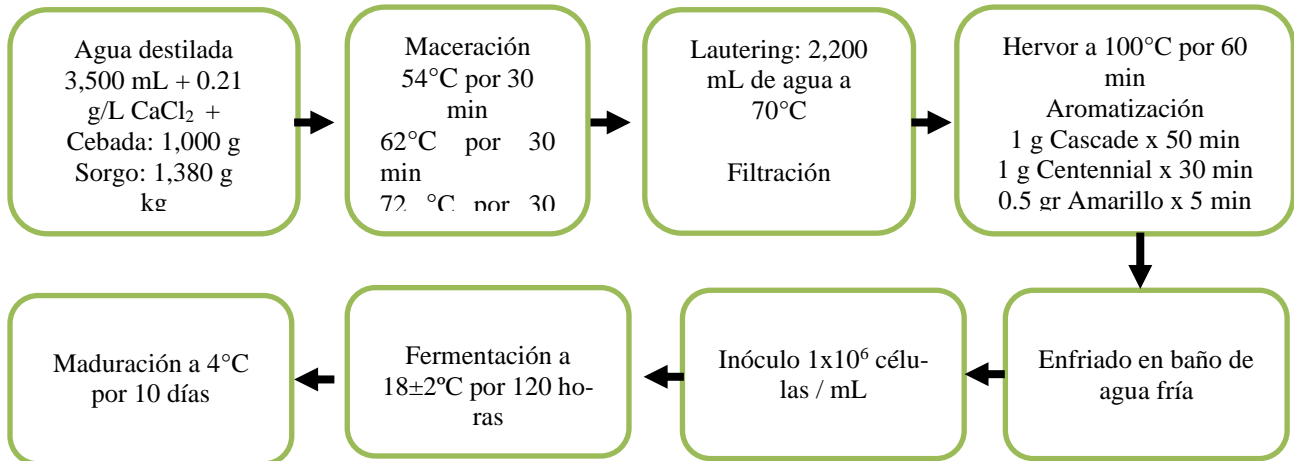


Figura 4. Proceso de elaboración de las cervezas evaluadas en este trabajo experimental elaboradas con malda de cebada o sorgo y fermentadas con *Saccharomyces cerevisiae* o *Saccharomycodes ludwigii*.

temperatura óptica de β -amilasa para producir azúcares fermentables. Posteriormente se elevó la temperatura a 72°C para la obtención de azúcares no fermentables por acción de α -amilasa.

Lauteirng y sparge: culminada la maceración se agregaron 1.8 L de agua a 70°C al grano gastado y se ajustó a 12 °Brix. Posteriormente se centrifugó el mosto a 4,500 rpm (Thermo Scientific SL 16R, USA) por 20 minutos con el fin de separar gomas y proteína.

Hervor del mosto y aromatizado: se ajustó el volumen del mosto a 3.5 L para dar inicio al hervor por 60 minutos, para el aromatizado añadiendo 1 g de lúpulo en pellet Cascade por 50 minutos, 1 g de lúpulo Centennial después de 30 minutos y 0.5 g de lúpulo Amarillo en los últimos 5 minutos. Después del hervor se añadieron 0.5 g de “irish moss” (Super Moss HB®, USA) para la precipitación de proteínas que permitió el clarificado del mosto. Finalmente se obtuvo un rendimiento de 3.1 L. El mosto se enfrió en baño de hielo por 30 minutos, posteriormente se centrifugó el mosto aromatizado a 4,500 rpm por 20 minutos (Thermo Scientific SL 16R, USA) y el mosto se colocó en matraces de 2 L para ser pasteurizados 3 unidades en baño de agua a 50°C por 15 minutos. Bajo condiciones asépticas y en una campana de flujo laminar (ESCO LR2-6S2) y se colocaron 300 mL de mosto en los sistemas de fermentación (**Figura 5**) previamente esterilizados.

Fermentación alcohólica: Para inocular la levadura se realizó un medio de cultivo líquido con agar YM Difco (USA) previamente esterilizado y se dejó incubar por 24 horas a 25°C y agitación a 100 rpm, posteriormente realizó un conteo de células con cámara de Neubauer para determinar el volumen de medio a inocular a los tres tratamientos. Para ello se realizó una dilución 1:1,000 para determinar el número de células a partir de la siguiente ecuación: Células de levadura / mL= # de células

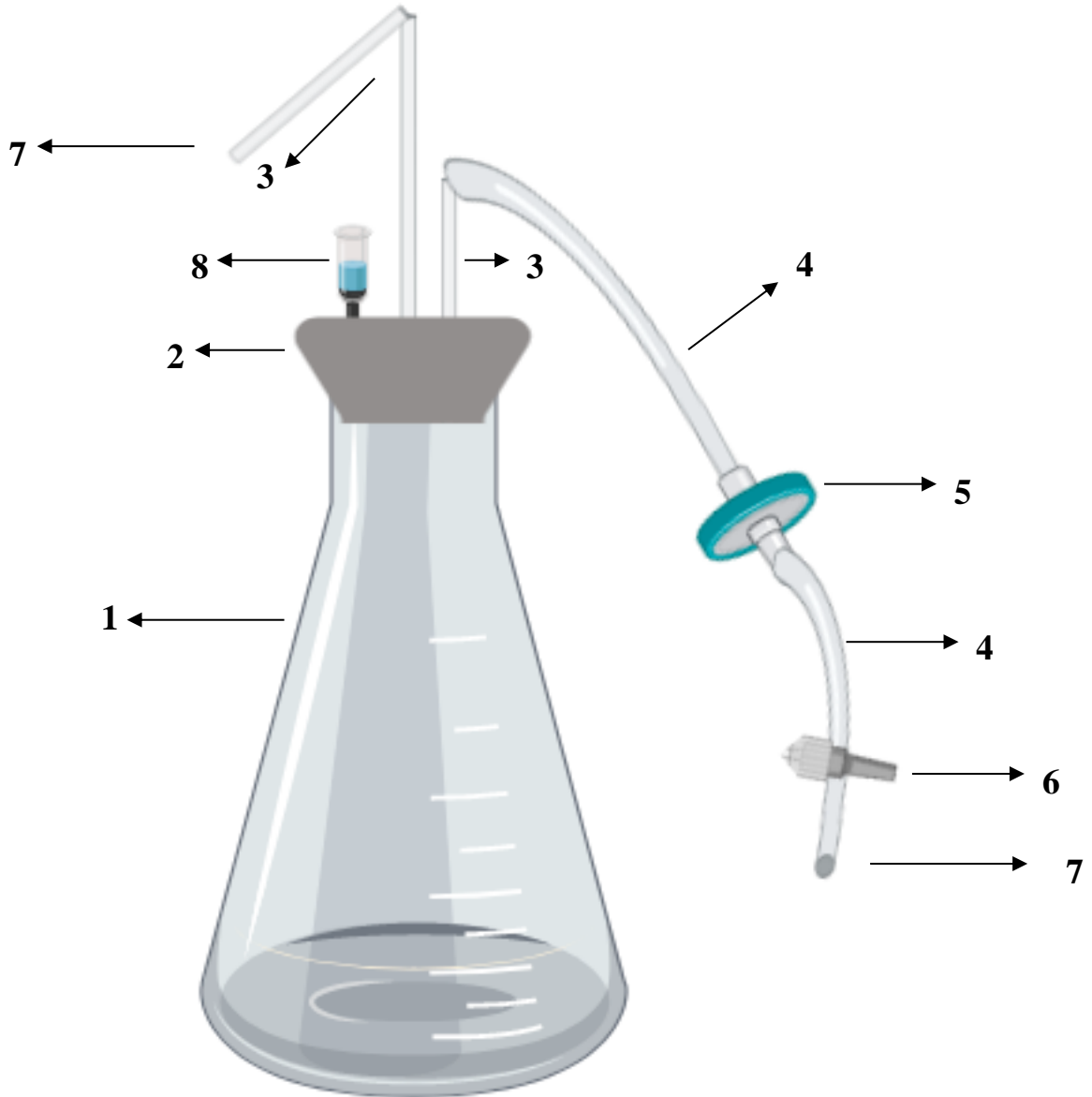


Figura 5. Sistema de fermentación formado por las siguientes partes: 1) matraz Erlenmeyer, 2) tapón de hule, 3) tubo de vidrio, 4) manguera de silicón, 5) filtro 0.22µm, 6) pinza, 7) tapón de hule horadado, 8) válvula de una sola vía.

x dilución $\times 10^6$. Obtenido el resultado se determinó el volumen en mililitros a inocular a cada tratamiento a partir de la ecuación:

$$(\text{°Brix} \times \text{mL mosto} \times 10^6 \text{ células})/\text{mL}$$

Se inoculó la levadura *Saccharomyces ludwigii* a dos tratamientos y después de 72 horas se inoculó *Saccharomyces cerevisiae* al tratamiento con la mezcla de levaduras, además se añadió un *dry hop* de 0.5 g de lúpulo Amarillo y se tomó una muestra a las 0, 12, 24, 48, 72, 96 y 120 horas para su posterior análisis (Ivanov *et al.*, 2016).

Maduración: los fermentadores fueron colocados en un cuarto frío a 4°C durante 14 días para propiciar la clarificación de la cerveza y la disminución de productos indeseados de la fermentación.

Embotellado y almacenamiento: finalizado el tiempo de maduración se realizó una gasificación forzada con NO₂ por 24 horas, posteriormente la cerveza se embotelló de forma manual, se etiquetó y se almacenó a 4°C.

Análisis de la Malta de Sorgo y Malta de Cebada

Contenido de humedad

Se realizó con el método AACC 44-19 de acuerdo con el siguiente protocolo:

Se colocaron charolas de aluminio (volumen total de 30 mL) en una estufa de secado a 105°C hasta que alcanzaran peso constante. Se retiraron las cápsulas y se colocaron en un desecador durante 30 minutos hasta que alcanzaran temperatura

ambiente (20°C). Se registró el peso de una charola de aluminio, se agregaron 3,000 g de muestra por triplicado y se colocaron en un horno a 105°C por 24 horas. Transcurrido el tiempo, las charolas fueron colocadas en el desecador, una vez enfriadas se pesaron en una balanza analítica. La humedad se obtuvo según la ecuación 1:

$$\%Humedad = \frac{\text{peso muestra} - \text{peso final}}{\text{peso de la muestra}} \times 100 \quad [1]$$

Porcentaje de germinación del grano

Se realizó según la metodología descrita por Serna-Saldívar, (2003). Del grano remojado se separaron 100 granos, por triplicado, y se colocaron en una caja de Petri, las cuales fueron colocadas en una cámara de incubación a una temperatura de 27°C±1°C a una humedad relativa del 95% por 120 horas. Los granos se agitaron de manera manual y se asperjaron con agua destilada cada 8 horas.

Una vez concluido el tiempo se contaron los granos germinados y se obtuvo el porcentaje de germinación a partir de la ecuación 2:

$$\%germinación = (\text{granos totales} - \text{granos no germinados}) \times 100 \quad [2]$$

Pérdida de materia seca

Se colocaron 50 g de grano remojado en bolsas para germinar previamente taradas. Se registró el peso del grano antes de la germinación y posterior al secado

según el método oficial 925.10 de la AOAC (1990). Se determinó el porcentaje de pérdida de materia seca de acuerdo a la siguiente ecuación 3:

$$\%PMS = \frac{[Peso\ del\ grano - (100 - \%humedad)] - [Peso\ de\ malta - (100 - \%humedad)]}{[Peso\ del\ grano - (100 - \%humedad)]} \quad [3]$$

Contenido de almidón

Se determinó el contenido de almidón total según el método de la AOAC 996.1

Almidón total para harina de sorgo: Se pesaron 100 mg de muestra en un tubo de polipropileno, se añadieron 200 µL de etanol al 80% (v/v) y se mezcló vigorosamente. Inmediatamente se agregaron 3 mL de α-amilasa termoestable y se incubó en agua hirviendo por 12 minutos, con agitación a los 4, 8 y 12 minutos.

Posteriormente los tubos fueron colocados en baño de agua a 50°C, se agregaron 100 µL de Amiloglucosidasa (200 U/mL p-nitrofenil β-amilasa) y se incubó por 30 minutos. Se transfirió la solución a un matraz volumétrico de 100 mL y se ajustó el volumen con agua destilada, tomando una alícuota de 10 mL. Se centrifugó (3.000 rpm por 10 minutos) se obtuvo la solución diluida.

Se tomaron 100 µL de solución diluida y se colocaron en un tubo de ensayo, se añadieron 3 mL de GOPOD (Glucosa oxidasa, peroxidasa y 4-aminoantipyrine) y se incubó a 50°C por 20 minutos. Al concluir el tiempo se leyó la absorbancia a 510 nm, tomando como control D-glucosa (100 µL de D-glucosa estándar más 3 mL de agente GOPOD).

Almidón total en malta de sorgo y malta de cebada: Se pesaron 100 mg de muestra en tubos de polipropileno, se añadieron 5 mL de etanol al 80%, posteriormente se

incubó a 85°C por 5 minutos y se homogenizó utilizando un agitador vortex, se agregaron 5 mL de etanol al 80% y se centrifugó a 3.000 rpm por 10 minutos. Se descartó el sobrenadante y se añadieron 10 mL de etanol al 80 % (v/v), se agitó en vortex y los tubos se centrifugaron a 4,000 rpm por 10 minutos. Se descartó el sobrenadante y se agregaron 3 mL de α -amilasa termoestable en buffer MOPS (50 Mm, pH 7.0). Los tubos (polipropileno) se incubaron en agua hirviendo por 12 minutos con agitación con vortex cada 4 min., 8 min. y 12 min. Posteriormente los tubos se colocaron en baño de agua a 50°C y se añadieron 100 μ L de Amiloglucosidasa (200 U/mL p-nitrofenil β -amilasa), dejando incubar por 30 minutos.

Para la cuantificación, se transfirió la solución a un matraz volumétrico de 100 mL y se ajustó el volumen con agua destilada, tomamos una alícuota de 10 mL y se centrifugó a 4,000 rpm por 10 minutos obteniendo una solución diluida. Se transfirió 0.1 mL de solución diluida y se colocaron en un tubo de ensayo y se agregaron 3 mL de GOPOD (Glucosa oxidasa, peroxidasa y 4-aminoantipyrine) para incubarlos a 50°C por 20 minutos.

Se determinó la absorbancia a 510 nm, tomando como control D-glucosa (100 μ L de D-glucosa estándar más 3 mL de agente GOPOD).

Contenido de proteína

Se determinó el contenido de proteína por el método Kjeldahl de acuerdo al método oficial de la AOAC (2001) 2001.11. Se pesaron 0.05 g de sulfato cúprico y 1.90 g de sulfato de potasio y se colocaron en un matraz Kjeldahl. Después se pesó 0.1 g de muestra y se colocaron en un papel filtro libre de cenizas, el cual se plegó hasta obtener un tamaño adecuado y se colocó en el matraz Kjeldahl.

*Digestión: se agregaron 3 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) y los matraces fueron colocados en un digestor, aumentando la temperatura gradualmente. Se dejó digerir hasta obtener un tono verde turquesa con agitación mecánica cada 20 minutos durante 4 h-7 h.

*Destilación: se tomó un matraz Erlenmeyer de 50 mL el cual se lavó con agua destilada, alcohol etílico al 70% y agua destilada. Se agregaron 5 mL de indicador mixto (verde de bromocresol al 0.1% y rojo de metilo al 0.1% diluido en alcohol al 95%) y 10 mL de agua destilada, obteniendo una solución grisácea-purpura translúcida con ello el vaso indicador.

Previamente se preparó el destilador, se agregó el agua suficiente al matraz bola, se encendió el equipo en el número "8", hasta que el agua de matraz llegara a su punto de ebullición. Se agregaron 10 mL de agua destilada al matraz Kjeldahl post digestión colocando la muestra en la boquilla del destilador, se abrió la llave de flujo hasta que la muestra ingresó a la cámara de ebullición.

Se añadieron 10 mL de hidróxido de sodio (NaOH) y se abrió la válvula para que la solución ingresara a la cámara de ebullición hasta que la mezcla cambió a un color café. Se colocó el vaso indicador en la salida del condensador, la muestra de dejó destilar por 5 minutos obteniendo una solución verde esmeralda. Finalmente se limpió el destilador con dos lavados de agua destilada y uno de ácido acético.

*Titulación: se llenó una bureta de 50 mL con ácido clorhídrico (HCl 0.02 N), se registró el volumen inicial. Se colocó el vaso indicador para dar inicio a la titulación por goteo con una bureta y con agitación mecánica, el vaso indicador cambio a un

verde traslúcido, finalmente la última gota generó una coloración grisácea-purpura, siendo éste nuestro punto de vire.

Se calculó el porcentaje de N₂ de acuerdo a la siguiente ecuación 4:

$$\%Nitrógeno = (mL\ HCL) * (N\ HCL) * (Peso\ atómico\ N) \quad [4]$$
$$* 100/(mg\ muestra)$$

El porcentaje de proteína se obtuvo de acuerdo a la siguiente ecuación 5:

$$\%Proteína = (\% Nitrógeno) * factor\ de\ conversión \quad [5]$$

Factor de conversión sorgo: 6.25

Factor de conversión cebada: 5.83

Actividad Enzimática (α - Amilasa, β - Amilasa y Amiloglucosidasa)

Se determinó la actividad enzimática de grano de sorgo, así como del sorgo obtenido después del proceso de malteado, con el fin de corroborar que las condiciones obtenidas estén dentro de los parámetros establecidos. Se analizó la malta de cebada se analizó por el método correspondiente a maltas. A continuación, se describen los protocolos para el análisis de harina y malta.

Determinación de α -amilasa para harina de sorgo: Se determinó la actividad de α -amilasa siguiendo el método Ceralpha oficial de la AOAC (2002) 2002.01 utilizando el kit K-CERA 02/17 de Megazyme®.

Se pesó 3 g de harina de sorgo en un tubo de polipropileno y se añadieron 20 mL de solución Buffer (1 M malato de sodio, 1 M cloruro de sodio, 40 mM cloruro de calcio y 0.1% de azida de sodio, pH 5.4). Se homogenizó la mezcla y se dejó reposar por 20 minutos en un baño de agua a 40°C y se centrifugó (1.000 g - 10 minutos), obteniendo el extracto enzimático.

Posteriormente se colocaron 0.2 mL de sustrato (*p*-nitrofenil maltoheptosido y α -amilasa termoestable) en un tubo de ensayo y se pre incubó a 40°C por 5 minutos. Al tubo pre incubado se añadieron 0.2 mL de extracto enzimático, se incubó por 20 minutos y se detuvo la reacción agregando 3 mL de fosfato trisódico al 1%, pH 11. Se determinó la absorbancia a 400 nm en un espectrofotómetro (DU800; Beckman Coulter Brea, CA) y los resultados fueron comparados con un control utilizando la ecuación 6:

$$\frac{U}{g} = \frac{U_{std}}{\frac{\Delta_{std}}{T * F}} * \frac{\Delta_{mtra}}{T * F} \quad [6]$$

Donde:

- U_{std} = Unidades de α -amilasa del estándar
- Δ_{std} = Absorbancia del estándar – Absorbancia blanco
- Δ_{mtra} = Absorbancia de la muestra – Absorbancia del blanco
- T= Tiempo de reacción
- F= Factor de dilución.

Determinación de α -amilasa para malta de sorgo y malta de cebada

Se pesaron 0.5 g de malta de sorgo y cebada y se colocaron en un matraz volumétrico de 100 mL, se añadió una solución al 1% de cloruro de sodio más 0.02% de

cloruro de calcio y se ajustó el volumen. La mezcla se homogenizó y se incubó a temperatura ambiente por 20 minutos. Tras el tiempo de incubación, se tomó una alícuota de 7 mL, se colocó en un tubo de polipropileno, posteriormente se centrifugó la mezcla (1.000 g-10 minutos). Se tomó una alícuota 0.5 mL del extracto enzimático y se añadieron 9.5 mL de solución Buffer (1 M malato de sodio, 1 M cloruro de sodio, 40 mM cloruro de calcio y 0.1% de azida de sodio, pH 5.4) obteniendo el extracto enzimático.

Se colocaron 200 µL del sustrato (*p*-nitrofenil maltoheptosido y α-amilasa termoes- table) en un tubo de ensayo y se pre incubó a 40°C por 5 minutos, después se colocaron 200 µL de extracto enzimático y se incubó por 10 minutos. Posteriormente se detuvo la reacción agregando 3 mL de fosfato trisódico al 1%, pH 11. Se determinó la absorbancia a 400 nm en un espectrofotómetro (DU800; Beckman Coulter Brea, CA) y los resultados fueron comparados con un control utilizando la ecuación 7:

$$\frac{U}{g} = \frac{U_{std}}{\frac{\Delta_{std}}{T * F}} * \frac{\Delta_{mtra}}{T * F} \quad [7]$$

Donde:

- Ustd= Unidades de α-amilasa del estándar
- Δstd= Absorbancia del estándar – Absorbancia blanco
- Δmtra= Absorbancia de la muestra – Absorbancia del blanco
- T= Tiempo de reacción
- F= Factor de dilución

Determinación de β -amilasa para malta de sorgo y malta de cebada

Se determinó la actividad de β -amilasa según el método enzimático K-Beta 05/18 de Megazyme® de acuerdo al siguiente protocolo:

Se pesaron 0.5 g de muestra (harina de sorgo, malta de sorgo y malta de cebada) en un tubo de polipropileno de 15 mL. Se añadieron 5.0 mL de solución Buffer A (Tris/HCL 1 M pH8, EDTA 20 mM y 0.02% de azida de sodio) y se dejó incubar por 60 minutos a temperatura ambiente con agitación cada 15 minutos. Posteriormente se centrifugó (2.000 g por 10 minutos) obteniendo el extracto enzimático. Se tomó una alícuota de 200 μ L del extracto enzimático, se colocó en un tubo de ensayo y se añadieron 4.0 mL de solución Buffer B (MES 1 M, pH 6.2, EDTA 20 mM, BSA 10 mg/mL y 0.10% de azida de sodio, más 0.88 g de HCL cisteína, pH 8).

Posteriormente se agregaron 200 μ L del sustrato (*p*-nitrofenil- β -D-maltotriosa y β -glucosidasa (50 U)) en un tubo de ensayo y se pre incubó a 40°C por 5 minutos. Después se añadieron 200 μ L de extracto enzimático, se agitó vigorosamente y se incubó por 10 minutos a 40°C. La reacción se detuvo agregando 3 mL de Trizma base (1% p/v, pH 8.5). Se determinó la absorbancia a 400 nm en un espectrofotómetro (DU800; Beckman Coulter Brea, CA) y los resultados de actividad de β -amilasa se obtuvieron multiplicando la absorbancia por 19.72.

Determinación de Amiloglucosidasa

Se determinó la actividad de amiloglucosidasa empleando el Kit R-AMGR3 11/13 usando *p*-nitrophenyl y β -masltoside de Megazyme® de acuerdo al siguiente protocolo:

Se pesaron 100 mg de harina de sorgo, malta de sorgo y malta de cebada en tubos de polipropileno de 15 mL. Se añadieron 900 µL de Buffer (acetato de sodio glacial 1.05 g/mL, pH 4.4 y 1M de NaOH) y se incubó a 40°C por 5 minutos. Posteriormente se centrifugó (a 1,000 g por 3 minutos) obteniendo el extracto enzimático. Se agregaron 200 µL del sustrato (*p*-nitrofenil-β-maltotriosa y β-glucosidasa (5 U/mL)) en un tubo de ensayo y se pre incubó a 40°C por 5 minutos. Al tubo pre incubado se colocaron 200 µL de extracto enzimático, se agitó vigorosamente y se dejó incubar por 10 minutos a 40°C. La reacción se detuvo agregando 3 mL de Trizma base (2% p/v, pH 8.5).

Se determinó la absorbancia a 400 nm. La actividad de amiloglucosidasa se obtuvo de acuerdo a la siguiente ecuación 8:

$$\frac{U}{g} = \frac{\Delta mtra}{10} * \frac{3.4}{0.2} * \frac{1}{18.1} * dilución \quad [8]$$

Donde:

- $\Delta mtra$ = Absorbancia de la muestra a 400 nm
- 10= tiempo de incubación
- 3.4= volumen final del ensayo
- 0.2= volumen del extracto enzimático
- 18.1= absortividad molar

Perfil reológico de los almidones de las maltas

Para determinar la viscosidad en solución de las muestras de malta se empleó un Viscoamilógrafo Rápido (RVA) de acuerdo al siguiente protocolo:

Utilizando el software del RVA y con base al porcentaje de humedad obtenido previamente se determinó la cantidad de sólidos y agua necesaria para cada muestra. En una cápsula de aluminio utilizada para la determinación en el RVA se pesaron 3.27 g \pm 0.01 g de harina de sorgo, 2.81 g \pm 0.01 g de malta de sorgo y 3.11 g \pm 0.01 g de malta de cebada en base a la humedad de cada una de las muestras, se añadió agua destilada llegando a un peso de 28 g. Se colocó la muestra en el equipo a una temperatura de 50°C la cual se mantuvo por 2 minutos con agitación de 960 rpm los primeros 10 segundos y a 160 rpm por 12.50 minutos.

Posteriormente se inició un aumento de temperatura de 13°C/minuto hasta llegar a los 90°C, manteniendo esta temperatura por 3 minutos. Posteriormente se disminuyó la temperatura 13°C/minuto hasta llegar a los 05°C, temperatura que se mantuvo por 5 minutos obteniendo los valores de viscosidad (cP) y el término del análisis. Se graficó el perfil de viscosidad con respecto al tiempo y el perfil de temperatura para determinar los principales picos que indican la temperatura de gelatinización de los gránulos de almidón.

Análisis de Mostos y Cervezas

Se tomaron muestras de los mostos dulces posterior a su ajuste a 12 °Brix por triplicado, a los cuales se realizaron la determinación de pH, grados plato, alfa amino nitrógeno libre, color y perfil de azúcares fermentables por HPLC.

Para el análisis de las cervezas se tomaron muestras a las 12, 24, 48, 72, 96 y 120 horas de fermentación. Las determinaciones que se realizaron a la cerveza fueron:

color, turbidez, grados plato, pH, unidades de amargos, perfil de azúcares fermentables y etanol por HPLC y alfa amino nitrógeno libre por cromatógrafo de gases acoplado a un detector de ionización en flama.

Evaluación de grados plato

El refractómetro nos determina los grados Brix del mosto (cervecería los denomina grados plato), para ello se utilizó un refractómetro digital ATAGO PR-32 α (Brix 0-32%), donde se colocó una gota de mosto a 25°C. El equipo se taró en cero utilizando agua desionizada tipo II.

pH

Se determinó de la concentración de iones de hidrógeno con un potenciómetro (Orion Research Inc. modelo 8005) previamente calibrado con dos estándares de pH 4.0 y 7.0. Se midió el pH de las muestras de mosto dulce y se midió cada 24 horas para las fermentaciones hasta las 120 horas de fermentación.

Amino nitrógeno libre (AAN)

Se determinó el contenido de alfa amino nitrógeno (AAN) de acuerdo con método de la AOAC (1990) 945.30 mediando una reacción con ninhidrina. Para ello la muestra fue centrifugada a 4,500 rpm por 10 minutos (Thermo Scientific SL 16R), se tomó una alícuota para hacer una dilución 1:100 para mosto y 1:50 para cerveza. Se tomaron 2 mL de muestra por triplicado y se colocaron en un tubo de ensayo y

se añadió 1 mL de reactivo de ninhidrina (3.96 g de Na₂HPO₄, 6 g KH₂PO₄, 0.5 g indiatritrona, 0.3 g de fructosa aforado en 100 mL de agua) y se colocaron en baño de agua hirviendo por 16 minutos, concluido el tiempo los tubos fueron colocados en baño de agua a 20°C por 20 minutos o hasta alcanzar temperatura ambiente. Posteriormente se agregaron 5 mL de solución de dilución (2 g KIO₃, 400 mL de etanol absoluto y 600 mL de agua).

Se determinó la absorbancia a 570 nm en un lapso no mayor a 30 minutos. Se siguió el mismo procedimiento para el blanco tomando agua y para el estándar se utilizó solución de trabajo de glicina (107.2 mg de glicina aforados en 100 mL de agua destilada) se tomó un 1 mL aforada en 100 mL de agua destilada.

Se determinó el contenido de alfa amino nitrógeno de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$FAN \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{\Delta Abs \ mtra * 2 * dilución}{\Delta Abs \ str} \quad [9]$$

Donde:

$\Delta Abs \ mtra$ = promedio de la absorbancia de la muestra

$\Delta Abs \ str$ = promedio de la absorbancia del patrón glicina

Azúcares fermentables y etanol por HPLC

Se determinó la concentración de glucosa, maltosa y maltotriosa en mosto y cerveza, así como el contenido de etanol por medio de una cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, Breeze HPLC, Waters, Milford, MA, USA) acoplado a un detector de índice de refracción (Waters 2414). La muestra se centrifugo a 4,500 rpm

por 10 minutos, posteriormente se utilizó un filtro (VWR) politetrafluoroetileno con poros de 0.22 μm de porosidad y se colocó 1 mL en un vial para HPLC de borosilicato marca VWR para cada muestra a analizar. Se utilizó una columna de separación Shodex SH1101 a 60°C (Showa Denko American, N.Y., U.S.A) y una fase móvil de ácido sulfúrico 5 mM con un flujo de 0.6 mL/min.

Color y turbidez de la cerveza

La determinación del color se realizó siguiendo la metodología de la AOAC (1990) 976.08. Las muestras fueron centrifugadas a 5,000 rpm por 15 minutos, se tomó 1 mL y se colocó en una celda de 10 mm, se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro Synergy HT (Bio-Tek) a 430 nm. Las unidades de °EBC de color se obtuvieron a partir de la siguiente fórmula:

$$^{\circ}EBC = 25 \times A_{430} \quad [10]$$

La turbidez de la muestra se comprueba a través de la medición de la absorbancia a 700 nm, esta se clasifica como turbia si la absorbancia es $<0.039 \times 430 \text{ nm}$.

Unidades de amargor

Se realizó siguiendo la metodología de la *American Society of Brewing Chemists* ASBC beer-23. Se colocaron 7.5 ml de muestra en tubos de polipropileno de 50 mL y se añadieron 1 mL de HCL 3 N y 7.5 mL de iso-octano y se agita por 30 minutos para posteriormente ser centrifugado a 5,000 rpm por 20 minutos, se toman 5 mL de sobrenadante y se colocaron en una probeta de 25 ml y se añadieron 5 mL de metanol ácido (6.8 mL de metanol, 3.2 mL de HCl 3 N) agitándolo cuidadosamente.

Se tomaron 2.5 mL de sobrenadante y se colocaron en un matraz volumétrico de 20 ml ajustando el volumen con metanol alcalino (1 mL NaOH con 500 mL de metanol). Posteriormente se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro Synergy HT (Bio-Tek) a 275 nm y se comparó contra un blanco de iso-octano (2.5 mL de iso-octano aforado a un volumen de 25 mL con metanol alcalino). Los resultados fueron calculados respecto a la siguiente ecuación 11 y 12:

$$\text{Unidades de amargo en cerveza: Absorbancia } 275 \text{ nm} \times 50 \quad [11]$$

$$\text{Unidades de amargor en mosto: Absorbancia } 275 \text{ nm} \times 100 \quad [12]$$

Evaluación sensorial

Se seleccionaron al azar un total de 27 panelistas (10 mujeres, 15 hombres y 2 no especificado) en un rango de edad de 19 a 33 años del Centro de Biotecnología FEMSA del Instituto Tecnológico y Estudios superiores de Monterrey para evaluar características de olor, color, sabor y apariencia general de los tratamientos evaluados en una escala hedónica de 5 puntos donde (1 - me desagrada mucho, 2 - me desagrada, 3 - no me gusta ni me disgusta, 4 - me gusta, 5 - me gusta mucho), con la finalidad de que el consumidor valore el grado de satisfacción general que le produce las cervezas con bajo contenido de alcohol producidos en este trabajo.

Diseño experimental

Se realizaron 9 tratamientos por triplicado que corresponden al diseño experimental factorial 3^2 , con la interacción entre dos factores con tres niveles cada uno como se muestra en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Diseño experimental de los factores considerados para la elaboración de cervezas con malta de cebada o de sorgo fermentadas con *Saccharomyces cerevisiae* o *Saccharomyces ludwigii* individualmente o en cocultivo.

Factor 1	Factor 2	Tratamiento
Malta de cebada (MC)	<i>Saccharomyces</i>	MC+SL
	<i>cerevisiae</i> (SC)	MC+SC
		MC+SC+SL
Malta de sorgo (MS)	<i>Saccharomyces</i>	MS+SL
	<i>ludwigii</i> (SL)	MS+SC
		MS+SC+SL
Malta de cebada + Malta de sorgo (MC+MS)	<i>S. cerevisiae</i> + <i>S.</i>	MC+MS+SL
	<i>ludwigii</i> (SC +SL)	MC+MS+SC
		MC+MS+SC+SL

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza ANOVA juntos con las pruebas de normalidad para determinar si alguno de los tratamientos de cerveza con bajo contenido de alcohol es significativamente diferente a las cervezas control. Para la comparación múltiple de medias se realizó una prueba de Tukey ($p < 0.05$). El análisis estadístico se realizó con el software R statistics 2015.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de la Malta de Sorgo y Malta de Cebada

Capacidad de Germinación y Pérdida de Peso Seco

La capacidad de germinación de los granos es una de las principales cualidades que indican la calidad fisiológica de los granos (Desai, 2002); aquellos granos cuyo porcentaje de germinación sea mayor del 90% son deseables para la producción de malta (Serna-Saldívar, 2013). Para los granos de sorgo se obtuvo un porcentaje de germinación del 88%, sin embargo, después de haber modificado la limpieza y sanitización del grano de sorgo incrementándose en un 2% el porcentaje de germinación, esto pudo deberse a que hubo un reblandamiento del pericarpio provocando mayor absorción de agua. La base para el ablandamiento del pericarpio es de origen fisiológico, debido al incremento de los espacios intercelulares que propician el ablandamiento de las paredes celulares (Morin, 1980), una manera de incrementar la capacidad germinativa es aplicando sustancias químicas. Así mismo, Herrera *et al.*, (2011) reportan que semillas embebidas en agua con sustancias químicas incrementa el porcentaje de plántulas.

Se obtuvo una pérdida de materia seca del 9% después de 120 horas de germinación del grano de sorgo, valor cercano a lo publicado por Espinosa-Ramírez *et al.* (2013) que reportó un 10.1% de pérdida de materia seca para sorgo rojo. El proceso de malteado se divide en tres etapas: remojo, germinación y secado cuyo objetivo es obtener el mayor porcentaje de germinación, incrementar la actividad diastática con la pérdida mínima de materia seca. De acuerdo con Gómez (1997),

maltas cuya pérdida de materia seca sea mayor al 25% se consideran maltas deficientes debido a que la humedad presente en el grano ocasiona que las reacciones al interior de grano continúen reduciendo la calidad de la malta, además de ser más propensa a la contaminación por microorganismos. El resultado obtenido en esta tesis fue adecuado, una baja pérdida en peso seco del sorgo nos dio una malta óptima para la fabricación de cerveza según la bibliografía citada.

Composición química de las maltas

En la **Tabla 5** se muestra los valores obtenidos de humedad, almidón y proteína obtenidos para el grano de sorgo, malta de sorgo y malta de cebada. El contenido de humedad es un buen indicador de la calidad del manejo y almacenamiento del grano, siendo el rango máximo de humedad 11.5%-13.5% acorde a la NMX-FF-043-SCFI-2003. En general, para cereales se considera como humedad crítica cuando el grano tiene una humedad mayor al 14%, un contenido inferior implica menor gasto en el manejo y menor susceptibilidad al deterioro (López *et al.* 2007). Las humedades obtenidas en los tres diferentes tipos de maltas tuvieron diferencias significativas. Se obtuvo una humedad del 8.26% para el grano de sorgo, mientras que para la malta de sorgo se obtuvo 4.06%. La disminución del contenido de humedad en la malta de sorgo se puede deber a que durante el proceso de malteado el grano es secado con el fin de que la actividad enzimática cese garantizando así la conservación del almidón restante. Este mismo comportamiento se observó en la malta de cebada comercial viena que obtuvo un porcentaje del 3.5% de humedad. De acuerdo con Briggs (2004), el contenido recomendado de humedad de las maltas utilizadas en la elaboración de cerveza puede estar en un rango de 1.5%-6%. Este mismo comportamiento se observó en la malta de cebada comercial viena empleada como control ya que obtuvo un porcentaje del 3.5%.

Tabla 5. Composición de humedad, proteína y almidón de sorgo, malta de sorgo y malta de cebada. *

Muestra	Humedad (%)	Proteína¹ (%)	Almidón¹ (%)
Grano Sorgo	8.26±0.05a	12.13±0.20a	60.61±0.04a
Malta de sorgo²	4.06±0.01b	11.72±0.17b	37.15±0.02c
Malta de cebada³	3.5±0.02c	8.32±0.1c	52.69±0.01b

¹Valores referidos en base seca.

²Factor de conversión sorgo: 6.25.

³Factor de conversión cebada: 5.83.

*Letras diferentes entre los valores de la misma columna significa que fueron significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Si bien, el contenido de humedad debe ser relativamente bajo, no existe un porcentaje específico para la malta pudiendo deberse a los procesos tecnológicos a la que es sometido con la finalidad de obtener variedades con características organolépticas particulares, sin embargo, Briggs (2004) propone que el contenido de humedad óptimo de las maltas utilizadas en la elaboración de cerveza debe de estar en un rango de 1.5-6%.

Por otro lado, durante la germinación, la proteína y el almidón de los granos malteados sufren cambios cualitativos y cuantitativos (Subramanian, 1992). El proceso de germinado incrementa las propiedades funcionales y nutricionales de los granos, factores como el contenido de humedad, la temperatura y tiempo de germinación tienen un efecto impacto sobre la calidad de la malta (Hassini *et al.*, 2013). El contenido de proteína entre el sorgo y las dos maltas fueron significativamente diferentes. El porcentaje de proteína en el grano de sorgo y malta de sorgo fue de $12.13\% \pm 0.20\%$ y $11.72\% \pm 0.17\%$ respectivamente. Estos valores fueron similares a lo reportado por Espinosa-Ramírez *et al.* (2013) y Bekele (2016) (11.02% y 11.87% respectivamente). Asimismo, estos valores están dentro de los parámetros reportados por Serna-Saldívar, 2013, con un valor promedio de proteína del 11% en el sorgo y 11.5% para cebada. El contenido de proteína del grano de sorgo debe ser de 8-11% para una efectiva proteólisis durante el malteado (Bekele *et al.*, 2011). El contenido de proteína de la malta es esencial ya que, durante la maceración, la hidrólisis de las proteínas provee amino nitrógeno libre necesarios para el desarrollo de la levadura, además de ayudar en la formación y estabilidad de la espuma, sin embargo, hay ciertos tipos de proteínas que pueden influenciar de manera negativa a la cerveza al propiciar la formación de turbidez (Barth, 2013). Es bien sabido que toda la proteína que forma turbidez en la cerveza proviene de la malta, siendo aquellas proteínas con residuos del aminoácido prolina las más susceptibles a causar

turbidez. En la cerveza, la turbidez surge de la formación de complejos entre proteínas y polifenoles durante el almacenamiento de la cerveza. Estos polifenoles, llamados flavonoides, pueden polimerizarse y oxidarse aún más para producir polifenoles condensados o taninos, los cuales se unen por enlaces de hidrógeno a través de una serie de proteínas para formar turbidez reversible, esta se forma alrededor de 0°C y se vuelve a disolver cuando la cerveza se calienta a 15°C. Sin embargo, a mayor almacenamiento, se pueden formar fuertes enlaces entre taninos y proteínas que la turbidez formada es permanente e irreversible, donde la velocidad a la que se forma la turbidez y su grado depende de las materias primas empleadas y de las condiciones del proceso (Briggs, 2004).

El contenido de almidón del grano de sorgo rojo utilizado para maltear fue de 57.94%±0.01% estuvo un poco abajo de los parámetros reportados por Espinosa-Ramírez *et al.*, (2013) y Garzón *et al.* (2016) encontrándose en un rango del 60%-78%. El contenido de almidón de la malta de sorgo fue de 37.15%±0.02%, respecto al grano de sorgo el contenido de almidón disminuyó un 9% después de 120 horas de germinación. De acuerdo con Briggs (1998) el contenido de almidón posterior al malteado del sorgo disminuye hasta un 10%, siendo muy similar a lo reportado para la malta de sorgo utilizada en esta investigación. El contenido de almidón de la malta de cebada fue de 52.69%±0.01%, Patindol *et al.* (2012) reporta un porcentaje de almidón para malta de cebada del 58%-60%, mientras que Yu *et al.* (2018) reportan un porcentaje de almidón para malta pale de 56.6%±1.3%, valor cercano a lo obtenido en este trabajo. El decremento en los compuestos de los granos durante el proceso de malteado se debe a los cambios fisicoquímicos que ocurren durante la germinación ya que las giberilinas inducen el crecimiento del embrión y la plántula al estimular la producción de enzimas que actúan sobre estos compuestos obteniendo nutrientes necesarios para el desarrollo del embrión (García *et al.*, 1993).

El almidón es el principal componente en el grano de sorgo el cual sufre modificaciones durante el malteado que van disminuyendo a medida que progresa la germinación, ya que durante la germinación el almidón es hidrolizado por enzimas para formar compuestos necesarios para el desarrollo de estructuras vegetales como raicillas y plúmula (Subramanian *et al.*, 1997). El contenido de almidón de la malta es una de las características más importantes a considerar en la producción de cerveza, ya que la hidrólisis durante la maceración dará como resultado la obtención de azúcares sencillos asimilables por la levadura que serán transformados en etanol y dióxido de carbono durante la fermentación (Serna-Saldívar, 2013).

Actividad enzimática de las maltas de sorgo y cebada

La actividad amilolítica considerada como la suma de la actividad de α y β amilasas se reporta en la **Tabla 6**. Ambas maltas tuvieron diferencias significativas en la cantidad de enzimas cuantificadas. La actividad de α amilasa de la malta de sorgo fue de 61.43 ± 0.27 CU/g y de la malta de cebada de 263.93 ± 1.12 CU/g. Cuong (2017) reporta un rango de valores de 88.1 a 165 CU/g para α -amilasa para malta de sorgo y un contenido máximo de 335 Cu/g α -amilasa para la malta de cebada. Así mismo, Espinosa-Ramírez *et al.* (2013) reporta 58.6 CU/g y 200.2 CU/g respectivamente. Por otro lado, el contenido de β -amilasa de la malta sorgo fue de 1.97 ± 0.35 U/g y de 19.43 ± 1.25 U/g para la malta de cebada. Cuong, (2017) reporta un rango de 2.6 a 3.7 U/g de β -amilasa para la malta de sorgo y 21.5 U/g para β -amilasa para malta de cebada, mientras que Espinosa-Ramírez *et al.* (2013) reporta 1.2 U/g y 21.2 U/g respectivamente; los valores de enzimas reportadas son comparables con los obtenidos en este trabajo. La baja actividad de β -amilasa que presentó el grano de sorgo ha sido ampliamente reportada ya que representa un problema en el incremento de la viscosidad y en la obtención de azúcares fermentables (Hassini *et al.*, 2013). Sin embargo, el bajo rendimiento de estos azúcares (maltosa

Tabla 6. Comparación de las actividades de α y β amilasa de la malta de sorgo y cebada. *

Tipo de malta	α- amilasa (CU/g)¹	β - amilasa (U/g)²
Sorgo	61.43±0.27b	1.97±0.35b
Cebada	263.93±1.12a	19.43±1.25a

¹ Unidades cereal por gramo

² Unidades por gramo

*Letras diferentes entre los valores de la misma columna significa que fueron significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

especialmente) podría favorecer la baja producción de etanol. Esta enzima es de suma importancia al mediar el proceso de sacarificación al hidrolizar dextrinas lineales de alto peso molecular en azúcares sencillos como maltosa, maltotriosa y glucosa que la levadura puede metabolizar en etanol y dióxido de carbono (Espínosa-Ramírez, 2013).

Uno de los principales objetivos del malteado es aumentar la actividad amilolítica sin desnaturalizarla, dada por la suma de α -amilasa y β -amilasa. Se ha reportado que el aumento de la temperatura y el tiempo de germinación mejora las actividades de las enzimas endógenas presentes en el grano, una germinación de 5 días y a una temperatura de 30°C exhiben mejores características de malteado en función de la condición de remojo (Elgorashi *et al.*, 2016), estos parámetros fueron los que se emplearon en esta investigación para germinar el grano de sorgo. Es bien conocido que uno de los principales problemas de utilizar malta de sorgo en la producción de cerveza es falta de enzimas desarrolladas durante la germinación en comparación de la cebada (Aniche *et al.*, 1990).

Perfil reológico de los almidones de las maltas

La alta viscosidad de alimentos preparados a partir de cereales se debe a la presencia de almidón y proteínas, donde el almidón absorbe agua promoviendo la gelatinización. Sin embargo, el uso de maltas disminuye la viscosidad debido a que, durante el proceso de malteado, en la germinación se producen y activan enzimas amilolíticas que actúan sobre almidón reduciendo su capacidad de retención de agua y alterando sus propiedades (Kulkarni *et al.*, 1991). La velocidad máxima de la suspensión de almidón calentada con agua se suscita cuando la mayor parte del hinchamiento de los gránulos ha concluido, dando como respuesta un incremento en la viscosidad (Aluge *et al.*, 2016). Los resultados obtenidos para la harina de sorgo, malta de sorgo y malta de cebada se presenta en la **Figura 6** y **Figura 7**. La

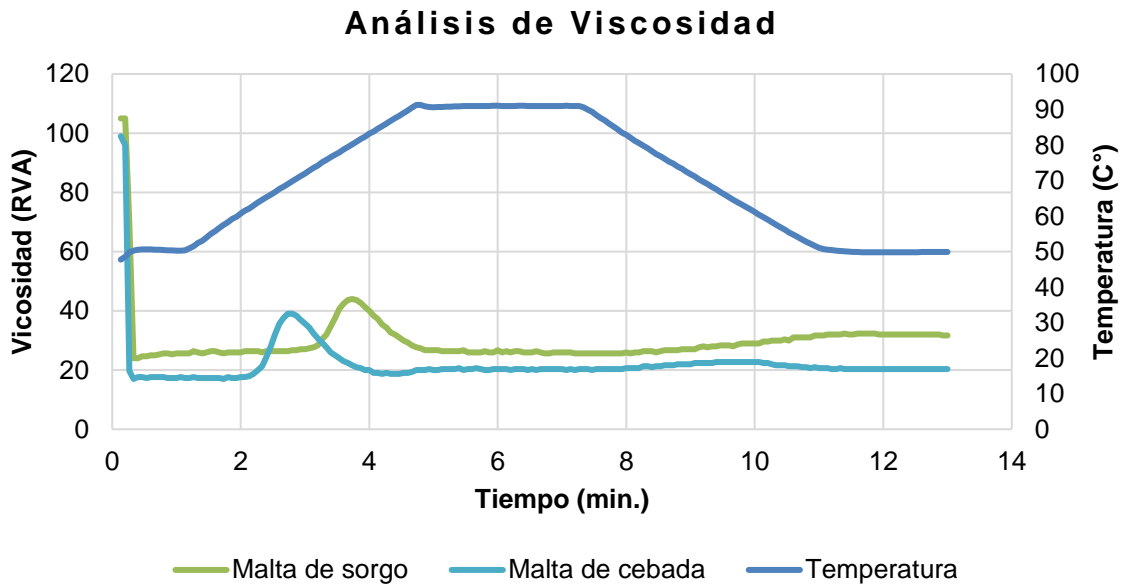
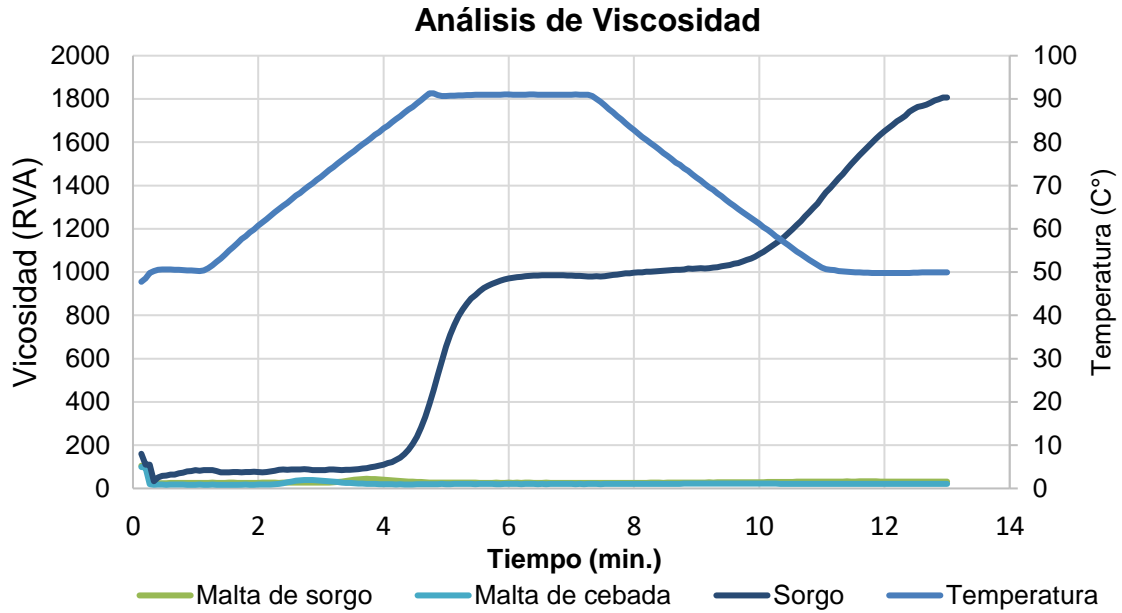


Figura 6-7. Resultados del análisis de viscosidad por RVA y el efecto del proceso de malteado sobre la baja viscosidad de la malta de sorgo y malta de cebada.

harina del grano de sorgo presentó la viscosidad más alta comparado con las harinas de malta de sorgo y malta de cebada, debido a que los granos no sufrieron cambios químicos mediados por el proceso de malteado, los gránulos de almidón no sufren modificaciones manteniendo su estructura, además de que el grano de sorgo no se encuentra recubierto por glumas, como la cebada, donde su contenido de almidón es mayor requiriendo temperaturas más altas para su gelatinización (Vermerris, 2008). Otro factor son las características químicas y físicas del sorgo que afectan la lenta e incompleta sacarificación del grano, así como la hidrólisis del almidón que suele ser problemática debido a la elevada temperatura de gelatinización y la alta viscosidad de la solución de almidón, la cual inicia alrededor de los 75°C, alcanzando su viscosidad máxima alrededor de los 85°C, temperaturas que exceden la termorresistencia de las enzimas amilolíticas (Dufour *et al.*, 1992).

Con respecto a las maltas, la temperatura de gelatinización de la malta de sorgo fue 1.12 veces mayor que la malta de cebada. Etokakpan y Palmer (1990) reportan que hay una relación directa entre la degradación de la pared celular y los cambios de viscosidad durante el malteado de sorgo y cebada, ocasionando que esta se vea afectada; también por la diferencia fisiológica entre la malta de cebada ya que el grano de sorgo es un grano descubierto y no posee una cáscara (glumas) como la cebada, causando que la gelatinización del almidón sea a mayor temperatura (Yi *et al.*, 2017). Como hemos indicado, las maltas sufren cambios químicos durante las etapas del malteado ocasionando una considerable reducción en la viscosidad, comparado con la cebada, principal grano empleado en la industria cervecera, el sorgo tiene una temperatura de gelatinización más elevada pudiendo ocasionar la desactivación de las enzimas en la malta de sorgo (Lyumugabe *et al.*, 2012), por lo que a grande escala sería menos costeable y energéticamente desfavorable maltear sorgo que cebada.

Análisis de Mostos y Cervezas con Bajo Contenido de Alcohol

Se elaboraron nueve tratamientos teniendo como control el mosto producido con 100% malta de cebada y fermentado con la cepa *Saccharomyces cerevisiae*. En la **Tabla 7** se muestran los resultados de °Brix, pH y volumen obtenido en los mostos elaborados. Los mostos elaborados con malta de sorgo obtuvieron los valores más bajos de °Brix comparados con el mosto elaborado con malta de cebada. La malta de cebada tuvo una actividad diastática superior a la malta de sorgo lo que implicó una mayor hidrólisis del almidón y con ello mayor obtención de dextrinas y azúcares; mientras que la mezcla de malta de sorgo (70%) y malta de cebada (30%) presentaron los mayores valores de °Brix. La combinación de la actividad diastática de las maltas implicó una mayor hidrólisis y solubilización de compuestos.

El pH óptimo para la formación de azúcar es 5.0-5.5 (Tylor, 1992). Los valores de pH de los mostos elaborados se encontraron entre 5.22-5.49, estos valores concuerdan con el parámetro reportado. EL análisis estadístico demostró que los mostos elaborados con malta de cebada tuvieron el valor de pH más alto, seguidos por los mostos de sorgo y por último la combinación de mostos tuvieron los valores más bajos. Los mostos producidos con la mezcla de MC+MS presentaron menor acidez, esto se pudo deber a la adición de malta de cebada donde los compuestos hidrolizados durante la maceración provocaron la caída en el pH, sin embargo, el valor sigue siendo aceptable para una correcta sacarificación y licuefacción. Disminuir excesivamente el pH ocasiona el incremento del material nitrogenado soluble, se alarga la sacarificación y disminuye el rendimiento del extracto (Briggs, 2004).

Tabla 7. Grados Brix, pH y volumen final de los mostos elaborados para los distintos tratamientos en la producción de cerveza con bajo contenido de alcohol a partir de malta de cebada, malta de sorgo y mezcla de maltas fermentadas de manera individual y en cocultivo.

Tratamiento	° Brix mosto*	pH mosto*	Volumen Final¹**	Rendimiento² (%)
MC+SL	11.9	5.49	3,870	67.89
MC+SC	12.1	5.45	3,790	66.49
MC+SL+SC	12.3	5.46	3,840	67.36
MS+SL	11.8	5.36	3,640	63.85
MS+SC	11.5	5.38	3,680	64.56
MS+SL+SC	11.7	5.37	3,660	64.21
MC+MS+SL	12.7	5.22	3,780	66.31
MC+MS+SC	12.9	5.30	3,760	65.96
MC+MS+SL+SC	12.6	5.25	3,820	67.01

MC: malta de cebada; MS: malta de sorgo; SL: *Saccharomyces ludwigii*; SC: *Saccharomyces cerevisiae*.

¹ volumen de mosto producido a partir de: MC: 1,000 g; MS: 1,380 g en 3,500 mL de agua para el macerado y 1,800 mL para el lautering.

²El rendimiento fue calculado como el volumen del mosto lupulado / volumen original x 100.

La extracción o rendimiento del extracto nos indica a la cantidad de azúcares fermentables y no fermentables producida por los granos en la elaboración de cerveza, siendo el rendimiento máximo de 80%-90%, donde el porcentaje se refiere a la eficiencia del extracto la cual depende de las condiciones de maceración y el sistema de filtración, donde una extracción del 75-85% se considera buena para la elaboración de cerveza (Palmer, 2006). Los mostos de cebada presentaron el mayor rendimiento con un porcentaje promedio del $67.24\% \pm 0.70\%$, mientras que los mostos de sorgo presentaron el rendimiento más bajo con $64.20\% \pm 0.35\%$. Mientras que el tratamiento elaborado con la mezcla de maltas mostró un ligero incremento en el rendimiento con un porcentaje promedio de $66.42\% \pm 0.53\%$, lo cual pudo deberse a que la proporción de malta de cebada complementa la falta de actividad enzimática de β -amilasa del grano de sorgo y en sinergia con la alta actividad de α -amilasa del grano de sorgo indujo el incremento en la cantidad de extracción de azúcares fermentables. Nuestros tratamientos estuvieron por debajo de la eficacia deseada, esto pudo deberse al proceso de filtración, ya que se utilizaron bolsas para hacer más sencilla la separación del grano, lo que puede provocar la retención de mosto disminuyendo con ello el rendimiento, ya que autores como Ortega-Villicaña & Serna-Saldívar, (2004) reportaron un porcentaje de rendimiento para mosto de cebada de 81.05% y para mosto de sorgo de 76.68%, valores retirados a los encontrados en este trabajo de investigación.

Azúcares fermentables y alfa amino nitrógeno libre (AAN)

Las mediciones de glucosa, maltosa, maltotriosa y amino nitrógeno libre utilizadas para el cálculo de los azúcares totales de los tratamientos evaluados se muestran en la **Tabla 8**. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con una confiabilidad del 95% para evaluar si hay diferencias en el contenido de azúcares respecto al tipo de malta utilizado en la elaboración de mostos obteniendo un p -valor de 9.67×10^{-10}

Tabla 8. Contenido de azúcares y alfa amino nitrógeno libre de los mostos evaluados para la producción de cerveza con bajo contenido de alcohol a partir de malta de cebada, malta de sorgo y mezcla de maltas fermentadas de manera individual y en cocultivo.

Tratamiento	Azúcar total (g)	Glucosa (mg/mL)	Maltosa (mg/mL)	Maltotriosa (mg/mL)	AAN (mg/L)
MC+SL	36.62	13.74	83.92	54.93	146.35
MC+SC	30.91	12.57	69.92	46.30	148.94
MC+SL+SC	30.20	11.60	68.98	45.78	151.48
MS+SL	31.32	28.37	74.97	28.28	109.58
MS+SC	30.21	27.39	72.22	27.32	105.85
MS+SL+SC	31.00	28.68	73.73	28.38	101.28
MC+MS+SL	41.96	23.43	97.51	36.85	119.32
MC+MS+SC	39.62	23.30	109.88	34.71	123.84
MC+MS+SL+SC	39.87	23.22	110.89	34.13	121.32

MC: malta de cebada; MS: malta de sorgo; SL: *Saccharomyces ludwigii*; SC: *Saccharomyces cerevisiae*

entre la comparación de las maltas, por lo tanto, el promedio de la cantidad de azúcares totales fue diferente entre los mostos analizados. Los mostos elaborados con malta de sorgo presentaron ligeramente menor contenido de azúcares totales comparado con la malta de cebada control, obteniendo una diferencia porcentual relativa del 5.34%, mientras la mezcla de malta de cebada (30%) y malta de sorgo (70%) tuvo un mayor efecto en el contenido de azúcares totales con una diferencia del 24.24% respecto a la malta de cebada. En la elaboración de los mostos para los tratamientos evaluados, el azúcar fermentable con menor prevalencia fue la glucosa, de estos, los mostos elaborados con malta de cebada fueron los que presentaron el contenido más bajo de glucosa con un promedio de $12.63 \text{ mg/mL} \pm 1.07 \text{ mg/mL}$, mientras que los mostos elaborados con malta de sorgo y mezcla de maltas fueron los que obtuvieron mayor contenido de glucosa con un promedio de $28.14 \pm 0.67 \text{ mg/mL}$ y $23.32 \pm 0.10 \text{ g/mL}$ respectivamente, esto nos indica una menor actividad endógena de β -amilasa en el grano de sorgo; además, se encontraron diferencias significativas en el promedio del contenido de glucosa con un p -valor de 0.003 de los mostos elaborados con malta de sorgo y la mezcla de maltas, lo cual pudo ser ocasionado por la proporción de sorgo: malta de cebada para este tratamiento cuya alta actividad amilolítica indujo el incremento del azúcar fermentable.

En cuanto a la maltosa, fue el azúcar fermentable más abundante presente en los mostos evaluados, de ellos el mosto elaborado a partir de la mezcla de maltas presentó la mayor cantidad con un promedio de $106.09 \text{ mg/mL} \pm 7.45 \text{ mg/mL}$, esto por la proporción de malta de cebada añadida permitiendo un incremento considerable y con ello la disponibilidad de nutrientes, sin embargo, podría no ser apto para la elaboración de cervezas con niveles reducidos de alcohol. Mientras que el tratamiento elaborado con malta de sorgo presentó el nivel más bajo con $73.64 \text{ mg/mL} \pm 1.37 \text{ mg/mL}$. Las diferencias en el contenido de maltosa entre la malta de sorgo y la malta de cebada se debieron a los bajos niveles de β -amilasa que posee el grano de sorgo, además se ha atribuido que una de las razones en la limitación del contenido de maltosa en el mosto de malta de sorgo se deba a la inadecuada gelatinización del almidón del sorgo (Lyumugabe *et al.*, 2012). Del pozo *et al.* (2004) reportan

que el contenido de maltosa en mostos producidos con malta de sorgo es 2.5 veces menor en comparación con los mostos producidos con malta de cebada.

El contenido aproximado de glucosa respecto a la maltosa de los tratamientos evaluados fue de 5.88 veces mayor para el mosto de cebada, 2.62 veces mayor para el mosto de sorgo y 4.55 veces mayor para el mosto de sorgo y cebada. Taylor (1992); Agu y Palmer, (1998) señalan que la principal diferencia entre mostos de malta de cebada y mostos de malta de sorgo consiste en el contenido de glucosa, ya que los niveles altos glucosa presente en mostos de sorgo fue debido a la actividad catalítica de α -amiloglucosidasa, enzima que hidroliza maltosa a glucosa durante la maceración. Así mismo, la diferencia en la composición de azúcares entre la malta de cebada y la malta de sorgo se atribuye a la baja actividad de β -amilasa del grano de sorgo (Espinosa-Ramírez *et al.*, 2013).

En cuanto a la maltotriosa, los mostos de sorgo fueron los que presentaron menor contenido con un promedio de $27.99 \text{ mg/mL} \pm 0.58 \text{ mg/mL}$, mientras que los mostos de cebada presentaron la mayor proporción con $49.01 \text{ mg/mL} \pm 5.13 \text{ mg/mL}$ y en cuanto a los mostos realizado con la mezcla de maltas presentaron un incremento dada proporción y la actividad de β -amilasa de la malta de cebada con un promedio de $35.23 \text{ mg/mL} \pm 1.43 \text{ mg/mL}$. Si bien la maltotriosa es un azúcar fermentable, es de las últimas en metabolizar por lo que en las cervezas se encuentran remanentes de esta azúcar.

En cuanto al contenido de amino nitrógeno libre, los mostos de malta de cebada fueron los que presentaron mayor contenido de AAN con un promedio de $148 \text{ mg/L} \pm 2.56 \text{ mg/L}$, mientras que los mostos de malta de sorgo fueron lo que menor contenido presentaron con un promedio de $105 \text{ mg/L} \pm 4.15 \text{ mg/L}$. Esto pudo deberse a la diferencia en el contenido de AAN entre la malta de cebada y malta de sorgo

dada la alta actividad proteolítica que presenta el grano de cebada y la susceptibilidad de la proteína en degradarse. Resultados similares han sido reportado por Ortega-Villicaña y Serna-Saldívar (2004) con un contenido de AAN para la malta de cebada y malta de sorgo de 144.7 mg/L y 102.5 mg/L respectivamente. Dewar, (2003) reporta que el valor de AAN libre depende de la variedad de grano de sorgo, así como el tiempo de germinación donde el AAN continúa incrementando, encontrándose en un rango de 109 mg/L-195 mg/L, estando dentro de los parámetros reportados en esta investigación. Asimismo, los mostos elaborados con la mezcla de maltas presentaron un contenido promedio amino nitrógeno de 121.49 mg/L \pm 2.26 mg/L, siendo 0.8 veces mayor que el del mosto de malta de sorgo, donde el incremento en el AAN de este tratamiento pudo derivar la actividad proteolítica de la malta de cebada. Este incremento podría ser beneficioso para el desarrollo de las levaduras y con ello repercutir en el mejoramiento del perfil organoléptico de las cervezas.

El bajo contenido de AAN en los mostos de malta de sorgo se le atribuye a su baja actividad diastática, la cual es insuficiente para hidrolizar el almidón en dextrinas y azúcares reductores, y debido a la deficiencia de enzimas amiláceas y las altas temperaturas de gelatinización del almidón del sorgo los mostos producido son ricos en dextrinas y bajos con azúcares fermentables. Sin embargo, el contenido es suficiente para un óptimo y eficiente desarrollo de la levadura durante fermentación. Por otro lado, Ortega-Villicaña y Serna-Saldívar (2004) mencionan que los mostos de malta de cebada contienen aproximadamente 40 mg/L más de amino nitrógeno libre dada su alta actividad proteolítica.

Se conoce que las principales fuentes de nitrógeno para el metabolismo de la levadura son aminoácidos, péptidos de bajo peso molecular y iones de amonio los cuales se forman a partir de la proteólisis de las proteínas de la malta, siendo el amino nitrógeno libre (AAN) la suma del nitrógeno biodisponible en el mosto, los cuales

son necesarios para la síntesis de proteínas celulares durante la adaptación y el crecimiento de la levadura en la compleja matriz del mosto (Lekkas *et al.*, 2005). Se recomienda que la cantidad de AAN en mostos este entre los 200 mg/L-250 mg/L, mientras que para cervezas se recomienda un rango de AAN de 10 mg/L-120 mg/L, ya que exceso de fan puede causar la formación de alcoholes de Fusel, mientras que la falta de nitrógeno puede ocasionar la desaceleración y cese de la fermentación comprometiendo la calidad de la cerveza (Briggs, 2004).

Fermentación de mostos en la producción de cerveza con bajo contenido de alcohol

El propósito principal de la malta es proveer al mosto de potencial material fermentable y suficiente enzima para generar un buen balance del medio de fermentación, paso de suma importancia en la elaboración de cerveza donde la levadura convierte los azúcares del mosto en alcohol etílico (Lyumagabe *et al.*, 2012). En el caso de esta investigación, nuestro propósito fue obtener cervezas con bajo niveles bajos de alcohol, para ello, los mostos fueron fermentados durante 120 horas a una temperatura de $18^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$, los resultados del efecto del pH, AAN y etanol para cada tratamiento se presentan en la **Tabla 9**. Como era de esperarse, se observó un decremento en el rango de pH en todos los tratamientos después de 120 horas de fermentación, lo cual está asociado con el flujo de iones H^+ y a la acumulación de ácidos orgánicos como acetato y lactato resultantes del metabolismo de la levadura contribuyendo a la caída característica de pH que sucede durante la fermentación (Del pozo *et al.*, 2004).

Tabla 9. Resultados de pH, amino nitrógeno libre (AAN), etanol y rendimiento en las cervezas producidas con bajo contenido de alcohol a partir de malta de cebada, malta de sorgo y mezcla de maltas fermentadas de manera individual y en cocultivo.

Tratamiento	pH cerveza	AAN (mg/L)	Etanol total (%v/v)
MC+SL	5.04 ± 0.15 ^{ax}	82.88 ± 0.5 ^{ax}	0.90
MC+SC	4.67 ± 0.53 ^{ay}	85.57 ± 1.23 ^{ax}	3.65
MC+SL+SC	4.43 ± 0.07 ^{ay}	86.68 ± 1.16 ^{ax}	2.96
MS+SL	5.13 ± 0.01 ^{ax}	62.74 ± 1.42 ^{bx}	0.66
MS+SC	4.69 ± 0.11 ^{ay}	65.49 ± 1.29 ^{bx}	2.76
MS+SL+SC	4.63 ± 0.02 ^{ay}	67.10 ± 0.48 ^{bx}	1.25
MC+MS+SL	4.69 ± 0.03 ^{ax}	72.15 ± 0.5 ^{cx}	1.52
MC+MS+SC	4.58 ± 0.01 ^{ay}	77.62 ± 0.95 ^{cx}	5.62
MC+MS+SL+SC	4.35 ± 0.02 ^{ay}	74.85 ± 1.56 ^{cx}	2.76

MC: malta de cebada; MS: malta de sorgo; SL: *Saccharomyces ludwigii*; SC: *Saccharomyces cerevisiae*.

Si no hay intersección entre los grupos significa que el promedio de los valores es estadísticamente diferente con un ($P \leq 0.05$).

Los superíndices “a”, “b” y “c” indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos en cada columna realizados con respecto a las maltas MC, MS o su combinación MC+MS.

Los superíndices “x”, “y” y “z” indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos en cada columna realizados con respecto a las levaduras SL, SC o su combinación SL+SC.

Si la media no comparte la misma letra son significativamente diferentes.

Realizando el análisis estadístico este arrojó que no tuvimos diferencias significativas entre los mostos debido a las maltas utilizadas, pero si se obtuvieron diferencias significativas en base a la cepa que fermentó los mostos. Los mostos fermentados con la cepa SL presentaron los niveles más altos de pH (MC: 5.13 ± 0.01 ; MS: 5.04 ± 0.15 ; MC+MS: 4.69 ± 0.03 respectivamente), esto pudo deberse a que la levadura es incapaz de metabolizar maltosa, principal azúcar presente en el mosto quedando evidenciado en el mosto de cebada y no generó la cantidad de compuestos ácidos debido a la fermentación. También se pudo observar la influencia de la fracción de cebada en el tratamiento de mezcla de maltas siendo 1.09 veces menor que los mostos de cebada y sorgo. Mientras que los mostos fermentados en cocultivo presentaron los niveles más bajo de pH (MC: 4.35 ± 0.02 ; MS: 4.63 ± 0.02 ; MS+MC: 4.43 ± 0.07). Valores similares fueron reportados por Parise *et al.*, (2017) para cerveza con bajo contenido de alcohol fermentada en cocultivo con *S. ludwiggi* con un pH de 4.26 ± 0.05 , asimismo, Mesta *et al.*, (2018) reporta que entre los factores que influyen en la disminución del pH es la cantidad del inóculo, así como la producción de ácidos orgánicos formados durante las primeras etapas de la fermentación, aunado a las condiciones de estrés de los cultivos iniciadores. Durante la fermentación, el mosto sufre transformaciones que ocasionan que disminuya el pH, otro factor de la acidificación del mosto es la formación de ácido carbónico derivado del dióxido de carbono que se produce durante el metabolismo de azúcares, así como otros ácidos excretados por las levaduras durante la fermentación, donde el bajo pH de en la cerveza es bueno ya que puede ayudar a inhibir el crecimiento de microorganismos que pudieran alterar las propiedades organolépticas del producto (Briggs, 2004).

En cuanto a los resultados del consumo de azúcares y la producción de alcohol en función del tiempo de fermentación para los mostos de cebada, sorgo y la mezcla de maltas fermentados de forma individual y en cocultivo se presentan en la **Figura 8**. Como era de esperarse, los mostos fermentados con *S. cerevisiae* fueron los que produjeron mayor porcentaje de etanol (%v/v), siendo el tratamiento MC+MS+SC el

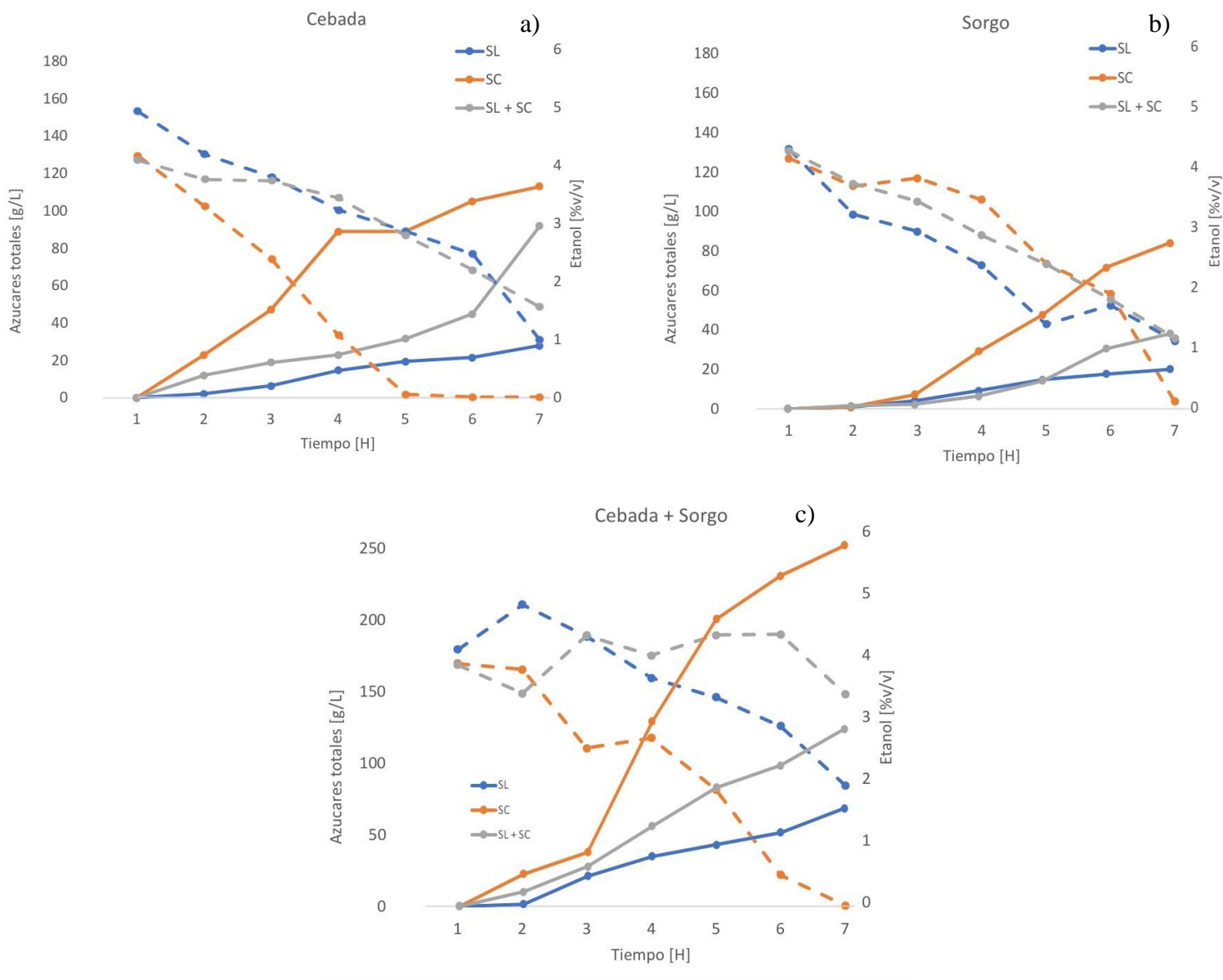


Figura 8. Consumo de azúcares respecto a la formación de etanol en el tiempo de fermentación de cervezas con bajo contenido de alcohol elaboradas con a) malta de cebada, b) malta de sorgo, c) mezcla 70:30 de malta de sorgo y malta de cebada fermentadas con las cepas *Saccharomyces cerevisiae* (SC), *Saccharomyces ludwigii* (SL) y cocultivo de SC+SL. La línea punteada representa los azúcares totales y la línea continua el contenido porcentual de etanol.

que presentó el mayor porcentaje de alcohol con un 5.62% comparado con el control MC+SC 3.65%, con una diferencia porcentual del 53%, mientras que el tratamiento MS+SC presentó un porcentaje de etanol de 2.76%, con una diferencia porcentual de 24% con respecto al control MC+SC. El incremento en el contenido de etanol del tratamiento MC+MS+SC pudo ser ocasionado por la asimilación de los azúcares fermentables derivados de la malta de sorgo y que fueron metabolizados por SC.

Los mostos fermentados con SL presentaron el porcentaje de etanol más bajo respecto al control, donde el tratamiento MS+SL presentó el porcentaje de etanol más bajo con valor de 0.66% de los nueve tratamientos evaluados con una diferencia porcentual relativa al control del 81%. Además, el tratamiento MC+SL presentó un contenido de etanol de 0.90% siendo el más bajo de los tratamientos con MC con una diferencia porcentual del 75.34% con respecto al tratamiento control (MC+SC); mientras que el tratamiento MC+MS+SL presentó un contenido ligeramente mayor de etanol con un porcentaje del 1.52% con una diferencia porcentual relativa del 58.35% respecto a la cerveza control. Este incremento pudo ser mediado por el contenido de azúcares derivados de la mezcla de maltas presentes en el mosto. Parise *et al.*, 2017 reportan un rango de etanol de 1.24%-1.36% para mosto de cebada fermentado con SL. Asimismo, De Francesco *et al.* (2015) reporta que mosto de cebada fermentados con SL a 11.5 °Brix, a una temperatura de 20°C y bajo condiciones aeróbicas presentaron un rango de concentración de 1.23%, valores cercanos a lo obtenidos en este trabajo. El uso de *S. ludwigii* en la producción de cervezas con bajo contenido de alcohol ha sido ampliamente reportado, esta levadura es inhábil para metabolizar maltosa, pero tiene la capacidad de fermentar parcialmente azúcares como glucosa, sacarosa y rafinosa produciendo cervezas con bajo contenido de alcohol a diferencia de la levadura *S. cerevisiae* la cual utiliza todos los azúcares del mosto produciendo cervezas con mayor contenido de etanol.

En los tratamientos fermentados con el cocultivo SL+SC se observó la reducción de etanol en comparación con los tratamientos fermentados con SC con una disminución de aproximadamente del 50% en el porcentaje de etanol. El tratamiento MC+MS+SC fue la cerveza con mayor contenido de alcohol con 5.62% ABV. Esto pudo deberse a un mayor contenido de azúcares fermentables obtenidos siendo los principales maltosa, glucosa y maltotriosa que derivan de la mezcla de maltas y de la capacidad de *S. cerevisiae* de metabolizar mayor cantidad de azúcares presente en el mosto en comparación con *S. ludwigii*, si bien el propósito de esta investigación fue el obtener cervezas con bajos niveles de alcohol, es relevante mencionar que el uso de malta de sorgo en mayor contenido provee los azúcares necesarios para obtener buenos niveles pudiendo reducir costos en el uso e importación de malta de cebada y en el producto final.

En general, con la mezcla de malta de sorgo y malta de cebada fermentada de manera individual con SL y en cocultivo SL+SC se obtuvieron los valores del contenido de etanol dentro de los rangos establecidos en América para la clasificación de cervezas con bajo nivel de etanol. Mientras que el tratamiento con la mezcla MC+MS fermentado con SC presentó el porcentaje más alto de etanol, puede ser debido a la mayor cantidad de azúcares fermentables derivado de la mezcla y que fueron metabolizados en un mayor contenido por SC como era de esperarse, sin embargo, en cocultivo se obtienen valores para una cerveza reducida en alcohol y podría reducirse aún más ajustando las proporciones de malta y levadura.

Color y turbidez de mostos y cervezas

El color del mosto y la cerveza se debe en gran medida a los compuestos de la malta como las melanoidinas y compuestos derivado de la caramelización durante el proceso de ebullición del mosto provocando su oscurecimiento (Briggs, 2004).

En la **Tabla 10** se muestran los valores de color en base a la *European Brewing Convention* (EBC) y turbidez obtenidos para los mostos y cerveza de los tratamientos evaluados. Se realizó una ANOVA con un valor de significancia del 95% para comprobar la existencia de diferencias estadísticas en los promedios de color para los mostos elaborados, obteniendo un p -valor no mayor a 0.001 en la comparación de todos los tratamientos, por lo tanto, existieron diferencias significativas entre todos los grupos.

El análisis de varianza dio un p -valor de 0.49 entre los grupos SC y SL+SC indicando que no hubo diferencia significativa entre sus promedios, por el contrario, para el grupo SL en comparación con SC y SL+SC el p -valor fue muy cercano a cero por lo que existió diferencia significativa respecto al color. Esto nos da como conclusión que el uso de malta de cebada como única malta fue el factor determinante para el cambio de color entre las cervezas obtenidas. Respecto a las levaduras, la cerveza que presentó mayor color fue el control producido con malta de cebada y fermentado con SC (19.25 °EBC). El elevado color obtenido en la cerveza de cebada fermentado con SC pudo deberse a los compuestos fenólicos derivados de la malta comercial Viena la cual pasó por un proceso tecnológico de malteado aunado a la temperatura de maceración y hervor que propiciaron la reacción de Maillard formando melanodinas dando lugar a colores pardos. Mientras que el mosto de malta de sorgo fermentado con la cepa SL presentó el nivel más bajo de color (12.45 °EBC) y fue la única cerveza que presentó turbidez en comparación con todos los tratamientos evaluados, esto pudo deberse a la baja temperatura de secado de la malta de sorgo disminuyendo reacción de Maillard, y posiblemente por la ineficiencia metabólica de la cepa SL en metabolizar azúcares.

Tabla 10. Resultados del color de las cervezas producidas con bajo contenido de alcohol a partir de malta de cebada, malta de sorgo y mezcla de maltas fermentadas de manera individual y en cocultivo.

Tratamiento	Color de mosto (EBC)	Color de la cer- veza (EBC)	Turbidez ¹
MC+SL	23.65	19.25 ± 0.02 ^{ax}	0.035 ± 0.02 ^{acx}
MC+SC	24.12	17.10 ± 0.02 ^{ax}	0.027 ± 0.02 ^{acy}
MC+SL+SC	25.55	18.67 ± 0.02 ^{ax}	0.025 ± 0.02 ^{acxy}
MS+SL	18.32	12.45 ± 0.03 ^{bx}	0.070 ± 0.03 ^{bx}
MS+SC	19.07	14.92 ± 0.02 ^{bx}	0.016 ± 0.02 ^{by}
MS+SL+SC	19.62	15.45 ± 0.04 ^{bx}	0.033 ± 0.04 ^{bxy}
MC+MS+SL	18.95	14.82 ± 0.03 ^{bx}	0.016 ± 0.03 ^{cx}
MC+MS+SC	19.30	15.12 ± 0.05 ^{bx}	0.011 ± 0.05 ^{cy}
MC+MS+SL+SC	19.55	15.53 ± 0.06 ^{bx}	0.013 ± 0.06 ^{cxy}

MC: malta de cebada; MS: malta de sorgo; SL: *Saccharomyces ludwigii*; SC: *Saccharomyces cerevisiae*.

Si no hay intersección entre los grupos significa que el promedio de los valores es estadísticamente diferente con un ($P \leq 0.05$).

Los superíndices "a", "b" y "c" indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos en cada columna realizados con respecto a las maltas MC, MS o su combinación MC+MS.

Los superíndices "x", "y" y "z" indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos en cada columna realizados con respecto a las levaduras SL, SC o su combinación SL+SC.

Si la media no comparte la misma letra son significativamente diferentes.

¹Valor obtenido de A700nm: A430nm, si el resultado es mayor a 0.039 la muestra se considera turbia

Unidades de amargor (UA)

La incorporación de lúpulo al mosto de cerveza durante el hervor propicia la isomerización de los alfa ácidos para ser solubles en agua y proporcionar amargor al producto, sin embargo, el rendimiento de la isomerización es relativamente bajo (5-30%), esto debido a la alta acidez relativa del mosto ($\text{pH}=5.2-5.5$) inhibiendo la reacción de isomerización (Barth, 2013). Asimismo, Hailu y Assefa (2018) reportan que entre los parámetros que afectan el amargor de la cerveza son el pH, la temperatura y el tiempo; a medida que el pH aumenta, incrementa el amargor en la cerveza, mientras que, si el tiempo y temperatura de almacenamiento se prolonga, el amargor tiene a disminuir.

Se realizó un análisis de varianza con un valor de significancia del 5% para ver si existieron diferencias en las unidades de amargor entre las maltas, obteniendo un p -valor muy cercano a 0 en la comparación del promedio de UA, lo que significa que hubo diferencias significativas en los valores promedios de UA. Las cervezas hechas con malta de cebada no fueron significativamente diferentes, seguidas por las cervezas elaboradas con malta de sorgo y por último el grupo con menor amargor fue el que tuvo maltas con mezcla de maltas. Por otro lado, comparando las fermentaciones con las diferentes levaduras se encontró un p -valor=0.23 dando evidencia que no existieron diferencias significativas en el promedio de UA ya sea fermentando con cada levadura independientemente o en cocultivo. Los resultados de unidades de amargor de los tratamientos evaluados se presentan en la **Tabla 11**. Las unidades de amargor obtenidos en los tratamientos están en un rango de 19.93 ± 0.01 a 9.03 ± 0.1 , estos valores son relativamente bajo basándonos en la escala de unidades de amargor utilizada para la clasificación de cervezas donde valores de UA por debajo 30 se consideran estilos con bajo amargo, mientras que cervezas con valores de 50 o más se consideran muy amargas (Barth, 2013). Los

Tabla 11. Resultado de las Unidades de Amargor (UA) de las cervezas producidas con bajo contenido de alcohol a partir de malta de cebada, malta de sorgo y mezcla de maltas fermentadas de manera individual y en cocultivo.

Tratamiento	Unidades de amargor
MC+SL	19.93 ± 0.01 ^{ax}
MC+SC	19.60 ± 0.03 ^{ax}
MC+SL+SC	19.33 ± 0.02 ^{ax}
MS+SL	16.30 ± 0.05 ^{bx}
MS+SC	15.12 ± 0.04 ^{bx}
MS+SL+SC	14.32 ± 0.02 ^{bx}
MC+MS+SL	10.05 ± 0.03 ^{cx}
MC+MS+SC	9.73 ± 0.02 ^{cx}
MC+MS+SL+SC	9.03 ± 0.01 ^{cx}

MC: malta de cebada; MS: malta de sorgo; SL: *Saccharomyces ludwigii*; SC: *Saccharomyces cerevisiae*

Si no hay intersección entre los grupos significa que el promedio de los valores es estadísticamente diferente con un (P≤0.05).

Los superíndices “a”, “b” y “c” indican diferencias significativas (P≤0.05) entre los tratamientos en cada columna realizados con respecto a las maltas MC, MS o su combinación MC+MS.

Los superíndices “x”, “y” y “z” indican diferencias significativas (P≤0.05) entre los tratamientos en cada columna realizados con respecto a las levaduras SL, SC o su combinación SL+SC.

Si la media no comparte la misma letra son significativamente diferentes.

mostos elaborados con malta de cebada, malta de sorgo y mezcla de maltas fermentados con la cepa SL presentaron los niveles más altos de amargor. Así mismo estas cervezas presentan los niveles más altos de pH lo que pudo haber alterado el incremento del amargor en el producto final debido a los cambios de pH.

Los mostos fermentados con SL+SC presentaron los niveles más bajo de UA en cada tratamiento. Esto pudo ser ocasionado por el incremento de biomasa a inocular al mosto MS+MC teniendo un efecto negativo sobre las UA, al haber mayor número de células en el medio mayor será la captación de los iso-alfa-ácidos en la vacuola y pared celular de las levaduras.

Evaluación sensorial

La evaluación sensorial es una disciplina de la ciencia que se define como la identificación, análisis, medida científica e interpretación de la respuesta a los productos alimenticios percibidos por los sentidos de gusto, sabor, vista, tacto y oído (Sidel & Stone, 1993). En la **Tabla 12** se presentan los resultados de la evaluación sensorial.

El tratamiento control MC+SC presentó los valores de aceptabilidad general más altos en contraste con el tratamiento MS+SL que obtuvo los valores más bajos en todas las características sensoriales evaluadas, seguido del tratamiento MS+SC siendo los tratamientos cuyas características fueron las menos aceptables para los panelistas, sin embargo, para el tratamiento MS+SL+SC se observó un ligero incremento en los valores evaluados. Se encontraron resultados muy contrastantes realizando el análisis estadístico. Mientras que los tratamientos con malta de sorgo tuvieron las peores calificaciones por parte de los panelistas las cervezas evaluadas, los tratamientos con SL fueron los que obtuvieron mejor aceptabilidad entre todos los tratamientos como se describirá a continuación. Esto pudo ser ocasionado

Tabla 12. Resultados de la evaluación sensorial de las cervezas producidas con bajo contenido de alcohol a partir de malta de cebada, malta de sorgo y mezcla de maltas fermentadas de manera individual y en cocultivo.

Tratamiento	Parámetros			
	Olor**	Color*	Sabor*	Aceptabilidad general*
MC+SL	3.3 ± 1.0 ^{ax}	3.9 ± 1.1 ^{ax}	3.1 ± 1.1 ^{ax}	3.1 ± 0.9 ^{ax}
MC+SC	3.9 ± 0.8 ^{ay}	4.0 ± 0.9 ^{ay}	3.3 ± 1.3 ^{axy}	3.6 ± 1.0 ^{axy}
MC+SL+SC	4.0 ± 1.0 ^{ay}	4.3 ± 0.8 ^{ay}	3.5 ± 1.1 ^{ay}	3.5 ± 1.1 ^{ay}
MS+SL	2.6 ± 1.3 ^{bx}	2.7 ± 1.1 ^{bx}	1.8 ± 1.1 ^{bx}	2.0 ± 1.0 ^{bx}
MS+SC	3.1 ± 1.1 ^{by}	3.7 ± 1.0 ^{by}	1.6 ± 0.8 ^{bxy}	2.1 ± 0.9 ^{bxy}
MS+SL+SC	3.4 ± 0.9 ^{by}	3.9 ± 0.8 ^{by}	2.8 ± 1.2 ^{by}	3.0 ± 1.0 ^{by}
MC+MS+SL	3.3 ± 1.2 ^{ax}	3.6 ± 0.9 ^{ax}	2.7 ± 1.3 ^{ax}	2.9 ± 1.3 ^{ax}
MC+MS+SC	3.4 ± 0.9 ^{ay}	3.9 ± 1.1 ^{ay}	3.0 ± 1.2 ^{axy}	3.1 ± 1.2 ^{axy}
MC+MS+SL+SC	3.9 ± 0.8 ^{ay}	4.0 ± 0.9 ^{ay}	3.1 ± 1.2 ^{ay}	3.3 ± 1.0 ^{ay}

MC: malta de cebada; MS: malta de sorgo; SL: *Saccharomyces ludwigii*; SC: *Saccharomyces cerevisiae*

Los superíndices “a”, “b” y “c” indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos en cada columna realizados con respecto a las maltas MC, MS o su combinación MC+MS.

Los superíndices “x”, “y” y “z” indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos en cada columna realizados con respecto a las levaduras SL, SC o su combinación SL+SC.

Si la media no comparte la misma letra son significativamente diferentes.

*Indica que el promedio de los valores no hay diferencias significativas entre las cepas de levadura utilizadas.

*Indica que el promedio de los valores no hay diferencias significativas entre los granos utilizados.

por los compuestos químicos derivados del metabolismo de azúcares por parte de la cepa SC teniendo un efecto positivo en las características organolépticas del producto. Así mismo, los tratamientos elaborados con 100% malta de sorgo fueron los que presentaron los niveles más bajos de sabor, esto pudo deberse a la incapacidad de SL para utilizar totalmente los azúcares del mosto particularmente maltosa, por lo que los remanentes pueden llegar a contribuir con el sabor. Mortazavian *et al.* (2014) reporta que mostos fermentados con SL tiene bajo rango de aceptación durante la evaluación sensorial. En los tratamientos elaborados con la mezcla de maltas MC+MS, el fermentado con la cepa SL fue el tratamiento que menor rango de aceptabilidad presentó, muy similar a los observado en los otros tratamientos fermentados con esta cepa. El tratamiento fermentado con SC presentó un ligero incremento en los valores de aceptabilidad respecto a SL, mientras que los tratamientos fermentados en cocultivo SL+SC mejoraron los valores de aceptabilidad general dentro del grupo. La adición de biomasa de SC al mosto tiene un efecto positivo sobre las características organolépticas de una cerveza con bajo contenido de alcohol sin afectar de manera considerable la formación de etanol.

CONCLUSIONES

Es factible producir cerveza con bajo contenido de alcohol y reducidas en alcohol por métodos biológicos a partir del uso de malta de sorgo y malta de cebada fermentados de forma individual con la cepa *Saccharomyces ludwigii* y en cocultivo con *Saccharomyces cerevisiae*, logrando cualidades organolépticas aceptables para el consumidor, con ello validamos la hipótesis propuesta en este trabajo de investigación.

Los resultados mostraron que la elaboración de cervezas a partir de malta de sorgo produce niveles bajo de alcohol, sin embargo, sus características organolépticas no son aceptables para el consumidor, debido a que los mostos presentaron una mayor cantidad de azúcares no fermentables ocasionando un dulzor desagradable en la cerveza dada las deficiencias enzimáticas del grano de sorgo.

Fue posible mejorar las características organolépticas de una cerveza con bajo contenido de alcohol elaborada con malta de sorgo a partir de modificaciones en el proceso de fermentación, al utilizar un cocultivo con *S. ludwigii* y *S. cerevisiae*, sin embargo, esto puede provocar el aumento en la concentración de etanol.

RECOMENDACIONES

- 🌱 Analizar las proporciones de malta y levadura en el tratamiento MS+MC+SL+SC con la finalidad de mejorar las características sensoriales presentadas en este trabajo de investigación e incrementar las características organolépticas de una cerveza con bajo contenido de alcohol.
- 🌱 El uso de otras variedades de sorgo que influyan en la obtención de azúcares fermentables y no fermentable que contribuyan en obtener niveles de alcohol $\leq 0.5\%$ (v/v). Así como la elaboración de cerveza con equipo adecuado para maximizar el rendimiento de extracción.
- 🌱 Seguir investigando sobre el tratamiento MS+MC+SC ya que se logró obtener una cerveza con alto contenido de alcohol y con propiedades organolépticas aceptables, lo que podría implicar disminuir costos en la producción de malta de cebada.

REFERENCIAS

- AACC. (2000). *Approved Methods of the AACC*, 10th ed. American Association of Cereal Chemists.
- Afify, A. E. M. M., El- Beltagi, H. S., El- Salam, S. M. A., & Omran, A. A. (2012). Protein solubility, digestibility and fractionation after germination of sorghum varieties. *PLoS One*, 7(2). doi: 10.1371/journal.pone.0031154.
- Aflaki, F., Houlipour, V., Saemian, N. y Sheibani, S. (2014). Biogenic amine coning non-alcoholic beers: screening and optimization of derivatization. *Food Analytical Methods*, (7), 713-720. doi.org/10.1007/s12161-013-9746-x.
- Agu, R.C., Palmer, H.C. (1998). A reassessment of sorghum for lager-beer brewing. *Bioresource Technology*, 66 (3), 253-26. doi: 10.1016/S0960 8524(98)00047-9.
- Alcantara, B., Marques, D., Chinellato, M., Marchi, L., Costa, S. y Monteiro, A. (2016). Assessment of quality and production process of a non-alcoholic stout beer using reverse osmosis. *Journal of the Institute of Brewing*, 122 (4), 714-718 doi: 10.1002/jib.368.
- Aluge, O.O., Akinola, S. y Osundahunsi, O. (2016). Effect of malted sorghum on quality characteristics of what-sorghum-soybean flour for potential use in confectionaries. *Food and Nutrition Sciences*, 7(13), 1241-1252. doi: 10.4236/fns.2016.713114.
- Andrés-Iglesias, C., Blanco, A., García-Serna, J., Pando, V. y Montero, O. (2016). Volatile compound profiling in commercial lager regular beers and derived alcohol-free beers after dealcoholizing by vacuum distillation. *Food Analytical Methods*, 9(11), 3230-3241. doi: 10.1007/s12161-016-0513-7
- Aniche, G. N., and Palmer, G. H. 1990. Development or amylolytic activities in sorghum and barley malt. *Journal of the Institute of Brewing and Distilling*, 96(6), 377-379. doi: 10.1002/j.2050-0416.1990.tb01043.x
- AOAC. (1980). *Official methods of the Association of Analytical Chemists*. Washington.
- ACERMEX. (2016). *Asociación cervecera de la república mexicana. Estado de la industria de la cerveza artesanal en México, reporte 2016-2017*.
- Bamforth, C. 2000. Beer: an ancient yet modern biotechnology. *Chemistry Educator*, 5(3), 102-112.

- Bamforth, W. y Roza, R. (2009). Storage of malt, thiol oxidase and brew house performance. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 67(2), 89-94. doi: 10.1094/ASBCJ-2009-0219-0.
- Barbado, J. (2003). *Secretos de la cerveza casera*. Editorial Albatros. Buenos Aires, 126-132.
- Barth, R. (2013). *The chemistry of beer: science and the suds*. John Wiley & Sons INC. 2nd edition. USA. 145-156.
- Bekele, A., Bultosa, G. y Belete, K. (2011). The effect of germination time on malt quality of six sorghum (*Sorghum bicolor*) varieties grown at Melkassa, Ethiopia. *Journal of the Institute of Brewing and Distilling*, 118(1), 76-81. doi: 10.1002/jib.19.
- Bigeon G., Benítez F., Pellicer K., y Copes J. (2016). Handcrafted beer: analysis of applicable sanitary technical regulations. *Analecta Veterinary Journal* 37(2), 54-59. doi: 10.24215/15142590e016.
- Blanco, C., Andrés-Iglesias, C. y Montero, O. (2016). Low-alcohol beers: flavor compounds, defects, and improvement strategies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(8), 1379-1388. doi:10.1080/10408398.2012.733979.
- Briggs, D., Boulton, C., Brookes, P. & Stevens, R. (2004). *Brewing, science and practice*. Food science and technology. Woodhead Publishing Limited and CRC Press, LLC. USA. 28-36, 316-324, 648-651.
- Briggs, D. (1998). *Malts and malting. technology and chemist of master brewers association of america*. Editorial Springer US, 1, 369-382.
- Castro-Sepulveda, M., Johannsen, N., Astudillo, S., Jorquera, C., Álvarez, C., Zbiden-Foncea, H. & Ramírez-Campillo, R. (2016). Effects of beer, non-alcoholic beer and water consumption before exercise on fluid and electrolyte homeostasis in athletes. *Nutrients*, 8(6), 345. doi: 10.3390/nu8060345
- Chiva-Blanch, G., Condines, X., Magraner, E., Roth, I., Valderas-Martínez, P., Arranz, S. & Lamuela-Raventos, R. (2014). The non-alcoholic fraction of beer increases stromal cell derived factor one and the number of circulating endothelial progenitor cells in high cardiovascular risk subjects: a randomized clinical trial. *Atherosclerosis*, 233(2), 518-524. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.12.048
- Cozzolino, D. y Degner, B. (2016). An overview on the role of lipids and fatty acids in barley grain and their products during beer brewing. *Food Research International*, 81, 114-121. doi:10.1016/j.foodres.2016.01.003
- Cuong, N.T. (2017). Effect of malting conditions to quality of germinated red sorghum. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 55 (5A), 49. doi.org/10.15625/2525-2518/55/5A/12178

- De Francesco, G., Turchetti, B., Sileoni, V., Marconi, O. y Perretti, G. (2015). Screening of new strains of *Saccharomyces ludwigii* and *Zygosaccharomyces rouxii* to produce low-alcohol beer. *Journal of the Institute of Brewing*, 121(1), 113-121. doi: 10.1002/jib.185.
- Del Pozo-Insfran, D., Urias-Lugo, D., Hernández-Brenes, C. y Serna-Saldívar, S. (2004). Effect of amyloglucosidase on wort composition and fermentable carbohydrate depletion in sorghum lager beers. *Journal of the Institute of Brewing*, 110 (2), 124-132. doi:10.1002/j.2050-0416.2004.tb00191.x
- Desai, B. 2004. *Seeds Handbook: biology, production, processing and storage*. Segunda edición. Marcel Dekker, INC. USA, 787.
- Deželak, M., Zarnkow, M., Becker, T. y Košir, I. J. (2014). Processing of bottom-fermented gluten-free beer-like beverages based on buckwheat and quinoa malt with chemical and sensory characterization. *Journal of the Institute of Brewing*, 120(4), 360–370. doi: 10.1002/jib.166.
- Dufour, J.P., Mélotte, L. & Srebrnik, S. (1992). Sorghum malts for the production of a lager beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 50(3), 110-119. doi 10.1094/ASBCJ-50-0110.
- Elgorashi, A., Elkhelifa, E. y Sulieman, A. (2016). The effect of malting conditions on the production of non-alcoholic sorghum malt beverage. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*, 6(4), 81-86. doi: 10.5923/j.foof.20160604.02.
- Elzinga, K., Horton, C. y Tremblay, V. (2015). Craft beer in the United States: history, numbers, and geography. *Journal of Wine Economics*, 10(3), 242–274. doi: 10.1017/jwe.2015.22.
- Estela-Escalante, W., Rychtera M., Melzoch K., Hatta-Sakoda, B., Ludeña-Cervantes Z., Sarmineto-Caasavilca V. y Chaquilla-Quilca G. (2011). Actividad fermentativa de *Saccharomyces ludwigii* y evaluación de la síntesis de compuestos de importancia sensorial durante la fermentación de jugo de manzana. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 14 (1), 12-23. SSN: 1405-888X.
- Espinoza-Ramirez, J., Pérez-Carillo, E. y Serna-Saldívar, S. (2013). Production of brewing worts from different types of sorghum malts and adjuncts supplemented with β -Amylase or amyloglucosidase. *Journal of the American Society Brewing Chemists*, 71(1), 49-56. doi: 10.1094/ASBCJ-2013-0125-01
- Espinoza-Ramirez, J., Pérez-Carillo, E. y Serna-Saldívar, S. (2014) Maltose and glucose utilization during fermentation of barley and sorghum lager beers as affected by β -amylase or amyloglucosidase addition. *Journal of Cereal Science*, 60(3), 602-609. doi:10.1016 / j.jcs.2014.07.008.

- Estela-Escalante, W., Rychetera, M., Melzoch, K., Hatta-Sakoda, B. y Ludeña-Cervantes, Z. (2011). Actividad fermentativa de *Saccharomyces ludwigii* y evaluación de la síntesis de compuestos de importancia sensorial durante la fermentación de jugo de manzana. *Revista especializada en ciencias químico biológicas*, 14(1), 12-23.
- Evans, W.F., Stickler, F.C., y Laude, H.H. (1961). Sorghum seed germination as affected by moisture and temperature. *Kansas Academy of Science*, 64 (3), 210-217. doi: 10.23.07/3626708
- FAO. (2009). Barley, malt and beer. Agrubusiness handbook.
- García-Garibay, M., Quintero-Ramírez, R. y López-Munguía, A. (1993). *Biotecnología Alimentaria*. Editorial Limusa, 632-636.
- Garzón, A.G., Torres, R.L. y Drago, S.R. (2016). Effects of malting conditions on enzyme activities, chemical, and bioactive compounds of sorghumstarchy products as raw material for brewery. *Starch Journal*, 68(11-12), 1048-1054. doi: 10.1002/star.20160080.
- Giovenzana, V., Beghi, R. y Guidetti, R. (2014). Rapid evaluation of craft beer quality during fermentation process by vis/NIR spectroscopy. *Journal of Food Engineering*. 142, 80–86. doi:/10.1016/j.jfoodeng.2014.06.017.
- Goñi, I., García-Díaz, E. y Saura-Calixto, F. (1996). Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. *Food Chemists*, 56(4), 445-449. doi:10.1016/0308-8146(95)00222-7
- Gorostiaga, F. (2008). Manual del proceso de elaboración de cerveza. Quito-Ecuador.
- Gómez, M., Obilana, A., Mantín, D., Madzvamuse, M. y Monyo, E. (1997). Manual of laboratory procedures for quality evaluation of sorghum and pearl millet. *International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics*. ISBN: 9290663480
- Guido, L., Curto, A., Boivin, B., Benismail, N., Goncalves, C., y Barros, A. (2007). Correlation of malt quality parameters and beer flavor stability: multivariate analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 728-733. doi.org/10.1021/jf0623079.
- Guillén, I., Redón, A. y Morales, A. (2016). Un acercamiento a la competitividad del sector de cerveza artesanal mexicana. *X Congreso de la Red Internacional de Investigadores*, 10(1). ISBN 978-607-96203-0-5.
- Hailu, Z., & Assefa, B. (2018). Production and characterization of beer from ko-dome sorghum. *International Journal of Food Bioscience*, 1, 19-24.

- Hankin, J., McCaul, M.E. y Heussner, J. (2000). Pregnant, alcohol-abusing women. *alcoholism: clinical and experimental eesearch*, 24 (8), 1276-1286. doi: 10.1111/j.1530-0277.2000.tb02094.x
- Hassani, A., Zarnkow, M. y Becker, T. (2013). Influence of malting conditions on sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) as a raw material for fermented beverage. *Food Science and Technology International*, 20(6), 453-563. doi: 10.1177/1082013213490710.
- Hazelwood, L.A., Walsh, M.C., Pronk, J.T., Daran, J.M. (2009). Tolerance to hop iso- α - acids in yeast involves vacuolar sequestration, and active transport. *Applied environmental Microbiology*. doi:10.1128/AEM.0145
- Henry, R.J. (1989). Factors influencing the rate of modifications of barley during malting. *Journal of Cereal Science*, 10(1), 51-59. doi: 10.1016/S0733-5210(89)80034-7.
- Herrera-Corredor, C., Carrillo-Castañeda, G.M., González-Hernández, V.A., Carrillo-Salazar, J.A., Peña-Valdivia, C.B., & García-Nava, J.R. (2011). Chemical treatments for recovering germination in onion seeds. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 17 (Special Edition), 63-72. doi:10.5154/r.rchsh.2011.17.046.
- Hill Annie. (2015). *Brewing Microbiologi, Managing Microbres, Ensuring Quality and Valorising Waste*. Woodhead Publishing.
- Hughes y Baxter. (2001). *Beer, quality, safety and nutritional aspects*. Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Hugs, J.S. (1987). *Biotechnología de la cerveza y de la malta*. Editorial Acriba S.A.
- Hui, S., Kim, N., Shim, M., Wook, Y. y Hye, J. (2014). Microbiological diversity and prevalence of spoilage and pathogenic bacteria in commercial fermented alcoholic beverages (beer, fruit wine, refined rice wine, and yakju). *Journal of Food Protection*, 78(4), 812-818. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-14-431.
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). (1999). *Industria de la cerveza, guía para la aplicación del sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos (ARCPC)*.
- Ivanov, K., Petelkov, I., Shopska, V., Denkova, R., Gochev, V. y Kostov, G. (2016). Investigation of mashing regimes for low-alcohol beer production. *Journal of the Institute of Brewing*, 122(3), 508-516. doi:10.1002/jib.351.
- Jeanet, R., Perrocheau, L. (2016). From barley to beer. *Handbook of food science and technology*, 205-230. doi:10.1002/9781119296225.ch5
- Kim, S., Kim, N., Lee, S., y Hwang, I. (2015). Survival of foodborne pathogenic bacteria (*Bacillus cereus*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella enterica* serovar *Typhim urium*, *Staphylococcus aureus*, and *Listeria monocytogenes*) and *Bacillus cereus* spores in fermented alcoholic beverages (beer and refined

- rice wine). *Journal of Food Protection*, 77(3), 419–426. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-13-23.
- Kulkarni, K., Kulkarni, D.N. y Ingle, U.M. (1991). Sorghum malt-based weaning food formulations: Preparation, functional properties, and nutritive value. *Food and Nutrition Bulletin*, 13 (4), 1-7. doi: 10.1177/156482659101300401
- Kunz, T., Frenzel, J., y Methner, F. (2014). Possibilities to improve the antioxidative capacity of beer by optimized hopping regimes. *Journal of the Institute of Brewing and Distilling*, 120(4), 415-425. doi: 10.1002/jib.162.
- Kunze, W. (1996). *Technology brewing and malting*. Séptima Edición. Editorial VLB Berlín, Verlagsabteilung. Germany, 726.
- Lehnert, R., Novak, P., Macieira, F., Kurec, M., Teixeira, J. y Brányik, T. (2009). Optimization of lab-scale continuous alcohol-free beer production. *Czech Journal of Food Sciences*, 27 (4), 267–275. doi: 10.17221/128/2009-CJFS.
- Liguori, L., De Francesco, G., Russo, P., Albanese, D., Perretti, G., y Di Matteo, M. (2015). Quality improvement of low alcohol craft beer produced by evaporative pertraction. In Chemical Engineering Transactions. *Italian Association of Chemical Engineering-AIDIC*, 43. doi: 10.3303/CET1543003.
- Lekkas, C., Stewart, G., Hill, A., Taidi, B., & Hodgson, J. (2005). The importance of free amino nitrogen in wort and beer. *Technical Quarterly-Master Brewers Association of the Americas*, 42(2), 113. doi: 10.1094/TQ-42-0113.
- Liguor, L., De Francesco, G., Russo, Perretti P., Albanese, D. y Di Matteo M. (2015). Production and characterization of alcohol-free beer by membrane process. *Food and Bioproducts Processing*, 94, 158-168. doi: 10.1016/j.fbp.2015.03.003
- López P., Prieto F., Gaytan M. y Román A. (2007). Caracterización fisicoquímica de diferentes variedades de cebada cultivadas en la región centro de México. *Revista chilena de nutrición*, 34(1), 71-77. doi: 10.4067/S0717-75182007000100008
- Lyumugabe, F., Gros, J., Nzungize, J., Bajyana, E., & Thonart, P. (2012). Characteristics of African traditional beers brewed with sorghum malt: a review. *Bio-technologie, Agronomie, Société te Environnement*, 164(4), 509-530. doi:
- Mesta, S., Geeta, G.S., & Ashwini, M. (2018). Standardization of fermentation parameters for beer production from sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) grains. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(7), 659-665. doi.org/10.20546/ijcmas.2018.707.080.

- Milani, E.A. y Silva, F.V. (2016). Nonthermal pasteurization of beer by high pressure processing: modelling the inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* ascospores in different alcohol beer. *High Pressure Research*, 34(4), 595-609. doi:10.1080/08957959.2016.1190354
- Mittelman, A. (2008). *Brewing battles: a history of american beer*. Algora publishing. New York.
- Molina-Cano, J. (1986). *La cebada cervecera, calidad, cultivo y nociones sobre la fabricación de la malta*. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. España.
- Montanari, L., Marconi, O., Mayer, H. y Fantozzi, P. (2009). Production of alcohol-free beer. *Beer in Health and Disease Prevention*. Elsevier, 61–75.
- Morin Charles. (1980). Cultivo de Cítricos. Editorial IICA. 420-423.
- Mudura, E., Coldea, T., Rotar, A., Pop, C., y Semenuic, C. (2016). Characterization of romanian craft beers based on chemical composition and microbiological analysis. *Food Science and Technology*, 73(1), 40-44. doi: 10.15835/bu-asvmcn-fst:11990.
- Mohammadi, A., Razavi, H., Mousavi, S y Rezaei, K. (2001). A comparison between sugar consumption and ethanol production in wort by immobilized *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ludwigii* and *Saccharomyces rouxii* on brewer's spent grain. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(2), 605-615. doi: 10.1590/S1517-83822011000200025
- Mortazavian, A., Razavi, S. H., Mousavi, S. M., Malganji, S. & Sohrabvandi, S. (2014). The effect of *Saccharomyces* strain and fermentation conditions on quality parameters of non-alcoholic beer. *Journal of Paramedical Sciences*, 5(3), 21-26.
- Müller, M., Bellut, K., Tippmann, J. y Becker, T. (2017). Physical methods for dealcoholization of beverage matrices and their Impact on quality attributes. *Chem-BioEng*, 4(5), 310-326. doi: 10.1002/cite.201600071
- Nishiwaki, M., Kora, N. y Matsumoto, N. (2017). Ingesting a small amount of beer reduces arterial stiffness in healthy humans. *Physiological Reports*, 5(15), e13381. doi: 10.14814/phy2.13381.
- Norma Mexicana NMX-FF-043-SCFI-2003. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano -cereal- cebada maltera (*Hordeum vulgare* L. y *Hordeum distichum* L.). Especificaciones y métodos de prueba. Publicada en el diario oficial el 18 de octubre del 2003.

- Ogihara, A., Kikuchi, S., Hasegawa, A., Kurosawa, M., Miki, K., Kaneko, E., y Mizukoshi, H. (2000). Relationship between *Helicobacter pylori* infection and smoking and drinking habits. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 15(3), 271-276.
- Ojha, P., Adhikari, R., Karki, R., Mishara, A., Subedi, U., y Karki T. (2018). Malting and fermentation effects on antinutritional components and functional characteristics of sorghum flour. *Food science and nutrition*, 6(1), 47-53. doi: 10.1002/fsn3.525
- Olmo, A., Blanco, A., Palacio, L., Prádanos, P., y Hernández, A. (2014). Pervaporation methodology for improving alcohol-free beer quality through aroma recovery. *Journal of Food Engineering*, 133, 1-8. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2014.02.014
- Ortega-Villicaña, M. & Serna-Saldívar, S. (2004). Production of lager beer from sorghum malt and waxy grits. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 62(4), 140-146. doi: 10.1094/ASBCJ-62-0149.
- Palmer, J. (2006). *How to brew*. Editorial Brewers Pubns.
- Palmer, J. y Kaminski, C. (2013). *Water: a comprehensive gfor brewers*, Brewers Publications.
- Patindol, J., Mendez-Montealvo, G., & Wang, Y. J. (2012). Starch properties of malted barley in relation to real degree of fermentation. *Starch-Stärke*, 64(7), 517-523. doi: 10.1002/star.201100171
- Peña, A., Meseguer, I., y González-Muñoz, M. (2007). Influence of moderate beer consumption on aluminium toxico-kynetics: acute study. *Journal of Hospital Medicine*, 22(3), 371-376. doi: 10.1016/j.numecd.2016.03.007
- Paradh, A. y Hill, A. (2016). Review: Gram negative bacteria in brewing. *Advances in Microbiology Scientific Research Publishing*, 6, 195–209. doi:10.4236/aim.2016.63020.
- Parise, A., Kovaleva, E., Glukhareva, T. y Shatunova, S. (2017). Biotechnological production of non-traditional beer. *Physics, Technologies and Innovation*. 1886(1), 020098. doi: 10.1063/1.5002995.
- Pérez-Medina, T., Fernández-Durán, N., Pereira-Sánchez, A. y Serrano-González, L. (2015). Beneficios del consumo moderado de cerveza en las diferentes etapas de la vida de la mujer. *Nutrición Hospitalaria*, 32(1), 32-34. doi: 10.3305/nh.2015.32.sup1.9476 *
- Peters, J. y Van Doorn, R. (2017). Mycotoxin profiling of 1,000 beer samples with a special focus on craft beer. *PLoS ONE*, 12(10). doi: 10.1371/journal.pone.0185887

- Popescu, V., Soceanu, A., Dobrinas, S., & Stanciu, G. (2013). A study of beer bitterness loss during the various stages of the Romanian beer production process. *Journal of the Institute of Brewing*, 119(3), 111-115.
- Purwasasmita, M., Kurnia, D., Mandias, F. y Wenten, I. (2015). Beer dealcoholizing using non-porous membrane distillation. *Food and Bio products Processing*, 94, 180-186. doi:10.1016/j.fbp.2015.03.001
- Sakamoto, K. (2002). Review: beer spoilage bacteria and hop resistance. *International Journal of Food Microbiology*, 89(2-3), 105-124. doi: 10.1371/journal.pone.0185887.
- Sanni, D. M. & TH, F. (2017). Evaluation of malting properties and activities of three enzymes from sorghum (*Sorghum bicolor*) during malting. *African Journal Food Science and Technology*, 8, 090-098. doi.org/10.14303/ajfst.2017.113
- Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación (SAGARPA). (2017). Planificación agrícola nacional 2017- 2030, grano de sorgo.
- Secretaría de salud, Encuesta Nacional del Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco (ENCODAT). 2016-2017.
- Serna-Saldívar, S. (2013). Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. Segunda edición. Editorial AGT. México.
- Serna-Saldívar, S. (2012). Cereal grains, laboratory reference and procedures manual. CRC Press, Tylos & Francis Group.
- Sidel, J.L., & Stone, H. (1993). The role of sensory evaluation in the food industry. *Food Quality and Preference*, 4(1-2), 65-73.
- Silva, D., Baszcynski, M., Lehnert, R y Almeida, J. (2012). A review of methods of low alcohol ad alcohol-free beer production. *Journal of Food Engineering*, 108(4), 493-506. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2011.09.020
- Sohrabvandi, S., Mousav,i S., Razavi, S., Mortazavian, A. y Rezae, K. (2010). Alcohol-free beer: methods of production, sensorial defects, and healthful effects. *Food Reviews International*, 26(4), 335-352. doi: 10.1080/87559129.2010.496022.
- Strejc, J., Karabín, M., Almeida, J. y Brányik, T. (2013). Production of alcohol-free beer with elevated amounts of flavoring compounds using lager yeast mutants. *Journal of the Institute of Brewing and Distilling*, 119(3), 149-155. doi: 10.1002/jib.72.
- Subramanian V., Murty D.S., Rao, N.S. y Jambunathan,R. (1992). Chemical changes and diastatic activity in grains of sorghum (*Sorghum bicolor*) cultivars

during germination. *Journal of the Science and Food and Agriculture*, 58(1), 35-40. doi:10.1002/jsfa.2740580107

- Suzuki, K., Lijima, K., Sakamoto, K., Sami, M., y Yamashita, H. (2006). A review of hop resistance in beer spoilage lactic acid bacteria. *Journal of the Institute of Brewing and Distilling*, 112(2), 173-191. doi:10.1002/j.20500416.2006.tb00247.x.
- Taylor J.R.N. (1992). Mashing with malted grain sorghum. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 50(1), 13-18. doi: 10.1094/ASBCJ-50-0013.
- Yoon-Jung, C., Seung-Kwon, M. y Ji-Ho, L. (2017). Light alcohol drinking and risk of cancer: a meta-analysis of cohort studies Korea cancer association. *Cancer Research and Treatment*, 50(2), 474-487. doi: 10.4143/crt.2017.094
- Van Iersel, M., Meersman, E., Swinkels, W., Abee, T. y Rombouts, F. (1995). Continuous production of non-alcohol beer by immobilized yeast at low temperature. *Journal of Industrial Microbiology*. 14(6), 495-501. doi: 10.1007/BF01573964
- Vannalli, S., Kasturiba, B., Naik, R. K., & Yenagi, N. (2008). Nutritive value and quality characteristics of sorghum genotypes. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 20(3), 586-588. doi: 10.4025/actascianimsci.v38i2.29567
- Varnam, A. y Sutherland, J. (1994). Bebidas, tecnología, química y microbiología. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- Vaughan, A. y Van Sinderen, D. (2005). Enhancing the microbiological stability of malt and beer – a review. *Journal of the Institute of Brewing and Distilling*, 111(4), 355-371. doi: 10.1002/j.2050-0416.2005.tb00221.x
- Yi, C., Li, Y., y Ping, J. (2017). Germination of sorghum grain results in significant changes in paste and texture properties. *Journal of texture studies*, 45(5), 386-391. doi: 10.1111/jtxs.12241
- Yu, W., Quek, W. P., Gilbert, R. G., & Fox, G. P. (2018). Effects of the starch molecular structures in barley malts and rice adjuncts on brewing performance. *Fermentation*, 4(4), 103. doi: 10.3390/fermentation4040103
- White, C., & Zainasheff, J. (2010). Yeast, the practical guide to beer fermentation. *Brewers Publications, a division of the Brewers Association*.

Resultados estadístico,