



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Químicas  
Carrera de Bioquímica y Farmacia

**Evaluación teórica del grado de descontaminación de micotoxinas  
en las etapas de producción de cerveza artesanal a nivel de  
laboratorio**

Trabajo de titulación previo a la obtención  
del título de: Bioquímico Farmacéutico

Autoras:

María Gabriela Quezada Zambrano  
C.I.: 092817211-3  
Correo electrónico: ma.gabiquezada@gmail.com  
Valeria Andrea Valencia Ortiz  
C.I.: 140066982-4  
Correo electrónico: vavalenciaort@gmail.com

Directora:

Dra. Silvia Johana Ortiz Ulloa. PhD  
C.I.: 030108289-7

Asesores:

Bqf. Evelyn Michelle Castro Arteaga, Mgt  
C.I.: 010482706-8  
Ing. David Enrique Vanegas Jácome, PhD  
C.I.: 010404605-7

**CUENCA – ECUADOR**

11-Febrero-2021



## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de titulación fue realizar una revisión bibliográfica sobre la influencia de cada etapa de elaboración de cerveza artesanal en la reducción de micotoxinas. Además, se planteó determinar el volumen mínimo de producción de cerveza artesanal, para lo cual se elaboraron 2 lotes de 15 litros tal como indica la Sociedad Ecuatoriana de Cerveceros Artesanales (SECA) y luego, proporcionalmente, se redujeron los volúmenes a lotes de 3, 1.5 y 1 litro, sometidos a 6, 10 y 14 días de fermentación primaria, obteniendo así 9 lotes de cerveza artesanal. Los lotes sometidos a 6 y 10 días de fermentación primaria no presentaron la densidad óptima y sus características organolépticas aparentes no fueron propias de una cerveza artesanal, por lo que no se consideraron para el posterior análisis fisicoquímico. Se analizaron propiedades fisicoquímicas como pH, grado alcohólico y carbonatación de los lotes sometidos a 14 días de fermentación primaria. Todos estos lotes presentaron un grado alcohólico del 5% V/V y una carbonatación superior a los límites de referencia, mientras que el lote de 3 litros presentó un pH mayor al límite superior permitido de 5.60.

A pesar de que las micotoxinas no se encuentran en concentraciones significativas en los alimentos, estas se consideran un riesgo para la salud del consumidor debido a su capacidad para bioacumularse en el organismo humano. La influencia de la reducción de micotoxinas en cada etapa de producción de cerveza artesanal está relacionada principalmente a la afinidad de las mismas por el agua o a su resistencia a elevadas temperaturas. Las etapas en las que podría existir una reducción potencial de micotoxinas son durante la molienda, maceración y la fermentación.

**Palabras claves:** Cerveza artesanal. Propiedades físico químicas. Micotoxinas.



## ABSTRACT

The objective of this work was to carry out a literature review about the influence of each stage of the production of craft beer on the mycotoxin reduction. In addition, it was proposed to determine the minimum volume for craft beer production. First, two batches of 15 liters of beer that were elaborated under the same conditions according to the Ecuadorian Society of Craft Brewers (SECA). Then, production volumes were reduced to batches of 3, 1.5 and 1 liter, with primary fermentation periods of 6, 10 and 14 days (9 batches in total). The batches with 6 and 10 days of primary fermentation did not present the optimal density and acceptable organoleptic features, therefore those were not considered for the subsequent physicochemical analysis.

Physicochemical properties such as pH, alcoholic degree and carbonation were analyzed in the batches with 14 days of primary fermentation. All the batches presented an alcoholic degree of 5% v/v and higher carbonation than the reference values; while the 3 liter-batch presented a pH of 5.60 which is above the maximum permitted limit.

Although mycotoxins have not been found in significant concentrations in food, these are considered a risk for consumer's health due to their ability to bioaccumulate in the human body. The influence of mycotoxin reduction in each stage of craft beer production is mainly related to their affinity for water or to their resistance to high temperatures. The stages in which there could be a potential reduction of mycotoxins are during the grinding, maceration and fermentation.

**Keywords:** Craft beer. Physicochemical properties. Mycotoxins.



## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	3
ÍNDICE GENERAL .....	4
ÍNDICE DE TABLAS.....	7
ÍNDICE DE FIGURAS .....	8
ÍNDICE DE ANEXOS .....	9
AGRADECIMIENTOS .....	16
INTRODUCCIÓN.....	17
1 MARCO TEÓRICO .....	19
1.1 CERVEZA ARTESANAL.....	19
1.1.1 Según su aspecto.....	19
1.1.2 Según la materia prima .....	19
1.1.3 Según el tipo de fermentación .....	19
1.1.4 Según el contenido de extracto seco.....	19
1.2 MATERIA PRIMA .....	20
1.2.1 Agua .....	20
1.2.2 Cereales .....	20
1.2.3 Levadura.....	22
1.2.4 Lúpulo.....	24
1.3 ELABORACIÓN DE CERVEZA .....	25
1.3.1 Molturado.....	25
1.3.2 Maceración de malta y obtención de mosto .....	25
1.3.3 Cocción del mosto.....	25
1.3.4 Fermentación principal.....	26
1.3.5 Fermentación secundaria o maduración .....	26
1.4 PARÁMETROS DE PRODUCCIÓN DE CERVEZA.....	26
1.4.1 Parámetros fisicoquímicos .....	27
1.5 CONTROL DE CALIDAD DE LA CERVEZA .....	30



1.6 MICOTOXINAS EN LA CERVEZA .....	31
1.6.1 Generalidades .....	31
1.6.2 Ocratoxina A.....	31
1.6.3 Fumonisinias .....	32
1.6.4 Deoxinivalenol .....	33
1.6.5 Zearalenona .....	35
1.7 MÉTODOS DE DESCONTAMINACIÓN DE MICOTOXINAS.....	35
1.7.1 Generalidades .....	35
1.7.2 Métodos físicos .....	36
1.7.3 Métodos biológicos.....	39
1.7.4 Métodos químicos .....	40
2 METODOLOGÍA .....	41
2.1 Finalidad del estudio .....	41
2.2 Elaboración de cerveza artesanal.....	41
2.2.1 Elaboración de lotes de menor volumen .....	43
2.3 Análisis fisicoquímico de los lotes de cerveza.....	44
2.3.1 pH .....	45
2.3.2 Grado alcohólico .....	45
2.3.3 Carbonatación .....	45
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46
3.1 Selección de los lotes de cerveza artesanal elaborada a escala de laboratorio	47 46
3.2 Análisis fisicoquímico de los lotes de cerveza artesanal .....	47
3.3 Influencia de los procesos de elaboración en la reducción de micotoxinas en .....	49
cerveza artesanal.....	49
3.4 Micotoxinas en la producción de cerveza.....	50
3.4.1 Malteado.....	50
3.4.2 Maceración .....	52
3.4.3 Fermentación.....	52
3.4.4 Maduración y estabilización .....	52
4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	54



4.1 Conclusiones.....	54
4.2 Recomendaciones.....	54
REFERENCIAS .....	56
ANEXOS.....	71



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Diferencias entre la cerveza artesanal e industrial.....	27
<b>Tabla 2.</b> Requisitos de la norma NTE INEN 2262:2013 para cerveza pasteurizada.....	30
<b>Tabla 3.</b> Elaboración de cerveza artesanal a pequeña escala.....	44
<b>Tabla 4.</b> Resultados del análisis de densidad de los lotes elaborados.....	46
<b>Tabla 5.</b> Resultados de los parámetros fisicoquímicos de los lotes seleccionados. ....	48



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Escala de color según la EBC.....	28
<b>Figura 2.</b> Diferentes estilos de cerveza y sus características principales .....	28
<b>Figura 3.</b> Estructura química de la Ocratoxina A.....	32
<b>Figura 4.</b> Estructura química de fumonisina B1 .....	33
<b>Figura 5.</b> Estructura química del Deoxinivalenol.....	34
<b>Figura 6.</b> Estructura química de la Zearalenona y de sus metabolitos.....	35





## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Registro fotográfico de la elaboración de cerveza artesanal.....	71
<b>Anexo 2.</b> Equipos, materiales, menajes de cocina e ingredientes .....	75
<b>Anexo 3.</b> Resultados de los análisis fisicoquímicos .....	76
<b>Anexo 4.</b> Datos obtenidos durante el control de temperaturas en la maceración de los lotes con 14 días de fermentación primaria. ....	79
<b>Anexo 5.</b> Datos obtenidos durante el control de la temperatura ambiental de los lotes de 14 días de fermentación primaria.....	79



## Cláusulas

### Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

---

Yo, María Gabriela Quezada Zambrano, en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Evaluación teórica del grado de descontaminación de micotoxinas en las etapas de producción de cerveza artesanal a nivel de laboratorio", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 11 de febrero del 2021

María Gabriela Quezada Zambrano

C.I: 092817211-3



## Cláusula de Propiedad Intelectual

---

Yo, María Gabriela Quezada Zambrano, autora del trabajo de titulación "Evaluación teórica del grado de descontaminación de micotoxinas en las etapas de producción de cerveza artesanal a nivel de laboratorio", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 11 de febrero del 2021

María Gabriela Quezada Zambrano

C.I: 092817211-3



## Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

---

Yo, Valeria Andrea Valencia Ortiz, en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Evaluación teórica del grado de descontaminación de micotoxinas en las etapas de producción de cerveza artesanal a nivel de laboratorio", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 11 de febrero del 2021

---

Valeria Andrea Valencia Ortiz

C.I: 140066982-4



## Cláusula de Propiedad Intelectual

---

Yo, Valeria Andrea Valencia Ortiz, autora del trabajo de titulación "Evaluación teórica del grado de descontaminación de micotoxinas en las etapas de producción de cerveza artesanal a nivel de laboratorio", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 11 de febrero del 2021

---

Valeria Andrea Valencia Ortiz

C.I: 140066982-4



## DEDICATORIA

A Dios, por bendecirme cada día con una hermosa familia y por la alegría de estar  
viva.

A mis padres, Robert y Olga, por el apoyo constante e incondicional en todo momento  
a lo largo de mi carrera universitaria, por el amor, por la paciencia, por los  
consejos...GRACIAS, sin ustedes este largo camino hubiera sido muy difícil.

A mis hermanas, Rosita, Jacky y Adri, por ser cada una de ellas un gran ejemplo y por  
enseñarme a ver la vida desde diferentes perspectivas.

A mi sobrina Lolita, por tantas alegrías y por hacerme sentir de una u otra forma lo que  
es ser responsable de una vida.

A mi abuelito Rogelio Zambrano (+), quien en mis sueños me sigue recordando lo  
orgullosa que ha estado de mí siempre.

**Ma. Gabriela Quezada Zambrano.**



## DEDICATORIA

El desarrollo del presente trabajo de titulación está dedicado a mis padres, Rubén y Verónica, por su apoyo incondicional a lo largo de la vida, gracias por estar siempre y guiarme con sus enseñanzas.

A mi esposo David, mi amor y novio por siempre, quien con su apoyo, bromas y fortaleza ha caminado conmigo y cambiado mi vida, ayudándome a ser mejor cada día.

A mi hijo Gabriel, por haber llegado para llenarme de luz, de sueños y de amor. Por ser mi motor, mi alegría y mi todo. Te amo.

A mis hermanos, Juan, Vivi, Santy, Caro, Paco, Benny, por el apoyo en cada acción que me ha ayudado a culminar con éxito este camino, por la alegría y el amor con el que llenan mi vida.

A mis docentes, Dra. Johana Ortiz e Ing. David Vanegas, que aportaron con sus conocimientos, cariño y valiosas enseñanzas no solo durante este trabajo sino a lo largo de mi vida estudiantil.

A los amigos que me ayudaron de cualquier manera a lo largo de todo este tiempo, gracias por hacer de mi formación universitaria una de las mejores experiencias de la vida.

A todas las personas que han apoyado de cualquier forma al desarrollo del proyecto, que me brindaron ánimos y palabras de aliento cuando más lo necesité.

Les agradezco un inmensamente,

Valeria.



## AGRADECIMIENTOS

A Dios, por nuestra salud, la de nuestros familiares y amigos durante esta pandemia. Por darnos la oportunidad de compartir momentos únicos y permitirnos conocer personas valiosas a lo largo de nuestra formación académica.

A nuestros padres por ser ese apoyo y motivación incondicional necesarios para recorrer y culminar con éxito esta vida universitaria, los amamos un motón.

A la Universidad de Cuenca, nuestra alma máter, pilar fundamental en nuestro desarrollo integral.

A la Dra. Johana Ortiz, quien nos ha compartido pacientemente y con amor su tiempo y conocimientos desde el primer día, ayudándonos a culminar exitosamente este trabajo de titulación.

A la Dra. Michelle Castro, por su apoyo constante e incondicional en la realización de este trabajo.

Al Ing. David Vanegas, quien nos ha apoyado a lo largo de este camino universitario siendo no solo un docente, sino una guía y amigo incondicional.

A todo el equipo de trabajo del laboratorio de Biociencias de Balzay por la colaboración y alegría brindada en el ambiente laboral.

A Fabián Gorostiaga, director de la Sociedad Ecuatoriana de Cerveceros Artesanales (SECA), quien, con su experiencia y técnica en el campo cervecero, supo colaborar con la instrucción para la realización de esta tesis.

Al laboratorio de Análisis de Alimentos MSV por su colaboración en el análisis de los parámetros fisicoquímicos de la cerveza artesanal elaborada.

A Israel Castillo, empresario y propietario de la marca de Cerveza Artesanal "Cuzcungo", por su guía en la elaboración y control del producto elaborado.

A nuestros familiares y amigos que nos han apoyado en diferentes formas para culminar con éxito nuestro trabajo.





## INTRODUCCIÓN

La cerveza es una bebida alcohólica resultante de la fermentación de cereales como el trigo, cebada, maíz, entre otros (Akar et al., 2004). La cebada es el cereal tradicional y más usado en la elaboración de cerveza (Jaramillo, 2016). Además del lúpulo, la levadura y el agua, la cebada constituye el ingrediente proveedor de azúcares fermentables que por consumo de las levaduras producirán alcohol y darán las características organolépticas propias de esta bebida (González, 2017).

Se ha estimado que entre el 25 y 40% de la producción mundial de cereales está contaminada por hongos productores de micotoxinas (Duarte-Vogel & VillamilJiménez, 2006). Las malas prácticas pre y post cosecha favorecen la contaminación debido a la falta de control de factores medioambientales como la temperatura y la humedad (Akar et al., 2004). La mayor parte de hongos pertenecen a géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, pudiendo llegar a ser toxicogénicos al alcanzar madurez metabólica bajo condiciones ambientales ideales que favorecen la producción de metabolitos secundarios llamados micotoxinas (Molto, 2000). El consumo de alimentos contaminados con micotoxinas trae consecuencias graves para la salud humana y animal. Sus efectos adversos varían según la concentración y la presencia de una o varias micotoxinas (Caballero, 2016; Soriano del Castillo, 2015). Entre las manifestaciones clínicas más comunes asociadas a la ingestión de micotoxinas son hepatitis, hemorragias, nefritis, inmunosupresión, tumores, abortos, defectos de nacimiento, problemas gastrointestinales e incluso el desarrollo de diferentes tipos de cáncer (Mallmann et al., 2007; Tinoco, 2016).

En cervezas artesanales europeas se ha evidenciado la presencia de micotoxinas como deoxinivalenol (DON), ocratoxina A (OTA) y Fumonisinias B (FBs) en un alto número de muestras (Bertuzzi et al., 2011). Sin embargo, se ha evidenciado que la concentración de las micotoxinas varía a lo largo de la producción de un alimento, por ejemplo en la elaboración de la cerveza en donde la cebada empleada se somete a procesos físicos previos como la selección de granos, remojo, y a tratamientos térmicos como el tostado que reducen significativamente la concentración de deoxinivalenol (DON) y otros tricotecenos como HT-2 y T2, fumonisinias (FUMs), aflatoxinas (AFs), zearalenona (ZEA) (Karlovsy et al., 2016). También a lo largo de la elaboración de cerveza se aplican procesos como la maceración y la fermentación que resultan efectivos con una reducción de zearalenona (75%), aflatoxina B1 (48%) y ocratoxina A (59%) (Campagnollo et al., 2015). Por el contrario, se ha reportado que la fermentación no afecta la concentración de micotoxinas como fumonisinias y algunos tricotecenos (Karlovsy et al., 2016).



En Ecuador, los estudios sobre contaminación de cereales por micotoxinas son escasos. Se cuentan con reportes de deoxinivalenol, aflatoxinas G1, G2, ocratoxina A, zearalenona y fumonisina B1 identificadas en maíz, arroz, soya, cereales a base de maíz, hojuelas de avena, fideos y harina de trigo, (Espín et al., 1999; Guerrero Hinojosa, 2011; Ortiz Ulloa et al., 2013; Sandoval Cañas, 2013; Tinoco, 2016). Sin embargo, no se ha analizado lo suficiente la presencia de micotoxinas específicamente en cerveza artesanal, disponiéndose solo de un estudio que detalla la presencia de ocratoxina A en este alimento (Castro A, 2017).

El presente trabajo tiene por objeto elaborar cerveza artesanal a escala laboratorio y establecer el volumen mínimo de producción que cumpla con los parámetros establecidos en la norma NTE INEN 2262:2013 para cerveza. La finalidad es colaborar en la investigación de micotoxinas y el potencial innato de esta bebida alcohólica para su descontaminación.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

- Evaluar el grado de descontaminación de micotoxinas en las etapas de producción de cerveza artesanal a nivel de laboratorio.

### **Objetivos Específicos**

- Replicar el proceso de producción de cerveza artesanal a escala de laboratorio.
- Evaluar parámetros físico-químicos de la cerveza artesanal según la normativa nacional vigente.
- Evaluar teóricamente el potencial de descontaminación de micotoxinas en las etapas de producción de cerveza artesanal.



## 1 MARCO TEÓRICO

### 1.1 CERVEZA ARTESANAL

La cerveza es una bebida milenaria originaria de la cultura mediterránea clásica, vinculada desde la antigüedad con fines terapéuticos. La cerveza es una bebida alcohólica, no destilada, resultante de la fermentación alcohólica producida por la levadura contenida en el mosto procedente de la malta de cebada y aromatizada con lúpulo. La cerveza artesanal se caracteriza por ser elaborada a partir de ingredientes naturales, no contiene aditivos artificiales y, a diferencia de la cerveza industrial, no es sometida a un proceso de pasteurización (González, 2017; Soriano del Castillo, 2015).

Se conocen distintos tipos de cerveza que se clasifican a partir de varios criterios, como se presenta a continuación (González, 2017; Soriano del Castillo, 2015):

#### 1.1.1 Según su aspecto

Por su color en rubias, ámbar y negras; y por la turbiedad en cristalinas o turbias.

#### 1.1.2 Según la materia prima

Se refiere al cereal empleado como materia prima. Se denomina “cerveza” si procede de la cebada. Sin embargo, si la cebada se reemplaza por otro cereal se indica como “cerveza de...” seguido del cereal de origen.

#### 1.1.3 Según el tipo de fermentación

Se distinguen tres tipos de cerveza según el tipo de fermentación: 1) De *baja fermentación* o *Lager*, en ambientes fríos de 2 a 8°C; 2) De *alta fermentación* o *Ale*, a temperaturas de 15 a 25°C, y 3) De *fermentación espontánea*, se produce por levaduras salvajes provenientes del ambiente.

#### 1.1.4 Según el contenido de extracto seco

Constituye un criterio de calidad que indica la cantidad de cereales que se emplean para la elaboración de cerveza, conocido como Extracto Seco Primitivo (ESP). Se expresa en gramos de cereal por cada 100 gramos de mosto. Existen cuatro tipos:

- Cerveza sin alcohol: ESP entre 2 y 4.
- Cerveza tradicional: ESP entre 11 y 13.
- Cerveza especial: ESP entre 13 y 15.
- Cerveza extra especial: ESP mayor a 15.



## 1.2 MATERIA PRIMA

La elaboración de la cerveza artesanal empieza con la selección de la materia prima de calidad. El agua, la cebada, el lúpulo y la levadura, constituyen los principales ingredientes. El agua es el componente base para la elaboración de la cerveza. La cebada malteada es el cereal más utilizado en cervecería, los cereales proveen de azúcares fermentables a la preparación. El lúpulo proporciona el distintivo amargor, sabor y aroma a la cerveza; mientras que la levadura es responsable de la fermentación alcohólica (Fermun et al., 2013; González, 2017; Soriano del Castillo, 2015).

### 1.2.1 Agua

El agua representa más del 95% de la composición de la cerveza, por lo que resulta importante la selección de un agua de calidad para el proceso de elaboración de cerveza artesanal (Fermun et al., 2013).

La composición mineral en el agua puede ser muy compleja, llegando a ser determinante en el sabor, el aroma y en la definición del estilo de la cerveza. La presencia de sulfatos como el sulfato de calcio proporciona a la cerveza un sabor ligeramente astringente o amargo, pues realza el sabor del lúpulo. El calcio y el magnesio propician la actividad de la levadura, favoreciendo la fermentación. Sin embargo, en grandes cantidades producen sabores metálicos. El exceso de sodio puede conferir un sabor salobre, mientras que el cloruro, solo o combinado con sodio, puede potenciar los sabores (González, 2017). Los iones calcio estabilizan las  $\alpha$ - y  $\beta$ amilasas, importantes en la degradación del almidón; la  $\alpha$ -amilasa no actúa si no hay calcio presente (Molto, 2000).

El valor del pH del agua determinará el rendimiento en la maceración, pues define la actividad de las enzimas y, en consecuencia, el grado de producción de azúcares a partir de la malta. Las enzimas transformadoras del almidón en azúcares fermentables ( $\alpha$ -amilasa y  $\beta$ -amilasa) requieren de un pH entre 5,2 y 5,7 para su activación. Por otro lado, las proteasas, que degradan las proteínas y permiten obtener cervezas más transparentes, tienen un pH óptimo de acción que oscila entre 4,2 y 5,3 (Fermun et al., 2013; González, 2017).

### 1.2.2 Cereales

#### 1.2.2.1 Cebada

Los tipos de cebada más utilizados en cervecería son de dos hileras *Hordeum distichum* L. y de seis hileras *Hordeum vulgare* L. Al igual que otros cereales, la cebada contiene una



elevada proporción de hidratos de carbono, especialmente almidones, entre 60-70%. Además, contiene 12% de proteínas precursoras de las enzimas que se formarán durante la germinación. El contenido de vitaminas y minerales se encuentran en diferentes proporciones dependiendo de las condiciones de cultivo (Fermun et al., 2013; González, 2017).

El grano de cebada está constituido por tres partes:

- a. Salvado, rico en celulosa, taninos y antocianógenos (resina amarga); estos últimos se eliminan por extracción de las cáscaras, pues se les atribuye sabor amargo y desagradable que altera el producto final.
- b. Endosperma, rico en almidón y contiene entre un 9-10% de proteínas como leucosina, edestina y prolaminas.
- c. Germen, rico en lípidos, particularmente lecitina (Molto, 2000).

La cebada se selecciona según el estado físico del grano, por ejemplo, cuando el color del grano es amarillo pajizo es un indicativo de buenas condiciones de maduración y cosecha; mientras que el exceso de lluvia decolora el grano y aparece una coloración negra que indica el crecimiento de hongos. El brillo es indicador de buenas condiciones de maduración, cosecha y almacenamiento, a menor humedad más brillo. La cebada debe ser sometida a un proceso de *malteado*, para que se activen las enzimas y el almidón se transforme en maltosa. El grano contiene enzimas como las amilasas y proteasas. Las proteasas son activadas por la humedad y se encargan de descomponer la proteína almacenada en el grano para sintetizar las amilasas. Una vez sintetizadas, las amilasas descomponen el almidón en dextrinas y en maltosa (Fermun et al., 2013; González, 2017).

La transformación de la cebada en malta se desarrolla en tres fases. La primera fase recibe el nombre de *remojado* y consiste en la humidificación de los granos durante 36-48 horas a una temperatura de 10-15°C. Con este proceso el grano pasa de un contenido de humedad del 15% al 45%. En el transcurso de la primera fase, los granos empiezan a germinar, dando inicio a la germinación (Fermun et al., 2013; González, 2017). En la segunda fase, la cebada se distribuye sobre recipientes germinadores por 7 días o hasta que la raicilla alcance una longitud aproximada de 3/4 el tamaño del grano, esta fase se lleva a cabo a una temperatura de 15°C y humedad relativa del 100%. La germinación permite la síntesis y activación de enzimas como amilasas, lipasas, dextrinasas, enzimas citolíticas, proteasas, lipooxigenasas y fosfatasas (Kunze, 2006), que transforman los almidones presentes en el grano en azúcares susceptibles de ser fermentados (maltosa) (Barrera et al., 2003; Fermun et al., 2013; Garcia et al., 1993; González, 2017). En la



tercera fase de *torrefacción y secado*, se aumenta el nivel de temperatura para promover la conservación de enzimas y la humedad del grano disminuye hasta 4%. Esto se lleva a cabo sobre un enrejillado donde circula aire caliente a temperatura variable durante 24 horas. Además, se retiran las raicillas y el germen de los granos mediante agitación y volteo. De la temperatura depende el grado de color del grano, y, por lo tanto, la coloración de cerveza que se elaborará. Las cervezas rubias se obtienen de temperaturas entre 55-70°C, las cervezas ámbar entre 60-95°C y las cervezas negras o “chocolates” entre 105-233°C (Barrera et al., 2003; Fermun et al., 2013; Garcia et al., 1993; González, 2017).

#### 1.2.2.2 Avena

La *Avena sativa*, comúnmente llamada avena, también es utilizada en la fabricación de cerveza artesanal en una proporción que no exceda el 10%. La adición de avena aporta proteínas, lípidos y gomas, otorgando a la cerveza una espuma persistente, fina y cremosa (Garcia et al., 1993; González, 2017).

#### 1.2.3 Levadura

Las levaduras son microorganismos eucariotas, unicelulares, pertenecientes a los ascomicetos, tienen forma redondeada u ovalada con diámetro de 5-10 micras. Las levaduras son las responsables de la fermentación de la cerveza, es decir, transforma el azúcar en alcohol y anhídrido carbónico (CO<sub>2</sub>) en condiciones anaeróbicas (González, 2017; Pilla & Vinci, 2012). El *metabolismo respiratorio* es característico de las fases tempranas del proceso de fermentación, en las cuales la actividad celular está dirigida principalmente a la reproducción (asexual por gemación) y la generación de biomasa. Mientras que, el *metabolismo fermentador* predomina en las fases media y tardía del proceso, cuando el oxígeno es desplazado por el CO<sub>2</sub>, incrementándose la producción de alcohol (González, 2017; Pilla & Vinci, 2012).

La fermentación por acción de la levadura tiene lugar en 3 fases, en cada fase la levadura actúa de forma distinta:

- **Fase de adaptación.** Empieza inmediatamente después de que la levadura se haya inoculado en el mosto, y se alarga aproximadamente unas 24h. Durante esta fase la levadura evalúa su nuevo ambiente y se produce un período de rápida reproducción (Michael, 2014).
- **Fase de atenuación.** Dura entre 3 y 10 días. Durante esta fase, la levadura convierte los azúcares en CO<sub>2</sub> y alcohol, también crea una fina y burbujeante capa de espuma denominada *kreusen*. Mientras los azúcares disponibles se consumen y el nivel de



alcohol aumenta, la levadura empieza a asentarse y desciende el *kreusen*, lo que indica que el proceso está terminando (Michael, 2014).

- **Fase de acondicionamiento.** La levadura pasa a un estado latente. Sin embargo, aún resta algo de levadura en estado activo, la cual metabolizará los azúcares más complejos, y reabsorberá compuestos indeseados producidos durante los primeros procesos de la fermentación, luego la levadura formará unos grumos, a partir de un proceso llamado floculación, y finalmente se desplazará hacia el fondo del fermentador. Esta fase puede durar semanas en las cervezas ales, mientras que se puede alargar varios meses en las lagers (Michael, 2014).

Las levaduras presentan propiedades importantes dentro de la elaboración de cerveza artesanal: temperatura óptima para la fermentación alcohólica comprendida entre 15-25°C, tolerancia osmótica pues soportan concentraciones de azúcar hasta del 40%, tolerancia al alcohol continúan su actividad en concentraciones entre 10-12% y, son ácido tolerantes (Fermun et al., 2013; González, 2017; Pilla & Vinci, 2012).

#### 1.2.3.1 Clasificación de las levaduras

Las levaduras usadas para la producción de cerveza pueden ser de alta fermentación o *ale* (*Saccharomyces cerevisiae*) y de baja fermentación o *lager* (*Saccharomyces carlsbergensis*) (Fermun et al., 2013; González, 2017; Molto, 2000). Las levaduras de alta fermentación trabajan a temperaturas que oscilan entre 15-30°C. Reciben la denominación de “alta fermentación” porque se elevan a la superficie durante el proceso, creando una nata de fermentación. En cambio, la levadura de baja fermentación tiende a depositarse en el fondo del fermentador y producen menos espuma en la superficie; trabaja a temperaturas bajas entre 7-15°C y su fermentación es más lenta (Fermun et al., 2013; Pilla & Vinci, 2012).

Según la fuente de origen, las levaduras también pueden clasificarse entre silvestres y comerciales. Las levaduras *silvestres* son aquellas que forman parte de la materia prima (cebada) o que ha ingresado a la cerveza por manipulación inadecuada durante la elaboración. Aunque la microbiología de la cerveza es compleja, las levaduras silvestres o salvajes son cepas naturales de *Saccharomyces* y *Brettanomyces/Dekkera* y, en menor medida, son *Candida* y *Pichia*. *S. cerevisiae* se puede encontrar en una variedad de sustratos y existe una tendencia a que prospere en entornos ricos en azúcares simples, como la fruta madura (Garret, 2012). Por otra parte, las levaduras comerciales son desarrolladas a nivel de laboratorio. Estas levaduras se comercializan en forma de producto deshidratado. La principal ventaja de las levaduras comerciales es que se conoce



la o las especies presentes por lo que sus características de fermentación (temperatura, velocidad, pH, requerimientos nutricionales y de oxígeno) están completamente definidas (Garret, 2012).

*Saccharomyces cerevisiae* es una levadura de alta fermentación quien tiene su óptima acción de 18 a 23°C, si la temperatura es menor su actividad desacelera y finalmente se inactivan (Laluce et al., 1991). Su tiempo de fermentación ideal es de 7 días y las temperaturas cálidas de fermentación le permiten la síntesis de compuestos que influyen en el sabor y aroma del producto final, principalmente ésteres y fenoles (White & Zainasheff, 2010). La falta de control en levaduras de alta fermentación puede causar la formación de subproductos del alcohol que aportarían características indeseables a la cerveza (White & Zainasheff, 2010).

#### 1.2.4 Lúpulo

El nombre lúpulo cervecero se le atribuye a flor femenina sin fecundar de la planta de la familia Cannabáceas del género *Humulus*, de la que se distinguen tres especies, *H. japonicus*, *H. yunnanensis* y *H. lupulus*, siendo esta última la más utilizada en la industria cervecera. El lúpulo es considerado como un conservante natural con propiedades antisépticas y bacteriostáticas. De la composición total del lúpulo seco, un 15% lo constituyen las resinas orgánicas, siendo las principales de la fracción denominada  $\alpha$ -ácidos, la humulona, cohumulona, adhumulona, posthumulona y prehumulona, y de la fracción  $\beta$ -ácidos, lupulona, colupulona, adlupulona y prelupulona. Los aceites esenciales se encuentran en una proporción aproximada del 0,5% del lúpulo seco, siendo la mayoría hidrocarburos terpénicos, mirceno, humuleno, farneseno y cariofileno (Fermun et al., 2013; Garcia et al., 1993; Pilla & Vinci, 2012).

El lúpulo es el aditivo más importante e indispensable de la cerveza, pues cumple funciones como: clarificación por precipitación de sustancias proteicas del mosto, otorga al mosto un aroma específico y un sabor amargo, conservante por sustancias antibióticas, que junto al etanol y al CO<sub>2</sub> contribuyen a la estabilidad de la cerveza y, por último, estabiliza la espuma por contener pectina, además favorece su formación (Fermun et al., 2013; Molto, 2000).

El lúpulo aporta amargor, sabor y aroma. La cocción del mosto libera los ácidos característicos del amargor de la cerveza cuando alcanza la ebullición de 45 a 90 minutos. El lúpulo también desprende aceites esenciales que confieren el sabor y aroma, este es añadido luego de 10 a 20 minutos para aportar el sabor, y durante los últimos 5 minutos para dar aroma (Fermun et al., 2013).





### 1.3 ELABORACIÓN DE CERVEZA

Las principales etapas en el proceso de la elaboración son la molienda, maceración, cocción del mosto, fermentación principal y secundaria o maduración, y envasado (Pilla & Vinci, 2012; Reyna & Krammer, 2017).

#### 1.3.1 Molturado

El molturado o triturado de la cebada malteada constituye el primer paso para la elaboración de la cerveza. El grano pasa a través de un molino que abre el grano sin romper su cáscara, de forma que esta sirva posteriormente como un filtro. El molturado permite que el agua del macerado disuelva el almidón presente en el interior del grano y facilita la acción enzimática que degrada el almidón en azúcares simples (Fermun et al., 2013; SECA, 2019).

#### 1.3.2 Maceración de malta y obtención de mosto

El mosto es el líquido extraído del proceso de maceración de la malta durante la fabricación de cerveza. Se caracteriza por su sabor dulce debido al contenido de azúcares provenientes de cereales como la cebada malteada y avena (Hornsey, 2002; Pilla & Vinci, 2012; Rodríguez, 2003).

Durante la maceración se produce la sacarificación, que implica el desdoblamiento del almidón en azúcares simples fermentables (maltosa y glucosa) por acción de enzimas como  $\alpha$ -amilasa y  $\beta$ -amilasa (Fermun et al., 2013). La  $\alpha$ -amilasa es una endoenzima que hidroliza enlaces alejados de los puntos de ramificación dando como resultado dextrinas, esta enzima se denomina enzima dextrificante. La  $\beta$ -amilasa es una exoenzima que actúa en los extremos no reductores de la cadena liberando maltosa, se denomina enzima sacarificante (Rodríguez, 2003). La temperatura óptima de acción de la  $\alpha$ -amilasa y  $\beta$ -amilasa está dentro de un rango de 65-75°C y 60-65°C, respectivamente (Hornsey, 2002; Pilla & Vinci, 2012; Rodríguez, 2003). De igual manera, la avena aporta con azúcares fermentables y proteínas que ayudan a la generación de espuma estable que impide el escape del gas y su aroma que contribuye a la calidad del producto final (SECA, 2019).

#### 1.3.3 Cocción del mosto

Su función principal es estabilizar el mosto, tanto enzimática como microbiológicamente. Este paso favorece la precipitación de las proteínas provenientes del endospermo que se desnaturalizan mediante la ruptura de puentes de hidrógeno, pasando de un estado hidratado a deshidratado en forma de micelios. La precipitación de proteínas también se



produce por la acción tánica del lúpulo. La cocción sirve para evitar que la cerveza se vuelva turbia (Fermun et al., 2013; Hornsey, 2002).

Al finalizar la cocción, el mosto debe ser enfriado rápidamente para incorporar la levadura a temperatura ambiente (18-23°C) (Michael, 2014). La levadura pierde su acción fermentativa si se somete a temperaturas más elevadas (Fermun et al., 2013; SECA, 2019).

#### *1.3.4 Fermentación primaria*

La fermentación primaria también conocida como fermentación alcohólica inicia por acción de las levaduras sobre los azúcares fermentables del mosto produciendo etanol y liberando dióxido de carbono. Inicialmente las levaduras consumen el oxígeno disuelto para propagarse por gemación y dar inicio a la fermentación.

Una vez que se agota el oxígeno del medio y que la cantidad de azúcares fermentables han disminuido, la levadura comienza a flocular y a depositarse en el fondo, debido a la saturación de etanol y dióxido de carbono. Estos restos de levaduras sufren posteriormente un proceso de autólisis, por lo que deben ser retirados para evitar que degraden la cerveza. La fermentación primaria dura 14 días a temperatura ambiente entre 15-20°C y protegidas del sol (Hornsey, 2002; Hughes et al., 2001; SECA, 2019).

#### *1.3.5 Fermentación secundaria o maduración*

La maduración tiene como finalidad sedimentar la materia amorfa compuesta por los restos de levadura generadas en la fermentación alcohólica. Además, este proceso ayuda a refinar el sabor de la cerveza y generar espuma. Esta fermentación secundaria se realiza embotellando la cerveza en envases de vidrio ámbar con cierre hermético y se deja fermentar por 14 días más a temperatura ambiente entre 15 y 20°C y protegidas del sol (Fermun et al., 2013; SECA, 2019).

### **1.4 PARÁMETROS DE PRODUCCIÓN DE CERVEZA**

El proceso industrial y el proceso artesanal para la elaboración de cerveza se diferencian en la tecnología utilizada, la calidad de las materias primas, entre otros aspectos que se detallan en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Diferencias entre la cerveza artesanal e industrial.

Parámetros	Cerveza industrial	Cerveza artesanal
Ingredientes	Naturales (agua, levaduras, maltas y lúpulos) y aditivos (clarificantes, colorantes, antioxidantes, estabilizantes, filtrantes, preparados enzimáticos).	Naturales (agua, levaduras, maltas y lúpulos), sin aditivos.
Equipos y materiales	Equipos automatizados de grandes dimensiones.	Materiales básicos de uso doméstico.
Proceso de elaboración	Automatizado (con mínima participación del operador)	Manual (completo control y participación del operador).
	Filtrado Lauter y prensado que elimina el bagazo y la nata de fermentación, y partículas en suspensión, proteínas y taninos.	Filtrado manual que elimina el bagazo y la nata de fermentación.
	Se aplica pasteurización.	No se pasteuriza.
	Producción a gran escala.	Producción a pequeña y mediana escala.
	Gasificación artificial.	Gasificación natural.
Propiedades organolépticas	Menor sabor, aroma y turbiedad.	Mayor variedad en cuerpo, sabor, aroma y turbiedad.

Fuente: Martínez Muñoz, 2015

#### 1.4.1 Parámetros fisicoquímicos

##### 1.4.1.1 Color

Este parámetro está determinado por el tostado del cereal. Mientras más tostado mayor será la intensidad del color. Esta coloración varía desde un dorado pálido hasta un marrón oscuro casi negro (Rodríguez, 2003).

La normativa técnica ecuatoriana establece dos tipos de cervezas: claras (rubias o rojas) con color menor a 20 unidades EBC y oscuras (negras) con color mayor o igual a 20 unidades EBC (INEN, 2013). La Convención Europea de Cerveceros (EBC, por sus siglas en inglés) estableció una escala de color para evitar errores de apreciación al momento de determinar el color de la cerveza (Figura 1) (González, 2017).



Figura 1. Escala de color según la EBC. Fuente: (González, 2017).

#### 1.4.1.2 Turbiedad

La turbiedad de la cerveza puede ser de origen biológico, coloidal y químico. La turbiedad biológica se da por la presencia de levaduras silvestres del medio, otorgadas por la materia prima y por inadecuada manipulación a lo largo de la producción. La turbiedad coloidal se atribuye a la presencia de aminoácidos de la cebada como la prolina, así como también a sustancias orgánicas como taninos, carbohidratos ( $\alpha$  y  $\beta$ glicanos) y la exposición a la luz. Por último, la turbiedad química se debe a la presencia de sales insolubles, principalmente el oxalato y carbonato de calcio (González, 2017; Steiner et al., 2010).

#### 1.4.1.3 Grado alcohólico

El grado alcohólico constituye el cociente entre el volumen de alcohol en estado puro contenido en la cerveza, y el volumen total de la misma cerveza a 20°C. Se expresa en fracción volumétrica (% v/v) (INEN, 2013). El término más empleado para referirse al grado de alcohol son las siglas ABV (*Alcohol By Volumen*), el cual varía según el estilo de cerveza (Figura 2), siendo las rojas y negras las de mayor contenido alcohólico (Warren & Krochune, 2019).



Figura 2. Diferentes estilos de cerveza y sus características principales. Fuente: (Warren & Krochune, 2019).



#### 1.4.1.4 Acidez total y pH

La acidez total representa la suma de las sustancias ácidas valorables (como ácidos cítrico, láctico, málico, pirúvico, oxálico y tartárico) por titulación en la cerveza degasificada (INEN, 2013; Sendra & Cabonell, 1999). La acidez total en la cerveza ocurre a causa de la serie de conversiones que sufre el medio a través de la fermentación alcohólica y que tiene como resultado la producción de ácidos orgánicos, dióxido de carbono y otras moléculas (Panda et al., 2015).

Cabe diferenciar los conceptos de pH y acidez total. Mientras el pH indica la fuerza de un ácido, la acidez se refiere a la cantidad del mismo presente en la solución. La medición de la acidez tiene relevancia en la elaboración de vinos con el fin de corregir un mosto, mientras que el pH tiene es más importante en cervecería (González, 2017).

Los valores altos de pH promueven el deterioro los sabores y conllevan a una pobre conversión enzimática del macerado. Por otro lado, un pH bajo puede indicar la proliferación de bacterias productoras de ácido (deterioro microbiológico), resultando en cervezas amargas y de baja calidad (Rodríguez, 2003). El pH influye positivamente cuando está en el rango de 3,5 y 5,5 (González, 2017). Mide la tendencia de acidez o alcalinidad de una solución acuosa y se expresa como el logaritmo de la concentración de iones hidrógeno en moles por litro (INEN, 2013).

#### 1.4.1.5 Carbonatación

La carbonatación de la cerveza consiste en la disolución de dióxido de carbono en forma de gas en la cerveza, en la cual intervienen factores como la temperatura del líquido y la presión dentro del contenedor, pudiendo llevarse a cabo en un barril o una botella cerrados herméticamente (Velasco, 2017). La formación de espuma, o dispersión de burbujas de gas en una fase líquida, se da gracias a la presencia de proteínas de alto peso molecular derivadas de la malta y las iso-humulonas provenientes del lúpulo, por conversión de los ácidos alfa o humulonas en isohumulonas por cocción del mosto y por efecto de la temperatura. La proteína de la cebada LPT1 (*Lipid Transfer Protein*) es el componente proteico principal en la espuma de la cerveza (Rodríguez, 2003).

Existen dos tipos de carbonatación para la cerveza, la natural y la forzada. En el primer caso se realiza una pequeña fermentación dentro del envase herméticamente cerrado forzando al CO<sub>2</sub> a disolverse en la cerveza, y en el segundo proceso se inyecta directamente el CO<sub>2</sub> al recipiente contenedor. La carbonatación se expresa en volúmenes de CO<sub>2</sub> disueltos en un litro de cerveza (Oddone, 2020).

## 1.5 CONTROL DE CALIDAD DE LA CERVEZA

La calidad de la cerveza depende de la materia prima, el proceso de elaboración y las condiciones de almacenamiento, por lo que se basa en la ausencia de aspectos indeseables en el producto final (SECA, 2019). La cerveza artesanal tiene características especiales que la convierten en un producto aparentemente inocuo por su contenido alcohólico, propiedades antibacteriales naturales del lúpulo, ausencia de oxígeno y presencia de dióxido de carbono, pH bajo y escasas de nutrientes. Sin embargo, no está exenta de peligros físicos o químicos, por presencia de cuerpos extraños o sustancias químicas agregadas por la materia o que accidentalmente contaminen la cerveza a lo largo de la cadena de producción (Hereu, 2019). Las principales bacterias que han sido aisladas e identificadas en la cerveza artesanal son *Acetobacter spp*, *Bacillus spp*, *Lactobacillus spp* y enterobacterias (Hill, 2015; Hughes et al., 2001).

Según la normativa técnica ecuatoriana para cerveza pasteurizada (NTE INEN 2262:2013) la calidad se evalúa en función de los parámetros fisicoquímicos de acidez total, grado alcohólico y pH (Tabla 2), así como también por parámetros microbiológicos de determinación de microorganismos anaerobios y de mohos y levaduras (INEN, 2013). En Ecuador no existe una normativa que establezca los requisitos de calidad para cerveza artesanal, a diferencia de países como España (BOE, 2016) o Argentina (MAGPA, 2001) que regulan el uso de materia prima (cereales y su proporción en la bebida) y parámetros de calidad como pH, amargor, turbiedad, contenido alcohólico y carbonatación. Sin embargo, ninguna de estas normativas considera el control microbiológico como parámetro de calidad.

**Tabla 2.** Requisitos de la norma NTE INEN 2262:2013 para cerveza pasteurizada.

Parámetros físico-químicos				
Requisitos	Unidad	Mínimo	Máximo	Método de ensayo
Color	Unidades EBC	Claras <20 u EBC	Negras ≥ 20 u EBC	Espectrofotometría
Contenido alcohólico a 20°C	% (v/v)	1.0	10.0	Por destilación con métodos volumétrico o gravimétrico
Acidez total, expresada como ácido láctico	% (m/m)	-	0.3	Método por titulación potenciométrica o con fenolftaleína
pH		3.5	4.8	Potenciómetro
Carbonatación	Volúmenes de CO <sub>2</sub>	2.2	3.5	Método basado en la Ley de Henry y Dalton



Parámetros microbiológicos				
Requisitos	Unidad	Mínimo	Máximo	Método de ensayo
Microorganismos Anaerobios	UFC/cm <sup>3</sup>	-	10	Recuento en tubo por siembra en masa
Mohos y levaduras	UP/cm <sup>3</sup>	-	10	Recuento en placa por siembra en profundidad

Fuente: (INEN, 2013)

## 1.6 MICOTOXINAS EN LA CERVEZA

### 1.6.1 Generalidades

Los cereales constituyen el principal ingrediente utilizado en la elaboración de la cerveza. Su composición alta en carbohidratos y su contenido acuoso, los hace muy susceptibles a la contaminación por mohos, que a su vez pueden o no ser capaces de producir micotoxinas (Martínez Dorado, 2018). Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos generados cuando los hongos han alcanzado un grado de diferenciación bioquímica, fisiológica y morfológica (Martínez & Larrañaga, 2012).

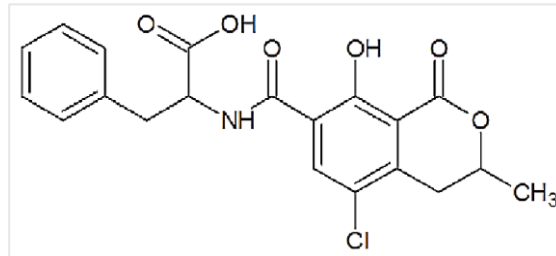
Las especies fúngicas pueden proliferar a lo largo de la cadena alimentaria, distinguiéndose en hongos de campo y hongos de almacenamiento (FAO, 2010). Las principales micotoxinas producidas por géneros de *Aspergillus* y *Penicillium* son aflatoxinas (AFs) y ocratoxina A (OTA); mientras que especies de *Fusarium* producen tricotecenos como deoxinivalenol (DON), nivalenol, 3-acetil-DON, 15-acetil-DON, toxina T-2, toxina HT-2, fumonisinas (FMs), zearalenona (ZEA) y sus derivados (Anfossi et al., 2016) (Duarte Vogel & Villamil Jiménez, 2006).

Existen reglamentos a nivel mundial que establecen límites de contaminación de micotoxinas en los cereales de consumo humano, siendo estos de 2 µg/kg para aflatoxina B1, 4 µg/kg para aflatoxinas totales, 5 µg/kg para ocratoxina A, 750µg/kg para deoxinivalenol, 100 µg/kg para zearalenona y 1000 µg/kg para fumonisinas (FAO, 2004; Unión Europea, 2015). Cabe mencionar que, actualmente en Ecuador no existen normas que especifiquen límites máximos de concentración de micotoxinas en la cerveza artesanal o en su materia prima.

### 1.6.2 Ocratoxina A

La ocratoxina A (OTA) es una molécula formada por un anillo de 3,4-dihidro metil isocumarina unido, por medio de su grupo carboxilo y través de un enlace tipo amida, a

una molécula de fenilalanina (Figura 3). OTA es una molécula incolora, soluble en disolventes orgánicos polares, poco soluble en agua, con características de ácido débil y capaz de emitir fluorescencia al ser excitada con luz ultravioleta. OTA se caracteriza por ser muy estable frente a altas temperaturas ( $\approx 250^{\circ}\text{C}$ ) y acidez (Ravelo Abreu et al., 2011; Soriano del Castillo, 2015).



**Figura 3.** Estructura química de la Ocratoxina A. Fuente: (Soriano del Castillo, 2015).

OTA es un metabolito secundario tóxico producido principalmente por especies de fúngicas de los géneros *Penicillium* (*P. verrucosum* y *P. nordicum*) y *Aspergillus* (*A. niger*, *A. terreus*, *A. carbonarius*), que son capaces de crecer sobre una amplia gama de sustratos orgánicos. Existen otros tipos de ocratoxinas como la ocratoxina B, producto de la hidrólisis de OTA, que se caracteriza por ser su derivado no clorado de carácter menos tóxico; y la ocratoxina C que es un éster de OTA con escaso potencial tóxico, resultante de una hidrólisis de ocratoxina B (Ravelo Abreu et al., 2011; Soriano del Castillo, 2015).

La exposición crónica a OTA constituye un riesgo para el desarrollo de tumores en el tracto urinario en el hombre. Además, produce teratogénicos, genotóxicos, hepatotóxicos, neurotóxicos e inmunotóxicos. OTA ha sido clasificada por la Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) como micotoxina de clase 2B, es decir, como posible carcinógeno y genotóxico humano (AECOSAN, 2015b; IARC, 2010; Martínez & Larrañaga, 2012).

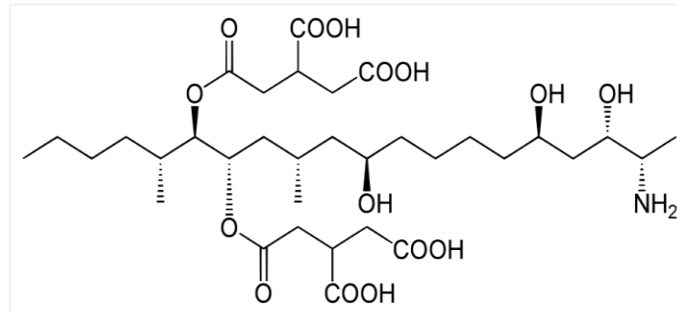
### 1.6.3 Fumonisinias

Las fumonisinias son producidas por varias especies del género *Fusarium*, principalmente *F. verticillioides* y también por *Alternaria alternata*. Existen 15 tipos de fumonisinias agrupadas en cuatro clases: A, B, C y P. Las más conocidas son fumonisina B1 (FB1), B2 (FB2) y B3 (FB3), de las cuales la FB1 es la más tóxica y representa aproximadamente el 70-75% de la ocurrencia total de fumonisinias. El pH influye en la síntesis de fumonisinias y se ha descrito una marcada producción de la toxina a un pH ácido de 4,5, en contraste



con un pH alcalino (mayor a 8) (De la Torre et al., 2014; Martínez & Larrañaga, 2012; Stockmann-Juvala & Savolainen, 2008).

La estructura química de FB1 (Figura 4) corresponde a un esqueleto lineal de 20 carbonos, di éster del 2-amino, 12,16 dimetil, pentahidroxi-icosano, donde los grupos los grupos hidroxilo de los carbonos 14 y 15 están esterificados con el ácido propano tricarbóxico (Martínez & Larrañaga, 2012).



**Figura 4.** Estructura química de fumonisina B1. Fuente: (Torres-Sánchez & López-Carrillo, 2010).

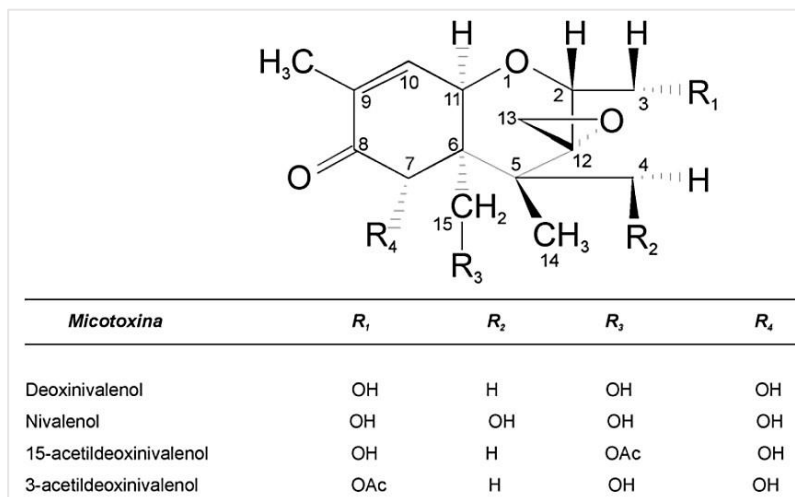
Los efectos tóxicos de las fumonisinas están relacionados con el metabolismo de los esfingolípidos debido a su similar estructura. A través de la activación del factor de necrosis tumoral, la exposición a FB1 altera el balance de muerte celular y replicación, contribuyendo a la carcinogénesis. Estudios en animales demuestran que tiene también efectos hepatotóxicos, nefrotóxicos e inmunosupresores (Ariño & AASA, 2008). Por otro lado, también podrían tener efectos teratogénicos en humanos (Missmer et al., 2006). La evidencia sobre los efectos de las fumonisinas en humanos es limitada y no muy concluyente (Torres-Sánchez & López-Carrillo, 2010), esto se debe a la falta de dilucidación de su metabolismo en los organismos humanos o por estar combinada de otras micotoxinas producidas por el mismo hongo (DON y ZEA) en los alimentos contaminados (Yim et al., 2013). La IARC ha clasificado a las fumonisinas como micotoxinas de clase 2B, posibles carcinógenos y genotóxicos humanos (IARC, 2010).

#### 1.6.4 Deoxivalenol

Deoxivalenol (DON) pertenece a los tricotecenos, que son alcoholes sesquiterpénicos tetracíclicos. Se dividen en cuatro grupos: A, B, C y D, según sus sustituyentes funcionales. Es producida por varias especies de *Fusarium*, en especial *F. graminearum* y *F. culmorum* (Capó et al., 2007). El tipo B, al cual pertenece DON, tiene una función

carbonilo en la posición C8, además, posee tres grupos OH y un grupo ceto insaturado en la posición  $\alpha$  y  $\beta$  (Figura 5) (Capó et al., 2007; Soriano del Castillo, 2015).

DON es relativamente soluble en agua y altamente soluble en solventes polares acuosos como metanol, acetonitrilo y acetato de etilo. Es estable al aire, a la luz y a temperaturas de hasta 121°C, por 15 minutos a 1 atmósfera (autoclavado) (Martinez & Larrañaga, 2012; Soriano del Castillo, 2015).

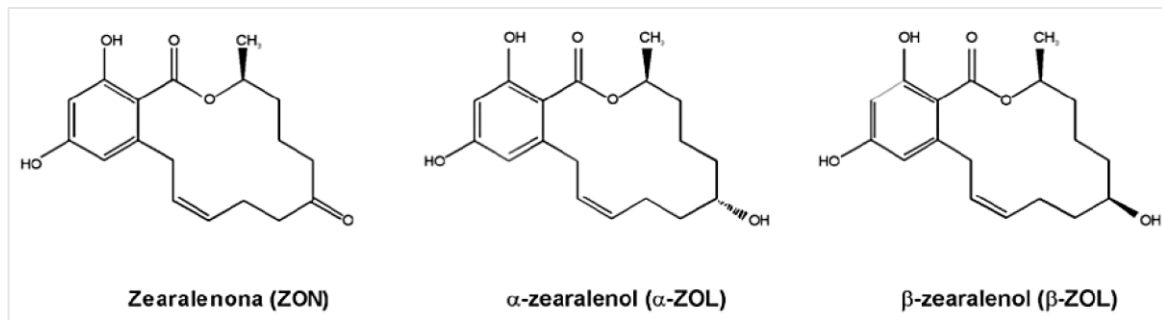


**Figura 5.** Estructura química del Deoxinivalenol. Fuente: (Soriano del Castillo, 2015).

DON es el tricoteceno del tipo B de menor toxicidad y suele aparecer conjuntamente con nivalenol (más frecuente), HT-2 toxina, diacetoxiscirpenol, zearalenona, fumonisina, entre otros producidos por el mismo tipo de hongo (*Fusarium spp*) (Sosa et al., 2017). Además, la IARC incluye al deoxinivalenol en el Grupo 3 y lo describe como no clasificable en cuanto a su carcinogenicidad para la especie humana (Yim et al., 2013). Es conocida como vomitoxina debido a sus fuertes efectos eméticos. La intoxicación aguda en humanos se caracteriza por dolor abdominal, mareo, dolor de cabeza, irritación de la garganta, náuseas, vómitos, diarrea y sangre en las heces (AECOSAN, 2015a). La toxicidad crónica y subcrónica de DON se caracteriza por anorexia y la alteración de la eficiencia nutricional. Algunos estudios farmacodinámicos han demostrado que, a bajas concentraciones, puede potenciar o atenuar la expresión de las citocinas, alterando una gran variedad de funciones inmunitarias. A altas concentraciones, puede inducir la apoptosis de los leucocitos, produciendo inmunosupresión generalizada, que puede coincidir con el efecto inmunitario desencadenado por la pérdida de hambre (Cano Sancho et al., 2012).

### 1.6.5 Zearalenona

Zearalenona (ZEA) es una micotoxina estrogénica no esteroide producida por varias especies del género *Fusarium*, principalmente *F. graminearum* y *F. culmorum*. Estructuralmente, ZEA es una lactona derivada del ácido  $\beta$ -resorcílico. En mamíferos, el grupo ceto es reducido a dos esteroisómeros,  $\alpha$ -zearalenol y  $\beta$ -zearalenol, estos poseen un grupo hidroxilo, por tanto, son más solubles que zearalenona (Figura 6) (Soriano del Castillo, 2015).



**Figura 6.** Estructura química de la Zearalenona y de sus metabolitos. Fuente: (Soriano del Castillo, 2015).

La capacidad de ZEA para acoplarse a los receptores del 17- $\beta$ -estradiol determina la acción tóxica de esta micotoxina, que compite con los estrógenos por los receptores citosólicos de las células de los órganos blanco, comportándose como un disruptor endocrino. La IARC incluye a la zearalenona en el Grupo 3, no clasificable en cuanto a su carcinogenicidad para la especie humana (ELIKA, 2013). Sin embargo, estudios más recientes han demostrado que puede estimular potencialmente el crecimiento de células cancerosas con receptores estrogénicos en glándulas mamarias de humanos, además de su efecto citotóxico e inmunotóxico (ACSA, 2014; Wang et al., 2019). El consumo de ZEA produce hiperestrogenismo en humanos al igual que en los animales, este se presenta con pubertad precoz en niñas y aumento del tamaño de los órganos reproductores en niños (Adekoya et al., 2018; FAO, 2003).

## 1.7 MÉTODOS DE DESCONTAMINACIÓN DE MICOTOXINAS

### 1.7.1 Generalidades

Para la reducción de micotoxinas se han probado varios procesos físicos, químicos y biológicos (Karlovsky et al., 2016). Diversos estudios han evaluado la efectividad de métodos físicos como la remoción del material contaminante (Bullerman & Bianchini, 2007;

María Gabriela Quezada Zambrano.

Valeria Andrea Valencia Ortiz.



Cheli et al., 2013; Kaushik, 2015), la clasificación del cereal (Scudamore et al., 2007), molienda (Castells et al., 2007; Khatibi et al., 2014), flotación, remojo, descascarado de los granos de cereal (Fandohan et al., 2006; Ríos et al., 2009), limpieza del cereal (Stander et al., 2001), mediante calor, irradiación o combinaciones (Fandohan et al., 2006; Matumba et al., 2015) e incluso mediante el uso de aglutinantes de micotoxinas (Kolossova & Stroka, 2011). Sin embargo, ninguno de estos métodos elimina totalmente la contaminación con micotoxinas. Por otra parte, existen métodos que involucran procesos químicos, enzimáticos y de competencia biológica (Karlovsky et al., 2016; Vanhoutte et al., 2016; Zhu et al., 2016). Estas alternativas incluyen el aprovechamiento de microorganismos usados en el procesamiento de ciertos alimentos, como bacterias acidófilas y levaduras que fermentan sustratos alimentarios utilizados en la producción de cerveza (Bullerman & Bianchini, 2007; Huwig et al., 2001).

### 1.7.2 Métodos físicos

#### 1.7.2.1 Clasificación de la materia prima

Este proceso contribuye a la eliminación de micotoxinas mediante la retención de granos con crecimiento extenso de moho, granos rotos y materiales finos como suciedad y escombros. Se ha observado que los granos rotos contienen más concentración de micotoxina (Johansson et al., 2006) y que el grano intacto contiene hasta 10 veces menos cantidad de micotoxinas que granos partidos o pedazos de ellos (Murphy et al., 1993).

La selección óptica o mecánica de los granos en lotes a granel es un método efectivo para la reducción de ciertas micotoxinas, con excepción de fumonisinas (Afolabi et al., 2007). La contaminación por aflatoxinas suele ser heterogénea por lo que la separación de granos rotos o dañados puede reducir de manera efectiva su concentración (Kabak et al., 2006). De igual manera, un estudio reciente concluye que puede lograrse una reducción de micotoxinas en maíz con una efectividad del 95% aplicando una selección cuidadosa de los granos (Matumbaa et al., 2015). Sin embargo, se ha observado que no siempre la infección por aflatoxinas se hace evidente en el deterioro de los granos (Mutiga et al., 2014).

#### 1.7.2.2 Flotación o segregación por densidad

Las propiedades físicas de granos dañados e intactos pueden ser utilizadas para separarlos por su densidad o por mesas de gravedad (Leslie & Logrieco, 2014). Esta medida se concentra en eliminar los granos contaminados por hongos en lugar de las toxinas específicas de los mismos. Se ha reportado una reducción del 60% de aflatoxinas (Huff, 1980), 53 y 68% de DON maíz y trigo, respectivamente; casi el 100% de ZEA (Huff



& Hagler, 1985) y el 86% de fumonisinas en maíz (Shetty & Bhat, 1999). De igual manera, otro estudio confirma la reducción significativa de AFs y ZEA en material separado por flotación en comparación a el no separado previamente (Pacin & Resnik, 2012).

#### 1.7.2.3 Lavado

Las micotoxinas hidrosolubles pueden ser parcialmente lavadas de la superficie de los granos. ZEA es ligeramente soluble en agua, pero muy soluble en soluciones alcalinas de carbonato de sodio que aumenta la efectividad del lavado. Este método ha demostrado una reducción hasta del 69% de DON y 61% de ZEA (Karlovsky et al., 2016), sin embargo, con la adición de carbonato de sodio alcanzan 87 y 75% de reducción, respectivamente (Trenholm et al., 1992).

#### 1.7.2.4 Descascarado

La remoción de las capas externas del grano previo a la molienda reduce las micotoxinas debido a la limitación de la colonización fúngica y acumulación de toxinas en las capas superficiales del grano (Vučković et al., 2013). La efectividad de este método en la reducción de aflatoxinas varía de un 93% (Siwela et al., 2005) a un 46.6% (Mutungi et al., 2008). Este método es efectivo hasta un 60% para granos de gran tamaño, a diferencia de granos pequeños en los que no presenta un efecto significativo (Kilonzo et al., 2014).

#### 1.7.2.5 Remojo

El remojo de cereales ha demostrado ser efectivo en la reducción de micotoxinas hidrosolubles como DON y FUMs, siendo eliminadas en el agua (Schwarz et al., 1995). Se ha observado que el remojo induce la glicosilación de DON, convirtiéndolo en subproductos menos tóxicos (Maul et al., 2012). De igual manera, el uso de agua con baja cantidad de dióxido de azufre o hidróxido de sodio reduce la concentración de FUMs, AFs, ZEA y DON hasta niveles no detectables (Lefyedi et al., 2006). Por otro lado, se ha encontrado que puede darse un aumento en contaminación fúngica por *Fusarium* tras un periodo de remojo, la cual desciende a niveles no detectables después de someterse a temperaturas altas en procesos como el tostado (Oliveira et al., 2012).

#### 1.7.2.6 Molienda

La harina presenta menos niveles de contaminación en comparación al grano entero previo a la molienda. Sin embargo, un estudio demuestra que ZEA se concentra en las partes ricas en fibra del grano, mientras que DON contamina todas las partes por igual (Bennett et al., 1996). Por lo tanto, el uso de la molienda como estrategia de mitigación se limita a eliminar aquellas micotoxinas que se localizan en partes ricas en fibra, como la cáscara, que pueden ser removidas durante este proceso (Karlovsky et al., 2016).



#### 1.7.2.7 Tratamiento térmico

La combinación de tiempo y temperatura alta es una de las intervenciones más importantes a nivel industrial que reducen el contenido de micotoxinas. Las temperaturas de cocción (100°C) no tiene gran efecto en las micotoxinas, mientras que en procesos como fritura, asado, tostado o extrusión sí tienen un mayor potencial de reducción (161-180°C) (Ballarat, 2017). En varios estudios se ha observado una reducción significativa hasta del 80% para aflatoxinas y 83% de ZEA en maíz por extrusión con calor (Ryu et al., 1999), 97% de OTA en café por el tostado (Oliveira et al., 2013) y 95% de fumonisinas en maíz durante el tostado (Bullerman & Bianchini 2007).

#### 1.7.2.8 Radiación

El uso de radiación no ionizante (solar, UV, microonda) e ionizante (gamma) pueden reducir o eliminar tanto microorganismos patógenos como micotoxinas en alimentos. Se ha observado una reducción de 40-75% de aflatoxinas por fotodegradación en cereales con exposición a luz solar de 3-30h, respectivamente; demostrando que es más efectiva en comparación a microondas y a radiación gamma. Por una parte, la radiación gamma ha mostrado una reducción de 20% y 24% de fumonisinas y OTA, respectivamente. Mientras que el uso de microondas reduce hasta un 40% de DON por formación de subproductos menos tóxicos (Karlovsky et al., 2016).

#### 1.7.2.9 Plasma frío

El plasma frío se basa en la dispersión en el aire de radicales hidroxilo (OH<sup>-</sup>) formados a partir de la humedad del ambiente, los cuales se adhieren a la pared celular de las bacterias robándoles los átomos de hidrógeno causando su muerte. Como resultado de este proceso, se eliminan los microorganismos patógenos y se forma agua (Firdaus et al., 2015). Se ha observado que ciertas modificaciones a la técnica han logrado la reducción de DON y ZEA desde  $1 \times 10^8$  µg/mg hasta niveles no detectables (Karlovsky et al., 2016).

#### 1.7.2.10 Agentes adsorbentes

También conocidos como agentes aglutinantes o secuestradores. Poseen una alta masa molecular y se unen a las micotoxinas limitando la biodisponibilidad después de la ingestión, prácticamente inactivándolas (Kolossova et al., 2012). Su unión puede darse de varias formas: por la naturaleza hidrofóbica de las moléculas, captura de hidrógenos, atracción o repulsión electrostática, o enlaces covalentes coordinados (Korzekwa, 2015). Un ejemplo de agente adsorbentes el carbón activado que reduce las micotoxinas en leche de vaca (Karlovsky et al., 2016).



### 1.7.3 Métodos biológicos

#### 1.7.3.1 Fermentación

La fermentación es una forma de procesar al alimento con ayuda de microorganismos que producen una serie de transformaciones enzimáticas dentro de las células, convirtiendo algunas micotoxinas en productos no tóxicos. Sin embargo, ningún microorganismo ha sido considerado como auxiliar para degradar micotoxinas por este proceso. En varios estudios se ha observado una reducción significativa de OTA y ZEA gracias a la fermentación por su metabolización a subproductos menos tóxicos; mientras que las fumonisinas y DON sobreviven casi intactas al proceso (Karlovsky et al., 2016). Por otro lado, se ha reportado que la fermentación ácido láctica conlleva a una reducción de fumonisina B1 de 78-90%, mientras que, para ZEA existe una reducción menor al 50% de la concentración inicial (Adebo et al., 2019).

#### 1.7.3.2 Biotransformación

Algunos microorganismos producen transformación en la estructura química de las micotoxinas como consecuencia de su metabolismo, por procesos como glicosilación, sulfonación, acetilación, entre otros (Adebiyi et al., 2019). Estudios han demostrado que ciertas bacterias pueden sustituir el grupo hidroxilo del carbono 3 por un grupo ceto, lo cual reduce la toxicidad de todo tricoteceno, también puede sufrir procesos de acetilación, oxidación, epoxidación, oxigenación, epimerización y glucosilación que resultan en productos menos tóxicos que su precursor (Fadia et al., 2019). Por ejemplo, la transformación por de-epoxidación de DON a su metabolito no tóxico, el de-epoxidoxinivalenol (DOM-1) o la hidroxilación de la AFB1 y su posterior conjugación con ácido glucorónico o sulfato en donde los efectos tóxicos de la molécula se ven neutralizados (Murcia Rodríguez, 2010; Karlovsky et al., 2016).

#### 1.7.3.3 Adsorción celular o bioabsorción

La bioabsorción es un método en el que la micotoxina es, por una parte, adsorbida por las paredes celulares de los microorganismos constituidas por carbohidratos funcionales como los glucomananos y polímeros; y por otra parte, provoca su degradación por las secretasas. En el caso de ZEA se ha descrito el uso efectivo de cinco especies de bacterias del género *Bacillus* y *Lactobacillus*, y de levaduras como *S. cerevisiae* (Wang et al., 2019). Para OTA se ha observado una reducción de 5097% utilizando bacterias principalmente *Bacillus* y *Lactobacillus* y levaduras del género *Sacharommyces* (Sheikh & Khalesi, 2019).



#### 1.7.3.4 Métodos enzimáticos

Las enzimas se han utilizado como auxiliares en la elaboración de diferentes alimentos (Karlovsky et al., 2016). Se han utilizado enzimas como amilasas, glucanasas y proteasas capaces de metabolizar a DON, sin embargo, ninguna lo convierte de manera irreversible en subproductos, por lo que la reducción de su concentración por este mecanismo no resulta efectiva (Whitehurst & Van Oort 2010). También se han descrito numerosas enzimas que degradan OTA (Abrunhosa et al., 2010), al ser una amida muchas peptidasas son capaces de hidrolizarla hasta niveles no detectables, incluyendo carboxipeptidasas, lipasas y quimotripsinas (Sheikh & Khalesi, 2019). De igual manera, se ha observado que las bacterias del género *Sphingomonas* producen enzimas que hidrolizan los enlaces éster de fumonisinas, reduciendo su toxicidad (Grenier et al., 2012). Por otro lado, se ha observado que la acción de bacterias ácido-lácticas (*Lactobacillus* y *Pediococcus*) sobre DON resultaron en una reducción del 34% y 58%, respectivamente (Fadia et al., 2019).

#### 1.7.4 Métodos químicos

Existen tratamientos con ácidos, bases, agentes oxidantes o reductores (Karlovsky et al., 2016). Se ha observado que el tratamiento de cultivos con amonio reduce las concentraciones de micotoxinas (AFs, FUMs, OTA) a niveles indetectables por la inhibición del crecimiento fúngico. Sin embargo, el tratamiento con estos químicos en productos de consumo humano está prohibido en la Unión Europea (Agriopoulou et al., 2020). La aplicación de una mezcla de glicerol e hidróxido de calcio reducen significativamente la concentración de micotoxinas (Luo et al., 2018). También se ha utilizado hidróxidos de sodio y potasio para la degradación de AFB1 pero se ha demostrado que estos pueden afectar el valor nutricional de los alimentos (Ji & Xie, 2020). De igual manera, el uso de quitosano junto con la baja actividad de agua en cereales ha demostrado una reducción de los niveles de DON en trigo hasta niveles no detectables (Zachetti et al., 2019) y de FBs y DON en maíz de hasta un 70% (Gunupuru et al., 2019). También se ha observado que la ozonificación de la cebada inactiva un 96% de esporas fúngicas después de 5 minutos de contacto con 0.16 mg de ozono por gramo de cebada a 20°C y 0.98 aw (Taylor et al., 2003). El uso de clarificantes ha demostrado una reducción representativa de micotoxinas (Pascari et al., 2018).





## 2 METODOLOGÍA

### 2.1 Finalidad del estudio

En este trabajo de titulación se replicó el proceso de producción de cerveza artesanal a escala de laboratorio, evaluando los parámetros físico-químicos de la cerveza artesanal según la normativa nacional vigente. Posteriormente se evaluó de manera teórica el potencial de descontaminación de micotoxinas en las etapas de producción de cerveza artesanal.

### 2.2 Elaboración de cerveza artesanal

La cerveza que se elaboró fue del tipo American Pale Ale, de fermentación alta, se caracteriza por un color ámbar o cobre y sabor amargo. Su grado alcohólico (ABV) estuvo comprendido entre 4,5% y 6,2% y la densidad final fue de 1.010 a 1.015 g/cm<sup>3</sup> (BJCP, 2015; SECA, 2019).

El proceso de elaboración se realizó siguiendo las directrices de la Sociedad Ecuatoriana de Cerveceros Artesanales del Ecuador (SECA, 2019) (Ver Anexo 1 y 2).

Se estandarizó la producción de cerveza artesanal de 15 L y se identificaron características importantes en cada etapa. Se realizaron 2 preparaciones previas que definieron el siguiente proceso de elaboración:

1. El proceso inició con el molturado, que consistió en moler 3 kg de cebada malteada obteniendo un grano dividido, evitando destruir el grano o formar harina.
2. Para la maceración, en una olla de acero inoxidable con capacidad de 20 L se calentaron 15 L de agua hasta 70°C y se agregaron la cebada malteada molida y la avena. La mezcla se mantuvo a una temperatura entre 65 y 68°C por 90 minutos, se verificó este parámetro cada 15 minutos. Es importante recalcar que la variación de 5°C puede suponer un fracaso en la maceración (Fermun et al., 2013; SECA, 2019).
3. Posteriormente, se filtró usando un cernidor para retirar el bagazo y se obtuvo el primer mosto concentrado con densidad aproximada de 1.053 g/cm<sup>3</sup>.
4. Se colocaron los granos sobrantes de la primera maceración en otros 15 L de agua en la olla a 70°C por 30 minutos, después se filtró y se obtuvo el segundo mosto más diluido (Fermun et al., 2013; SECA, 2019).



5. Se añadió el segundo mosto al primero para reducir su densidad, hasta alcanzar una densidad de  $1.025 \text{ g/cm}^3$  (SECA, 2019).
6. Se procedió a hervir el mosto por 60 minutos. Al inicio de la ebullición se retiró la espuma generada con una espumadera de acero inoxidable y se agregaron 6 gramos del primer lúpulo de amargor. Luego, a los 45 minutos se retiró nuevamente la espuma y se agregaron 6 gramos del segundo lúpulo de sabor. Finalmente, a los 55 minutos se agregaron los últimos 6 gramos del tercer lúpulo de aroma. Tomar en cuenta que durante este proceso se puede evaporar entre un 5 y 10 % del mosto (Fermun et al., 2013; SECA, 2019).
7. Una vez culminado el proceso de cocción, se enfrió por 60 minutos sumergiendo la olla bien cerrada en agua con cubos de hielo. Mientras tanto, se activó la levadura en agua desgasificada y desmineralizada en un recipiente de vidrio por mínimo 20 minutos cubierto con papel film (SECA, 2019).
8. Para la fermentación se transfirió el mosto a un balde plástico de 20 L con tapa hermética y ahí se le agregó la levadura activada, se revolvió el mosto con la espumadera para oxigenar la levadura. Finalmente se selló al recipiente herméticamente y usando un air-lock se dejó fermentar por una semana.
9. Pasados 7 días de fermentación, se evaluó tanto su densidad como las propiedades sensoriales de la cerveza y se determinó si es aceptable o no para continuar con el siguiente paso.
10. El siguiente paso consistió en filtrar la cerveza a un segundo balde de plástico de 20 L de capacidad utilizando un filtro de cafetera y un embudo, para dejarlo fermentar una semana más. Cabe mencionar que, durante las fermentaciones, el recipiente debe estar protegido de la luz solar y a temperatura ambiente ( $18 - 25^\circ\text{C}$ ) (SECA, 2019).
11. Se continuó con la fermentación secundaria en botella por 14 días. Para ello, se agregó azúcar al mosto fermentado (7,5 gramos por cada litro) para la carbonatación y maduración de la cerveza. A continuación se mezcló y se embotelló (SECA, 2019).

La cantidad de azúcar blanca a añadir fue calculada de acuerdo a lo que plantea (Velasco, 2017), donde se indica que son necesarios 4 gramos de azúcar para producir un volumen de  $\text{CO}_2$  por litro y se debe considerar que el mosto posterior a la primera fermentación tiene cierta cantidad de  $\text{CO}_2$  dependiente de la temperatura. Tomando en cuenta que valor de carbonatación ideal es de  $2.8 \text{ Vol CO}_2/\text{L}$  se le resta el gas que ya contiene el mosto a  $18^\circ\text{C}$  ( $0.93 \text{ CO}_2/\text{L}$ ), obteniéndose  $1.87 \text{ Vol CO}_2/\text{L}$  que multiplicados



por los 4 g de azúcar/L dan 7.48 gramos de azúcar por litro a añadir en el mosto. A continuación, se esquematiza el cálculo mencionado:

$$A - B = C \times D = E$$
$$2.8 - 0.93 = 1.87 \times 4 = 7.48$$

En donde,

- A = Gasificación ideal.
- B = Gasificación del mosto a 18°C.
- C = Gasificación que se desea obtener con la adición del azúcar.
- D = Cantidad necesaria de azúcar para carbonatar 1 Vol CO<sub>2</sub>/L.
- E = Cantidad de azúcar necesarios para la carbonatación.

### *2.2.1 Elaboración de lotes de menor volumen*

Para determinar el volumen mínimo de producción de cerveza artesanal, se realizaron 3 lotes de 3 L, 1.5 L y 1 L, sometidos a 14, 10 y 6 días de fermentación primaria cada uno. Se prepararon nueve lotes en total siguiendo el mismo proceso de elaboración detallado en el numeral anterior con ciertas modificaciones debido a la variación de volúmenes (Tabla 3).

**Tabla 3.** Elaboración de cerveza artesanal a pequeña escala.

ETAPAS	VOLÚMENES		
	3 L	1.5 L	1 L
Maceración 90 minutos	La temperatura se controla y corrige cada 10 minutos		La temperatura se controla y corrige cada 5 minutos
Dilución del mosto	Densidad del primer mosto: 1.053 g/cm <sup>3</sup> Densidad del segundo mosto: 1.010 g/cm <sup>3</sup>		
	Volumen añadido: 3 L	Volumen añadido: 1.5 L	Volumen añadido: 1 L
	Densidad final obtenida: 1.025 g/cm <sup>3</sup>		
Enfriado	Duración: 30 minutos		
	Temperatura final: 23°C.	Temperatura final: 21.5°C	Temperatura final: 19.6C
Fermentación y maduración	Dos fermentaciones en balde durante 7 días, una fermentación en botella por 7 días, seguido de la maduración en botella por 7 días.		
	Dos fermentaciones en balde durante 5 días, una fermentación en botella por 5 días, seguido de la maduración en botella por 5 días.		
	Dos fermentaciones en balde durante 3 días, una fermentación en botella por 3 días, seguido de la maduración en botella por 3 días.		

Fuente: Las autoras.

### 2.3 Análisis fisicoquímico de los lotes de cerveza

Se elaboraron 2 lotes de referencia de 15 L y 14 días de fermentación primaria, utilizando el proceso como indica la Sociedad Ecuatoriana de Cerveceros Artesanales (SECA, 2019), junto con otros 9 lotes de cerveza artesanal a escala de laboratorio a los que se les realizaron modificaciones en cuanto a volumen y tiempo de fermentación. Los volúmenes considerados fueron 1 litro, 1.5 L y 3 L que se sometieron a 6, 10 y 14 días de fermentación primaria, cada uno. La densidad fue medida en los 11 lotes al final del proceso de su elaboración utilizando un densímetro a 20°C. Además, se constató la idoneidad de los lotes mediante el porcentaje de atenuación que es un parámetro que indica el porcentaje de azúcares del mosto que han sido convertidos en alcohol y CO<sub>2</sub> durante la fermentación (García et al., 1993; González, 2017; Semilla, 2018).



Los parámetros descritos a continuación fueron analizados en el Laboratorio de Alimentos MSV (Ver Anexo 3).

### *2.3.1 pH*

El método consiste en una determinación potenciométrica del pH en una muestra de cerveza previamente desgasificada y filtrada a 20-25°C (INEN, 2002b).

### *2.3.2 Grado alcohólico*

El método consiste en efectuar una destilación simple de la bebida alcohólica y determinar en el destilado el contenido de alcohol etílico a partir de la lectura dada por un alcoholímetro calibrado a 20°C, se realiza la corrección por temperatura y el resultado se expresa en porcentaje (INEN, 2014).

### *2.3.3 Carbonatación*

El método para determinar dióxido de carbono disuelto en los productos de cervecería se basa en el establecimiento de un equilibrio entre los gases del espacio libre y los gases disueltos en la cerveza a una temperatura dada. Este equilibrio se alcanza agitando la cerveza antes de leer la presión y este valor se corrige por la presión parcial de los gases en la botella a la temperatura dada (método basado en la Ley de Henry y Dalton). La presión parcial de CO<sub>2</sub> se corrige por la presión parcial del aire dada por la expresión: (aire en la cámara vacía x 14.7) / (volumen de la cámara vacía) (INEN, 2002a).



### 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Selección de los lotes de cerveza artesanal elaborada a escala de laboratorio

Se midieron las densidades de los 9 lotes, al culminar la etapa de fermentación (González, 2017; Suárez, 2013), obteniendo los resultados de la Tabla 4. La densidad inicial de todos los lotes fue de 1.025 g/cm<sup>3</sup>. Los lotes con fermentación primaria de 6 y 10 días presentaron una densidad final mayor que los lotes con 14 días de fermentación primaria. La apreciación organoléptica de estos mismos lotes no fue favorable, por lo que no fueron considerados para el posterior análisis de parámetros fisicoquímicos.

**Tabla 4.** Resultados del análisis de densidad de los lotes elaborados.

LOTE	Volumen (L)	Días de fermentación primaria	Fecha de fin de proceso	Densidad final (g/cm <sup>3</sup> )	% atenuación
L1	15	14	01/10/2020	1.003	88
L2	15	14	09/10/2020	1.004	84
L3	1	6	12/10/2020	1.020	20
L4	1.5	6	12/10/2020	1.020	20
L5	3	6	12/10/2020	1.021	16
L6	1	10	28/09/2020	1.017	32
L7	1.5	10	28/09/2020	1.017	32
L8	3	10	28/09/2020	1.016	36
L9	1	14	02/10/2020	1.003	88
L10	1.5	14	02/10/2020	1.003	88
L11	3	14	02/10/2020	1.004	84

Fuente: Las autoras.

La densidad de los dos lotes de 15 L sometidos a 14 días de fermentación primaria y los 3 lotes pequeños de 1 L, 1.5 L y 3 L sometidos también a 14 días de fermentación primaria presentaron una densidad entre 1.003 y 1.004 g/cm<sup>3</sup>. Por otro lado, los lotes de 1 L, 1.5 L



y 3 L sometidos a 6 y 10 días de fermentación primaria presentaron densidades mayores entre 1.016 y 1.020 g/cm<sup>3</sup>.

Según la Guía de Estilos de Cerveza (BJCP, 2015) y (Semilla, 2018) la densidad final de la cerveza debería estar dentro del rango de 1.010 – 1.015 g/cm<sup>3</sup> a partir de una densidad inicial de 1.045 y 1.060 g/cm<sup>3</sup>; mientras que SECA indica que la densidad debe ser “lo más cercana a 1.000” a partir de una densidad inicial de 1.025 g/cm<sup>3</sup> (SECA, 2019). En el presente trabajo se obtuvieron densidades entre 1.003 y 1.004 g/cm<sup>3</sup> en los lotes sometidos a los mismos días de fermentación indicados en la receta de SECA.

El parámetro de densidad fue el considerado para la selección de los lotes de análisis porque mide la concentración de azúcar en la solución (Semilla, 2018; Suárez, 2013). Una densidad mayor a la obtenida en los lotes de referencia indica que los azúcares no han sido consumidos por la levadura debido a la falta de tiempo en la fermentación (García et al., 1993). Esto se explica a través del porcentaje de atenuación, donde a mayor porcentaje de atenuación, menor es la cantidad de azúcares presentes en el mosto, y a menor porcentaje de atenuación, mayor es la cantidad de azúcares presentes en el mosto a final de la fermentación. El porcentaje de atenuación en este tipo de cerveza de alta fermentación o *ale* está entre 70 - 80% (González, 2017) y los lotes sometidos a 6 y 10 días de fermentación primaria tienen porcentajes de atenuación muy bajos entre 16 - 36% máximo, por ende, estos lotes contienen azúcares que aún no han sido consumidos por acción de las levaduras.

Por otra parte, se conoce que la fermentación del mosto por parte de las levaduras tiene lugar en tres fases, la fase de adaptación que requiere de 24h, la fase de atenuación que dura entre 6 y 10 días y la fase de acondicionamiento que puede durar semanas en las cervezas *ales* o meses en las *lagers* (Michael, 2014). Esto sustentaría el por qué los lotes de 6 y 10 días de fermentación primaria no presentaron la densidad deseable, pues no fueron sometidos a suficientes días de fermentación para que actúe la levadura, haya producción de alcohol y por ende obtenga las características organolépticas propias de una cerveza artesanal.

### **3.2 Análisis fisicoquímico de los lotes de cerveza artesanal**

En los lotes seleccionados en base a la densidad, % de atenuación y características organolépticas, se midieron parámetros físicos como pH, grado alcohólico y carbonatación (Tabla 5).

**Tabla 5.** Resultados de los parámetros fisicoquímicos de los lotes seleccionados.

LOTE	Volumen (L)	Días de fermentación primaria	Fecha de fin de proceso	pH	Grado alcohólico (%)	Carbonatación (Vol CO <sub>2</sub> /L)
L1	15	14	01/10/2020	4.00	5	3.33
L2	15	14	09/10/2020	3.96	5	4.64
L9	1	14	02/10/2020	3.95	5	5.50
L10	1.5	14	02/10/2020	3.79	5	5.40
L11	3	14	02/10/2020	5.60	5	3.91

Fuente: Las autoras.

Para el pH, tanto el primer lote de 15 L con un pH de 4.00 como el segundo lote de 15 L con un pH de 3.96, presentaron valores de pH que se encuentran dentro de los valores de referencia (3.5 a 4.8) para cervezas según NTE INEN 2262:2013. Por otro lado, de los lotes de menor volumen, el lote de 3 L es el único lote con un valor de pH que supera el límite superior permitido con un valor de 5.60, mientras que, los lotes con volúmenes de 1 L y 1.5 L tienen valores de pH de 3.95 y 3.79 respectivamente.

El elevado valor de pH de 5.60 del lote de 3 L sometidos a 14 días de fermentación puede deberse a probables causas de contaminación ambiental como la incorporación de agua al interior de la olla durante el enfriado o el tiempo de exposición prolongado de la cerveza al ambiente durante el embotellamiento, provocando un aumento en el pH (González, 2017).

En cuanto al grado alcohólico, los dos lotes de 15 L y los tres lotes de 1 L, 1.5 L y 3 L poseen el mismo valor de grado alcohólico siendo este de 5%. Dicho valor se encuentra dentro de los valores de referencia para el tipo de cerveza American Pale Ale según (INEN, 2013). La presencia de alcohol indica que las condiciones fueron óptimas para que las levaduras responsables de la fermentación, transformen el azúcar en alcohol (Rodríguez, 2003; Semilla, 2018). Según (González, 2017), del control de la temperatura durante la maceración depende el contenido de alcohol en el producto final, pues durante esta etapa se obtienen los azúcares fermentables necesarios para que las levaduras fermenten el mosto y se obtenga alcohol. La temperatura del proceso de maceración debe mantenerse entre 65 y 68°C (González, 2017). Si la maceración se da a 62°C se produce baja cantidad de azúcar fermentable, y por ende, poco contenido de alcohol. Por el contrario, si la





maceración se produce a una temperatura de 72°C, se produce altas cantidades de azúcar fermentable, y por tanto, alto contenido de alcohol (SECA, 2019). Como se observa en el Anexo 4, a lo largo del proceso de producción de los lotes sometidos a 14 días de fermentación primaria, la temperatura se mantuvo entre 65 y 67.7°C, demostrando así, que la maduración se llevó a cabo en óptimas condiciones.

Por otro lado, según los valores de referencia de carbonatación expresados en la NTE INEN 2324:2013 de 2,2 a 3,5 Vol. CO<sub>2</sub> / L, el único lote que cumple el requisito es el primer lote de 15 L, con un valor de carbonatación de 3.33 Vol. CO<sub>2</sub> / L, los demás lotes exceden el límite superior permitido. Sin embargo, de acuerdo al tipo de cerveza (Velasco, 2017) establecen los límites de carbonatación de 2.3 a 2.8 Vol CO<sub>2</sub>/L, resultando así en que ninguno de los lotes cumple con los valores establecidos de carbonatación.

Minimizar el escalado de producción presenta límites, que en este caso estarían asociados a la carbonatación. Según (Palmer, 2006) hay varias posibles causas para la sobre carbonatación de la cerveza. La primera opción resulta en un exceso de azúcar, ya sea por un mal cálculo del azúcar añadido antes de la maduración o por realizar el embotellado sin que haya terminado por completo la fermentación del mosto (Giner, 2019). Sin embargo, en este trabajo se descarta esta razón porque las mediciones de densidad en cada uno de los mostos demuestran una fermentación completa, corroborado con la concentración de alcohol ideal obtenida en cada lote. Además, según los cálculos realizados, los 7.5 g de azúcar por litro de cerveza son adecuados para la obtención de 2.5 volúmenes de CO<sub>2</sub> por litro de cerveza (Velasco, 2017). La siguiente razón que se expresa es la mala conservación o el calentamiento de la cerveza (Giner, 2019) pero como se observa en el Anexo 5 las temperaturas a lo largo del proceso fueron constantes y adecuadas entre 17 y 19°C. La siguiente causa consiste principalmente en una posible contaminación por hongos del género *Fusarium* en la materia prima o microorganismos en el producto final (Schwarz, 2017). Pero desafortunadamente, al limitarse el presente trabajo a características organolépticas y fisicoquímicas no se pueden considerar análisis microbiológicos o toxicológicos de la materia prima ni del producto final que permita corroborar esta hipótesis, ya que los parámetros de pH, densidad y grado alcohólico están dentro de los rangos normales.

### **3.3 Influencia de los procesos de elaboración en la reducción de micotoxinas en cerveza artesanal**

La contaminación con micotoxinas puede ocurrir en distintas etapas de elaboración de cerveza, algunas debido a su estabilidad térmica (AFs, ZEA y DON) y a su solubilidad en



agua (DON y FB1) pueden ser transferidas del grano a la malta y luego al producto final (Rodríguez-Carrasco et al., 2015).

Varios estudios han demostrado que, a pesar de haberse encontrado cantidades considerables de estas micotoxinas, éstas no superan los límites máximos permitidos (FAO, 2004; Unión Europea, 2015). Por otro lado, un estudio en cervezas artesanales de Brasil ha identificado altos niveles de FB1 en cervezas de baja fermentación, que sobrepasan cuatro veces el límite máximo permitido (Piacentini et al., 2017). Por ejemplo, en un estudio se evaluaron 117 muestras de diferentes cervezas artesanales y la ocurrencia de OTA, tricotecenos, fumonisinas y aflatoxinas en varios países europeos (Bertuzzi et al., 2011). En este y otro estudio similar no se encontraron aflatoxinas, pero sí niveles detectables y bajos de DON, FB1, FB2, y OTA (Benešová et al., 2012).

Autores han referido la necesidad de implementar varias acciones para evitar la acumulación de micotoxinas, siendo la principal la prevención del crecimiento de hongos en las materias primas, seguido de la aplicación de procesos efectivos para la reducción de la concentración de micotoxinas aplicando diferentes procesos a lo largo de la elaboración del alimento (Pascari et al., 2018).

### **3.4 Micotoxinas en la producción de cerveza**

El proceso de producción de cerveza artesanal incluye las etapas de malteado, molienda, maceración, hervido, fermentación, maduración, filtración, clarificación y embotellamiento. A pesar de la gran estabilidad de las micotoxinas frente a altas temperaturas y niveles de pH extremos, varias de estas etapas pueden contribuir a la reducción de micotoxinas por métodos físicos, químicos o biológicos (RodríguezCarrasco et al., 2015).

La micotoxina predominante en la cebada es DON y ha sido la más estudiada por sus altas concentraciones en la cerveza artesanal, seguida de ZEA y otros tricotecenos, cuya acumulación en el cuerpo tiene efectos neurotóxicos, inmunosupresivos, teratogénicos y carcinogénicos (Pestka, 2007; Peters et al., 2017).

#### *3.4.1 Malteado*

La primera fase del malteado es el remojo, cuya finalidad es crear condiciones favorables de humedad dentro del grano y activar las enzimas envueltas en la siguiente etapa, la germinación, en donde la malta se enriquece con enzimas y compuestos que darán olor y sabor al producto final (Kunze, 2006). El flujo de agua durante este proceso puede contribuir a la propagación de la contaminación fúngica al lote de un 15 - 90% (Vegi et al., 2011). Este proceso también implica un tratamiento con gran cantidad de agua, en donde



micotoxinas hidrosolubles como DON y FUMs pueden ser eluidas de la matriz del grano y eliminarse en el agua (Schwarz et al., 1995). Se ha reportado una disminución de la concentración de DON de hasta un 10% del contenido inicial (Lancova et al., 2008), y que después de 2 días de remojo, las concentraciones de esta micotoxina disminuyen un 30% en la malta final (Vaclavikova et al., 2013). Además, se ha observado que después de 17 horas de remojo y germinación se induce la glicosilación de DON, convirtiendo hasta un 50% de DON en el subproducto DON-3-Gluc, pudiendo esto explicar su reducción bajo estas condiciones de remojo (Maul et al., 2012). Esta glicosilación ocurre debido a que en la germinación los almidones son degradados a azúcares simples, lo cual favorece una activación natural de las glucosiltransferasas en la matriz (Maul et al., 2012). Por otro lado, se ha demostrado un aumento del 75% de la concentración fúngica por *Fusarium* después de 48 horas de remojo, la cual descendió a niveles no detectables tras el proceso del tostado (Oliveira et al., 2012).

Al finalizar la germinación del grano, se ha observado un aumento de la contaminación fúngica de hasta 39,3%, siendo probablemente un resultado de la activación de una infección latente en el grano a causa del aumento de la humedad durante este proceso (Vegi et al., 2011). Se ha observado también que la mayoría de micotoxinas presentan una reducción significativa durante la etapa del tostado a temperaturas de 70-90°C, excepto DON (Schwarz et al., 1995). Sin embargo, esta puede ser eliminada casi en su totalidad aplicando un tostado de 150°C por la formación de compuestos deepoxidados, menos tóxicos (Vegi et al., 2011).

Un estudio reciente demuestra que, si ocurre una invasión por *Aspergillus* aflatoxigénico en el grano, a pesar de las modificaciones en cualquiera de las variables del malteado (humedad, volumen de agua, temperatura) no será posible la eliminación de suficiente micotoxina para hacer a la materia prima apta para el consumo humano (Schabo et al., 2020). Un estudio reporta que las raicillas de cebadas extraídas al final del malteado contenían de 564 a 1383 µg/kg de FB1 y cantidades significativas de otras micotoxinas, por lo que la correcta eliminación de las raicillas constituye un método de reducción de micotoxinas (Cavaglieri et al., 2009). De igual manera el uso de un tratamiento fungicida en la cebada muestra una reducción del 80% de la concentración de DON después del malteado (Malachova et al., 2012), lo que demuestra la correlación entre la presencia de *Fusarium* en el grano y DON en el producto final (Oliveira et al., 2012).



### 3.4.2 Maceración

Se ha demostrado que la mayor parte de micotoxinas en todo el proceso se elimina con el bagazo al finalizar la obtención del mosto (Piacentini et al., 2017) y se ha sugerido que esta reducción es de alrededor del 20% (Inoue et al., 2013). En particular, se ha reportado que más del 60% del contenido total de ZEA en el grano se eliminó en el bagazo (Wolf-Hall, 2007).

Por otro lado, se debe prestar especial atención a las materias primas que se añaden en esta etapa, especialmente si provienen del maíz debido a que son una fuente importante de AFs, DON y FUMs (Benešová et al., 2012).

### 3.4.3 Fermentación

Se ha reportado que la adsorción de micotoxinas en los residuos de fermentación, siendo de 75.1% en caso de ZEA, de 48.1% de AFB1 y 59.4% de OTA (Campagnollo et al., 2015). Esta adsorción ocurre por la unión de las toxinas, especialmente ZEA, a los beta glucanos de la pared celular de la levadura, por medio de enlaces tipo hidrógeno y fuerzas de Van Der Waals (Jouany et al., 2005).

### 3.4.4 Maduración y estabilización

Con el proceso de la filtración se observa una reducción de micotoxinas debido a fenómenos de adsorción, en donde la molécula se liga a la pared celular de la levadura (Inoue et al., 2013), y al ser eliminados sus residuos (sedimento y sobrenadante o nata) se observa un descenso en la concentración de micotoxinas (Pascari et al., 2018).

Diferentes agentes clarificantes con grupos activos Cl<sup>-</sup> o CN<sup>-</sup> en sílica gel han sido efectivos ligandos de OTA y FUMs, reduciendo así la concentración de micotoxinas de la cerveza (Belajová et al., 2007).

Se debe tomar en cuenta que la carga de micotoxinas no afecta parámetros de fermentación como el grado alcohólico, pH, utilización de azúcar y viabilidad celular, incluso a concentraciones extremadamente altas como 100 mg/L (Nathanail et al., 2016).

Es importante resaltar que en la mayoría de estudios referidos las micotoxinas encontradas en cerveza artesanal no sobrepasan los límites máximos permitidos. Sin embargo, considerando que la cerveza es una de las bebidas más consumidas por las personas (Marconi et al., 2016) y tomando en cuenta que muchos otros alimentos de consumo diario podrían estar contaminados en diferentes concentraciones con micotoxinas (Adebisi et al., 2019; Bertuzzi et al., 2011; Karlovsky et al., 2016; Pascari et



al., 2018; Peters et al., 2017; K. Piacentini et al., 2017), podría considerarse como un riesgo importante de exposición dietaria. La manera de conservar y almacenar materias primas podría evitar el desarrollo de micotoxinas en los alimentos (Benešová et al., 2012), por lo que una estrategia integral de control de contaminación desde los cultivos hasta la elaboración del alimento constituiría la clave para el control de los niveles de micotoxinas (Jouany et al., 2005).



## 4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1 Conclusiones

El objetivo del presente trabajo de titulación fue replicar el proceso de elaboración de cerveza artesanal a escala de laboratorio, minimizando los volúmenes de producción a lotes de 3L, 1.5L y 1L, sometidos a 6, 10 y 14 días de fermentación primaria, con la finalidad de determinar cuál es el volumen mínimo con el que se puede preparar cerveza artesanal que sirvan para estudios experimentales posteriores sobre el grado de descontaminación de micotoxinas en cada una de las etapas de elaboración de la cerveza artesanal. Además, se realizó una revisión de literatura acerca del potencial de descontaminación del proceso de elaboración de cerveza artesanal.

Se evaluaron parámetros fisicoquímicos de pH, grado alcohólico y carbonatación en los lotes de cerveza artesanal elaborada a escala de laboratorio, según normativa NTE INEN 2262:2013, obteniendo que, los lotes de 1 L y 1.5 L sometidos a 14 días de fermentación primaria cumplieron los parámetros de pH (3.95 y 3.79, respectivamente) y de grado alcohólico, 5% en ambos casos, pero no de carbonatación.

De acuerdo a la revisión bibliográfica la influencia de cada una de las etapas de la elaboración de cerveza artesanal en la reducción de micotoxinas se concluye que, si bien existen durante la elaboración de cerveza procesos que podrían reducir de manera efectiva las micotoxinas (malteado, macerado, hervido, filtrado y fermentado), es necesario comprender que la mayoría de autores concuerdan con que la mejor forma de prevenir la contaminación por micotoxinas es evitando la proliferación de especies fúngicas y procurando eliminarlas en el cereal y materias primas utilizadas. Por lo tanto, estudios posteriores deberían enfocarse en la comparación experimental de la efectividad de medidas de mitigación precosecha de materia prima y a nivel de producción de la cerveza.

### 4.2 Recomendaciones

A partir de la realización de este trabajo de titulación se recomienda:

- Realizar estudios prácticos sobre la influencia de los procesos de la elaboración de la cerveza artesanal en la reducción de micotoxinas en otros tipos de cerveza diferentes a la American PALE ALE.



- En la elaboración de cerveza artesanal, si se pretende crear nuevos estilos de cerveza, se recomienda respetar los procesos importantes que contribuyen a la reducción de micotoxinas, como la maceración, hervido, filtración y fermentación.
- Tras evaluar el grado de inocuidad de la cerveza artesanal, se debería buscar los medios para informar a la población sobre las consecuencias a largo plazo de la exposición a micotoxinas por consumo de cerveza artesanal.



## REFERENCIAS

Abrunhosa, L., Paterson, R. R. M., & Venâncio, A. (2010). Biodegradation of Ochratoxin A for Food and Feed Decontamination. *Toxins*, 2(5), 1078–1099. <https://doi.org/10.3390/toxins2051078>

ACSA. (2014). *Evaluación del Riesgo de Zearalenona en alimentos en Cataluña*. Fundación Vasca Para la Seguridad Alimentaria. Disponible en <https://seguridadalimentaria.elika.eus/evaluacion-del-riesgo-de-zearalenona-en-alimentos-en-cataluna-acsa-2014/>

Adebiyi, J. A., Kayitesi, E., Adebo, O. A., Changwa, R., & Njobeh, P. B. (2019). Food fermentation and mycotoxin detoxification: An African perspective. *Food Control*, 106, 106731. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106731>

Adebo, O. A., Kayitesi, E., & Njobeh, P. B. (2019). *Reduction of Mycotoxins during Fermentation of Whole Grain Sorghum to Whole Grain Ting (a Southern African Food)*. 11, 180. <https://doi.org/10.3390/toxins11030180>

Adekoya, I., Obadina, A., Adaku, C. C., De Boevre, M., Okoth, S., De Saeger, S., & Njobeh, P. (2018). Mycobiota and co-occurrence of mycotoxins in South African maize-based opaque beer. *International Journal of Food Microbiology*, 27, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.02.001>

AECOSAN. (2015a). *Deoxinivalenol*. Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Disponible en [https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad\\_alimentaria/gestion\\_riesgos/DON\\_ficha\\_JUL15.pdf](https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/gestion_riesgos/DON_ficha_JUL15.pdf)

AECOSAN. (2015b). *Ocratoxina A*. Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Disponible en [http://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad\\_alimentaria/gestion\\_riesgos/OTA\\_ficha\\_JUL15.pdf](http://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/gestion_riesgos/OTA_ficha_JUL15.pdf)

Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., & Varzakas, T. (2020). Control Strategies : Prevention and Detoxification in Foods. *Foods*, 9 (137). <https://doi:10.3390/foods9020137>

Akar, T., Avci, M., Dusunceli, F., & AGSI-FAO. (2004). *Cereals: Barley. Post-harvest Operations*. Food And Agriculture Organization of the United Nations. Disponible en





[http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/inpho/docs/Post\\_Harvest\\_Compendium \\_-\\_BARLEY.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/inpho/docs/Post_Harvest_Compendium_-_BARLEY.pdf)

Anfossi, L., Giovannoli, C., & Baggiani, C. (2016). Mycotoxin detection. *Current Opinion in Biotechnology*, 37, 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.11.005>

Ariño, A., & AASA. (2008). *Informe Relativo a las Micotoxinas De La Comisión Científica de La Agencia Aragonesa de Seguridad Alimentaria*. Disponible en [https://www.aragon.es/documents/20127/674325/INFORME\\_RELATIVO\\_MICOTOXINAS\\_FUMONISINAS.pdf/3d7bf286-bb27-825f-1f7c-61d252d3bde9](https://www.aragon.es/documents/20127/674325/INFORME_RELATIVO_MICOTOXINAS_FUMONISINAS.pdf/3d7bf286-bb27-825f-1f7c-61d252d3bde9)

Ballarat, I. (2017). *Harinas extruidas en la industria alimentaria* [Tesis de Pregrado, Universidad Complutense]. <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Poster/ISABEL BARALLAT GARCIA.pdf>

Barrera, V., Tapia, C., & Monteros, A. (2003). *Raíces y tubérculos andinos: alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador*. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) y Centro Internacional de la Papa (CIP). Disponible en [https://books.google.com.ec/books?id=wub2\\_m8WVYC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=wub2_m8WVYC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)

Belajová, E., Rauová, D., Dasko, L., Daško, L., & Dasko, L. (2007). Retention of ochratoxin A and fumonisin B1 and B2 from beer on solid surfaces: Comparison of efficiency of adsorbents with different origin. *European Food Research and Technology*, 224(3), 301–308. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0459-x>

Benešová, K., Běláková, S., Mikulíková, R., & Svoboda, Z. (2012). Monitoring of selected aflatoxins in brewing materials and beer by liquid chromatography/mass spectrometry. *Food Control*, 25(2), 626–630. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.11.033>

Bennett, G., Richard, J., & Eckhoff, S. (1996). Distribution of Fumonisin in Food and Feed Products Prepared from Contaminated Corn. In L. Jackson, J. DeVries, & L. Bullerman (Eds.), *Fumonisin in Food. Advances in Experimental medicine and Biology*.



- Bertuzzi, T., Rastelli, S., Mulazzi, A., Donadini, G., & Pietri, A. (2011). Mycotoxin occurrence in beer produced in several European countries. *Food Control*, 22(12), 2059–2064. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.06.002>
- BJCP. (2015). *Guía de Estilos De Cerveza. Beer Judge Certification Program* (5ta Edición). Disponible en: [https://www.bjcp.org/docs/2015\\_Guidelines\\_Beer.pdf](https://www.bjcp.org/docs/2015_Guidelines_Beer.pdf)
- BOE. (2016). *Boletín Oficial del Estado sobre la calidad de la cerveza y de las bebidas de malta* (pp. 88520–88524) [Archivo PDF]. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado Español Disponible en <https://doi.org/BOE-A-2012-5403>
- Caballero, M. (2016). Las micotoxinas y sus interacciones. . *NutriNews Nutrición Animal*, 82–89. Disponible en: <https://nutricionanimal.info/download/0916nutriNews-EWNutrition-MicotoxinasInteracciones.pdf> Campagnollo, F. B., Franco, L. T., Rottinghaus, G. E., Kobashigawa, E., Ledoux, D. R., Daković, A., & Oliveira, C. A. F. (2015). In vitro evaluation of the ability of beer fermentation residue containing *Saccharomyces cerevisiae* to bind mycotoxins. *Food Research International*, 77, 643–648. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.032>
- Cano Sancho, G., Marín, S., & Ramos, A. (2012). *Micotoxinas. Estudio de dieta total en Cataluña 2008-2009* (Agencia de Salud Pública de Cataluña; 2da Edició.). Agencia de Salud Pública de Cataluña.
- Capó, M., Anadón, M., Uroz, M., Nogal, M., & López, A. (2007). *Toxinología clínica, alimentaria y ambiental* (1era Edición). Editorial Complutense. Disponible en [https://books.google.com.ec/books?id=dbgX6q6pQjUC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=dbgX6q6pQjUC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
- Castro A, E. M. (2017). *Evaluación de la calidad e inocuidad por contaminación con ocratoxina A de la cerveza artesanal espendida en bares de la ciudad de Cuenca* [Tesis de Maestría, Universidad de Cuenca]. Disponible en <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/29444>
- Cavaglieri, L. R., Keller, K. M., Pereyra, C. M., González Pereyra, M. L., Alonso, V. A., Rojo, F. G., Dalcerro, A. M., & Rosa, C. A. R. (2009). Fungi and natural incidence of selected mycotoxins in barley rootlets. *Journal of Stored Products Research*, 45(3), 147–150. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2008.10.004>



- De la Torre, M. E., Sánchez, D., Galeana, E., & Plasencia, J. (2014). Fumonisinias – Síntesis y función en la interacción *Fusarium verticillioides*-maíz. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 17(1), 77–91. [https://doi.org/10.1016/s1405-888x\(14\)70321-3](https://doi.org/10.1016/s1405-888x(14)70321-3)
- Duarte Vogel, S., & Villamil Jiménez, L. C. (2006). Micotoxinas en la Salud Pública. *Revista de Salud Pública*, 8(1), 129–135. <https://doi.org/10.1590/S012400642006000400011>
- ELIKA. (2013). *Sustancias indeseables en la alimentación animal: Zearalenona*. Fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria. Disponible en <https://alimentacion-animal.elika.eus/wp-content/uploads/sites/6/2017/12/ZEARALENONA-2012-maquetado.pdf>
- Espín, S., Vivas, L., Pacin, A., Cano, G., Tagliere, D., Resnik, S., & Molto, G. (1999). Ocurrencia de micotoxinas en alimentos para consumo humano y animal en el Ecuador. *Revista Informativa Del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias*, 12, 1–10. <http://181.112.143.123/bitstream/41000/2827/1/iniapsc322est.pdf>
- Fadia, T., Bochra, K., Al Qurashi, Y., Salah, J., & Chaieb, K. (2019). Review: Biotechnology of mycotoxins detoxification using microorganisms and enzymes. *Toxicon*, 160, 12–22. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.02.001>
- FAO. (2003). *Manual Sobre la Aplicación del Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (APPCC) en la Prevención y Control de las Micotoxinas*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-y1390s.pdf>
- FAO. (2004). *Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-y5499s.pdf>
- FAO. (2010). *Prevención de pérdidas de alimentos poscosecha: manual de capacitación*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en <http://www.fao.org/3/x5037s/x5037S00.htm>
- Fermun, D., Castells, I., Español, N., & García de la Paz, M. (2013). *Guía para descubrir las mejores cervezas artesanas*. Grupo Planeta Spain. Disponible en



[https://books.google.com.ec/books?id=xb4SAQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=xb4SAQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)

Firdaus, M., Redzuan, N., Fadthul, M., & Misnal, I. (2015). Brief Review: Cold Plasma. *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)*, 74(10), 57–61. <https://doi.10.11113/jt.v74.4834>

Garcia, M., Quintero, R., & Munguía, A. (1993). *Biotecnología alimentaria*. Limusa. [https://books.google.com.ec/books?id=2ctdvBnTa18C&dq=humedad+de+la+malt+a&hl=es&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.com.ec/books?id=2ctdvBnTa18C&dq=humedad+de+la+malt+a&hl=es&source=gbs_navlinks_s)

Garret, O. (2012). *The Oxford Companion to Beer*. Oxford University Press. Disponible en <https://beerandbrewing.com/dictionary/6IF7gO0B8Q/>

Giner, S. (2019). *¿Por qué una cerveza tiene demasiada espuma?* 2020. Disponible en <https://www.2d2dspuma.com/blog/cultura-cervecera/>

González, M. (2017). *Principios de Elaboración de Cervezas Artesanales* (Primera). Lulu Press Inc. Disponible en [https://books.google.com.ec/books?id=0COaDgAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=0COaDgAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)

Grenier, B., Leslie, J. F., & Oswald, I. P. (2014). Physical and Chemical Methods for Mycotoxin Decontamination in Maize. In *Mycotoxin Reduction in Grain Chains* (pp. 116–129).

Guerrero Hinojosa, A. B. (2011). *Estudio De La Contaminación Por Deoxinivalenol (DON) Presente En Harina De Trigo Almacenada En El Sector De Sangolquí – Pichincha, Mediante La Extracción Por Columnas De Inmunoafinidad (IAC) Y Cromatografía Líquida De Alta Eficiencia (HPLC)*. [Tesis de Pregrado, Escuela Politécnica del Ejército]. Disponible en <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/51111/1/T-ESPE-033073.pdf>

Gunupuru, L. R., Patel, J. S., Sumarah, M. W., Renaud, J. B., Martin, E. G., & Prithiviraj, B. (2019). A plant biostimulant made from the marine brown algae *Ascophyllum nodosum* and chitosan reduce *Fusarium* head blight and mycotoxin contamination in wheat. *PLOS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220562> Hereu, A. (2019). *Guía De Prácticas Correctas De Higiene Para Pequeños Productores De Cerveza*. Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria. Disponible en [http://coli.usal.es/web/Guias/pdf/GPCH\\_productores\\_cerveza.pdf](http://coli.usal.es/web/Guias/pdf/GPCH_productores_cerveza.pdf)



- Hill, A. E. (2015). *Brewing Microbiology: Managing Microbes, Ensuring Quality and Valorising Waste* (Primera Edición).
- Hornsey, I. (2002). *Elaboración de Cerveza: Microbiología, Bioquímica y Tecnología*. Editorial Acribia.
- Huff, W. (1980). A physical method for the segregation of aflatoxin-contaminated corn. *Cereal Chemistry* 57(4), 236-238.
- Huff, W. E., & Hagler, W. M. (1985). Density Segregation of Corn and Wheat Naturally Contaminated with Aflatoxin , Deoxynivalenol and Zearalenone. *Journal of Food Protection*, 48(5), 416–420. [https:// doi: 10.4315/0362-028X-48.5.416](https://doi.org/10.4315/0362-028X-48.5.416).
- Hughes, P., Baxter, D., & Hornsey, I. (2001). *Beer: Quality, Safety and Nutritional Aspects*. Royal Society of Chemistry; RSC Paperbacks.
- IARC. (2010). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. *International Agency for Research of Cancer*. <https://doi.org/10.1136/jcp.48.7.691a>
- INEN. (2002a). NTE 2324. *Bebidas alcohólicas. Cerveza. Determinación de dióxido de carbono “CO2” y aire*. Disponible en <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2324.pdf>
- INEN. (2002b). NTE 2325. *Bebidas alcohólicas. Cerveza. Determinación del pH*. Disponible en <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2325.pdf>
- INEN. (2013). NTE 2262-1. *Bebidas alcohólicas. Cervezas. Requisitos*. Disponible en [https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\\_inen\\_2262-1.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_2262-1.pdf)
- INEN. (2014). NTE 340. *Bebidas alcohólicas. Determinación del contenido de alcohol etílico. Método del alcoholímetro (Gay-Lussac)*. Disponible en <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2322.pdf>
- Inoue, T., Nagatomi, Y., Uyama, A., & Mochizuki, N. (2013). Fate of mycotoxins during beer brewing and fermentation. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 77(7), 1410–1415. <https://doi.org/10.1271/bbb.130027>
- Jaramillo, P. (2016). *Cervezas artesanales, un mercado que emerge bien*. 269, 50–55. Disponible en [https://revistagestion.ec/sites/default/files/import/legacy\\_pdfs/269\\_005.pdf](https://revistagestion.ec/sites/default/files/import/legacy_pdfs/269_005.pdf)



- Ji, J., & Xie, W. (2020). Detoxification of Aflatoxin B 1 by magnetic graphene composite adsorbents from contaminated oils. *Journal of Hazardous Materials*, 381(July 2019), 120915. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120915>
- Johansson, A. S, Whitaker, T. B, Hagler, W. M Jr, Bowman, D. T, Slate AB, Payne G (2006). Predicting aflatoxin and fumonisin in shelled corn lots using poor-quality grade components. *Journal of AOAC International*, 89 (2):433-440.
- Jouany, J.-P., Yiannikouris, A., & Bertin, G. (2005). The chemical bonds between mycotoxins and cell wall components of *Saccharomyces cerevisiae* have been identified. *Archiva Zootechnica*, 8(June 2015), 26–50. Disponible en [http://www.ibna.ro/arhiva/AZ\\_8/AZ\\_8\\_03\\_Jouany.pdf](http://www.ibna.ro/arhiva/AZ_8/AZ_8_03_Jouany.pdf)
- Kabak, B. & Dobson, A. D. W. (2006). Strategies to Prevent Mycotoxin Contamination of Food and Animal Feed : A Review Strategies to Prevent Mycotoxin Contamination of Food and Animal Feed : A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(8), 593–619. <https://doi.org/10.1080/10408390500436185>
- Karlovsky, P., Suman, M., Berthiller, F., Meester, J. De, Eisenbrand, G., Perrin, I., Oswald, I. P., Speijers, G., De Meester, J., Eisenbrand, G., Perrin, I., Oswald, I. P., Speijers, G., Chiodini, A., Recker, T., & Dussort, P. (2016). Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination. *Mycotoxin Research*, 32(4), 179–205. <https://doi.org/10.1007/s12550-016-0257-7>
- Kilonzo, R. M., Imungi, J. K., Muiro, W. M., Lamuka, P. O., & Kamau, P. (2014). Household dietary exposure to aflatoxins from maize and maize products in Kenya. *Food Additives & Contaminants*, 31(12), 2055–2062. <https://doi.org/10.1080/19440049.2014.976595>
- Kolossova, A., Stroka, J., Breidbach, A., Kroeger, K., Bouten, K., & Ulberth, F. (2012). Evaluation of the effect of mycotoxin binders in animal feed on the analytical performance of standardised methods for the determination of mycotoxins in feed. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 29(12), 1959–1971. <https://doi.org/10.1080/19440049.2012.720035>
- Korzekwa, M. (2015). Mycotoxin binders - the importance of making the right choice! *International Poultry Production*, 23(7), 17–21.



- Kunze, W. (2006). Tecnología para Cerveceros Y Malteros. *Tecnología Para Cerveceros Y Malteros*, 1075.
- Laluce, C., Palmieri, M. C., & Lopes da Cruz, R. C. (1991). Growth and fermentation characteristics of new selected strains of *Saccharomyces* at high temperatures and high cell densities. *Biotechnology and Bioengineering*, 37(6), 528–536. <https://doi.org/10.1002/bit.260370606>
- Lancova, K., Hajslova, J., Poustka, J., Krplova, A., Zachariasova, M., Dostalek, P., & Sachambula, L. (2008). Transfer of *Fusarium* mycotoxins and 'masked' deoxynivalenol (deoxynivalenol-3-glucoside) from field barley through malt to beer. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 25(6), 732–744. <https://doi.org/10.1080/02652030701779625>
- Lefyedi, M. L., Taylor, J. R. N., & Brew, J. I. (2006). Effect of Dilute Alkaline Steeping on the Microbial Contamination, Toxicity and Diastatic Power of Sorghum Malt. *Journal of the Institute of Brewing*, 112(2), 108–116. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2006.tb00240.x>
- Leslie, J., & Logrieco, A. (2014). Analytical Methods for Mycotoxins in the Wheat Chain. In *Mycotoxin Reduction in Grain Chains*. Wiley Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781118832790.ch12>
- Luo, Y., Liu, X., & Li, J. (2018). Updating techniques on controlling mycotoxins - A review. *Food Control*. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.01.016>
- MAGPA. (2001). *Capítulo XIII. Bebidas Fermentadas*. Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca Argentina. Disponible en [http://www.conal.gob.ar/ultimas\\_modificaciones/Capitulo\\_XIII.pdf](http://www.conal.gob.ar/ultimas_modificaciones/Capitulo_XIII.pdf)
- Malachova, A., Varga, E., Schwartz, H., Krska, R., & Berthiller, F. (2012). Development, validation and application of an LC-MS/MS based method for the determination of deoxynivalenol and its conjugates in different types of beer. *World Mycotoxin Journal*, 5(3), 261–270. <https://doi.org/10.3920/WMJ2012.1425>
- Mallmann, C., Dilkin, P., Giacomini, L., Rauber, R., & Pereira, C. (2007). Micotoxinas en Ingredientes para Alimento Balanceado de Aves. *XX Congreso Latinoamericano de Avicultura*, 1991–204.



- Martínez Dorado, A. (2018). *Evaluación de crecimiento fúngico y capacidad de producir micotoxinas de mohos aislados de maíz* [Tesis de Pregrado, Universidad de Extremadura]. Disponible en [http://dehesa.unex.es/bitstream/handle/10662/8078/TFGUEx\\_2018\\_Martinez\\_Dorado.pdf](http://dehesa.unex.es/bitstream/handle/10662/8078/TFGUEx_2018_Martinez_Dorado.pdf)
- Martínez Muñoz, A. (2015). *Análisis comparativo de compuestos bioactivos en cerveza artesanal y cerveza industrial* [Tesis de Pregrado, Universidad de Lleida]. Disponible en <https://repositori.udl.cat/bitstream/handle/10459.1/48689/amartinezm.pdf>
- Martnez, R., & Larrañaga, A. (2012). Micotoxinas. En *Toxicología alimentaria* (p. 22). Ediciones Díaz de Santos.
- Maul, R., Müller, C., Rieß, S., Koch, M., Methner, F. J., & Irene, N. (2012). Germination induces the glucosylation of the Fusarium mycotoxin deoxynivalenol in various grains. *Food Chemistry*, 131(1), 274–279. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.077>
- Michael, A. (2014). Yeast and Other Fermentation Agents. *A Perfect Pint*, 1–6. Disponible en <http://www.aperfectpint.net/612.724.4514>
- Missmer, S. A., Suarez, L., Felkner, M., Wang, E., Jr, A. H. M., Rothman, K. J., & Hendricks, K. A. (2006). *Exposure to Fumonisin and the Occurrence of Neural Tube Defects along the Texas – Mexico Border*. 114(2), 237–242. <https://doi.org/10.1289/ehp.8221>
- Molto, G. A. (2000). *Tricotecenos en cervezas*. [Tesis de Posgrado, Universidad de Buenos Aires]. Disponible en [https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis\\_n3248\\_Molto.pdf](https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n3248_Molto.pdf)
- Murcia Rodríguez, H. W. (2010). Micotoxinas y Aflatoxina B1, un problema en salud animal. *Revista Teoría y Praxis Investigativa*, 5(2), 71–78. Disponible en <http://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3702403.pdf>
- Murphy, P. A., Rice, J. L. G., & Ross, P. F. (1993). Fumonisin B1, B2, and B3 content of Iowa, Wisconsin, and Illinois corn and corn screenings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(2), 263–266.





- Mutungu, C., & Onyango, C. (2008). The fate of aflatoxins during processing of maize into muthokoi – A traditional Kenyan food. *Food Control*, 19(7), 714–721. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.07.011>
- Nathanail, A. V., Gibson, B., Han, L., Peltonen, K., Ollilainen, V., Jestoi, M., & Laitila, A. (2016). The lager yeast *Saccharomyces pastorianus* removes and transforms *Fusarium trichothecene* mycotoxins during fermentation of brewer's wort. *Food Chemistry*, 203, 448–455. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.070>
- Oddone, S. (2020). *Matemática de la cerveza* (Segunda Edición). Editorial Autores de Argentina.
- Oliveira, P. M., Mauch, A., Jacob, F., Waters, D. M., & Arendt, E. K. (2012). Fundamental study on the influence of *Fusarium* infection on quality and ultrastructure of barley malt. *International Journal of Food Microbiology*, 156(1), 32–43. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.02.019>
- Oliveira, G., Maria, D., Gualberto, R., Alvarenga, F., Carlos, L., Prado, G., & Roberto, L. (2013). Effect of different roasting levels and particle sizes on ochratoxin A concentration in coffee beans. *Food Control*, 34(2), 651–656. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.014>
- Ortiz Ulloa, S., Van Camp, J., Mestdagh, F., Donoso, S., & De Meulenaer, B. (2013). Mycotoxin co-occurrence in rice, oat flakes and wheat noodles used as staple foods in Ecuador. *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 30(12), 2165–2176.
- Pacin, A., & Resnik, S. (2012). Reduction of Mycotoxin Contamination by Segregation with Sieves Prior to Maize Milling. *Novel Technologies in Food Science*, 219–234. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7880-6>
- Palmer, J. (2006). *How To Brew: Everything You Need to Know to Brew Great Beer Every Time*. Brewer Publications.
- Panda, S. K., Panda, S. H., Swain, M. R., Ray, R. C., & Kayitesi, E. (2015). Anthocyanin-Rich Sweet Potato (*Ipomoea batatas*L.) Beer: Technology, Biochemical and Sensory Evaluation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 3040–3049. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12569>



- Pascari, X., Ramos, A. J., Marín, S., & Sanchís, V. (2018). Mycotoxins and beer. Impact of beer production process on mycotoxin contamination. A review. *Food Research International*, 103(March 2017), 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.038>
- Pestka, J. J. (2007). Deoxynivalenol: Toxicity, mechanisms and animal health risks. *Animal Feed Science and Technology*, 137(3–4), 283–298. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.006>
- Peters, J., Van Dam, R., Van Doorn, R., Katerere, D., Berthiller, F., Haasnoot, W., & Nielen, M. W. F. (2017). Mycotoxin profiling of 1000 beer samples with a special focus on craft beer. *PLOS ONE*, 12(10), 1–27. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185887>
- Piacentini, K. C., Rocha, L. O., Fontes, L. C., Carnielli, L., Reis, T. A., & Corrêa, B. (2017). Mycotoxin analysis of industrial beers from Brazil: The influence of fumonisin B1 and deoxynivalenol in beer quality. *Food Chemistry*, 218, 64–69. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.062>
- Pilla, S., & Vinci, G. (2012). *Cervezas de todo el mundo. Enciclopedia práctica*. De Vecchi Ediciones, S.A.
- Ravelo Abreu, A., Rubio Armendáriz, C., Gutiérrez Fernández, A. J., & Hardisson de la Torre, A. (2011). La ocratoxina a en alimentos de consumo humano: Revisión. *Nutrición Hospitalaria*. <https://doi.org/10.3305/nh.2011.26.6.5381>
- Reyna, M., & Krammer, J. (2017). *Apuntes para la historia de la cerveza en México* (Primera Ed.). Instituto Nacional de Antropología e Historia.
- Rodríguez-Carrasco, Y., Fattore, M., Albrizio, S., Berrada, H., & Mañes, J. (2015). Occurrence of Fusarium mycotoxins and their dietary intake through beer consumption by the European population. *Food Chemistry*, 178(1881), 149–155. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.092>
- Ryu, D., Hanna, M. A., & Bullerman, L. B. (1999). Stability of Zearalenone during Extrusion of Corn Grits. *Journal of Food Protection*, 62(12), 1482–1484.
- Rodríguez, H. A. (2003). *Determinación de Parámetros Físico-Químicos para la Caracterización de Cerveza Tipo Lager Elaborada por Compañía Cervecería Kunstmann S.A.* [Tesis de Pregrado, Universidad Austral de Chile]. Disponible en <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2003/far696d/sources/far696d.pdf>



- Sandoval Cañas, G. J. (2013). *Determinación de aflatoxinas totales, por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), en matriz de cereales: maíz y cebada*. [Tesis de Pregrado, Universidad del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2159/1/T-UCE-0008-13.pdf>
- Schabo, D. C., Martins, L. M., Iamanaka, B. T., Maciel, J. F., Taniwaki, M. H., Schaffner, D. W., & Magnani, M. (2020). Modeling aflatoxin B1 production by *Aspergillus flavus* during wheat malting for craft beer as a function of grains steeping degree, temperature and time of germination. *International Journal of Food Microbiology*, 333. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108777>
- Schwarz, P. B. (2017). Fusarium head blight and deoxynivalenol in malting and brewing : successes and future challenges. *Tropical Plant Pathology*, 42, 153–164. <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0146-4>
- Schwarz, P. B., Casper, H. H., Beattie, S., Schwarz, P. B., Casper, H. H., Fate, S. B., Schwarz, P. B., Science, C., Casper, H. H., & Sciences, M. (1995). Fate and Development of Naturally Occurring Fusarium Mycotoxins During Malting and Brewing. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 53(3), 121–127. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-53-0121>
- SECA. (2019). *Elaboración de Cerveza Artesanal*. Seminario sobre la Elaboración de la Sociedad Ecuatoriana de Cerveceros Artesanales, Quito, Ecuador.
- Semilla, R. (2018). *Pasión por la cerveza*. Penguin Random House. Grupo Editorial Argentina.
- Sendra, José M & Cabonell, J. V. (1999). *Evaluación de las propiedades nutritivas , funcionales y sanitarias de la cerveza, en comparación con otras bebidas*. Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos - Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IATA/CSIC).
- Sheikh, M., & Khalesi, M. (2019). Biological detoxification of ochratoxin A in plants and plant products. *Toxin Reviews*, 38(3), 187–199. <https://doi.org/10.1080/15569543.2018.1452264>
- Shetty, P. H., & Bhat, R. V. (1999). A physical method for segregation of fumonisintaminated maize. *Food Chemistry*, 66(3), 371–374. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00052-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00052-7)



- Siwela, A. H., Siwela, M., Matindi, G., Dube, S., & Nziramasanga, N. (2005). Decontamination of aflatoxin-contaminated maize by dehulling. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(15), 2535–2538. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2288>
- Soriano del Castillo, J. M. (2015). *Micotoxinas en alimentos*. Editorial Díaz de Santos.
- Sosa, D., Escobar, A., & Faure, R. (2017). *Deoxinivalenol: métodos de análisis de residualidad en cereales. Toxicidad en animales de granjas Deoxinivalenol : Methods for residue analysis in cereals . Toxicity in farm animals*. 39(2), 1–16.
- Steiner, E., Becker, T., & Gastl, M. (2010). Turbidity and Haze Formation in Beer – Insights and Overview. *Journal of the Institute of Brewing*, 116(4), 360–368.
- Stockmann-Juvala, H., & Savolainen, K. (2008). A review of the toxic effects and mechanisms of action of fumonisin B 1. In *Human and Experimental Toxicology*. <https://doi.org/10.1177/0960327108099525>
- Suárez, M. (2013). *Cerveza: componentes y propiedades* [Tesis de Maestría, Universidad de Oviedo]. Disponible en [http://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/19093/8/TFM\\_Maria\\_Suarez\\_Diaz.pdf](http://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/19093/8/TFM_Maria_Suarez_Diaz.pdf)
- Taylor, P., Allen, B., Wu, J., & Doan, H. (2003). Inactivation of Fungi Associated with Barley Grain by Gaseous Ozone. *Journal of Environmental Science and Health*, 38(5), 617–630. <https://doi.org/10.1081/PFC-120023519>
- Tinoco, M. (2016). Estudio de la presencia de aflatoxinas en cereales para niños, expendidos en el mercado el Arenal de la ciudad de Cuenca. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*, Edición Especial 7-12, ISSN: 1390 – 1869.
- Torres-Sánchez, L., & López-Carrillo, L. (2010). Consumo de fumonisinas y daños a la salud humana. *Salud Pública de Mexico*. <https://doi.org/10.1590/s003636342010000500014>
- Trenholm, H. L., Charmley, L. L., Prelusky, D. B., & Warner, R. M. (1992). Washing Procedures Using Water or Sodium Carbonate Solutions for the Decontamination of Three Cereals Contaminated with Deoxynivalenol and Zearalenone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(11), 2147–2151. <https://doi.org/10.1021/jf00023a021>



Unión Europea. (2015). *Reglamento por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios* (Vol. 31). Disponible en <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=celex:32006R1881>

Vaclavikova, M., Malachova, A., Veprikova, Z., Dzuman, Z., Zachariasova, M., & Hajslova, J. (2013). "Emerging" mycotoxins in cereals processing chains: Changes of enniatins during beer and bread making. *Food Chemistry*, 136(2), 750–757. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.031>

Vegi, A., Schwarz, P., & Wolf-Hall, C. E. (2011). Quantification of Tri5 gene, expression, and deoxynivalenol production during the malting of barley. *International Journal of Food Microbiology*, 150(2–3), 150–156. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.032>

Velasco, F. (2017). *Carbonatar la cerveza en botella*. <https://www.lamalteriadelcervecero.es/carbonatar-la-cerveza-en-botella>

Vučković, J., Bodroža, M., Vujić, Đ., Bočarov, A., & Bagi, F. (2013). The protective effect of hulls on the occurrence of *Alternaria* mycotoxins in spelt wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 1996–2001. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6005>

Wang, N., Wu, W., Pan, J., & Long, M. (2019). Detoxification Strategies for Zearalenone Using Microorganisms: A Review. *Microorganisms* 7(7), 208. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7070208>

Warren, M., & Krochune, J. (2019). *Beer Brewing 101: A Beginner's Guide to Homebrewing for Craft Beer Lovers*.

White, C., & Zainasheff, J. (2010). *Yeast. The Practical Guide to Beer Fermentation*. Brewer Publications.

Whitehurst, R & Van Oort, M. (2010). *Enzymes in food technology*. Wiley- Blackwell, Singapore.

Wolf-Hall, C. E. (2007). Mold and mycotoxin problems encountered during malting and brewing. *International Journal of Food Microbiology*, 119(1–2), 89–94. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.030>

Yim, L., Wan, M., Turner, P. C., & El-nezami, H. (2013). Individual and combined cytotoxic effects of *Fusarium* toxins (deoxynivalenol , nivalenol , zearalenone and fumonisins



B1) on swine jejunal epithelial cells. *Food and Chemical Toxicology*, 57, 276–283.  
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.03.034>

Zachetti, V. G. L., Cendoya, E., Nichea, J., & Chulze, N. (2019). *Preliminary Study on the Use of Chitosan as an Eco-Friendly Alternative to Control Fusarium Growth and Mycotoxin Production on Maize and Wheat*. 8(29).  
<https://doi.org/10.3390/pathogens8010029>

## ANEXOS

### Anexo 1. Registro fotográfico de la elaboración de cerveza artesanal

- **Molienda**

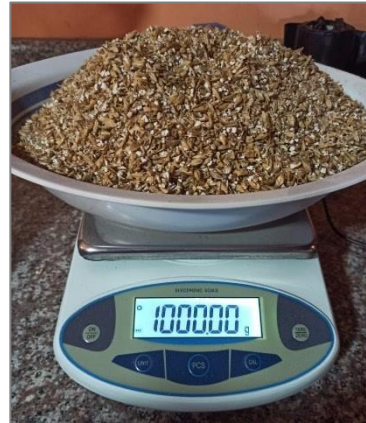


Molienda de los granos de cebada malteada

- **Pesaje de la materia prima**



Pesaje del lúpulo de amargor para la elaboración de lote de 15 L.



Pesaje de los granos de cebada malteada para la elaboración del lote de 15 L.



Granos de cebada malteada y avena para elaborar lotes de cerveza de 1 L, 1.5 L y 3 L



Lúpulos de amargor, sabor y aroma para elaborar el lote de cerveza de 15 L

- **Control de temperatura para el proceso de maceración**



- **Proceso de recirculación**



Formación de la montaña de granos durante el filtrado del bagazo

Proceso de recirculación

Formación del filtro de granos





Filtrado de los granos previo a la obtención del primer mosto

- **Proceso de fermentación**



Baldes de 1 L, 3 L y 1.5 L en proceso de fermentación primaria



Proceso de filtración previo a la segunda fermentación

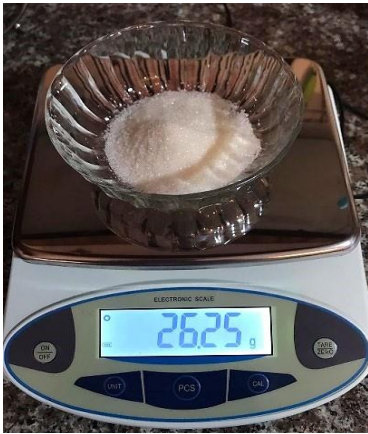


Proceso de filtración



Primer y segundo balde luego de la filtración

- **Embotellamiento de la cerveza**



Pesaje de los gramos de azúcar necesarios para la carbonatación



Dilución del azúcar en agua



Taponado de las botellas de cerveza previo a la maduración



Lotes de cerveza de 1 L, 1.5 L y 3 L



## **Anexo 2. Equipos, materiales, menajes de cocina e ingredientes**

### **Equipos y materiales**

- Balanza analítica (Boeco, BBL31, Alemania)
- Densímetro (Boeco, LBK3117, Alemania)
- Termómetro (ChefAlarm, TX-1100, USA)
- Tapadora manual (Ferrari, CO395, Italia)
- Cocineta
- Air-lock

### **Menajes de cocina**

- Ollas tamaleras con capacidad de 20 litros con tapa
- Baldes plásticos con capacidad de 20 litros con tapa
- Ollas de acero inoxidable
- Espumadera de acero inoxidable
- Embudos plásticos
- Jarras plásticas
- Cernidores de acero inoxidable
- Molino de acero inoxidable
- Filtro de café
- Cucharas
- Bandejas plásticas

### **Ingredientes**

- Cebada malteada
- Avena
- Lúpulo
- Levadura
- Agua desclorada

## Anexo 3. Resultados de los análisis fisicoquímicos

  
Análisis de alimentos, aguas y suelos

**INFORME DE RESULTADOS**

Informe N°: MSV-IE 1894-20  
Orden de Ingreso: OI-737-20

**CLIENTE:** MARÍA GABRIELA QUEZADA - VALERIA VALENCIA ORTIZ  
**DIRECCIÓN:** AV LOJA Y REMIGIO CRESPO ESQUINA  
**IDENTIFICACION:** CERVEZA ARTESANAL RUBIA AMERICAN PALE ALE  
**PROCEDENCIA:** CUENCA - ECUADOR  
**TIPO DE MUESTRA:** BEBIDA  
**CODIGO DE LA MUESTRA:** 73720  
**TIPO DE ENVASE:** VIDRIO AMBAR 500 ml.  
**LOTE:** L01102020

**FECHA DE RECEPCIÓN:** 21/10/2020  
**FECHA DE ANALISIS:** 21/10/2020 - 05/11/2020  
**FECHA DE ENTREGA:** 06/11/2020  
**FECHA DE ELAB/TOMA:** 10/2020  
**FECHA DE CAD:** 03/2021  
**FORMA DE CONSERVACION:** REFRIGERACIÓN  
**MUESTREO:** CLIENTE  
**REALIZACION DE ENSAYOS:** LABORATORIO  
**NUMERO DE MUESTRAS:** UNA (1)

**ENSAYOS FISICOQUIMICOS**


PARAMETRO	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADO	INCERTIDUMBRE (K=2)
GRADO ALCOHOLICO	INEN 340	%(VV)	5.0	N/A
PH	AOAC 943.02	UNIDADES DE pH	4.0	N/A
CARBONATACIÓN	INEN 2324	Vol CO <sub>2</sub> /l	3.33	N/A

  
Dra. Sandra Guaraca Maldonado  
GERENTE DE LABORATORIO

Los resultados expresados en este informe tienen validez solo para la muestra recibida en el laboratorio. Este informe no será reproducido sin la aprobación de MSV. Información proporcionada por el cliente. MSV se responsabiliza exclusivamente de los análisis realizados. Regla de decisión: \*Pasa: el valor medido está por debajo del límite de tolerancia. \*Falla: el valor medido está por encima del límite de tolerancia; se tomará en cuenta la incertidumbre asociada al resultado, riesgo = 50% de probabilidad de aceptación falsa, se aplicará solo en los ensayos dentro del alcance de la acreditación del SAE. MSV está comprometido con la imparcialidad y Confidencialidad de la información y los resultados (este informe representa la aceptación de la política declarada de MSV en relación al tema).

Página 1 de 1

FMC2101-07 Dirección: Avda. Las Américas y Turuhuaico (Redondel Miraflores 3er Piso)  
LD Telf: 4045127 Cel: 0995 354 172 e-mail: sandraegm@hotmail.com

  
Análisis de alimentos, aguas y suelos

**INFORME DE RESULTADOS**


Informe N°: MSV-IE 1894-20  
Orden de Ingreso: OI-737-20

**CLIENTE:** MARÍA GABRIELA QUEZADA - VALERIA VALENCIA ORTIZ  
**DIRECCIÓN:** AV LOJA Y REMIGIO CRESPO ESQUINA  
**IDENTIFICACION:** CERVEZA ARTESANAL RUBIA AMERICAN PALE ALE  
**PROCEDENCIA:** CUENCA - ECUADOR  
**TIPO DE MUESTRA:** BEBIDA  
**CODIGO DE LA MUESTRA:** 73820  
**TIPO DE ENVASE:** VIDRIO AMBAR 500 ml.  
**LOTE:** L09102020

**FECHA DE RECEPCIÓN:** 21/10/2020  
**FECHA DE ANALISIS:** 21/10/2020 - 05/11/2020  
**FECHA DE ENTREGA:** 06/11/2020  
**FECHA DE ELAB/TOMA:** 10/2020  
**FECHA DE CAD:** 03/2021  
**FORMA DE CONSERVACION:** REFRIGERACIÓN  
**MUESTREO:** CLIENTE  
**REALIZACION DE ENSAYOS:** LABORATORIO  
**NUMERO DE MUESTRAS:** UNA (1)

**ENSAYOS FISICOQUIMICOS**

PARAMETRO	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADO	INCERTIDUMBRE (K=2)
GRADO ALCOHOLICO	INEN 340	%(VV)	5.0	N/A
PH	AOAC 943.02	UNIDADES DE pH	3.98	N/A
CARBONATACIÓN	INEN 2324	Vol CO <sub>2</sub> /l	4.64	N/A

  
Dra. Sandra Guaraca Maldonado  
GERENTE DE LABORATORIO

Los resultados expresados en este informe tienen validez solo para la muestra recibida en el laboratorio. Este informe no será reproducido sin la aprobación de MSV. Información proporcionada por el cliente. MSV se responsabiliza exclusivamente de los análisis realizados. Regla de decisión: \*Pasa: el valor medido está por debajo del límite de tolerancia. \*Falla: el valor medido está por encima del límite de tolerancia; se tomará en cuenta la incertidumbre asociada al resultado, riesgo = 50% de probabilidad de aceptación falsa, se aplicará solo en los ensayos dentro del alcance de la acreditación del SAE. MSV está comprometido con la imparcialidad y Confidencialidad de la información y los resultados (este informe representa la aceptación de la política declarada de MSV en relación al tema).

Página 1 de 1

FMC2101-07 Dirección: Avda. Las Américas y Turuhuaico (Redondel Miraflores 3er Piso)  
LD Telf: 4045127 Cel: 0995 354 172 e-mail: sandraegm@hotmail.com

María Gabriela Quezada Zambrano.  
Valeria Andrea Valencia Ortiz.

**INFORME DE RESULTADOS**Informe N°: **MSV-IE 1960-20**  
Orden de Ingreso: **OI-779-20**

\*CLIENTE: MARÍA GABRIELA QUEZADA - VALERIA VALENCIA ORTIZ

\*DIRECCIÓN: AV LOJA Y REMIGIO CRESPO ESQUINA

\*IDENTIFICACIÓN: CERVEZA ARTESANAL RUBIA AMERICAN PALE ALE (C1.7.)

\*PROCEDENCIA: CUENCA - ECUADOR

TIPO DE MUESTRA: BEBIDA

CODIGO DE LA MUESTRA: 77620

\*TIPO DE ENVASE: VIDRIO AMBAR 500 ml.

\*LOTE: L1.02102020

FECHA DE RECEPCIÓN: 05/11/2020

FECHA DE ANALISIS: 06/10/2020 – 12/11/2020

FECHA DE ENTREGA: 13/11/2020

\*FECHA DE ELAB/TOMA: 10/2020

\*FECHA DE CAD: 03/2021

\*FORMA DE CONSERVACION: REFRIGERACIÓN

MUESTREO: CLIENTE

REALIZACION DE ENSAYOS: LABORATORIO

NUMERO DE MUESTRAS: UNA (1)

**ENSAYOS FISICOQUIMICOS**

PARAMETRO	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADO	INCERTIDUMBRE (K=2)
GRADO ALCOHOLICO	INEN 340	%(VV)	5.0	N/A
PH	AOAC 943.02	UNIDADES DE pH	3.95	N/A
CARBONATACIÓN	INEN 2324	Vol CO <sub>2</sub> /l	5.5	N/A

  
Dra. Sandra Guaraca Maldonado  
GERENTE DE LABORATORIO

Los resultados expresados en este informe tienen validez solo para la muestra recibida en el laboratorio. Este informe no será reproducido sin la aprobación de MSV/Información proporcionada por el cliente. MSV se responsabiliza exclusivamente de los análisis realizados. **Regla de decisión:** \*Pasa: el valor medido está por debajo del límite de tolerancia. \*Falla: el valor medido está por encima del límite de tolerancia; se tomará en cuenta la incertidumbre asociada al resultado, riesgo = 50% de probabilidad de aceptación falsa, se aplicará solo en los ensayos dentro del alcance de la acreditación del SAE. MSV está comprometido con la imparcialidad y Confidencialidad de la información y los resultados (este informe representa la aceptación de la política declarada de MSV en relación al tema).

Página 1 de 1

FMC2101-07 Dirección: Avda. Las Américas y Turuhuaico (Redondel Miraflores 3er Piso)  
LD Telf: 4045127 Cel: 0995 354 172 e-mail: sandraegm@hotmail.com**INFORME DE RESULTADOS**Informe N°: **MSV-IE 1961-20**  
Orden de Ingreso: **OI-777-20**

\*CLIENTE: MARÍA GABRIELA QUEZADA - VALERIA VALENCIA ORTIZ

\*DIRECCIÓN: AV LOJA Y REMIGIO CRESPO ESQUINA

\*IDENTIFICACIÓN: CERVEZA ARTESANAL RUBIA AMERICAN PALE ALE (C1.5.7)

\*PROCEDENCIA: CUENCA - ECUADOR

TIPO DE MUESTRA: BEBIDA

CODIGO DE LA MUESTRA: 77720

\*TIPO DE ENVASE: VIDRIO AMBAR 500 ml.

\*LOTE: L1.5.02102020

FECHA DE RECEPCIÓN: 05/11/2020

FECHA DE ANALISIS: 06/10/2020 – 12/11/2020

FECHA DE ENTREGA: 13/11/2020

\*FECHA DE ELAB/TOMA: 10/2020

\*FECHA DE CAD: 03/2021

\*FORMA DE CONSERVACION: REFRIGERACIÓN

MUESTREO: CLIENTE

REALIZACION DE ENSAYOS: LABORATORIO

NUMERO DE MUESTRAS: UNA (1)

**ENSAYOS FISICOQUIMICOS**

PARAMETRO	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADO	INCERTIDUMBRE (K=2)
GRADO ALCOHOLICO	INEN 340	%(VV)	5.0	N/A
PH	AOAC 943.02	UNIDADES DE pH	3.79	N/A
CARBONATACIÓN	INEN 2324	Vol CO <sub>2</sub> /l	5.4	N/A

  
Dra. Sandra Guaraca Maldonado  
GERENTE DE LABORATORIO

Los resultados expresados en este informe tienen validez solo para la muestra recibida en el laboratorio. Este informe no será reproducido sin la aprobación de MSV/Información proporcionada por el cliente. MSV se responsabiliza exclusivamente de los análisis realizados. **Regla de decisión:** \*Pasa: el valor medido está por debajo del límite de tolerancia. \*Falla: el valor medido está por encima del límite de tolerancia; se tomará en cuenta la incertidumbre asociada al resultado, riesgo = 50% de probabilidad de aceptación falsa, se aplicará solo en los ensayos dentro del alcance de la acreditación del SAE. MSV está comprometido con la imparcialidad y Confidencialidad de la información y los resultados (este informe representa la aceptación de la política declarada de MSV en relación al tema).

Página 1 de 1

FMC2101-07 Dirección: Avda. Las Américas y Turuhuaico (Redondel Miraflores 3er Piso)  
LD Telf: 4045127 Cel: 0995 354 172 e-mail: sandraegm@hotmail.com



**INFORME DE RESULTADOS**

Informe N°: MSV-IE 1962-20  
Orden de ingreso: OI-778-20

\*CLIENTE: MARÍA GABRIELA QUEZADA - VALERIA VALENCIA ORTIZ  
\*DIRECCIÓN: AV LOJA Y REMIGIO CRESPO ESQUINA  
\*IDENTIFICACION: CERVEZA ARTESANAL RUBIA AMERICAN PALE ALE (C.3.7.)  
\*PROCEDENCIA: CUENCA - ECUADOR  
TIPO DE MUESTRA: BEBIDA  
CODIGO DE LA MUESTRA: 77820  
\*TIPO DE ENVASE: VIDRIO AMBAR 500 ml.  
\*LOTE: L3.02102020

FECHA DE RECEPCIÓN: 05/11/2020  
FECHA DE ANALISIS: 06/10/2020 - 12/11/2020  
FECHA DE ENTREGA: 13/11/2020  
\*FECHA DE ELAB/TOMA: 10/2020  
\*FECHA DE CAD: 03/2021  
\*FORMA DE CONSERVACION: REFRIGERACIÓN  
MUESTREO: CLIENTE  
REALIZACION DE ENSAYOS: LABORATORIO  
NUMERO DE MUESTRAS: UNA (1)

**ENSAYOS FISICOQUIMICOS**

PARAMETRO	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADO	INCERTIDUMBRE (K=2)
GRADO ALCOHOLICO	INEN 340	%(VV)	5.0	N/A
PH	AOAC 943.02	UNIDADES DE pH	5.6	N/A
CARBONATACIÓN	INEN 2324	Vol CO <sub>2</sub> /l	3.91	N/A

Dra. Sandra Guaraca Mitoronado  
GERENTE DE LABORATORIO

Los resultados expresados en este informe tienen validez solo para la muestra recibida en el laboratorio. Este informe no será reproducido sin la aprobación de MSV. Información proporcionada por el cliente. MSV se responsabiliza exclusivamente de los análisis realizados. Regla de decisión: \*Pasa: el valor medido está por debajo del límite de tolerancia. \*Falla: el valor medido está por encima del límite de tolerancia; se tomará en cuenta la incertidumbre asociada al resultado. riesgo = 50% de probabilidad de aceptación falsa, se aplicará solo en los ensayos dentro del alcance de la acreditación del SAC. MSV está comprometido con la imparcialidad y Confidencialidad de la información y los resultados (este informe representa la aceptación de la política declarada de MSV en relación al tema).

María Gabriela Quezada Zambrano.  
Valeria Andrea Valencia Ortiz.



**Anexo 4.** Datos obtenidos durante el control de temperaturas en la maceración de los lotes con 14 días de fermentación primaria.

LOTES	TIEMPO DE MEDICIÓN (minutos)							PROMEDIO	Desviación estándar
	0	15	30	45	60	75	90		
	Temperatura (°C)								
L1	67,2	66,6	65	65,5	66,1	66,08	65,86	66,05	0,72
L2	66,3	65,5	67,5	67,7	66,1	66,62	66,68	66,63	0,77
L9	67,4	67,7	67	67,4	65	66,90	66,80	66,89	0,89
L10	66,2	67,4	66,4	65,4	66	66,28	66,30	66,28	0,60
L14	67,1	65,3	65,1	66	65,8	65,86	65,61	65,82	0,65

**Anexo 5.** Datos obtenidos durante el control de la temperatura ambiental de los lotes de 14 días de fermentación primaria.

Lote	TIEMPO DE FERMENTACIÓN (DÍAS)																												PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28		
	Temperatura (°C)																													
L1	17,52	18,07	18,29	18,23	18,00	17,54	17,98	17,80	18,09	17,54	17,72	17,77	17,90	17,83	17,68	18,06	17,83	17,78	17,99	17,87	17,92	17,63	17,50	17,80	17,51	17,79	18,18	18,22	17,84	0,23
L2	17,65	18,21	17,58	17,99	18,09	17,93	18,30	17,79	17,92	18,09	17,90	18,12	17,65	18,07	17,94	17,80	17,87	17,62	17,57	17,86	17,58	17,50	17,56	17,57	17,73	17,82	17,58	17,66	17,82	0,22
L9																														
L10	17,75	17,50	17,68	18,24	18,20	17,91	18,04	17,93	17,85	18,07	17,82	17,75	18,07	18,10	17,77	18,10	18,25	18,10	18,01	17,60	17,56	18,06	17,74	18,14	17,51	17,56	17,80	18,08	18,28	0,23
L11																														

María Gabriela Quezada Zambrano.

Valeria Andrea Valencia Ortiz.