



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**  
**CARRERA INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS**

**“ELABORACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL UTILIZANDO  
COMO CLARIFICANTE LA ENZIMA PROTEOLÍTICA  
OBTENIDA DEL TORONCHE”**

**Trabajo de Titulación**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERO EN INDUSTRIAS PECUARIAS**

**AUTOR:**

**CHRISTIAN GIOVANNI CARRERA ZAVALA**

Riobamba – Ecuador

2022



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**

**CARRERA INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS**

**“ELABORACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL UTILIZANDO  
COMO CLARIFICANTE LA ENZIMA PROTEOLÍTICA  
OBTENIDA DEL TORONCHE”**

**Trabajo de Titulación**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERO EN INDUSTRIAS PECUARIAS**

**AUTOR: CHRISTIAN GIOVANNI CARRERA ZAVALA**

**DIRECTOR: ING. IVÁN PATRICIO SALGADO TELLO MSC.**

Riobamba – Ecuador

2022

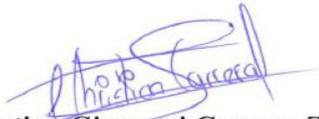
**© 2022, Christian Giovanni Carrera Zavala**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Christian Giovanni Carrera Zavala, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 22 de diciembre de 2022

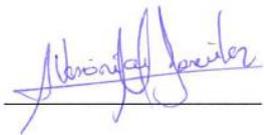


**Christian Giovanni Carrera Zavala**

**175353742-0**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**  
**CARRERA INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación; Tipo: Trabajo Experimental “**ELABORACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL UTILIZANDO COMO CLARIFICANTE LA ENZIMA PROTEOLÍTICA OBTENIDA DEL TORONCHE**”, realizado por el señor: **CHRISTIAN GIOVANNI CARRERA ZAVALA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Bqf. María Verónica Gonzáles Cabrera. <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		<b>2022-12-22</b>
Ing. Iván Patricio Salgado Tello MsC. <b>DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN</b>		<b>2022-12-22</b>
Ing. César Iván Flores Mancheno PhD. <b>ASESOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN</b>		<b>2022-12-22</b>

## **DEDICATORIA**

Dedico mi trabajo de titulación a mis padres Roberto Carrera y María Zavala por confiar en mí y guiarme siempre por el camino correcto además por brindarme su amor y ánimo durante toda mi vida estudiantil. A mis hermanos Mayra, Edison y Guadalupe por sus consejos y aliento para no rendirme, a mis sobrinos, cuñados y a mi enamorada Deisy que son un gran motivo de superación y felicidad. A mis amigos que formaron parte de mi vida y carrera universitaria y finalmente dedico este trabajo a Dios por que a pesar de los problemas he sabido sobresalir gracias a él.

**Christian**

## **AGRADECIMIENTO**

Al director del proyecto el Ing. Iván Salgado y Asesor el Dr. Iván Flores que, gracias a su paciencia, consejos y motivación lograron guiarme para poder culminar con mi trabajo de titulación. A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por darme la oportunidad de formar parte de tan digna institución. A los técnicos y docentes de la Facultad de Ciencias Pecuarias por orientarme y brindarme sus conocimientos que he adquirido a lo largo de la carrera universitaria. A Dios por brindarme la sabiduría y fuerzas a lo largo de toda mi vida estudiantil y por último a mis familiares y amigos que gracias su apoyo moral y económico fue posible culminar una etapa más de mi vida académica.

**Christian**

## INDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT .....	xv
INTRODUCCIÓN .....	1

### CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL .....	2
1.1. Toronche .....	2
1.1.1. <i>Propiedades nutricionales del toronche</i> .....	2
1.1.2. <i>Látex del fruto toronche</i> .....	3
1.2. Enzimas .....	3
1.2.1. <i>Enzimas proteolíticas</i> .....	3
1.2.2. <i>Enzimas proteolíticas del fruto toronche</i> .....	4
1.3. Cerveza.....	5
1.3.1. <i>Tipos de cerveza de acuerdo a su producción</i> .....	5
1.3.1.1. <i>Cerveza industrial</i> .....	5
1.3.1.2. <i>Cerveza artesanal</i> .....	6
1.3.2. <i>Tipos de cerveza según su tipo de fermentación</i> .....	6
1.3.2.1. <i>Cervezas de fermentación baja.</i> .....	6
1.3.2.2. <i>Cervezas de fermentación alta.</i> .....	6
1.3.3. <i>Materia Prima de la cerveza artesanal</i> .....	7
1.3.4. <i>Características fisicoquímicas de la Cerveza Artesanal Golden Ale</i> .....	8
1.3.4.1. <i>Densidad</i> .....	9
1.3.4.2. <i>Turbidez</i> .....	9
1.3.5. <i>Características microbiológicas de la cerveza</i> .....	13
1.4. Clarificación de cerveza.....	14
1.4.1. <i>Clarificación industrial</i> .....	14
1.4.2. <i>Clarificación artesanal</i> .....	14
1.5. Clarificantes usados para solucionar turbidez de cerveza .....	14
1.5.1. <i>Clarificantes de origen vegetal y animal</i> .....	14
1.5.2. <i>Clarificantes sintéticos</i> .....	15

1.5.3. Clarificantes de origen enzimático.....	15
--	----

## CAPITULO II

2. MARCO METODOLÓGICO.....	17
2.1. Localización y duración del experimento.....	17
2.2. Unidades experimentales.....	17
2.3. Materiales, equipos, reactivos e instalaciones.....	17
2.3.1. <i>Materiales</i> .....	17
2.3.2. <i>Equipos</i> .....	19
2.3.3. <i>Reactivos</i> .....	19
2.3.4. <i>Instalaciones</i> .....	20
2.4. Tratamiento y diseño experimental.....	20
2.5. Mediciones experimentales.....	21
2.5.1. <i>Características fisicoquímicas del fruto toronche</i> .....	21
2.5.2. <i>Características fisicoquímicas de la cerveza</i> .....	21
2.5.3. <i>Características microbiológicas de la cerveza.</i> .....	22
2.5.4. <i>Características sensoriales de la cerveza.</i> .....	22
2.5.5. <i>Evaluación Económica</i> .....	22
2.6. Análisis estadísticos y pruebas de significancia.....	22
2.6.1. <i>Esquema del ADEVA</i> .....	22
2.7. Procedimiento experimental .....	22
2.7.1. <i>Obtención de enzima proteolítica del toronche</i> .....	23
2.7.1.1. <i>Recepción y selección de la materia verde</i> .....	23
2.7.1.2. <i>Lavado y desinfección</i> .....	23
2.7.1.3. <i>Extracción y conservación del látex</i> .....	23
2.7.1.4. <i>Precipitación y purificación de la enzima</i> .....	23
2.7.1.5. <i>Liofilizado y conservación de la enzima</i> .....	24
2.7.2. <i>Elaboración de la cerveza artesanal</i> .....	24
2.7.2.1. <i>Recepción de materia prima</i> .....	24
2.7.2.2. <i>Ruptura de grano</i> .....	24
2.7.2.3. <i>Maceración</i> .....	24
2.7.2.4. <i>Filtrado del mosto</i> .....	24
2.7.2.5. <i>Lavado del grano</i> .....	25
2.7.2.6. <i>Cocción</i> .....	25
2.7.2.7. <i>Clarificación</i> .....	25
2.7.2.8. <i>Fermentación</i> .....	26

2.7.2.9. Acondicionamiento y envasado .....	26
<b>2.8. Metodología de evaluación .....</b>	<b>26</b>
<b>2.8.1. Caracterización físico-química del fruto toronche .....</b>	<b>26</b>
2.8.1.1. Porcentaje de Proteína .....	26
2.8.1.2. Porcentaje de Grasa cruda .....	27
2.8.1.3. Porcentaje de Fibra .....	28
2.8.1.4. Porcentaje de Humedad .....	29
2.8.1.5. Porcentaje de Ceniza .....	30
2.8.1.6. Porcentaje de carbohidratos .....	30
2.8.1.7. pH .....	31
2.8.1.8. Acidez .....	31
2.8.1.9. Grados Brix .....	31
<b>2.8.2. Características físico-químico de la cerveza artesanal .....</b>	<b>32</b>
2.8.2.1. pH .....	32
2.8.2.2. Acidez total .....	32
2.8.2.3. Densidad .....	33
2.8.2.4. Contenido Alcohólico .....	33
2.8.2.5. Sólidos solubles .....	34
2.8.2.6. Turbidez .....	34
<b>2.8.3. Parámetros microbiológicos de la cerveza artesanal .....</b>	<b>35</b>
<b>2.8.4. Parámetros sensoriales de la cerveza artesanal .....</b>	<b>35</b>
2.8.4.1. Prueba de aceptación afectiva hedónica .....	35
<b>2.8.5. Análisis Económico .....</b>	<b>36</b>

### CAPITULO III

<b>3. ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS .....</b>	<b>37</b>
<b>3.1. Caracterización del Fruto Toronche .....</b>	<b>37</b>
3.1.1. Humedad .....	37
3.1.2. Fibra .....	37
3.1.3. Carbohidratos .....	38
3.1.4. Grasa .....	38
3.1.5. Proteína .....	38
3.1.6. Cenizas .....	38
3.1.7. Sólidos solubles (*Brix) .....	38
3.1.8. pH .....	39
3.1.9. Acidez titulable .....	39

<b>3.2. Características fisicoquímicas de la cerveza artesanal clarificada con los diferentes niveles de la enzima proteolítica del fruto toronche.....</b>	<b>39</b>
3.2.1. <i>pH</i> .....	41
3.2.2. <i>Acidez Titulable</i> .....	41
3.2.3. <i>Solidos Solubles</i> .....	41
3.2.4. <i>Densidad</i> .....	41
3.2.5. <i>Contenido Alcohólico</i> .....	41
3.2.6. <i>Turbidez permanente</i> .....	42
3.2.7. <i>Turbidez fría</i> .....	43
<b>3.3. Análisis microbiológico realizado en la cerveza artesanal clarificada con los diferentes niveles de la enzima proteolítica del fruto toronche.....</b>	<b>44</b>
3.3.1. <i>Microorganismos Anaerobios Mesófilos en Cerveza Artesanal Golden Ale</i> .....	44
3.3.2. <i>Mohos y Levaduras en Cerveza Artesanal Golden Ale</i> .....	44
<b>3.4. Evaluación Hedónica de la Cerveza Artesanal.....</b>	<b>45</b>
3.4.1. <i>Olor</i> .....	45
3.4.2. <i>Apariencia</i> .....	45
3.4.3. <i>Color</i> .....	46
3.4.4. <i>Sabor</i> .....	47
3.5. <b>Evaluación de los costos de producción .....</b>	<b>48</b>
3.6. <b>Análisis del Rendimiento del látex del fruto toronche y de la enzima .....</b>	<b>50</b>
3.6.1. <i>Rendimiento del látex del fruto</i> .....	50
3.6.2. <i>Rendimiento enzimático del látex del fruto toronche</i> .....	50
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>51</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>52</b>

## **BIBLIOGRAFÍA**

## **ANEXOS**

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Conversión de unidades de medición de Turbidez .....	9
<b>Tabla 2-1:</b>	Muestras de cerveza y su nivel de turbidez. ....	12
<b>Tabla 3-1:</b>	Grado de turbidez según escalas.....	13
<b>Tabla 1-2:</b>	Condiciones meteorológicas de la ciudad de Riobamba .....	17
<b>Tabla 2-2:</b>	Esquema del experimento de la evaluación de la cerveza artesanal.....	21
<b>Tabla 3-2:</b>	Esquema del análisis de varianza para la cerveza artesanal .....	22
<b>Tabla 4-2:</b>	Métodos para determinar parámetros microbiológicos de la cerveza artesanal. ...	35
<b>Tabla 5-2:</b>	Parámetros sensoriales de la cerveza artesanal a evaluar. ....	36
<b>Tabla 1-3:</b>	Estadística descriptiva de la composición fisicoquímica del fruto Toronche.....	37
<b>Tabla 2-3:</b>	Características Fisicoquímicas de la cerveza artesanal con diferentes niveles de enzima proteolítica del toronche (0; 0,5; 1,0 y 1,5 g) usada como clarificante .....	40
<b>Tabla 3-3:</b>	Presencia de microorganismos en la cerveza artesanal con diferentes niveles de enzima proteolítica del toronche (0; 0,5; 1,0 y 1,5 g) usada como clarificante .....	44
<b>Tabla 4-3:</b>	Evaluación Económica en la cerveza artesanal con diferentes niveles de enzima proteolítica del toronche (0; 0,5; 1,0 y 1,5 g) usada como clarificante.. ....	49
<b>Tabla 5-3:</b>	Rendimiento del látex luego de su extracción del fruto. ....	50
<b>Tabla 6-3:</b>	Rendimiento enzimático del látex del fruto toronche.....	50

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-1:</b>	Interacción proteína-polifenol .....	10
<b>Gráfico 2-1:</b>	Relación concentraciones de proteína y polifenol para formar turbidez. ....	11
<b>Gráfico 1-3:</b>	Turbidez Permanente.....	43
<b>Gráfico 2-3:</b>	Turbidez fría.....	43
<b>Gráfico 3-3:</b>	Parámetro Olor en los 4 tratamientos .....	45
<b>Gráfico 4-3:</b>	Parámetro Apariencia en los 4 tratamientos .....	46
<b>Gráfico 5-3:</b>	Parámetro Color en los 4 tratamientos. ....	47
<b>Gráfico 6-3:</b>	Parámetro Sabor en los 4 tratamientos. ....	47

## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LAS CARACTERÍSTICAS BROMATOLÓGICAS DEL FRUTO TORONCHE
- ANEXO B:** ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL FRUTO TORONCHE
- ANEXO C:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL CONTENIDO DE PH EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA
- ANEXO D:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL CONTENIDO DE ACIDEZ (%) EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA
- ANEXO E:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL CONTENIDO DE SÓLIDOS SOLUBLES (°BRIX) EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA
- ANEXO F:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DENSIDAD (g/cm<sup>3</sup>) EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA
- ANEXO G:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL CONTENIDO DE ALCOHOL (%) EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA
- ANEXO H:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE TURBIDEZ PERMANENTE EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA
- ANEXO I:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE TURBIDEZ FRÍA EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA
- ANEXO J:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE MOHOS Y LEVADURAS EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA
- ANEXO K:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE MESÓFILOS ANAEROBIOS EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA
- ANEXO L:** ANÁLISIS SENSORIAL EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA
- ANEXO M:** ANÁLISIS ECONÓMICO DE LA OBTENCIÓN DE LA ENZIMA PARA APLICACIÓN EN LA CERVEZA ARTESANAL
- ANEXO N:** ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL RENDIMIENTO DE LA OBTENCIÓN DE LÁTEX Y DE LA ENZIMA
- ANEXO O:** SELECCIÓN Y LAVADO DE MATERIA PRIMA
- ANEXO P:** CARACTERIZACIÓN DEL FRUTO TORONCHE
- ANEXO Q:** EXTRACCIÓN DEL LÁTEX DEL FRUTO TORONCHE
- ANEXO R:** PRECIPITACIÓN Y PURIFICACIÓN DE LA ENZIMA DEL FRUTO TORONCHE
- ANEXO S:** ELABORACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL GOLDEN ALE

- ANEXO T:** ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LA CERVEZA ARTESANAL A DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA
- ANEXO U:** ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA CERVEZA ARTESANAL A DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA
- ANEXO V:** ANÁLISIS SENSORIAL DE LA CERVEZA ARTESANAL A DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA
- ANEXO W:** BOLETA DE EVALUACIÓN SENSORIAL DE LA CERVEZA ARTESANAL A DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA

## RESUMEN

El trabajo tuvo como objetivos conocer las características fisicoquímicas del fruto toronche (*Vasconcellea Stipulata*) y determinar el mejor tratamiento de la Cerveza Artesanal tipo Golden Ale utilizando diferentes niveles de (0, 0.5, 1.0, y 1.5 g) de la enzima proteolítica del toronche mismos que fueron realizados en los laboratorios de procesamiento de Alimentos, Bromatología, Ciencias Biológicas y Calidad de Agua de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Para la caracterización fisicoquímica del fruto toronche se aplicó una estadística descriptiva donde se analizó humedad, ceniza, proteína, grasa, fibra, carbohidratos, pH, Acidez y Solidos solubles mientras que para la evaluación fisicoquímica y microbiológica de la cerveza se utilizó 4 repeticiones por tratamiento bajo un Diseño Completamente al Azar con separación de medias por Tukey ( $P < 0,05$ ) mediante el software estadístico Infostat, siendo el tamaño de la unidad experimental de 1250 ml de cerveza y para la evaluación sensorial se utilizó la prueba de ordenamiento o Rating Test mediante una escala hedónica verbal de cinco puntos a evaluadores no entrenados. Los mejores resultados fisicoquímicos se obtuvieron al aplicar 1,5 g de enzima tanto para turbidez permanente con 8,08 NTU como para turbidez fría con 38,3 NTU. En el análisis microbiológico de anaerobios mesófilos, mohos y levaduras de la cerveza no existió diferencias significativas entre los tratamientos. Finalmente, el mejor beneficio económico se obtuvo con el tratamiento 1 (0,5 g) con un costo de producción de \$1,52. Se concluye que, el Tratamiento 3 con 1,5 g responde a las mejores características fisicoquímicas y sensoriales considerándose así el mejor tratamiento ya que a pesar de no tener el mejor beneficio económico este varía apenas con \$0,02 en relación al mejor tratamiento. Se recomienda realizar más investigaciones sobre el fruto toronche y de la capacidad enzimática de su látex.

**Palabras clave:** <FRUTO TORONCHE (*Vasconcellea Stipulata*)>, <ENZIMAS PROTEOLÍTICAS>, <CERVEZA ARTESANAL>, <TURBIDEZ>.

  
D.B.R.A.I.  
Ing. Christian Castillo



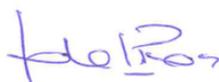
0094-DBRA-UPT-2023

## ABSTRACT

The objectives of this research work were to know the physicochemical characteristics of the toronche fruit (*Vasconcellea Stipulata*) and to determine the best treatment of the Golden Ale Craft Beer using different levels (0, 0.5, 1.0, and 1.5 g) of the proteolytic enzyme of toronche, which were carried out in the laboratories of Food Processing, Bromatology, Biological Sciences and Water Quality of the Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (Chimborazo Superior Polytechnic School). For the physicochemical characterization of the toronche fruit, descriptive statistics were applied to analyze moisture, ash, protein, fat, fiber, carbohydrates, pH, acidity and soluble solids, while for the physicochemical and microbiological evaluation of the beer, 4 replicates per treatment were used under a completely randomized design with Tukey separation of means ( $P < 0,05$ ) using Infostat statistical software, with an experimental unit size of 1250 ml of beer, and for the sensory evaluation, the Rating Test was used using a five-point verbal hedonic scale for untrained evaluators. The best physicochemical results were obtained when applying 1.5 g of enzyme for both permanent turbidity with 8.08 NTU and cold turbidity with 38.3 NTU. In the microbiological analysis of mesophilic anaerobes, molds and yeasts in beer, there were no significant differences between treatments. Finally, the best economic benefit was obtained with treatment 1 (0.5 g) with a production cost of \$1.52. It is concluded that treatment 3 with 1.5 g has the best physicochemical and sensory characteristics and is considered the best treatment because, although it does not have the best economic benefit, it varies only \$0.02 in relation to the best treatment. Further research on the toronche fruit and the enzymatic capacity of its latex is recommended.

**Keywords:** <TORONCHE FRUIT (*Vasconcellea Stipulata*)>, <PROTEOLITE ENZYMES>, <HANDCRAFTED BEER>, <TURBIDITY>.

0094-DBRA-UPT-2023



Dra. Gloria Isabel Escudero Orozco MsC.

0602698904

## INTRODUCCIÓN

El suelo ecuatoriano es una fuente de grandes cantidades de frutas que poseen propiedades nutritivas y funcionales de gran importancia, sin embargo, algunos de estas no se han descubierto y por consiguiente no han sido utilizados en la industria e introducidos en el mercado tal es el caso del fruto toronche (*Vasconcellea stipulata*) que al pertenecer a la familia de las Caricaceae es una buena fuente de enzimas proteolíticas (Espinosa, 2014 citado en Moreano, 2019, p. 31).

(Glibota et al, 2000 citados en Sinche, 2009, p. 37) mencionan que las enzimas proteolíticas en la actualidad son utilizadas en la industria de los fármacos, láctea, cárnica, cervecera, etc. Las cervecerías artesanales han adoptado por el uso de estas enzimas en procesos como germinación o malteado, macerado, cocción, y principalmente para la mitigación de turbidez (Saurina, 2015, pp. 24-47).

(Hornsey, 2003 citado en Ferreyra, 2014, p. 34) estableció que “Las proteínas que sobreviven en la cerveza pueden reaccionar en el almacenamiento con polifenoles dando turbidez que acortará el tiempo de conservación”. Tanto la Hordeína como la albumina, proteínas presentes en la cebada son las que más influyen en la turbidez de la cerveza (Suárez, 2013, p. 30). Al aplicar las enzimas proteolíticas se reduce el tamaño del polipéptido evitando que alcance tamaños fácilmente visibles y así evitar enturbiamiento en la cerveza. Las enzimas principalmente usadas han sido la papaína, pepsina, ficina, bromelaína y proteasas bacterianas (Carbonero, 1975, p. 201).

La investigación busca nuevas alternativas de producción agroindustrial que aporten a la economía del país mediante el aprovechamiento de la gran actividad catalítica de enzimas proteolíticas usándolas como alternativa para clarificación de cerveza artesanal y aprovechar la obtención de las mismas en frutas muy poco conocidas y ofrecer un valor agregado en el mercado.

Por lo expuesto anteriormente se planteó los siguientes objetivos:

- Caracterizar la fruta toronche (*Vasconcellea stipulata*).
- Determinar el mejor tratamiento de la cerveza artesanal utilizando diferentes niveles (0, 0.5, 1.0, y 1.5 g) de la enzima proteolítica del toronche.
- Establecer costos de producción.

## CAPITULO I

### 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 1.1. Toronche

El toronche es una fruta de la familia *Caricaceae* perteneciente al género *Vasconcellea* originaria de las provincias del Oro, Loja y Azuay, con mayor producción en la comuna Cocheccorral con alrededor de 1700 hectáreas de plantaciones con la finalidad de mejorar el fruto e incentivar su producción e industrialización en otras provincias (Gonzaga, 2005 citado en Fernández, 2013, p. 24).

El Fruto toronche o también conocido como siglalón silvestre con nombre científico (*Vasconcellea Stipulata*) o (*Carica Stipulata*) se produce a una altura entre 1.600 y 2.450 msnm y se localiza en su mayor parte en el centro-sur del Ecuador específicamente en la provincia de Loja y Azuay (Badillo,1971 citado por Scheldeman, 2002, p. 67).

(Reinoso, 2016, p. 27) indica que el toronche crece en un climas Tropicales, en lugares húmedos o también en zonas subtropicales y regiones templadas. La temperatura promedio de las zonas en donde se acostumbra a cultivar el toronche entre temperaturas de 15 y 20°C entre día y noche (Camacho, 1982 citado en Fernández, 2013, p. 32).

El Fruto toronche es una baya de forma alargada con secciones pentagonales con aproximadamente 6 cm de ancho por 20 cm de largo y pesa alrededor de los 40-150 g. Cuando el fruto se está desarrollando la cascara es de verde oscuro y cuando alcanza su punto óptimo de madurez es de color amarillo. La pulpa es refrescante y presenta un color cremoso con sabor ligeramente ácido y poco dulce teniendo semejanza a frutas como la piña, la fresa y la naranja (Patiño, 2016 citado en Moreano, 2019, p. 26).

##### ***1.1.1. Propiedades nutricionales del toronche***

De acuerdo a (García - Barriga, 1959 citado por Chalaco, 2021, pp. 24-28) el fruto toronche en estado maduro presenta un 93,5% de agua; 0,7% de proteína; 3,9% de Carbohidratos; 1,2 % de fibra; 0,1 % de grasa y 0,6 % de ceniza. Dentro del contenido de fibra se encuentra aproximadamente 0,70% de fibra insoluble y 0,38% de fibra soluble. La cantidad de minerales presentes es de 21,3 mg, dentro de los cuales se encuentran el calcio con 10 mg; el fósforo con 11 mg y el hierro con 0,3mg. Este fruto es rico en vitamina A, tiamina, Niacina y Vitamina C.

(Viñamahua M. y Sanchez R., 2005, p.47) Indica que del fruto toronche maduro tiene un tamaño de 10 cm de largo y 4,5 cm de ancho. Dentro de las propiedades fisicoquímicas presenta 0,42 % de acidez; pH de 4,4 y 9,6 °Brix.

### **1.1.2. *Látex del fruto toronche***

El látex de las *Vasconcelles* de altura es un líquido lechoso de color blanquecino que se encuentra en hojas, tallo y frutos rica en enzimas proteolíticas tales como la papaína, cuyo grado de pureza y concentración son determinadas por la presencia de bencilglucosinolato, además de esa enzima se encuentran otras de gran importancia como la quimopapaína, la pectina estearasa, invertasa y peroxidasa (Marcillo, 2005 citado en Fernández, 2013, p. 30).

(Scheldeman et, 2003 citado en Sinche, 2009, p. 40) establece que la actividad proteolítica en el látex seco del fruto toronche (*V. Stipulata*) es de 129,4 mU BApNA/mg el cual es muy mayor a comparación con el látex de la papaya (*Carica Papaya*) con 10,4 mU BApNA/mg superando incluso a la actividad proteolítica de otros látex provenientes de diferentes frutos del género *Vasconcellea* como el Babaco (*V. x heilbornii*), *Chrysopetala (V. x heilbornii)*, *V. cundinamarcensis* y *V. Monoica* con valores de 38,1; 127,6; 57,0 y 55,1 mU BApNA/mg respectivamente.

## **1.2. Enzimas**

(Bermudez F. y Lipe R., 2005, pp. 34-35) definen a las enzimas químicamente como proteínas y actúan como biocatalizadores muy potentes y eficaces sobre pequeñas cantidades y se recuperan indefinidamente acelerando reacciones químicas para hacerlas instantáneas o casi instantáneas.

Las enzimas se clasifican en seis grandes clases de acuerdo con el tipo de reacción que catalizan: Oxidorreductasas, Transferasas, Hidrolasas, Liasas, Isomerasas, Ligasas. Las Hidrolasas obtienen monómeros a partir de Polímeros mediante la canalización de hidrolisis. Ejemplos. Glucosidasas, Lipasas, Esterasas y Proteasas (Badui, 2006, pp. 324).

### **1.2.1. *Enzimas proteolíticas***

Las enzimas proteasas, proteinasas o mejor conocidas como proteolíticas pertenecen al grupo de las hidrolasas ya que hidrolizan el enlace peptídico de las proteínas y dan como resultado a péptidos más pequeños y aminoácidos libres. En el mercado actualmente existen proteasas comerciales de origen vegetal, animal y microbianas. La Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (UIBBM) indica que las enzimas proteolíticas reciben el código EC 3.4. El

tres al pertenecer al grupo de las hidrolasas y el número cuatro porque catalizan la ruptura de enlaces peptídicos (Badui, 2006, p. 355).

Según la ubicación del sitio activo en el que hidroliza la enzima proteasa, esta se clasifica en dos: endopeptidasa y exopeptidasa. Las enzimas endopeptidasas se basa en el tipo de residuo del sitio activo (tipos de cisteína, serina, aspártico y meta) y de acuerdo con su mecanismo catalítico se clasifican en: Serino proteinasas (EC 3.4.21.n), Cisteíno proteinasas (EC 3.4.22.n), Aspártico proteinasas (EC 3.4.23.n), Metallo proteinasas (EC 3.4.24.n) (Sinche, 2009, pp. 35-36).

Las enzimas Cisteíno proteinasas (EC 3.4.22.) Se caracterizan por poseer un grupo Cisteíno en su sitio activo y suelen ser activadas mediante el empleo de agentes reductores, como el ácido cianhídrico (HCN) o la cisteína. Se localizan en las vacuolas y en la pared celular de los vegetales que y la de estas enzimas presentan una actividad optima a valores ácidos o neutros de pH (Fischer J, Bec, 2004 citado en Grudkowska M. and Zagdańska B., 2004, p. 2). En la catálisis de las proteasas del tipo Cisteíno se involucra un grupo llamado Tiol, el cual es residuo de la cisteína y el pH óptimo que requiere para su activación es de 3 a 7. Dentro de este grupo se encuentra presente la papaína, enzima que se obtiene de la fruta *Carica papaya* (Jacome, 2015, p. 36).

Este tipo de enzimas se encuentran en las plantas de frutos pertenecientes a las familias de las *Caricaceae* y *Bromeliaceae*; las cuales son de gran importancia industrial como la papaína, la quimopapaína, bromelina y la ficina (Reinoso, 2016, p. 23). Actualmente, se han establecido las secuencias de aminoácidos de más de 50 proteinasas vegetales similares a la papaína (Grudkowska M. and Zagdańska B., 2004, p. 2).

Las enzimas proteolíticas han sido empleadas en procesos agroindustriales como en industria cervecera con la finalidad de solubilizar las proteínas de la cebada liberando péptidos y aminoácidos libres suministrando nitrógeno. Además, son usadas para evitar el enturbiamiento en frío mediante la hidrolisis de los componentes proteicos evitando que exista la formación del precipitado de proteínas-polifenoles (Bhaskar S y Totaram R, 2010).

Para la precipitación y purificación de enzimas proteolíticas se emplea sales las cuales según (Harris y Angal, 1995 citado en Rojas, 2009, pp. 19-20) estabilizan las proteínas contra la desnaturalización, proteólisis y la contaminación bacteriana facilitando la separación de las mismas. La mejor sal para precipitar proteínas es el sulfato de amonio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

### ***1.2.2. Enzimas proteolíticas del fruto toronche***

(Kyndt et al., 2007 citado en Hernández, 2009, pp. 75-76) mostraron que el látex del toronche (*Vasconcellea Stipulata*) posee características típicas de las proteasas cisteínicas (papaín-like) y mediante un análisis fitogenético indicó que existen en esta especie varias proteasas homologas a la papaína y otras a la quimopapaína. Por otra parte, (Scheldeman, 2002, p. 25) en sus estudios con especies del género *Vasconcellea* demostró que el látex de la especie *Vasconcellea stipulata* (toronche) tiene una actividad proteolítica de 17 veces más que el látex de la papaya (*Carica Papaya*). Sin embargo, no existe mayor investigación que caracterice a las enzimas proteolíticas presentes en este fruto.

(Viñamahua M. y Sanchez R., 2005, p. 63) al realizar un secado por liofilizado del látex afirmó que la actividad enzimática de la *Vasconcellea stipulata* obtuvo un valor de 61281,00 USP/mg. Este resultado fue mucho mayor en comparación a la actividad enzimática de la papaína extraída de la carica papaya con 33766,12 USP/mg y a las enzimas de otras frutas de mismo género de las *Vasconcellea*.

### **1.3. Cerveza**

Por otra parte, el (NTE INEN 2262:2013) denomina a la cerveza como una bebida producto de un proceso de fermentación natural con bajo grado de alcohol donde se usa levadura cervecera proveniente de un cultivo puro en un mosto obtenido a partir de agua de características fisicoquímicas y bacteriológicas apropiadas, cebada malteada sola o mezclada con adjuntos, con adición de lúpulo y/o sus derivados.

#### **1.3.1. Tipos de cerveza de acuerdo a su producción**

##### *1.3.1.1. Cerveza industrial*

La producción de la cerveza industrial usa formulaciones simples y que su proceso sea económico por tal motivo utilizan maquinaria de gran capacidad con la finalidad de producir grandes cantidades de cerveza en el menor tiempo posible. Además, en algunos casos se añaden aditivos y coadyuvantes que optimicen los procesos de producción y estos se incorporan ya sea en mosto o después de la filtración (Tintó, F. Sánchez, J.M. Vidal, P. Vijan, 2004 citado en Martínez, 2015, p. 12).

Al realizarse en estas condiciones la cerveza industrial posee características que la distinguen las cuales son: tener poco sabor, es consumida a temperaturas bajas y por lo general es producida por empresas multinacionales (Webb y Beaumont, 2013 citado en Llanos, 2020, p. 14)

### *1.3.1.2. Cerveza artesanal*

La cerveza artesanal es un producto fermentado fabricado por artesanos donde la práctica y el conocimiento del artesano son importantes en el proceso de elaboración (Gómez, 2014). La Asociación Española de Cerveceros Artesanos Independientes (AECAI) indica que cerveza artesanal ofrece calidad, diversidad y atención personal que destaca por su sabor, olor, textura y color destacado por sus bajos precios sin restricción en sabores y publicidad. La producción de los cerveceros artesanos no supera los 5.000.000 litros anuales (Ibericas, 2021).

(Martínez, 2015, p. 13) señala que en el procesamiento de la cerveza artesanal se produce una segunda fermentación en botella donde la levadura presente aprovecha parte de los sólidos restantes para fermentar consiguiendo dar a la cerveza de gas carbónico y etanol lo que ocasiona cervezas más fuertes, con mejor espuma y con mayor porcentaje alcohólico que las cervezas industriales.

### **1.3.2. Tipos de cerveza según su tipo de fermentación**

#### *1.3.2.1. Cervezas de fermentación baja.*

Las cervezas de fermentación baja son conocidas como cervezas lager fermentada con una levadura que se activa a bajas temperaturas en la parte baja del fermentador a la cual se la hace madurar a 0°C por un tiempo de 2 a 6 meses (Peralta, 2013, p. 20). Dentro de las cervezas de fermentación baja se encuentran algunas como: Cerveza Pilsen, Cerveza Dortmund, Munich, y Weiss (Okafor, 2007, p. 258).

Además, (BEQBE, 2015 citado por (Alburqueque et al., 2018, p. 37) indica que para la obtención de cervezas tipo lager se realiza a condiciones entre 6 y 10° C con una fermentación de 8 a 10 días.

#### *1.3.2.2. Cervezas de fermentación alta.*

Las cervezas de fermentación alta son conocidas como cervezas tipo Ale donde se utilizan levaduras de fermentación alta las cuales se caracterizan por ser pálidas u oscuras, algunas son de mucho o poco cuerpo; de alta o baja graduación alcohólica y más o menos amargas. Dependiendo del tipo de malta y lúpulo utilizado (Peralta, 2013).

Las cervezas de alta fermentación se elaboran con cepas de *Saccharomyces cerevisiae*. y se clasifican en: Ale, Porter y Stout (Okafor, 2007, p. 259). La fermentación alta tiene una duración de 4

a 6 días a temperaturas entre 18 y 25° obteniendo así cervezas tipo Ale (BEQBE, 2015 citado por (Heeddy Alburqueque et al., 2018, p. 37).

La cerveza tipo Ale es una cerveza pálida con un contenido alcohólico de 4.0 a 8.0%. Tiene un alto amargor debido a que se usa gran cantidad de lúpulos las cuales se agregan durante o en algunos casos después de la fermentación y además tiene un sabor ácido fuerte y un aroma a vino debido a su alto contenido en ésteres (Okafor, 2007, p. 259).

### **1.3.3. Materia Prima de la cerveza artesanal**

La cebada (*Hordeum vulgare*): es una planta de la familia de las gramíneas cuyo grano es el más utilizado en la elaboración de cerveza debido a su alto contenido de almidón y a las proteínas suficientes necesarios para el crecimiento de la levadura (Vogel, 2003 citado en Verdú, 2004, p. 26)

La cebada malteada: según las Normas Técnicas Ecuatorianas (NTE INEN 2262:2013) la define como un producto que se obtiene del grano de cebada después de un proceso controlado de germinación, secado y tostado para luego ser usado en la elaboración de cerveza.

Agua: Una cantidad de agua estimada es usada en la cerveza y otra es utilizada en la limpieza de materiales y equipos. Según (Saurina, 2015, p. 24) indica que las fábricas de cerveza usan agua potable en un promedio que varía de entre 4 a 6 hl por cada hl de cerveza cuyo pH debe oscilar entre 6,5 y 8,5 con una dureza total entre el rango 150 y 500 ppm de CaCO<sub>3</sub>.

Lúpulo: La (NTE INEN 2262:2013) define al lúpulo como un producto que se obtiene en forma natural o en forma de extracto de la planta *Humulus lupulus*, el cual es el responsable de dar amargor y aroma de la cerveza.

Levaduras: Son hongos microscópicos que mediante el desdoblamiento de los azúcares procedentes de la malta producen alcohol y CO<sub>2</sub>. El proceso de fermentación alcohólica siempre se producirá en ausencia de oxígeno. La *Saccharomyces cerevisiae* tiene una temperatura de crecimiento óptimo que oscila en un rango templado de 15 °C a 22 °C. Esta levadura es la más utilizada en la fabricación de cerveza. Por el contrario, la *Saccharomyces pastorianus*. es un híbrido proveniente de la *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces bayanus* cuyo proceso de fermentación se puede dar al someter a esta levadura a los 9 °C aproximadamente (Verdú, 2004, pp. 27-28).

Adjuntos Cerveceros: (NTE INEN 2262:2013) define a los adjuntos cerveceros como ingredientes

malteados o no malteados que pueden ser crudos y modificados como jarabes o azúcares obtenidos a partir de una fuente de almidón y que se añaden sustituyendo parcialmente a la malta.

#### **1.3.4. Características fisicoquímicas de la Cerveza Artesanal Golden Ale**

Según la (NTE INEN 2262:2013) los requisitos fisicoquímicos que debe cumplir una cerveza son el contenido alcohólico con un rango de 1,0 a 10,0 % (v/v); acidez total expresado como ácido láctico con un máximo de 0,3 % (m/m); Carbonatación con valores de 2,2 a 3,5 volúmenes de CO<sub>2</sub> y pH con valores que oscilen entre 3,5 y 4,8.

Según el Programa de Certificación de Jueces de Cerveza (BJCP, 2015, p. 52) en la guía de estilos de cerveza artesanal indica que la Golden Ale es un tipo de cerveza Americana Rubia (Blonde Ale) fácil de beber, bien balanceada y limpia. No presenta sabores agresivos ya que está orientada a la malta, con notas frutales. Presenta un color de amarillento a dorado profundo. Este tipo de cerveza debe cumplir con un amargor de 15-28 IBUs, con color de 3-6 SRM, una densidad inicial del mosto de OG: 1.038-1.054 g/cm<sup>3</sup>, una densidad final del producto fermentado con FG: 1.008-1.013 G/cm<sup>3</sup> y un contenido de alcohol ABV de 3,8%-5,5%.

(Alvarez, 2020, p. 65) en su proyecto de investigación realizó el análisis de los parámetros fisicoquímicos en Cerveza Artesanal Tipo Golden Ale elaborada con cebada y arroz donde determinó 4,26% (v/v) de alcohol a 20° C, 0,3% de acidez total, expresada como ácido láctico y un pH de 4,32. Sin embargo, (Paredes, 2017, p. 14) en su estudio de mejorar la extracción de azúcares y características de calidad durante la maceración en cervezas Golden Ale o Blonde Ale obtuvo 6,5% de alcohol. (González, 2013) realizó el tipo de cerveza Golden Ale con malta base y amaranto donde señaló que en la cerveza realizada de manera convencional presentó 3 °Brix, una densidad de 0,859 g/cm<sup>3</sup>, 0,143 moles de glucosa y un contenido alcohólico de 3,35% de alcohol.

Por otra parte, las características fisicoquímicas de otros tipos de cerveza artesanal similares a la Golden Ale son los expresados por (Guaranda, 2021, p. 46) quien al realizar una investigación sobre el efecto floculante del gel de cadillo en una cerveza artesanal tipo Pale Ale obtuvo valores de 5,3 a 5,4% de alcohol, 0,3% de acidez total expresado como ácido láctico, 4,21 a 4,40 de pH y una turbidez permanente de 27,07 NTU al aplicar 5% de gel de cadillo. Al igual que (Villegas, 2013, p. 68) en su proyecto de reingeniería de una planta de cerveza artesanal obtuvo valores en cerveza tipo Ale de pH entre 3,58 y 6,00; turbiedad permanente de 1,50 a 5,00 NTU; y 5,50 a 7,50% (v/v) de alcohol.

#### 1.3.4.1. Densidad

La densidad medida del mosto antes de la fermentación influye en la cantidad de alcohol que se desea obtener en la cerveza. Una densidad específica que oscile entre 1,050 a 1,060 quiere decir que de acuerdo al grado de amargor expresado en IBU se establece que es una cerveza equilibrada con cierta maltosidad de masa volumétrica (Álvarez, 2020, p. 45).

Para medir la densidad se requiere conocer los dos términos primordiales, la primera es la masa volumétrica o también llamada densidad absoluta la cual es la masa de la cerveza o el mosto expresada por unidad de volumen ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ) y la segunda es la densidad relativa también llamada densidad específica la cual es la masa volumétrica del mosto o de la cerveza en comparación a la masa volumétrica del agua a las mismas condiciones de temperatura y presión. El BOE indica el método adecuado y aprobado para determinar pH es el método potenciométrico y para el análisis de densidad inicial recomienda el método analítico de densimetría (Álvarez, 2020, p. 45).

#### 1.3.4.2. Turbidez

La turbidez se mide en unidades NTU (Unidad de Turbidez Nefelométrica) o FTU (Unidad de Turbidez de la Formazina) y se determina de acuerdo con la presencia de partículas en suspensión en el líquido. La cantidad está influida por el nivel de filtrado al que se ha sometido la cerveza (Álvarez, 2020, p. 49).

Además, (Álvarez, 2020, p. 50) indica que la turbidez se mide en base a los siguientes estándares: EBC (Convención Europea de Cervecería), ASBC (Sociedad Estadounidense de Químicos Cerveceros) y FNU (Unidad nefelométrica de Formazina).

**Tabla 1-1:** Conversión de unidades de medición de Turbidez.

	1 EBC	1 NTU/FNU	1 ASBC
EBC	1	0,25	0,014
NTU/FNU	4	1	0,057
ASBC	70	17,5	1

Fuente: Hach be Right, 2017.

**EBC:** Convención Europea de Cervecería.

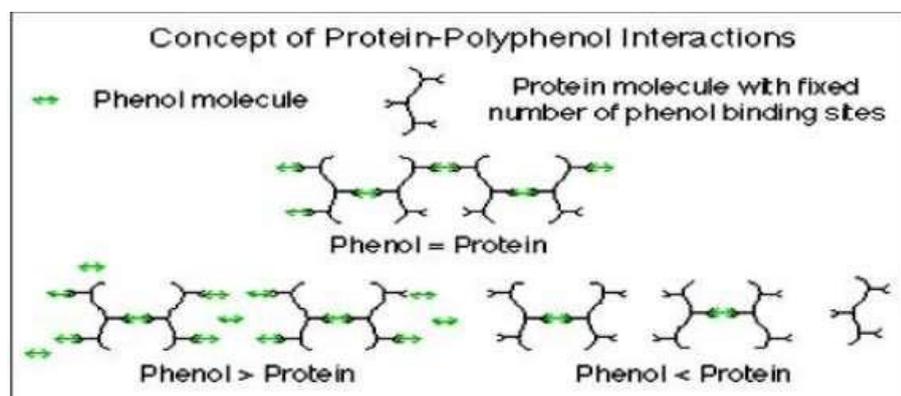
**NTU/FNU:** Unidad nefelométrica de turbidez/ Unidad nefelométrica de Formazina.

**ASBC:** Sociedad Estadounidense de Químicos Cerveceros.

(Wang, Y and Lingzhen Ye, 2021) demostró que la turbidez es una característica indeseable principalmente en la cerveza artesanal. La turbidez de cerveza se puede dar por dos formas: La turbidez biológica ocasionada por bacterias silvestres o levaduras debido a la falta de higiene

durante el procesamiento y almacenamiento de la cerveza, pero esto se puede evitar o reducir. Por el contrario, la turbidez no biológica es causada por las sustancias moleculares grandes en la cerveza, como la dextrina, el  $\beta$ -glucano, las proteínas y los polifenoles, etc. Tan solo 2 mg/l de proteína es suficiente para producir una turbidez de 1 unidad de EBC en la cerveza. Además, mostro que los tres tipos de proteínas de la cebada que ocasionan turbidez son la Hordeína, albúmina y globulina donde la Hordeína produjo mayor enturbiamiento. La Hordeína, es la principal proteína que se encuentra presente en la cebada. Las prolina son los aminoácidos que derivan de esta proteína. Este aminoácido es el responsable de producir la turbidez, por lo tanto, para que se forme turbidez debe existir proteínas ricas en prolina, mientras que las proteínas que carecen de la prolina no forman turbidez (Siebert et al., 1996 citado en Rodríguez, 2003, pp. 30-32).

En el Gráfico 1-1, se muestra que las proteínas poseen un número determinado de sitios de unión a los polifenoles. Se presentan complejos proteína-polifenol grandes si la cantidad de puentes de unión de polifenoles es igual que la cantidad de sitios de anclaje a las proteínas produciendo turbidez debido al desarrollo de una red tan grande, correspondiente a partículas coloidales grandes y máxima dispersión de luz. Mientras que si existe baja concentración de proteína no se formarán los puentes de unión entre las proteínas y polifenoles dando como resultado la producción de complejos de menor tamaño y por ende no existirá turbidez o será lo más mínimo posible (Siebert et al., 1996 citado en Rodríguez, 2003, p. 31).

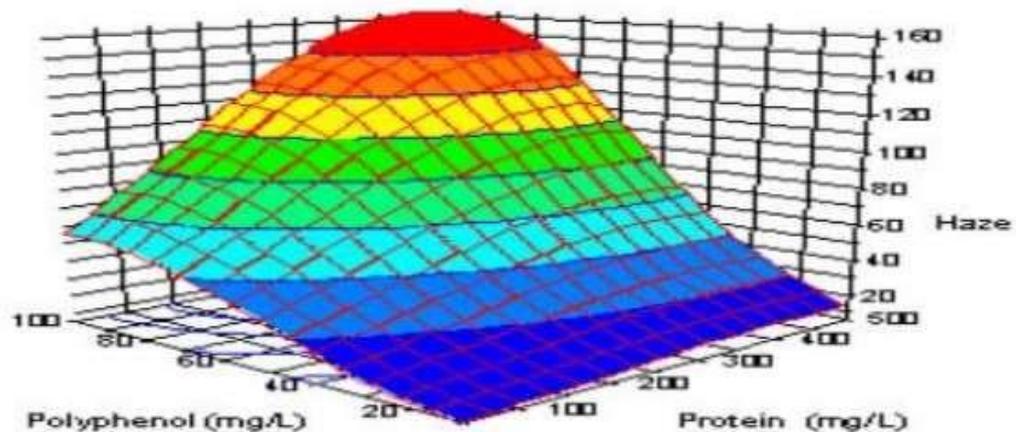


**Gráfico 1-1:** Interacción proteína-polifenol

Fuente: (Siebert, 1999 citando en (Rodríguez, 2003, pp. 30-32)

En el Gráfico 2-1 se observa la relación entre la concentración proteína-polifenol para la formación de turbidez donde muestra que, si existe una mayor concentración de proteína, esta interactuará con los polifenoles incrementando la turbidez, si existe carencia de concentración proteína no existirá una interacción alta con los polifenoles y por ende la turbidez será baja (Siebert

et al., 1996 citado en Rodríguez, 2003, p. 32).



**Gráfico 2-1:** Relación concentraciones de proteína y polifenol para formar turbidez.

Fuente: Siebert, 1999 citando en Rodríguez, 2003, pp. 30-32

Según (Meilgaard, 1977 citado en Rodríguez, 2003, p. 32) el promedio de Turbidez de cerveza es de 20 (FTU) y además indica que puede oscilar entre 10 y 50 FTU, o también expresado como un valor menor a 0,5 ° EBC en el producto terminado.

Para determinar turbidez hay que considerar dos parámetros importantes:

- Turbidez permanente:

Es la turbidez que presenta la cerveza al someterla a temperatura ambiente a 20 °C. Este tipo de turbidez desaparece al someter a la cerveza a 70°C, pero reaparece cuando baja de esa temperatura (Álvarez, 2020, p. 65). Las partículas que existen en la cerveza con turbidez permanente tienen un tamaño que oscilaban entre 1 a 10 µm de diámetro (Wang, Y and Lingzhen Ye, 2021).

En el estudio de (Cortés, 2017, p. 44) se demostró que la turbidez permanente de una cerveza artesanal tipo Golden Ale fue de 24,85 NTU. Por el contrario, la Organización (HACH, 2017), reporta que una cerveza industrial Amber Ale tiene una turbidez Permanente de 2,55 NTU. (Posada, 1995 citado en Cortés, 2017, p. 44) señala que para cervezas industriales la turbidez permanente debe estar por debajo de los 2 NTU;

La turbidez en cervezas artesanales es más elevada según lo mencionado por (Martínez, 2015, p. 13) donde señala que al ser cervezas elaboradas artesanalmente no se aplica ningún sistema de filtro mecánico con la finalidad de producir cervezas más cristalinas en comparación con las cervezas

industriales donde estas sufren un proceso de filtrado químico y mecánico eliminando la mayor parte de levadura y partículas en suspensión, originando cervezas más claras.

- Turbidez fría:

Es la temperatura a la cual la muestra se encuentra en temperatura de 0° C o inferior (Álvarez, 2020, p. 65). Por el contrario, el tamaño de las partículas de la turbidez en frío están entre 0,1 y 1,0 µm de diámetro. Este tipo de turbidez se vuelve a disolver cuando la cerveza se calienta a 20 °C o más (Wang, Y and Lingzhen Ye, 2021).

(Smith, 2018) En su investigación donde analizó la influencia de la concentración de la enzima bromelina en la clarificación de cerveza artesanal tipo Pale Ale en cantidades de 0,89 g; 1,33 g y 1,77 g donde obtuvo valores de 49,82, 45,31 y 44,77 NTU respectivamente (Mendoza, 2021, p. 39).

La Turbidez fría es fácil de eliminar o reducir cuando la cerveza se somete a temperaturas altas produciendo la ruptura de los enlaces de hidrógeno entre los polímeros de proteína-polifenol disolviendo la turbidez de forma parcial o totalmente. Cuando los polímeros de proteína-polifenol terminan de romperse la turbidez se vuelve permanente (Wang, Y and Lingzhen Ye, 2021)

**Tabla 2-1:** Muestras de cerveza y su nivel de turbidez.

Muestra de cerveza	Turbidez total	Turbidez Permanente	Turbidez fría
Pilsen	13,5 NTU	5,48 NTU	8,02 NTU
Amber Ale	59,3 NTU	2,55 NTU	56,8 NTU
Porter	84,1 NTU	8,04 NTU	76,1 NTU
Stout	31,9 NTU	14,1 NTU	17,8 NTU

Fuente: Hach be Right, 2017.

NTU: Unidad nefelométrica de turbidez/ Unidad nefelométrica de Formazina.

En la siguiente tabla se indica el grado de turbidez correspondiente con las escalas EBC, ASBC y NTU.

**Tabla 3-1:** Grado de turbidez según escalas.

GRADO	EBC	ASBC	FNU/NTU
BRILLANTE	0,0 a 0,5	0,0 a 34,5	0,0 a 2,0
CASI BRILLANTE	0,5 a 1,0	34,5 a 69	2,0 a 4,0
MUY LIGERAMENTE TURBIO	1,0 a 2,0	69 a 138	4,0-8,0
LIGERAMENTE TURBIO	2,0 a 4,0	138 a 276	8,0 a 16,0
TURBIO	4,0 a 80	276 a 552	16,0 a 32,0
MUY TURBIO	>8,0	> 552	>32,0

Fuente: ASBC (American Society of Brewing Chemists).

Realizado por: Álvarez, 2020, p. 50.

EBC: Convención Europea de Cervecería.

NTU/FNU: Unidad nefelométrica de turbidez/ Unidad nefelométrica de Formazina.

ASBC: Sociedad Estadounidense de Químicos Cerveceros.

Normalmente las cervezas artesanales tienen una turbidez mayor que las industriales. Esto se debe a que la aplicación de las distintas técnicas de filtrado es menor o menos eficiente que en cervecería industrial.

La Turbidez fría es fácil de eliminar o reducir cuando la cerveza se somete a temperaturas altas produciendo la ruptura de los enlaces de hidrógeno entre los polímeros de proteína-polifenol disolviendo la turbidez de forma parcial o totalmente. Cuando los polímeros de proteína-polifenol terminan de romperse la turbidez se vuelve permanente (Wang, Y and Lingzhen Ye, 2021).

### 1.3.5. Características microbiológicas de la cerveza

En cuanto a los requisitos microbiológicos según la (NTE INEN 2262:2013) una cerveza pasteurizada debe cumplir con un máximo de 10 UFC/cm<sup>3</sup> de Microorganismos Anaerobios mesófilos y con un máximo 10 UP/cm<sup>3</sup> de Mohos y levaduras. Por otra parte, la norma técnica nicaragüense (NTON 03:038-06) establece que la cerveza pasteurizada o no debe tener un recuento máximo de 100 ufc/cm<sup>3</sup> de mesófilos anaerobios y 20 ufc/cm<sup>3</sup> de mohos y levaduras.

(Guaranda, 2021, p. 48) en su estudio realizó el conteo de microorganismos anaerobios mesófilos, de mohos y levaduras en cerveza Tipo Pale Ale clarificada con gel de cadillo donde obtuvo valores de 5 a 9 ufc/cm<sup>3</sup> de anaerobios mesófilos y de 25 a 46 ufc/cm<sup>3</sup>. (Alvarez, 2020, p. 66) en su proyecto de investigación realizó el análisis de los parámetros microbiológicos en Cerveza Artesanal Tipo Golden Ale elaborada con cebada y arroz donde cuantificó  $1.1 \times 10^3$  ufc/cm<sup>3</sup> de microorganismos anaerobios y <1,0 ufc/cm<sup>3</sup> de Mohos y Levaduras.

## **1.4. Clarificación de cerveza**

### ***1.4.1. Clarificación industrial***

(Hough, 1990, pp. 167-168) indica que en la industria cervecera se utiliza hoy en día un sin número de filtros de diversos materiales con la finalidad de eliminar residuos floculantes e incluso para garantizar la eliminación microbiana. Entre los cuales tenemos a los siguientes: Filtro de membrana, Fibras de celulosa, Laminas filtrantes, Tierra de diatomeas o kieselgur, etc.

### ***1.4.2. Clarificación artesanal***

En la clarificación de la cerveza se somete a filtrado con la finalidad de obtener el máximo extracto de azúcares posibles y además obtener la mínima turbidez posible. El filtrado se da mediante el uso de telas o filtros de nylon y se lo realiza de manera repetitivo y constante. El filtrado se realiza con el fin de obtener dos cosas la primera la clarificación del mosto ya que mientras más claro mejor será la cerveza y la segunda es aprovechar todos los azúcares posibles que pueden quedar en el cascajo. Eso de lo debe hacer las veces que sean necesarias (Beerland Store, 2022).

Al ser un proceso realizado a mano y con equipos poco tecnológico además de un filtrado básico se emplea el uso de clarificantes de origen natural o sintético con la finalidad de mejorar la turbidez de la cerveza. Para las microcervecías, los cambios en la técnica de filtrado pueden cambiar el grado de eliminación generando la reformulación de recetas probadas. Para lo cual se va por la adición de agentes clarificantes como la gelatina o PVPP (Ray, 1998, p. 150).

(Palmer, 1999, p. 78) Establece que “los agentes clarificantes, tal como el Isinglass (vejiga de pescado), Polyclar (polvo plástico) y la gelatina, se agregan al fermentador para acelerar el proceso de floculación y promover el asentamiento de los sedimentos de proteínas y taninos”.

## **1.5. Clarificantes usados para solucionar turbidez de cerveza**

A continuación, se describen algunos de los más importantes:

### ***1.5.1. Clarificantes de origen vegetal y animal***

*La Irish Moss* o también llamado cartagenina o carragenato el cual es elaborado a partir de un alga originario de Irlanda que actúa aglutinando y enlazándose a las cargas positivas de las

moléculas proteicas suspendidas generando su precipitación. Es considerado como clarificante de olla porque se lo añade en los últimos 15 minutos de cocción. Se dosifica de 0,10 a 0,15 gramos por litro de mosto (González, 2017, p. 135).

Sin embargo (Badui, 2006, p. 105) señala que existen ciertas restricciones en el uso comercial de la carragenina, ya que en algunos estudios han demostrado que causan úlceras en el intestino de cuyos y conejos, y colitis en ratas si su peso molecular es menor a 20,000 dáltones. Sin embargo, no se han comprobado reacciones semejantes en el ser humano y su presunto efecto tóxico no está totalmente aclarado, pero se sigue investigando para lograr una conclusión más precisa. (Valle, 2000, p. 172) indica que la carragenina forma complejos con las mucoproteínas presentes en la pared interna del intestino dejando expuesta a su capa mucosa a la acción de sustancias agresoras provenientes de las bacterias.

(González, 2017, pp. 135-136) menciona que la Isinglass o cola de pez es un subproducto del colágeno obtenido a partir de la vejiga de algunos peces. Es más efectivo en la precipitación de las células de levadura. Es considerado clarificante de fermentador, ya se agrega al final del proceso fermentativo. Se puede utilizar de 0,05 a 0,07 gramos por cada litro de mosto.

### ***1.5.2. Clarificantes sintéticos***

El Polyclar es un polímero sintético llamado polivinilpolipirrolidona o PVPP, el cual es especialmente efectivo contra el enturbiamiento por frío. Actúa enlazándose mediante puentes de hidrógeno a los polifenoles (taninos), de esa forma impiden la combinación con las proteínas. Es un clarificante de botella, ya que lo agregan a la cerveza terminada antes del embotellado, sin embargo, no se recomienda añadir directamente a la botella carbonatada. Se añade y disuelto en agua al menos una hora antes de agregarlo al producto. Su dosis de empleo es de 0,05 a 0,40 gramos por litro de cerveza (González, 2017, p. 136). En el sitio web (Ashland, 2020) se señala que la cantidad exacta de Polyclar depende de las materias primas utilizadas para la elaboración de la cerveza, las condiciones del proceso y el requisito de vida útil. La dosis se encuentra entre 10 y 20 g / hl (normalmente 15 g / hl).

Las Bentonitas son minerales de origen volcánico efectivas contra los turbios proteicos y se emplean en cantidades hasta de 10 g por 10 litros con un límite de 50 g (Gisbert, 2003).

### ***1.5.3. Clarificantes de origen enzimático***

(González, 2017, p. 117) menciona que las enzimas encargadas de la eliminación de la turbidez en la

cerveza son las proteasas las cuales degradan las proteínas y permiten obtener cervezas más transparentes y ejerce su mayor acción dentro del rango 45 a 57 °C por unos 15 a 30 minutos. Estas enzimas tienen un pH óptimo de 4,6 a 5,3 (Wagner, 2009). Sin embargo, para su actividad pueden acoplarse a pH de 4.5 a 10 (Villegas, 2013, p 41). A estas condiciones ocurre la ruptura de las grandes cadenas polipeptídicas que producen turbiedad y además existe la liberación de nitrógeno el cual es asimilable por la levadura. Se utilizan enzimas proteolíticas para evitar turbiedad reduciendo el tamaño del polipéptido y evitar que los agregados alcancen tamaños visibles (Carbonero, 1975, p. 201).

(Gomaa, 2018, p. 4) señala que los productos de la descomposición de la acción proteolítica son aminoácidos y pequeños péptidos conocidos como FAN (amino nitrógeno libre) los cuales satisfacen a la levadura de una buena disponibilidad de nutrientes que desarrolla buenas condiciones para su crecimiento haciendo que el proceso de fermentación sea eficiente y como resultado se dé el incremento en el contenido alcohólico.

La bromelina (EC 3.4.22.4) es una enzima proteasa con un peso molecular de 33,000 Da y un pH óptimo de 5 a 8. Se la obtiene de los tallos pulverizados de la piña. Es considerado como una glucoproteína puesto a que contiene manosa, xilosa, fucosa y N-acetil-D-glucosamina (Badui, 2006). Posee un rango de temperatura ideal de 50-70°C adecuado para una aplicación de procesamiento de alimentos (Amid et al., 2011 citado en Gomaa, 2018, p. 4).

La Ficina es un enzima cuya dosis de este tipo de enzimas resiste el frío, pero difieren según la fuente de la enzima y el sustrato utilizado, sin embargo, la dosis común para la elaboración de cerveza industrial esta entre 1 a 2 gramos por hectolitro de cerveza y se lo puede aplicar ya sea en los recipientes de almacenamiento o antes de la filtración de la cerveza (Lyven.com, 2016 citado en Gomaa, 2018, p. 4).

La papaína (EC 3.4.22.2) se obtiene del látex de la papaya la cual es una proteasa no muy específica con una concentración aproximada del 10%, un peso molecular de 21 000 Da. Además, esta enzima tiene tres puentes disulfuro con un pH óptimo de 6.5 a 7.8. La enzima papaína puede ser aplicada durante la fase de maduración de la cerveza o se puede aplicar a la cerveza ya filtrada. En la industria cervecera se utilizan en dosis de 0,5 a 1 gramos por cada 100 litros en la fase de maduración y entre 1 y 1,5 gramos por cada 100 litros en la cerveza filtrada (Badui, 2006 citado en Flores, 2019).

## CAPITULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Localización y duración del experimento

El trabajo experimental se realizó en los laboratorios de procesamiento de alimentos, Bromatología, Ciencias Biológicas y Calidad de Agua pertenecientes a las Facultades de Ciencias Pecuarias y Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicada en la Panamericana Sur km 1 ½ en la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo-Ecuador. La investigación tuvo una duración de 120 días.

**Tabla 1-2:** Condiciones meteorológicas de la ciudad de Riobamba.

INDICADORES	PROMEDIO Mensual 2022 (noviembre)
Temperatura (°C).	13,8
Precipitación (mm/mes).	0,2
Humedad relativa (%).	63,3%
Viento / velocidad (m/s).	1,4
Heliofanía (hora/mes)	6,7
Presión atmosférica (mm hg)	542,6

Fuente: Estación Meteorológica, ESPOCH, 2022, p.9.

#### 2.2. Unidades experimentales

Para el desarrollo de la presente investigación se realizó 16 unidades experimentales de 1250 ml de mosto, dando un total de 20000 ml de cerveza artesanal. Para la obtención de la enzima proteolítica se utilizó 25 kg del fruto toronche en estado verde.

#### 2.3. Materiales, equipos, reactivos e instalaciones

Los materiales, equipos e instalaciones que se utilizarán en la presente investigación son:

##### 2.3.1. *Materiales*

- Recipientes de plástico

- Bisturí
- Vasos de precipitación
- Matraces Erlenmeyer
- Probetas
- Crisoles de porcelana
- Espátula
- Pinzas
- Papel Parafilm
- Algodón
- Pipeta
- Mortero y pistilo
- Fundas ziploc
- Tanque de nitrógeno
- Airlock.
- Botellas
- Tarros
- Filtro o filtrador.
- ollas grandes.
- Tapón o corcho.
- Cucharas, cucharones.
- Fósforos.
- Cernideros.
- auto sifón.
- Silicón
- Mandil
- Cofia
- Guantes
- Botas
- Mascarilla
- Cuaderno para apuntes
- Esferos y marcadores
- Hojas papel bond
- Laptop
- Calculadora
- Materia prima para obtención de enzimas (fruto toronche)

- Materia prima para la obtención de cerveza (malta, lúpulos, levadura, agua)

### **2.3.2. Equipos**

- Estufa
- Mufla
- Balanza analítica
- Balanza gramera
- Equipo de determinación de proteína (Macro Kjeldahl)
- Equipo extractor de grasa (soxhlet)
- Equipo extractor de fibra (Weende)
- Centrifuga
- Autoclave
- Liofilizador
- Congelador
- Molino
- Cocina.
- Cronometro
- Termómetro
- pH-metro
- Balanza.
- Densímetro.
- Refractómetro
- Mesa de trabajo
- Biorreactor
- Alcoholímetro
- Turbidímetro

### **2.3.3. Reactivos**

- Etanol 96%
- Sulfato de Amonio
- Cloruro de sodio
- Hexano
- Alcohol amílico

- Ácido sulfúrico
- Sulfato de sodio
- Sulfato de cobre
- Granallas de zinc
- Hidróxido de sodio
- Ácido bórico
- Ácido clorhídrico
- Agua destilada
- Sorbato de sodio

#### 2.3.4. *Instalaciones*

- Laboratorios de Procesamiento de alimentos, ciencias biológicas y bromatología y nutrición animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Laboratorio de Calidad de Agua y Suelos de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

#### 2.4. **Tratamiento y diseño experimental**

La presente investigación utilizó cuatro tratamientos que corresponden a (0; 0,5; 1,0; y 1,5 g) de enzima proteolítica del fruto *Vasconcellea Stipulata* (toronche), con cuatro repeticiones por cada tratamiento. Las unidades experimentales serán modeladas bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA), que se ajustarán al siguiente modelo lineal aditivo.

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Dónde

$Y_{ij}$  = Valor del parámetro en determinación.

$\mu$  = Efecto de la media por observación.

$\alpha_i$  = Efecto de los tratamientos.

$\epsilon_{ij}$  = Efecto del error experimental.

**Tabla 2-2:** Esquema del experimento de la evaluación de la cerveza artesanal.

TRATAMIENTO	CODIGO	REPETICIONES	T.U.E(ml)	TOTAL	
				ml/tratamiento	
0 g (sin enzima)	T0	4	1250	5000	
0,5 g (enzima)	T1	4	1250	5000	
1,0 g (enzima)	T2	4	1250	5000	
1,5 g (enzima)	T3	4	1250	5000	
<b>Total, ml de cerveza artesanal</b>				20000	ml

T.U.E: Tamaño de la Unidad Experimental.

Realizado por: Carrera C, 2022.

## 2.5. Mediciones experimentales

Las mediciones experimentales que se consideraron en esta investigación son:

### 2.5.1. Características fisicoquímicas del fruto toronche

- Proteína
- Carbohidratos
- Grasa
- Fibra
- pH
- Humedad
- Ceniza
- Acidez
- Grados Brix

### 2.5.2. Características fisicoquímicas de la cerveza.

- Sólidos solubles
- pH
- Acidez
- Densidad
- Contenido alcohólico
- Turbidez

### 2.5.3. *Características microbiológicas de la cerveza.*

- Microorganismos anaerobios
- Mohos y Levaduras

### 2.5.4. *Características sensoriales de la cerveza.*

- Apariencia
- Sabor
- Olor
- Color

### 2.5.5. *Evaluación Económica*

- Costos de producción

## 2.6. **Análisis estadísticos y pruebas de significancia**

Los resultados fueron evaluados mediante las siguientes pruebas estadísticas:

- Estadística Descriptiva
- Análisis de varianza para las diferencias (ADEVA)
- Separación de medias con la prueba estadística TUKEY con nivel de significancia 5%.
- Prueba sensorial se realizará evaluación en escala hedónica de aceptabilidad mediante un Rating Test (Wittig 1981).

### 2.6.1. *Esquema del ADEVA*

**Tabla 3-2:** Esquema del análisis de varianza para la cerveza artesanal.

ADEVA		
FV		GL
<b>Total</b>	(n-1)	15
<b>Tratamiento</b>	(t-1)	3
<b>Error</b>	(n-1)-(t-1)	12

Realizado por: Carrera C, 2022.

## 2.7. **Procedimiento experimental**

### **2.7.1. Obtención de enzima proteolítica del toronche**

#### *2.7.1.1. Recepción y selección de la materia verde*

El fruto toronche en estado verde se recolectó del Cantón Chaguarpamba de la provincia de Loja y fue transportado al laboratorio de procesamiento de alimentos donde se procedió a inspeccionar el estado de cada una de las frutas, para verificar y controlar mediante análisis organoléptico que se encuentren en buen estado para finalmente clasificarlas.

#### *2.7.1.2. Lavado y desinfección*

De acuerdo a lo que establece la (FAO, 2003) para el lavado y desinfección de la materia prima se realizó lo siguiente:

- Se utilizó agua potable para eliminar los agentes extraños como son tierra, polvo, entre otros componentes que se encuentren.
- Se introdujo las frutas en una solución de 10 litros de agua con una concentración de 150 ppm de cloro para desinfectar y se dejó reposar durante 3-5 minutos.
- luego se aplicó chorros de agua potable para eliminar el desinfectante y finalmente se dejó reposar las frutas para escurrir el restante.

#### *2.7.1.3. Extracción y conservación del látex*

Se extrajo el látex mediante incisiones verticales de 1 a 2 mm de espesor y se colocó envases debajo de las frutas para facilitar su extracción. Una vez obtenido el látex se conservó dentro de fundas ziploc a temperatura de congelación (Arellano, 2019 pág. 43).

#### *2.7.1.4. Precipitación y purificación de la enzima*

Para purificar la enzima se utilizó la metodología de (Manosroi et al., 2014 citado en Arellano, 2019, p. 43) donde se realizó un precipitado y purificado del látex obtenido del fruto toronche:

- Inicialmente se mezcló el látex de toronche y el etanol al 95 % en una relación (1:3).
- luego se adicionó NaCl al 10% en relación látex de toronche / NaCl (3:1).
- Se añadió detenidamente sulfato de amonio saturado al 45% en una relación látex de toronche /  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (2,5:1).

- Se realizó la mezcla durante un periodo de 30 minutos y luego se colocó en tubos cónicos FALCON de 50 ml para centrifugar a 6.000 rpm por un tiempo de 15 minutos con la finalidad de separar el precipitado del sobrenadante.
- Para eliminar las impurezas de la enzima se añadió agua destilada al precipitado y se volvió a centrifugar hasta que el sobrenadante del centrifugado sea traslucido (3 veces).
- La enzima obtenida se sometió a congelación por nitrógeno líquido por un lapso 24 horas para garantizar la inactividad de esta antes de su acondicionamiento.

#### *2.7.1.5. Liofilizado y conservación de la enzima*

La enzima ya purificada se colocó al equipo liofilizador a temperatura de -52 °C con una presión de 0.150 Torr por un tiempo de 72 horas. Una vez liofilizado se almacenó la enzima en un frasco de vidrio Ámbar a 4 °C (Arellano, 2019, p. 43).

### **2.7.2. *Elaboración de la cerveza artesanal***

#### *2.7.2.1. Recepción de materia prima*

La Malta, levadura y lúpulos se adquirieron en Beerland Store ubicada en la ciudad de Quito de la provincia de Pichicha y fue transportado al laboratorio de procesamiento de alimentos para la elaboración del producto.

#### *2.7.2.2. Ruptura de grano*

Es un proceso que facilita el acceso de las enzimas a las reservas de glúcidos contenidas en el interior de los grano donde se dispone de un molino industrial como herramienta principal. La molturación debe ser lo más leve posible evitando formar harina (Beerland Store, 2022).

#### *2.7.2.3. Maceración*

Para la obtención del mosto se coloca en grandes recipientes 2 litros de agua por cada kilogramo de grano y se lleva a cocción hasta 75° C. Se procede a añadir la malta, remover y verificar que la ° T no haya disminuido de 65° C tapar y se deja macerar por 60 minutos. La temperatura adecuada del mosto oscila entre los 62 y los 68°C (Beerland Store, 2022).

#### *2.7.2.4. Filtrado del mosto*

Según (Beerland Store, 2022) en el proceso de filtrado del mosto se realizó:

- El macerado al cooler para separar el mosto del cascajo.
- Se realizó varios recirculados (10-15 veces), es decir se recogió nuevamente el mosto en una jarra y se procedió a cernir varias veces hasta que este solo líquido, lo que generará pérdidas, pero garantizará una cerveza más limpia y menos turbia.
- Se hizo la activación de la levadura, para lo cual se tomó el mosto en un recipiente y se dejó que enfrié a una temperatura de 25°C a 30 °C. Se coló el microorganismo para su activación en un ambiente anaerobio.

#### *2.7.2.5. Lavado del grano*

Para incrementar el mosto se vuelve a la olla el cascajo con la otra parte de agua hasta que llegue a 75°C y trasvasar al Cooler. Se hace relación 1:3 es decir por cada kg de grano se aplica 3 litros de agua con el fin de obtener ganancias (Beerland Store, 2022).

#### *2.7.2.6. Cocción*

El mosto una vez ya filtrado se colocó en una olla o tanque y se lo llevó al punto de ebullición y se añadió los lúpulos de aroma, sabor y amargor (Galicia, 2019, p. 11). Se llevó a hervir el mosto para eliminar microorganismos y favorecer la isomerización de los lúpulos retirando constantemente la aglutinación de las proteínas que se presentan en la superficie del mosto (Beerland Store, 2022). Una vez que llega a su temperatura de ebullición se procede a colocar los lúpulos y el Clarificante en un orden determinado:

- Primero se coloca el lúpulo de amargor.
- Luego de 40 minutos, se añade el lúpulo de sabor.
- Luego de 15 minutos de seguir hirviendo añadir el lúpulo de aroma y el clarificante (Irish Moss).
- Dejar hervir por 5 minutos más.
- Una vez llegado al Hervido final se enfriará el mosto a 25 °C rápidamente a través de hielo y sal en grano.

#### *2.7.2.7. Clarificación*

Una vez terminada la cocción se aplicó la enzima proteolítica del toronche a niveles de 0g; 0,5g;

1,0g y 1,5g en 5 litros de cerveza artesanal y enzimas proteolíticas se adicionó antes del proceso de fermentación a una temperatura de 50 °C (González, 2017, p. 117).

#### 2.7.2.8. *Fermentación*

Se colocó el mosto a temperaturas que oscilen los 19 y 25°C, con la finalidad de darle las condiciones adecuadas a la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) para que inicie el proceso de fermentación por un lapso de 7 días. Se aseguró que no exista el paso de luz y que la temperatura disminuya del rango (Beerland Store, 2022).

#### 2.7.2.9. *Acondicionamiento y envasado*

Se procedió a aplicar en la botellas ámbar 6 g sacarosa por cada litro de cerveza con la finalidad de carbonatar o generar CO<sub>2</sub> natural. Una vez aplicada la sacarosa en las botellas, la cerveza fue extraída mediante el uso de una llenadora isobárica o un auto sifón y se llenó cada una de las botellas (Beerland Store, 2022).

### 2.8. **Metodología de evaluación**

#### 2.8.1. *Caracterización físico-química del fruto toronche*

Para la caracterización del fruto toronche se adquirió la materia prima en un grado de madurez alto y fue llevada al laboratorio de bromatología para realizar el despulpado del mismo y sus respectivos análisis.

##### 2.8.1.1. *Porcentaje de Proteína*

Para la determinar el porcentaje de proteína se utilizó el método Kjeldahl el cual consta de tres etapas que son la Digestión, Destilación y Titulación. Para este análisis se basó de acuerdo a la técnica (AOAC 955.04/90):

#### Digestión

- Se pesó de 1-5 gramos de muestra.
- Se colocó la muestra en el balón de digestión Kjeldahl.
- Se añadió los catalizadores al balón (1 gramo de CuSO<sub>4</sub> + 9 gramos de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).
- Se Vertió 25 ml de ácido sulfúrico concentrado en el balón cuidadosamente procurando no

manchar las paredes del mismo.

- Se colocó el balón Kjeldahl en el digestor y se enciende la perilla a 68°C hasta obtener un color verde esmeralda (40 min).

#### Destilación

Una vez terminado el proceso de digestión se procedió a enfriar el balón Kjeldahl a temperatura ambiente.

- Se añadió 200 ml de agua destilada en el balón Kjeldahl con la muestra.
- Se adicionó 100 ml de hidróxido de sodio al 40% en el balón.
- Se agregó granallas de zinc (al agitar se forma un color celeste)
- Se añadió en un matraz Erlenmeyer 100 ml de ácido bórico al 2,5% y se llevó al destilador.
- Se prendió los reverberos y se abrió la llave de paso de agua del equipo para la destilación.
- Se destiló hasta que el matraz de Erlenmeyer presentó 200 ml de destilado.

#### Titulación

- Se añadió entre 3 y 4 gotas de indicador mixto en el matraz con la destilación obtenida anteriormente.
- Se colocó en la bureta 25 ml de ácido clorhídrico al 0.1 N y se llevó a un soporte universal.
- Se realizó la titulación hasta notar un cambio en el color a rosa pálido.
- Se registró el volumen gastado del agente titulante (HCL).
- Se aplicó la siguiente formula.

$$\%Proteína = \frac{V * N * 0,014 * f}{W} * 100\%$$

Donde:

%P = Proteína cruda o bruta en muestra seca expresado en porcentaje

V= Volumen de HCL utilizado en la titulación

N= Normalidad de HCL

0,014 = Equivalente-gramo de nitrógeno.

W= Peso de la muestra seca expresada en gramos

F= Factor proteico de la muestra (6,25)

#### 2.8.1.2. Porcentaje de Grasa cruda

Para la determinar el porcentaje de grasa cruda o extracto etéreo del fruto toronche se utilizó el método Soxhlet basado en la técnica (AOAC. 945.16):

- Pesar de 1-5 gramos de muestra y se colocó en el dedal.
- El dedal con la muestra se introdujo en el portadedal y se cubrió con algodón desengrasado.
- Se añadió 25 ml de éter etílico o hexano en el vaso previamente tarado.
- Se colocó el portadedal y el vaso en el extractor en el extractor con ayuda de la rosca y se cubrió con papel Parafilm con la finalidad de evitar el escape del hexano o el éter etílico
- Se subió la parrilla hasta ajustar el contacto con el vaso, se abrió la llave de circulación de agua y se encendió el equipo.
- Procedió la extracción de grasa hasta que el nivel del solvente bajo más de la mitad y se retiró el portadedal y el dedal con la muestra.
- Se colocó el tubo recuperador en el extractor junto al vaso hasta evaporar en si el solvente totalmente.
- Se retiró el vaso con la sustancia grasa extraída y parte del solvente
- Se llevó a la estufa el vaso por un lapso de 30 minutos
- Se retiró de la estufa y se llevó al desecador para enfriar el vaso con la grasa.
- Una vez frio el vaso se procedió a pesar y aplicar la siguiente formula.

$$\%Grasa(Ex.E) = \frac{P1 - P}{W} * 100\%$$

Donde:

%G = Grasa cruda o bruta en muestra seca expresado en porcentaje

P1 = Peso del vaso más la grasa cruda o bruta extraída en gramos

P = Peso del vaso de extracción vacío en gramos

W = Peso de la muestra seca tomada para la determinación en gramos

### *2.8.1.3. Porcentaje de Fibra*

Para la determinar el porcentaje de fibra cruda del fruto toronche se utilizó el método Weende basado en la normativa (NTE INEN 542: 1980-12):

- Pesar entre 1-5 gramos de muestra previamente desengrasada.
- Se agregó la muestra en el vaso de Berzellius con 200 ml de ácido sulfúrico al 1,25% y 1 ml de alcohol amílico.
- Se colocó el vaso en el equipo, se ajustó al condensador, se subió la parrilla y se procedió a

calentar hasta ebullición.

- Una vez llegó a su hervor se mantuvo la ebullición por media hora exacta.
- Después de cumplir la media hora se sacó el vaso y se añadió 20 ml de NaOH al 22%.
- Nuevamente se colocó el vaso en el equipo, se ajustó al condensador, se subió la parrilla y se procedió a calentar hasta ebullición.
- Una vez llegó a su hervor nuevamente se mantuvo la ebullición por media hora exacta.
- Se pesó el crisol Gooch conteniendo una capa de lana de vidrio para proceder a filtrar.
- Una vez termine la media hora se retiró el vaso del condensador, se enfrió y se filtró en el crisol Gooch con la lana de vidrio.
- Se colocó el crisol de Gooch en la estufa a 105°C durante 24 horas.
- Luego se enfrió en el desecador y se procedió a pesar.
- Finalmente se colocó el crisol de Gooch en la mufla a 550°C por media hora.
- Se enfrió en el desecador, se pesó y se aplicó la siguiente fórmula.

$$\%Fibra = \frac{P1 - P}{W} * 100\%$$

En donde:

%F = Fibra cruda en muestra seca y desengrasada expresada en porcentaje.

P1 = Peso del crisol con la muestra desecada en la estufa en gramos.

P = Peso del crisol con las cenizas después de la incineración en mufla en gramos.

W= Peso de la muestra seca y desengrasada en gramos.

#### *2.8.1.4. Porcentaje de Humedad*

Para determinar el contenido de humedad se utilizó el método de estufa por la normativa (AOAC 930.15/90):

- Se colocó los crisoles en la estufa por un lapso de 2 a 4 horas.
- Se retiró los crisoles y se taró en la balanza analítica
- Se pesó de 1-5 gramos de muestra con los crisoles previamente tarados.
- Se pesó la muestra con los crisoles.
- Se llevó a la estufa los crisoles con la muestra a 105°C durante 24 horas.
- Una vez culminado las 24 horas se sacó los crisoles con la muestra de la estufa y se las colocó en el desecador por 30 min para enfriar.
- Se pesó los crisoles con la muestra seca y se aplicó la siguiente fórmula.

$$\%Solidos\ totales = \frac{W2 - W}{W1 - W} * 100\%$$

Donde:

%ST= Solidos totales de la muestra expresada en porcentaje.

W = Peso del crisol vacío en gramos.

W1 = Peso del crisol más la muestra húmeda en gramos.

W2 = Peso del crisol más la muestra seca en gramos.

- Se determino el porcentaje de humedad

$$HUMEDAD= 100 - \%ST$$

#### 2.8.1.5. Porcentaje de Ceniza

Para la determinar el porcentaje de ceniza del fruto toronche se utilizó el método de incineración en mufla por el método (AOAC 920.39/1990):

- Una vez obtenido los crisoles con la muestra seca de la estufa se procedió a pre calcinar en un mechero y soborna hasta que exista ausencia de humo.
- Se llevo los crisoles con la muestra pre calcinada a la mufla a 550° C e incinerar por 4 horas.
- Llevar los crisoles con la muestra incinerada al desecador por 30 min.
- Retirar los crisoles del desecador y pesar.
- Una vez pesador se aplicó la siguiente fórmula.

$$\%cenizas = \frac{W1 - W}{W2 - W} * 100\%$$

Donde:

%C = contenido de cenizas expresado en porcentaje

W = Peso del crisol vacía en gramos

W1 = Peso del crisol con la muestra en gramos después de la incineración.

W2 = Peso del crisol con la muestra en gramos antes de la incineración.

#### 2.8.1.6. Porcentaje de carbohidratos

Para la determinar el porcentaje de carbohidratos o extracto libre no nitrogenado (ELnN) del fruto

toronche se calculó al restar del 100% los nutrientes calculados anteriormente como son proteína, fibra, grasa, humedad y cenizas:

$$\%(ELnN) = 100\% - \sum (\%H + \%C + \%F + \%G + \%P)$$

#### 2.8.1.7. pH

Para el análisis de pH se utilizó el método potenciométrico donde se empleó un pH-metro que se emplea para expresar el grado de acidez o alcalinidad de la muestra. La metodología usada fue de acuerdo a la normativa (NTE INEN 389:1985):

- Se trituró la muestra (fruta).
- Se filtró la muestra hasta obtener el zumo de la fruta.
- Se comprobó el correcto funcionamiento del pH-metro y se lo calibró.
- Se introdujo el electrodo del equipo en la muestra para determinar el pH.
- Se anotó los resultados.

#### 2.8.1.8. Acidez

Para determinar la acidez del fruto se utilizó el método de titulación ácido base, donde se usó como agente titulante hidróxido de sodio (0,1 N) y la fenolftaleína como sustancia indicadora. La metodología se basó de acuerdo a la normativa (NTE INEN 1998:2005):

$$\%acidez\ titulable = \frac{V * N * F}{V} * 100\%$$

Donde:

V = Volumen de Hidróxido de Sodio al (0,1 N) gastado en ml.

N = Normalidad del Hidróxido de Sodio.

F = Factor de acidez de la muestra (Ácido málico: 0.067)

V = Volumen de la muestra en ml.

#### 2.8.1.9. Grados Brix

Los sólidos solubles se determinó mediante la utilización de un Brixómetro o refractómetro de

acuerdo a la normativa (NTE INEN 380:1985-12):

- Se Trituró la muestra (fruta).
- Se Tamizó la muestra para obtener el zumo.
- Se comprobó que el refractómetro se encuentre correctamente calibrado a 20° C.
- Se determinó los sólidos solubles en ° Brix.
- Se anotó los resultados.

### ***2.8.2. Características físico-químico de la cerveza artesanal***

#### ***2.8.2.1. pH***

Para el análisis de pH se utilizó el método potenciométrico donde se empleó un pH-metro que se emplea para expresar el grado de acidez o alcalinidad de la muestra. Para calibrar el electrodo se usó de una solución Buffer con pH 7,00. El pH se determinó de acuerdo a la normativa (NTE INEN 2325:2002):

- Se desgasificó la cerveza mediante agitación constante a temperatura de 20 -25°C.
- Se filtró la cerveza con papel filtro.
- Se comprobó el correcto funcionamiento del pH-metro y se lo calibró.
- Se lavó el electrodo con agua destilada y secar con papel absorbente.
- Se sumergió el electrodo en la solución Buffer de pH 7,00.
- Se introdujo el electrodo del potenciómetro en la muestra para determinar el pH.
- Se anotó los resultados.

#### ***2.8.2.2. Acidez total***

Para determinar la acidez de la cerveza artesanal se utilizó el método de titulación ácido base, donde se usó como agente titulante hidróxido de sodio (0,1 N) y la fenolftaleína como sustancia indicadora. La acidez total de la cerveza se calcula como porcentaje de ácido láctico de acuerdo a la normativa (NTE INEN 2323:2002):

$$\%acidez\ titulable = \frac{V * N * F}{V} * 100\%$$

Donde:

V = Volumen de Hidróxido de Sodio al (0,1 N) gastado en ml.

N = Normalidad del Hidróxido de Sodio.

F = Factor de acidez de la muestra (Ácido láctico: 0.09)

V = Volumen de la muestra en ml.

### 2.8.2.3. Densidad

Para determinar la densidad relativa (o gravedad específica) de la cerveza artesanal se usó el instrumento Picnómetro basado en el método de la normativa (NTE INEN 349:1978-03) exclusiva para bebidas alcohólicas a temperatura 20°/20° C y de determina mediante la ecuación:

$$\rho = \frac{m2 - m1}{m3 - m1}$$

$\rho$  = Densidad relativa a 20°/20° C

m1= masa del picnómetro vacío en gramos.

m2= masa del picnómetro con la muestra en gramos.

m3= masa del picnómetro con agua destilada en gramos.

### 2.8.2.4. Contenido Alcohólico

Para determinar el contenido de alcohol de la cerveza artesanal se utilizó el resultado de la densidad obtenida anteriormente y se aplicó el método Gravimétrico de la normativa (NTE INEN 2322:2002):

- Se pesó 100 g de cerveza desgasificada y se procedió a transferir al balón de destilación.
- Se añadió 50 cm<sup>3</sup> de agua al balón de destilación.
- Se conectó el balón al condensador vertical y se obtuvo el destilado del alcohol.
- Se procedió a mezclar bien el destilado y se completó a 100 g con agua destilada.
- Se determinó la gravedad específica del destilado a 20°C/20°C.
- En la tabla 1 presente en dicha normativa se procedió a leer el porcentaje de alcohol en masa y en volumen correspondiente a la gravedad específica del destilado.
- Se aplicó la siguiente formula:

$$\text{Alcohol, en \% en volumen, en la cerveza} = \frac{(\text{alcohol, \% en masa} \times \text{gravedad específica de la cerveza})}{(\text{gravedad específica del alcohol etílico } 20^{\circ}\text{C}/20^{\circ}\text{C})}$$

O'

$$\text{Alcohol, en \% en volumen, en la cerveza} = \frac{(\text{alcohol, \% en volumen en el destilado} \times \text{gravedad específica de la cerveza})}{(\text{gravedad específica del destilado})}$$

Donde

Alcohol, % en masa del destilado y Alcohol, % en volumen del destilado se obtiene en la Tabla 1 de la normativa.

#### 2.8.2.5. *Sólidos solubles*

Para determinar los sólidos solubles se empleó un Brixómetro o refractómetro. Para cuantificar los sólidos solubles se utilizó la metodología establecida por (NTE INEN 380:1985-12):

- Se colocó una gota de muestra en el lente del refractómetro.
- Se determinó los ° Brix.
- Se anotó los resultados

#### 2.8.2.6. *Turbidez*

Para determinar el nivel de turbidez aceptable de la cerveza artesanal, se realizó mediante el uso de un turbidímetro 2100Q portátil de sobremesa de Hach ® mediante el método Nefelométrico de la normativa (UNE-EN ISO 7027-1:2016):

- Se desgasificó la cerveza con ayuda de una varilla de agitación.
- Se colocó 200 ml de cerveza desgasificada en un matraz Erlenmeyer
- Se adicionó 14 ml de Etanol al 95% en la cerveza a temperatura ambiente y se mezcló completamente y se dejó reposar por 20 min.
- Se tomó las cubetas de Hach y se colocó la mezcla por encima de la línea blanca. Se limpió adecuadamente con un papel absorbente cada cubeta.
- Se colocó en el turbidímetro y se procedió a medir la turbidez permanente.
- Se preparó un baño de agua con hielo y sal hasta que alcance una temperatura de -5° C.
- Se procedió a colocar en el baño de hielo las muestras usadas para determinar la turbidez permanente y se dejó en refrigeración por aproximadamente 60 min.
- Una vez transcurrido el tiempo se procedió a retirar las muestras del baño, invirtió una sola vez y se procedió a limpiarla y secarla con papel absorbente.
- Se introdujo la cubeta con la muestra en el turbidímetro y se procedió a medir la turbidez total.
- Finalmente se tabulo los datos y para determinar la turbidez total se realizó la siguiente operación.

Turbidez Fría =Turbidez total - Turbidez permanente.

### 2.8.3. *Parámetros microbiológicos de la cerveza artesanal*

- Primeramente, se hizo la limpieza y desinfección del laboratorio de Ciencias Biológicas, a continuación, se realizó los cálculos para la siembra del Agar, para mohos y levaduras se empleó PDA (Agar papa dextrosa) y más mesófilos anaerobios se empleó TSA (Agar tripticosa soya).
- Después se realizó el pesaje de las muestras de 1 ml. Una vez preparado el agar se procedió a esterilizar todo en el autoclave a 121°C por 15 min. Se utilizará 96 cajas Petri para cada una de las repeticiones, 48 para microorganismos anaerobios mesófilos y 48 para *mohos y levaduras*.
- Se colocó el agar a una cantidad de 10ml en las diferentes cajas Petri para su solidificación luego se lo llevó a la cámara de flujo laminar para la siembra respectiva con las muestras.
- Para culminar se colocó por 48 horas en la estufa a 37°C para la siembra de anaerobios mesófilos y 25°C para mohos y levaduras para el crecimiento respectivo.

Para establecer los parámetros microbiológicos de la cerveza se basó de acuerdo con las siguientes normativas:

**Tabla 4-2:** Métodos para determinar parámetros microbiológicos de la cerveza artesanal.

ANÁLISIS	NORMATIVA
Microorganismos Anaerobios	(NTE INEN 1529-17:98 )
Mohos y Levaduras	(NTE INEN 1529-10:2013)

**Realizado por:** Carrera C, 2022.

### 2.8.4. *Parámetros sensoriales de la cerveza artesanal*

#### 2.8.4.1. *Prueba de aceptación afectiva hedónica*

El análisis sensorial de cerveza artesanal se realizó basado en el método ASBC (American Society of Brewing Chemists) y (BJCP, 2015) donde se requieren algunos requisitos específicos para la evaluación sensorial de Cerveza:

- Tamaño de vasos (Los vasos deben tener la capacidad de contener 60 ml de cerveza)
- Tipo de vaso (Se utilizó vasos lisos tipo cristal transparentes etiquetados con tres dígitos)

aleatorios)

- Temperatura de la muestra (Para cerveza Golden Ale la temperatura adecuada es de 4° a 8° C)
- La cantidad a servir fue entre 30-50 ml por cada tratamiento

Para establecer el grado de aceptación de la cerveza artesanal, se utilizó un método afectivo, aplicando la prueba escalar hedónica verbal. Se seleccionará un panel de 80 catadores no entrenados, de ambos sexos y una edad promedio de 18 a 30 años de acuerdo con la siguiente normativa: Norma (UNE EN ISO 11136:2017): Análisis sensorial. Pruebas hedónicas.

**Tabla 5-2:** Parámetros sensoriales de la cerveza artesanal a evaluar.

ANÁLISIS	VALORACIÓN
Apariencia	5 puntos
Sabor	5 puntos
Color	5 puntos
Olor	5 puntos

**Realizado por:** Carrera C, 2022.

#### **2.8.5. Análisis Económico**

Se determinó los costos de producción.

## CAPITULO III

### 3. ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

#### 3.1. Caracterización del Fruto Toronche

Las características nutricionales y fisicoquímicas del Fruto Toronche (*Vasconcellea Stipulata*), se describe en la tabla 1-3, donde se indica el contenido de humedad, fibra, carbohidratos, grasa, proteína, ceniza, ° Brix, pH y acidez. Para los resultados fisicoquímicos al no existir una normativa específica para el fruto toronche se utilizó la Norma (NTE INEN 1998:2005) del babaco ya que es una fruta muy parecida y ambas pertenecen a la misma Familia y Genero.

**Tabla 1-3:** Estadística descriptiva de la composición fisicoquímica del fruto Toronche.

Variable	Media	Mínimo	Máximo
%Humedad	92,79	92,55	93,17
%Fibra	1,64	1,42	1,8
%Carbohidratos	3,58	3,37	3,87
%Grasa	0,34	0,23	0,45
%Proteína	0,9	0,73	1,14
%Ceniza	0,75	0,69	0,84
° Brix	9,18	8,8	9,3
pH	4,78	4,7	4,9
% Acidez	0,49	0,42	0,54

**Realizado por:** Carrera C, 2022.

##### 3.1.1. Humedad

De acuerdo a lo que indica la tabla 1-3, el porcentaje de humedad del fruto toronche en estado maduro fue de 93,17%; siendo similar al valor reportado por (Chalaco, 2021, pp. 24-28) quien en su estudio sobre la elaboración de productos derivados del fruto toronche obtuvo 93,5% de humedad del fruto en estado maduro.

##### 3.1.2. Fibra

El contenido de fibra encontrado en el fruto toronche maduro fue de 1,8%, como se aprecia en la tabla 1-3, superando al resultado encontrado por (Chalaco, 2021 págs. 24-28) que obtuvo un valor de

1,2%, esta diferencia posiblemente se deba al índice de madurez de cada fruta como lo menciona (Decco, 2018) que al aumentar el grado de madurez de una fruta existe una reducción del contenido de fibra lo que genera frutas más blandas y sensibles al manejo en postcosecha.

### **3.1.3. Carbohidratos**

En la tabla 1-3, se muestra que el contenido de carbohidratos en el fruto toronche fue de 3,87%, coincidiendo con valor registrado por (Chalaco, 2021, p. 28) quién determinó 3,90% de carbohidratos en el fruto.

### **3.1.4. Grasa**

De acuerdo a lo que indica la tabla 1-3, la cantidad de Grasa fue de 0,45%, resultado que se encuentran en concordancia a la investigación realizada por (Chalaco, 2021, p. 28) que determinó 0,1% de grasa.

### **3.1.5. Proteína**

En el análisis de proteína del fruto se obtuvo un contenido de 1,14%, como lo revela la tabla 1-3, el valor obtenido en el presente estudio fue similar al señalado por (Chalaco, 2021, p. 28) que obtuvo 0,7%.

### **3.1.6. Cenizas**

Con los datos obtenidos se verificó que el fruto toronche posee un contenido de 0,84% de cenizas como se muestra en la tabla 1-3, resultado similar a la cantidad de cenizas reportada en la investigación de (Chalaco, 2021, p. 28) con 0,60%.

### **3.1.7. Sólidos solubles (°Brix)**

El contenido de sólidos solubles en el fruto toronche fue de 9,3 ° Brix tal como se lo puede apreciar en la tabla 1-3, siendo semejante al encontrado por (Viñamahua M. y Sanchez R., 2005, pp. 47-63) que en su estudio realizado en seis especies del género *Vasconcellea* determinaron que el fruto toronche tiene 9,6 ° Brix. El fruto del presente estudio posee un grado de madurez alto según lo manifestado por NTE INEN 1 998:2005 donde afirma que el fruto con más de 6° Brix es considerado como alto en grado de madurez, esto puede deberse a lo mencionado por (Aldáz et al., 2017, p 4) en donde indican que a medida que aumenta el grado de maduración de las frutas incrementa también el

contenido de azúcares, ácidos y sales.

### **3.1.8. pH**

De acuerdo a la tabla 1-3, el pH del fruto toronche posee un valor de 4,9 el valor encontrado concuerda con la investigación realizada por (Viñamahua M. y Sanchez R., 2005, pp. 47-63) en el fruto toronche en estado maduro donde determinaron un pH de 4,40.

### **3.1.9. Acidez titulable**

En la Tabla 1-3, se observa que el fruto toronche presentó un nivel de acidez de 0,54%; cuyo valor coincide con lo presentado por (Viñamahua M. y Sanchez R., 2005, pp. 47-63) quienes afirman que el fruto tuvo 0,42% de acidez. Los resultados obtenidos cumplen con la normativa NTE INEN 1 998:2005 que indica que la acidez titulable de un fruto maduro debe ser >0,050%.

## **3.2. Características fisicoquímicas de la cerveza artesanal clarificada con los diferentes niveles de la enzima proteolítica del fruto toronche**

**Tabla 2-3:** Características Fisicoquímicas de la cerveza artesanal con diferentes niveles de enzima proteolítica del toronche (0; 0,5; 1,0 y 1,5 g) usada como clarificante.

VARIABLES	Niveles de enzima proteolítica del toronche (g)				E.E.	Prob.	Sig.
	0 g T0	0,5 g T1	1,0 g T2	1,5 g T3			
PH	4,45 A	4,46 a	4,41 a	4,45 a	0,04	0,7247	ns
ACIDEZ (%)	0,08 A	0,08 a	0,07 a	0,08 a	2,70E-03	0,6445	ns
° BRIX	3,67 A	3,69 a	3,38 a	3,39 a	0,18	0,4479	ns
DENSIDAD (g/cm <sup>3</sup> )	1,0115 A	1,0115 a	1,0111 a	1,0111 a	0,0003	0,5481	ns
ALCOHOL (%)	6,44 A	6,36 a	6,62 a	6,62 a	0,11	0,3175	ns
TURBIDEZ PERMANENTE (NTU)	10,50 B	12,20 c	10,43 b	8,08 a	0,33	0,0001	**
TURBIDEZ FRÍA (NTU)	43,93 B	52,63 c	43,85 b	38,3 a	0,48	0,0001	**

**Elaborado por:** Carrera C, 2022.

**E.E:** Error Experimental.

**Prob. >0,05:** No existen diferencias estadísticas.

**Prob. <0,05:** Existen diferencias estadísticas.

**Prob. <0,01:** Existen diferencias altamente significativas.

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey.

### **3.2.1. pH**

De acuerdo a la tabla 2-3, para pH se muestra que los tratamientos son estadísticamente iguales ( $P>0,05$ ) siendo 4,46 el nivel más alto en la cerveza artesanal con 0,5 g de enzima proteolítica, coincidiendo con el resultado presentado por (Mendoza, 2021, p. 39) que en su estudio de la cerveza artesanal Tipo Pale Ale clarificado con la enzima bromelina obtuvo un pH de 4,6. Los valores obtenidos en presente trabajo cumplen con lo señalado por la Norma NTE INEN 2262:2013 donde establece que una cerveza debe tener un rango de pH de 3,5 a 4,8.

### **3.2.2. Acidez Titulable**

De acuerdo al análisis de acidez titulable en la cerveza artesanal se demostró que no existen diferencias estadísticas ( $P>0,05$ ), por efecto de la adición de los diferentes niveles de enzima proteolítica obteniéndose el nivel más alto con 0,08 % de acidez en el tratamiento T3 (1,5 g) como se puede apreciar en la tabla 2-3. Los resultados expuestos en esta investigación se encuentran dentro de los parámetros de aceptación de la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2262:2013 donde indica que la cerveza debe tener máximo 0,3%(v/v) de acidez.

### **3.2.3. Solidos Solubles**

Según la tabla 2-3 para solidos solubles ( $^{\circ}$ Brix), no existieron diferencias estadísticas ( $P>0,05$ ) entre los tratamientos. Sin embargo, se aprecia que el mejor valor fue encontrado en el tratamiento T2 (1g de enzima) con 3,38  $^{\circ}$ Brix. Los valores reportados en este estudio coinciden al registrado por (González, 2013) quien señala un contenido de 3  $^{\circ}$ Brix en cerveza artesanal Golden Ale elaborado con malta base.

### **3.2.4. Densidad**

En la densidad de la cerveza artesanal con diferentes niveles de enzima proteolítica no se presentaron diferencias significativas ( $P>0,05$ ) como indica la tabla 2-3, pero si varían numéricamente con 1,0111 g/cm<sup>3</sup> en el tratamiento T3 (1,5g) como el mejor resultado. De acuerdo con el análisis realizado los resultados cumplen con los requisitos establecidos por (BJCP, 2015) donde indica que una cerveza tipo Golden Ale debe tener una densidad dentro de un rango de 1,0080 a 1,0130 g/cm<sup>3</sup>.

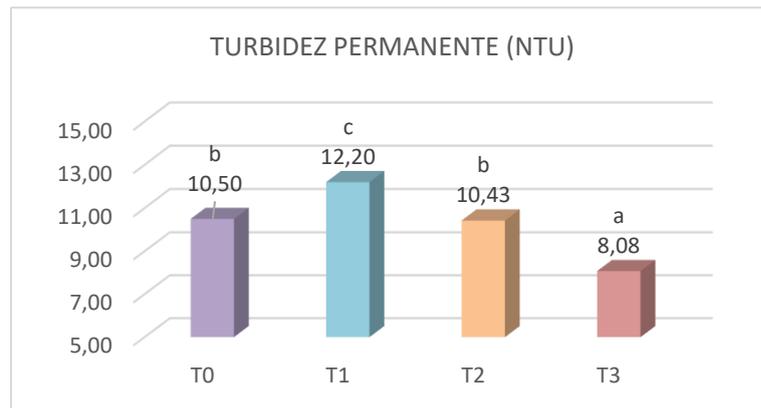
### **3.2.5. Contenido Alcohólico**

De acuerdo a la tabla 2-3, para el contenido alcohólico (%) se determinó que no hay diferencias estadísticas ( $P > 0,05$ ) entre los tratamientos. Sin embargo, se aprecia que el mejor valor se obtuvo en los tratamientos T2 y T3 con 6,62% (v/v) coincidiendo con la investigación de (Paredes, 2017, p. 14) quien en su estudio mejoró la extracción de los azúcares de malta base en cerveza artesanal tipo Golden Ale obteniendo 6,5%. Sin embargo, difiere al resultado de (Alvarez, 2020, p. 65) que en su investigación de cerveza Golden Ale con cebada y arroz obtuvo 4,26% de alcohol. Esta diferencia probablemente se deba al tipo de materia prima utilizada según lo mencionado por (Torres, 2021, p. 14) que indica que al usar una malta base como materia prima principal se aprovecha las enzimas generadas en la germinación para el aprovechamiento de los azúcares fermentable y generando mayor contenido alcohólico por parte de las levaduras.

### **3.2.6. *Turbidez permanente***

Al valorar la turbidez permanente en la cerveza artesanal se reportó que existen diferencias altamente significativas ( $p < 0,01$ ) por efecto de la adición de los diferentes niveles de enzima proteolítica como se muestra en la gráfica 1-3, estableciéndose que el mejor resultado fue el tratamiento T3 con 8,08 NTU (Unidad de turbidez Nefelométrica), valores obtenidos en el presente inferiormente reportaron (Avedaño et al., 2017, p. 73) quienes en su investigación demostraron que al usar Irish Moss como clarificante en cerveza tipo Ale obtuvieron 23,76 NTU. Esto posiblemente se deba a que la enzima utilizada presenta mayor efectividad clarificante que el Irish Moss según lo expresado por (Rodríguez, 2003, pp. 30-32) donde indica que las enzimas proteolíticas actúan directamente en las Hordeínas, proteínas que ocasionan turbidez en la cerveza mientras que (Avedaño et al., 2017, p. 73) señalan que el Irish mosh únicamente actúa en las proteínas, formando complejos de alto peso y así generando precipitados. Sin embargo, este tipo de clarificante comercial actúa a temperaturas de ebullición siendo inestable a temperaturas de almacenamiento o refrigeración.

La turbidez permanente obtenida en el mejor tratamiento se encuentra en la clasificación de ligeramente turbia como lo establece la ASBC (Sociedad Estadounidense de Químicos Cerveceros) en la tabla 3-1.

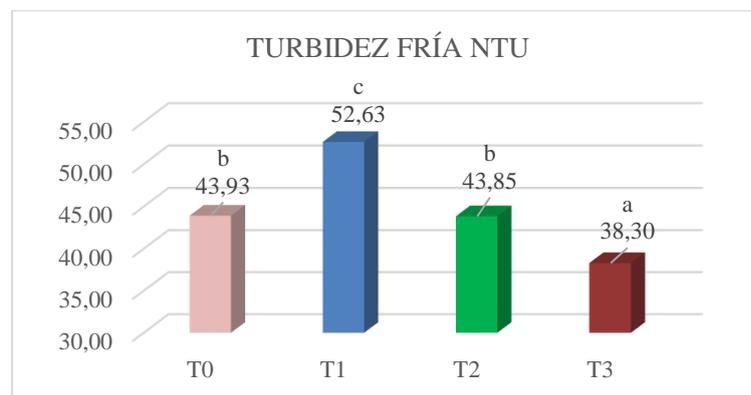


**Gráfico 1-3:** Turbidez Permanente

Realizado por: Carrera C, 2022.

### 3.2.7. *Turbidez fría*

Se revela en la gráfica 2-3, que para turbidez fría el mejor valor fue de 38,3 NTU (Unidad de turbidez Nefelométrica) en el tratamiento T3 registrándose diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ) en relación a los demás tratamientos. El resultado reportado en el presente trabajo fue menor al obtenido por (Mendoza, 2021, p. 39) que en su investigación obtuvo 44,77 NTU en cerveza tipo Pale ale utilizando 1,77 g de bromelina purificada como clarificante. Esta diferencia posiblemente se deba a la actividad enzimática específica del tipo de enzima utilizada según lo indicado por (Sinche, 2009, p. 87) que la enzima semipurificada del fruto toronche tiene una actividad específica de 49,98 U/mg (actividad de una enzima por miligramo de proteína), valor muy superior al que señalan (Hernandez et al., 2003, p. 2) que la actividad específica de la bromelina semipurificada es de apenas 1,36 U/mg.



**Gráfico 2-3:** Turbidez fría.

Realizado por: Carrera C, 2022.

### 3.3. Análisis microbiológico realizado en la cerveza artesanal clarificada con los diferentes niveles de la enzima proteolítica del fruto toronche

Para el análisis microbiológico al no existir una normativa específica para cerveza artesanal se utilizó la Norma Ecuatoriana (NTE INEN 2262:2013) de cerveza industrial pasteurizada en general donde se establece el requisito que debe cumplir según microorganismos anaerobios mesófilos, mohos y levaduras.

**Tabla 3-3:** Presencia de microorganismos en la cerveza artesanal con diferentes niveles de enzima proteolítica del toronche (0; 0,5; 1,0 y 1,5 g) usada como clarificante.

VARIABLES	Niveles de enzima proteolítica del toronche (g)				E.E.	Prob	Sig.
	0 g	0,5 g	1,0 g	1,5 g			
<b>Anaerobios Mesófilos UFC/cm<sup>3</sup></b>	61 a	62 a	62 a	63 a	2,2	0,9679	ns
<b>Mohos y levaduras UP/cm<sup>3</sup></b>	1,42E+02 a	1,42E+02 a	1,43E+02 a	1,44E+02 a	0,63	0,1334	ns

**Realizado por:** Carrera C, 2022.

E.E: Error Experimental.

Prob. >0,05: No existen diferencias estadísticas.

Prob. <0,05: Existen diferencias estadísticas.

Prob. <0,01: Existen diferencias altamente significativas.

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey.

#### 3.3.1. Microorganismos Anaerobios Mesófilos en Cerveza Artesanal Golden Ale

Al realizar el análisis microbiológico de anaerobios mesófilos en la cerveza artesanal se determinó que no existen diferencias estadísticas ( $P > 0,05$ ) entre los tratamientos como se muestra en la tabla 3-3, estableciéndose la mejor respuesta al utilizar 0g de enzima con 61 ufc/cm<sup>3</sup> incrementando levemente hasta alcanzar 63 ufc/cm<sup>3</sup> aplicando 1,5g de enzima. Los resultados obtenidos en esta investigación no cumplen con los requisitos establecidos por la normativa (NTE INEN 2262:2013) donde una cerveza pasteurizada no debe presentar más de 10 UFC/cm<sup>3</sup>. Esto posiblemente se da porque la cerveza no ha sido sometida a un tratamiento térmico de pasteurización como lo afirma (Mulet et al., 2018, p. 2) que, al realizar una pasteurización los microorganismos que quedan presentes en el producto son eliminados en su mayoría alargando la vida útil del mismo. Sin embargo, los resultados cumplen con la normativa nicaragüense (NTON 03:038-06) siendo inferior a 100 UFC/ml.

#### 3.3.2. Mohos y Levaduras en Cerveza Artesanal Golden Ale

De acuerdo a lo que indica la tabla 3-3, en el conteo de Mohos y Levaduras en la cerveza artesanal

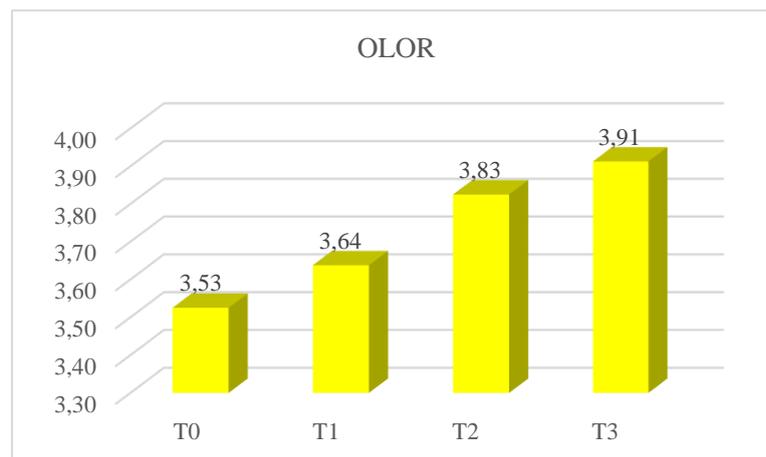
por efecto de los niveles de enzima proteolítica del toronche no se registraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ), pero si presentaron un ligero incremento de la carga microbiana de  $1,42 \times 10^2$  up/cm<sup>3</sup> en el tratamiento T0 (0g de enzima) a  $1,44 \times 10^2$  up/cm<sup>3</sup> en el tratamiento T3 (1,5 g de enzima). Los resultados obtenidos no cumplen con la norma (NTE INEN 2262:2013) que señala que una cerveza pasteurizada no debe presentar  $>10$  up/ cm<sup>3</sup> de mohos y levaduras. Esto probablemente se deba a que sobran residuos que se acentúan al fondo del envase como lo menciona (Guaranda, 2021, p. 48) que en una cerveza al ser elaborado de manera artesanal es dificultoso eliminar en su totalidad los residuos de malta, lúpulo y principalmente levadura.

### 3.4. Evaluación Hedónica de la Cerveza Artesanal

Al realizar la evaluación sensorial de la cerveza artesanal tipo Golden Ale con diferentes niveles de enzima proteolítica del toronche se utilizó la prueba Hedónica con una escala del 1 al 5, en un número de 80 estudiantes de la Facultad de Ciencias Pecuarias.

#### 3.4.1. Olor

Como se observa en la gráfica 3-3. en cuanto al parámetro del olor según los niveles de enzima proteolítica en la cerveza artesanal el mejor resultado se obtuvo al utilizar 1,5 g de enzima (T3) alcanzando una calificación de 3,91 puntos lo que implica que el olor del producto les gustó a los evaluadores. Sin embargo, los tratamientos están dentro de la categoría de (me gusta) coincidiendo al que indica (González, 2013) con una valoración de 3,93 puntos.

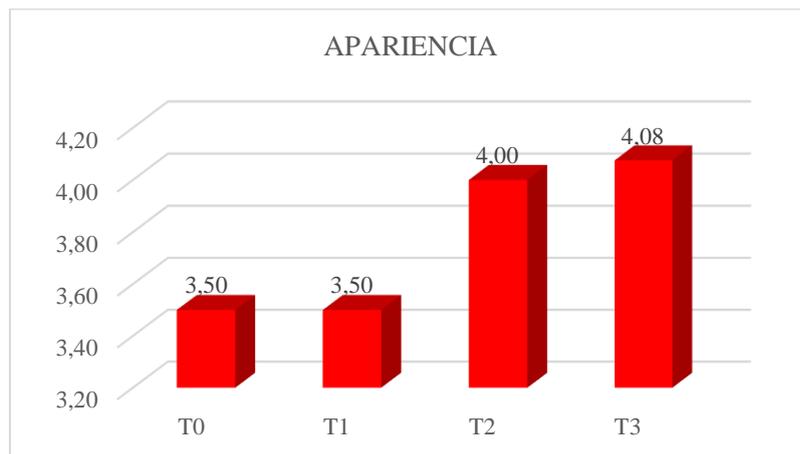


**Gráfico 3-3:** Parámetro Olor en los 4 tratamientos.

Realizado por: Carrera C, 2022.

#### 3.4.2. Apariencia

En cuanto al análisis de apariencia para la cerveza artesanal con diferentes niveles de enzima proteolítica del toronche (0; 0,5; 1,0 y 1,5 g) usada como clarificante, se pudo reportar como resultado que todos los tratamientos entraron en la categoría de (me gusta) obteniendo como mayor aceptación a la cerveza con 1,5 g de enzima (T3) con 4,08 puntos como se puede observar en la gráfica 4-3. El resultado obtenido es mayor al que reporta (González, 2013) con 3,56 puntos, esto posiblemente se deba a que en el presente estudio se generó mayor producción de espuma.

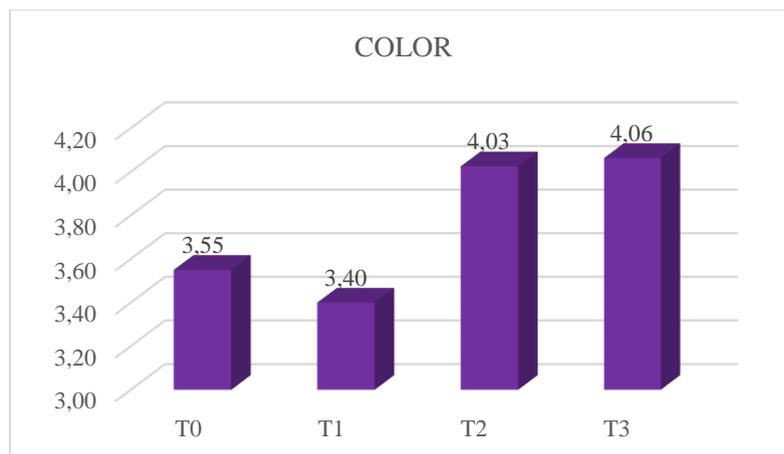


**Gráfico 4-3:** Parámetro Apariencia en los 4 tratamientos.

Realizado por: Carrera C, 2022.

### 3.4.3. Color

Como se muestra en el gráfico 5-3, el mejor color se presentó en la cerveza artesanal con 1,5 g de enzima (T3) con una calificación de 4,06 puntos lo que implica que a los evaluadores les gustó el color del producto. El peor resultado se presentó en el tratamiento T1 con 0,5 g de enzima obteniendo una calificación de 3,40 puntos lo que implica que al panel de catación ni les gusta ni les disgusta el producto, lo que justifica que a partir de 1 g se obtiene un mejor color en la cerveza artesanal. La puntuación obtenida es superior al reportado por (Galarza, 2018, p. 75) con 3,08 puntos en cerveza Amber Ale aromatizada con naranjilla donde menciona que la cerveza tenía presencia de solidos suspendidos.

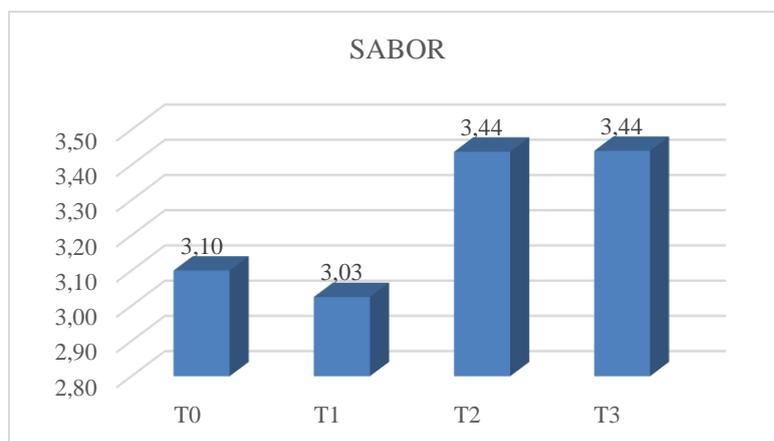


**Gráfico 5-3:** Parámetro Color en los 4 tratamientos.

Realizado por: Carrera C, 2022.

#### 3.4.4. Sabor

En el análisis del sabor se obtuvo valores similares para todos los tratamientos con una categorización de (ni me gusta ni me disgusta) como se muestra en la gráfica 6-3, donde el mejor resultado fue al aplicar 1 g y 1,5 g de enzima con 3,44 puntos. El resultado obtenido en el presente estudio coincide con el puntaje señalado por (Galarza, 2018, p. 75) con 3,67 puntos en cerveza Amber Ale aromatizada con naranjilla. El valor logrado puede deberse a que se realizó la evaluación en horas de la mañana haciendo que el producto no sea muy apetecible por el evaluador.



**Gráfico 6-3:** Parámetro Sabor en los 4 tratamientos.

Realizado por: Carrera C, 2022.

### **3.5. Evaluación de los costos de producción**

De acuerdo al análisis económico en la tabla 4-3 de la cerveza artesanal Golden Ale, se encontró que los costos de producción por litro presentaron una ligera variación según el nivel de enzima proteolítica obtenida del toronche considerando que las formulaciones de las maltas usadas son las mismas. Encontrándose costos de producción por litro desde 1,52 USD hasta 1,54 USD al aplicar de 0,5 g a 1,5 g de enzima respectivamente, es decir que medida que se incrementa la cantidad de enzima aumenta de forma insignificante el costo de producción estableciendo la mayor rentabilidad económica en el tratamiento T1 (0,5g), mediante el cual se alcanza un beneficio/costo de 1,98 que representa que por cada dólar invertido se obtiene una rentabilidad de 0.98 dólares.

**Tabla 4-3:** Evaluación Económica en la cerveza artesanal con diferentes niveles de enzima proteolítica del toronche (0; 0,5; 1,0 y 1,5 g) usada como clarificante.

PRODUCTO	CANTIDAD	UNIDAD	PRECIO UNITARIO	TRATAMIENTOS			
				T0 (0g)	T1 (0,5 g)	T2 (1,0 g)	T3 (1,5 g)
Malta base y especial	5000	g	10,00	2,50	2,50	2,50	2,50
Agua purificada	20000	ml	2,25	0,68	0,68	0,68	0,68
Lúpulos	1000	g	20,00	0,12	0,12	0,12	0,12
Levadura	11,50	g	2,00	0,50	0,50	0,50	0,50
Carragenina	11,00	g	1,10	0,10			
Enzima proteolítica	11,00	g	1,26		0,06	0,11	0,17
botellas con tillo	62	Unidades	26,25	1,27	1,27	1,27	1,27
Etiqueta	20	Unidades	2,90	0,73	0,73	0,73	0,73
Sanitizante Star San	8,00	Oz	13,60	0,43	0,43	0,43	0,43
Agua				0,10	0,10	0,10	0,10
Luz				0,05	0,05	0,05	0,05
Gas				0,30	0,30	0,30	0,30
Mano de obra				0,85	0,85	0,85	0,85
<b>Total</b>				<b>7,62</b>	<b>7,58</b>	<b>7,63</b>	<b>7,69</b>
Cantidad de Cerveza artesanal obtenida (litro)				5,00	5,00	5,00	5,00
Costo de producción por litro de cerveza en dólares				1,52	1,52	1,53	1,54
Precio de venta por litro de cerveza en dólares				3,00	3,00	3,00	3,00
Ingreso total en dólares				15	15	15	15
Beneficio/costo				1,97	1,98	1,97	1,95

Realizado por: Carrera C, 2022.

### 3.6. Análisis del Rendimiento del látex del fruto toronche y de la enzima

#### 3.6.1. Rendimiento del látex del fruto

**Tabla 5-3:** Rendimiento del látex luego de su extracción del fruto.

Variable	Media	Mín	Máx
PESO FRUTA (kg)	8,02	7,29	9,19
PESO FRUTA SIN LÁTEX (kg)	7,24	6,71	8,22
LÁTEX CRUDO (g)	58,43	50,21	69,64
RENDIMIENTO DEL FRUTO (%)	90,36	89,44	92,04
RENDIMIENTO DEL LÁTEX (%)	0,73	0,69	0,76

**Realizado por:** Carrera C, 2022.

De acuerdo a la tabla 5-3, al realizar la extracción se determinó que el látex tiene un rendimiento de 0,73%, cuyo valor es bajo en comparación al obtenido por (Viñamahua M. y Sanchez R., 2005, pp. 47-63) con un rendimiento de 1,38%. Esta diferencia puede deberse a que la extracción del látex de las frutas verdes se realizó después de dos semanas de ser cosechadas mientras que (Viñamahua M. y Sanchez R., 2005, pp. 47-63) realizaron la extracción del látex en la misma planta con la finalidad de no dañar el fruto para posteriores usos y principalmente para obtener un mejor rendimiento ya que debe ser lo más verde posible.

#### 3.6.2. Rendimiento enzimático del látex del fruto toronche.

**Tabla 6-3:** Rendimiento enzimático del látex del fruto toronche.

Variable	Media	Mín	Máx
LÁTEX CRUDO (g).	58,43	50,21	69,64
LÁTEX PRECIPITADO (g).	25,8	20,51	35
ENZIMA LIOFILIZADA (g).	15,24	13,28	17,56
RENDIMIENTO (%).	26,15	25,22	26,8

**Realizado por:** Carrera C, 2022.

Al realizar el análisis se determinó que el peso de la enzima liofilizada tuvo un rendimiento del 26,15% como se muestra en la tabla 6-3; el cual difiere al rendimiento obtenido (Viñamahua M. y Sanchez R., 2005, pp. 47-63) quien obtuvo un valor del 17,00% e incluso mucho mayor al rendimiento que obtuvo de la enzima liofilizada de la papaya (*carica papaya*) con un rendimiento del 10,00%. La diferencia probablemente se deba a que en la presente investigación se realizó un precipitado por adición de sulfato de amonio como lo señala (Rojas, 2009, pp 19-20) que al usar sales se obtiene una mejor precipitación y purificación enzimática ya que estabilizan las proteínas contra la desnaturalización, proteólisis y contaminación bacteriana.

## CONCLUSIONES

- Al evaluar los componentes fisicoquímicos como humedad, proteína, grasa, fibra, carbohidratos, cenizas, sólidos solubles, pH y Acidez se identificó que el toronche se caracteriza como una fruta ácida y de alto índice de madurez debido a su bajo nivel de pH, y su elevado contenido de °Brix y acidez según lo señalado por la normativa NTE INEN 1998:2005.
- Al evaluar los parámetros fisicoquímicos de los diferentes niveles de enzima proteolítica (0; 0,5; 1,0; 1,5g) en cerveza artesanal se determinó diferencias estadísticas en la turbidez permanente y fría presentando los mejores resultados en el tratamiento 3, no obstante, los niveles de enzima no difieren en cuanto al nivel de pH, acidez, °Brix, densidad y % alcohol. En cuanto al análisis microbiológico todos los tratamientos son estadísticamente iguales tanto para mesófilos anaerobios, mohos y levaduras cumpliendo con la norma técnica NTON 03:038:06 para mesófilos anaerobios.
- De acuerdo a evaluación sensorial en el tratamiento 3 se obtuvo la mejor aceptación con una calificación de 4 (me gusta) para las variables de olor, apariencia y color mientras que para el sabor una valoración de 3 (ni me gusta ni me disgusta).
- Según el estudio económico en todos los tratamientos se generaron utilidades. Sin embargo, el mejor tratamiento fue con 1,5 g de enzima (T3) puesto a que se obtuvo los mejores resultados tanto fisicoquímicos como sensoriales generando un costo de producción de \$1,54 USD y un beneficio/costo \$1,95 USD con una mínima variación de apenas \$0,03 USD en relación al de costo más bajo (T1).

## RECOMENDACIONES

- Incentivar más investigaciones sobre el uso agroindustrial del fruto toronche (*V. Stipulata*) y de la capacidad enzimática de su látex para posteriores aplicaciones en otras áreas como la industria cárnica, láctea, textil, etc.
- Realizar la extracción del látex a horas de la mañana y sin necesidad de cosechar el fruto del huerto con el objetivo de generar mayor rendimiento y efectividad enzimática.
- Continuar el estudio aplicando 1,5 g o mayor cantidad de enzima proteolítica del toronche en diversos tipos de cerveza artesanal de tipo fermentación alta para mejorar los resultados obtenidos en el presente estudio.
- Se propone realizar pruebas fisicoquímicas como colorimetría y carbonatación en la cerveza aplicando esta enzima con la finalidad de obtener mayor exactitud en los resultados.

## BIBLIOGRAFÍA

**AGUIRRE E. & CASTILLO P. 2009.** “Extracción y Estudio Comparativo de las Enzimas Proteolíticas del Fruto Toronche (*Carica-Stipulata*) y de la Papaya (*Carica-Papaya*) y su Aplicación en la Industria Alimenticia”. *DSPACE en ESPOL* [en línea], 2009, (Ecuador), pp. 2-3. [Consulta: 20 agosto 2022]. Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/7532/1/Extraccion%20y%20Estudio%20Comparativo%20de%20las%20Enzimas%20Proteol%20c3%20adticas.pdf>

**ALDÁZ ANDREA, MASTROCOLA NICOLA, PAZMIÑO JUAN, LEÓN JUAN & TAFUR VALDANO. 2017.** “Efecto del 1-metilciclopropeno en la inhibición del etileno durante la maduración de babaco (*Vasconcellea x heilbornii* var. *Pentagona*)”. *Siembra* [en línea], 2017, (Ecuador), p. 4. [Consulta: 25 Noviembre 2022]. Disponible en: <https://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/SIEMBRA/article/view/502>

**ÁLVAREZ, ARÁNZAZU VALVERDE. 2020.** Manal de análisis para el control de calidad de la cerveza en los laboratorios del Departamento de Ingeniería Química y Ambiental [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad de Sevilla, Sevilla, España. 2020. pp. 49-50. [Consulta: 18 Noviembre 2022]. Disponible en: <https://biblus.us.es/bibing/proyectos/abreproy/93285/fichero/TFG-3285+VALVERDE+%C3%81LVAREZ%2C+ARANZAZU.pdf>

**ALVAREZ, BRYAN. 2020.** Elaboración de cerveza artesanal tipo golden ale con cebada (*Hordeum vulgare*) y arroz (*oryza sativa* l.) [en línea] (trabajo de titulación). Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil, Ecuador. 2020. pp. 65-66. [Consulta: 25 Noviembre 2022]. Disponible en: [https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/ALVAREZ%20QUINTO%20BRYAN%202\\_compressed%20\(1\).pdf](https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/ALVAREZ%20QUINTO%20BRYAN%202_compressed%20(1).pdf)

**AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS.** *Métodos de análisis sensorial. Análisis sensorial 2. Sala de prueba, equipo, realización de la prueba (método internacional).* [en línea] <https://www.asbcnet.org/Methods/SensoryAnalysis/Pages/default.aspx>.

**ANDRADE A. & VIDAL D. 2011.** Actividad proteolítica de extractos enzimáticos provenientes de especies vegetales y su aplicación en la clarificación de jugos de frutas [en línea] (trabajo de titulación). Universidad del Azuay. Cuenca, Ecuador. 2011. p. 67. [Consulta: 15 Octubre 2022]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962006000200003](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962006000200003)

**AOAC 920.39/1990.** *Método gravimétrico de cenizas totales.* [en línea] <https://www.clubensayos.com/Biograf%C3%ADas/Analisis-bromatologico/2830089.html>.

- AOAC 930.15/90.** *Porcentaje de humedad por método gravimétrico.* [en línea] <https://www.clubensayos.com/Biograf%C3%ADas/Análisis-bromatologico/2830089.html>.
- AOAC 955.04/90.** *Método volumétrico Kjeldahl.* [en línea] <https://www.clubensayos.com/Biograf%C3%ADas/Análisis-bromatologico/2830089.html>.
- AOAC. 945.16.** *Determinación de extracto etéreo por método Soxhlet.* [en línea] <https://www.clubensayos.com/Biograf%C3%ADas/Análisis-bromatologico/2830089.html>.
- ARELLANO, JEFFERSON. 2019.** Extracción de la enzima papaína presente en el chilacuan (*Vasconcellea pubescens*) como alternativa de cuajo vegetal [en línea] (trabajo de titulación). Universidad Politécnica Estatal del Carchi, Tulcán, Ecuador. 2019. p. 43. [Consulta: 15 Octubre 2022]. Disponible en: <http://repositorio.upec.edu.ec/bitstream/123456789/877/1/009%20Extracci%C3%B3n%20de%20la%20enzima%20papa%C3%ADna%20presente%20en%20el%20chilacuan.pdf>
- ASHLAND. 2020.** *Polyclar™ Brewbrite /wort clarifier and beer stabilizers.* [Blog]. [Consulta: 15 Octubre 2022]. Disponible en: [https://www.brewtek.se/wp-content/uploads/2020/07/PC-11447.5\\_Polyclar-Brewbrite.pdf](https://www.brewtek.se/wp-content/uploads/2020/07/PC-11447.5_Polyclar-Brewbrite.pdf).
- AVEDAÑO, LORENA & ESCOBAR, MERY. 2017.** Implementación de la alternativa de mejora en el proceso de producción de la cerveza artesanal Tipo ale en la empresa Green Hops [en línea] (trabajo de titulación). Fundación Universidad de América, Bogotá, Colombia. 2017. p. 73. [Consulta: 25 Noviembre 2022]. Disponible en: <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/6579/1/6102536-2017-2-IQ.pdf>.
- BADUI, SALVADOR. 2006.** *Química de los alimentos.* [en línea]. 4ª ed. Naucalpan de Juárez-México: Pearson Educación, 2006. pp. 105-355. [Consulta: 20 septiembre 2022]. Disponible en: [https://www.academia.edu/31337237/Qu%C3%ADmica\\_de\\_los\\_Alimentos\\_4\\_Edici%C3%B3n\\_Salvador\\_Badui\\_Dergal](https://www.academia.edu/31337237/Qu%C3%ADmica_de_los_Alimentos_4_Edici%C3%B3n_Salvador_Badui_Dergal)
- BALAGUER, DIDAC. 2017.** Diseño de una planta de elaboración de cerveza artesanal. Microcervecería (Trabajo de titulación). (pregrado). Universidad Politécnica de Barcelona, Barcelona, España. 2017.
- BEERLAND STORE. 2022.** *Cómo elaborar tu propia cerveza y no morir en el intento.* [blog]. Quito: Beerland Admin, 02 de febrero 2022. [Consulta: 10 octubre 2022]. Disponible en: [https://www.beerlandstore.com/smartblog/7\\_como-elaborar-tu-propia-cerveza-y-no-morir-en.html](https://www.beerlandstore.com/smartblog/7_como-elaborar-tu-propia-cerveza-y-no-morir-en.html).
- BERMEO, JOSSELYN. 2020.** “Evaluación de la actividad de tres enzimas proteolíticas”. *Conciencia Digital* [en línea], 2020, (Ecuador), p. 4. [Consulta: 20 agosto 2022]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/343248561\\_Evaluacion\\_da\\_la\\_actividad\\_de\\_tres\\_enzimas\\_proteoliticasy\\_como\\_biocatalizadores\\_lacteos](https://www.researchgate.net/publication/343248561_Evaluacion_da_la_actividad_de_tres_enzimas_proteoliticasy_como_biocatalizadores_lacteos).
- BERMUDEZ F. & LIPE R. 2005.** Estudio preliminar de la actividad proteolítica de la enzima papaína sobre cicatrices de tipo queloides y estrías [en línea] (trabajo de titulación). Universidad

de el Salvador, San salvador, El Salvador. 2005. pp. 34-35. [Consulta: 15 Octubre 2022]. Disponible en: <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/5158/1/10129290.pdf>

**BHASKAR S & TOTARAM R. 2010.** “Biological aspects of proteolytic enzymes: A Review”. *ResearchGate*. [en línea], 2010, (India) . [Consulta: 15 Octubre 2022]. ISSN: 0974-6943. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/282212064\\_Biological\\_aspects\\_of\\_proteolytic\\_enzymes\\_A\\_Review](https://www.researchgate.net/publication/282212064_Biological_aspects_of_proteolytic_enzymes_A_Review).

**GÓMEZ, MARIO. 2014.** *¿Qué es una cerveza artesanal e industrial?*. [blog]. España, BIRRApertorio del Xino, 08 de octubre de 2014. [Consulta: 20 septiembre 2022]. Disponible en: <https://birrapertoriodelxino.wordpress.com/2014/10/08/que-es-una-cerveza-artesanal-e-industrial/>.

**BJCP. 2015.** Guía de estilos 2015. [en línea] 2015. [https://www.thebeertimes.com/wp-content/uploads/2017/08/2015\\_Guidelines\\_Beer\\_Espa%C3%B1ol-final.pdf](https://www.thebeertimes.com/wp-content/uploads/2017/08/2015_Guidelines_Beer_Espa%C3%B1ol-final.pdf).

**CARBONERO, PILAR. 1975.** Enzimas. [en línea] (Trabajo de titulación). MADRID : s.n., 1975. Universidad Politecnica de Madrid, Madrid, España. 1975. p. 201 . [Consulta: 15 Octubre 2022]. Disponible en: <https://oa.upm.es/54141/1/ENZIMAS.pdf>.

**CHALACO, JOSÉ. 2021.** Estudio para la elaboración de productos alimenticios derivados del Toronche en Puembo, provincia de Pichincha. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Iberoamericana del Ecuador, Quito, Ecuador. 2021. pp. 24-28. [Consulta: 25 Noviembre 2022]. Disponible en: <http://repositorio.unibe.edu.ec/bitstream/handle/123456789/402/CHALACO%20JUMBO%20OS%20c%29%20EUCLIDES.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**CORTÉS, DANIEL. 2017.** Análisis comparativo de Cervezas Artesanales Extremeñas. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad de Extremadura, Badajoz, España. 2017. p. 44. [Consulta: 25 Noviembre 2022]. Disponible en: [https://dehesa.unex.es/bitstream/10662/6875/1/TFGUEX\\_2017\\_Cortes\\_Monta%C3%B1a.pdf](https://dehesa.unex.es/bitstream/10662/6875/1/TFGUEX_2017_Cortes_Monta%C3%B1a.pdf)

**HERNÁNDEZ, MARTHA DE LA CARIDAD. 2009.** *Enzimas proteolíticas de vegetales superiores: Aplicaciones Industriales*. [en línea]. Buenos Aires-Argentina: Ciencia y Tecnología para el Desarrollo - CYTED, 2009. págs. 75-76. [Consulta: 20 septiembre 2009]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/282290286\\_Enzimas\\_proteoliticas\\_de\\_vegetales\\_superiores\\_Aplicaciones\\_industriales](https://www.researchgate.net/publication/282290286_Enzimas_proteoliticas_de_vegetales_superiores_Aplicaciones_industriales)

**DECCO. 2018.** *Procesos de cambio durante la maduración de la fruta*. [blog]. Valencia-España: Decco Naturally Postharvest, 28 de agosto de 2018. [Consulta: 29 noviembre 2009]. Disponible en: <https://www.deccoiberica.es/procesos-cambio-maduracion-de-la-fruta/>.

**ESTACIÓN METEOROLÓGICA, ESPOCH. 2022.** “Estación Agrometeorológica. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo”. *Boletín Mensual Meteorológico del mes de Noviembre*

2022 [en línea], 2022, (Ecuador), p. 9 [Consulta: 20 diciembre 2022] Disponible en: <https://www.esPOCH.edu.ec/index.php/estaci%C3%B3n-meteorol%C3%B3gica.html>

**FAO. 2003.** *Manual Para la Preparación y Venta de Frutas y Hortalizas del campo al mercado* [en línea] Disponible en: <https://www.fao.org/3/y4893s/y4893s00.htm#Contents>.

**FERNÁNDEZ, DIANA. 2013.** Estudio del toronche, propiedades nutricionales y aplicación en la gastronomía. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito, Ecuador. 2013. pp. 24-32. [Consulta: 15 Octubre 2022]. Disponible en: [http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/11757/1/50903\\_1.pdf](http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/11757/1/50903_1.pdf).

**FERREYRA, LEONEL. 2014.** Elaboración de cerveza: Historia y evolución, desarrollo de actividades de capacitación e implementación de mejoras tecnológicas para productores artesanales. [en línea] (trabajo de titulación). Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires, Argentina. 2014. p.34. [Consulta: 20 Agosto 2022]. Disponible en: <http://lipa.agro.unlp.edu.ar/wp-content/uploads/sites/29/2020/03/Trabajo-Final-Leonel-Ferreira.pdf>

**FLORES. 2019.** Evaluación de la textura del chorizo regional utilizando como aditivo proteasa (bromelina) en diferentes niveles. [en línea] (trabajo de titulación). Universidad Nacional de Ucayali, Pucallpa, Perú. 2019. [Consulta: 25 Noviembre 2022]. Disponible en: [http://repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/4460/000004292T\\_AGROINDUSTRIAS.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/4460/000004292T_AGROINDUSTRIAS.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

**GALARZA, ANDREA. 2018.** Elaboración de cerveza amber ale de alta fermentación saborizada y aromatizada con frutas y plantas aromáticas ecuatorianas. [en línea] (trabajo de titulación). Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador. 2018. p. 75. [Consulta: 25 Noviembre 2022]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15790/1/T-UC-0008-CQU-015.pdf>

**GALICIA, MARÍA. 2019.** Diseño y dimensionamiento de una línea de elaboración de cerveza artesana acondicionada en botella con levadura no-Saccharomyces, con una capacidad de 6000 L/semana en Abanto Ciérvana (Vizcaya). [en línea] (trabajo de titulación). Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España. 2018. p. 11. [Consulta: 10 octubre 2022]. Disponible en: [http://oa.upm.es/56981/1/TFG\\_MARIA\\_GALICIA\\_GONZALEZ.pdf](http://oa.upm.es/56981/1/TFG_MARIA_GALICIA_GONZALEZ.pdf)

**GISBERT, MAURO. 2003.** Diseño del proceso industrial para la elaboración de cerveza [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España. 2003. [Consulta: 20 septiembre 2022]. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/73275/Dise%C3%B1o%20y%20puesta%20en%20marcha%20de%20una%20planta%20elaboradora%20de%20cerveza.pdf?sequence=3>.

**GOMAA, AHMED M. 2018.** “Application of Enzymes in Brewing”. *Journal of Nutrition and Food Science Forecast*. [en línea], 2018, (USA). [Consulta: 20 agosto 2022]. Disponible en: <https://scienceforecastoa.com/Articles/JNFSF-V1-E1-1002.pdf>.

**GONZÁLEZ, JOSÉ. 2013.** “Perspectivas de nuevos productos a base de amaranto: Cerveza Artesanal de Amaranto”. *Eumed. net* [en línea], 2013, (San Luis Potosí). [Consulta: 25 Noviembre 2022]. Disponible en: <https://www.eumed.net/rev/tlatemoani/14/cerveza-artesanal-amaranto.html>.

**GONZÁLEZ, MARCOS. 2017.** *Principios de Elaboración de las Cervezas Artesanales*. [en línea]. Morrisville-North Carolina: Lulu Enterprises. – Lulu Press Inc, 2017. pp. 117-136. [Consulta: 20 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.amazon.com/-/es/Marcos-Gonz%C3%A1lez/dp/1792641249>

**GRUDKOWSKA M. & ZAGDAŃSKA B. 2004.** “Multifunctional role of plant cysteine proteinases”. *Acta Biochimica Polonica* [en línea], 2004, (Polonia) 51(3), p. 2. [Consulta: 20 septiembre 2022]. Disponible en: [http://www.actabp.pl/pdf/3\\_2004/609s.pdf](http://www.actabp.pl/pdf/3_2004/609s.pdf)

**GUARANDA, EDWARD. 2021.** Evaluación del poder floculante de la planta cadillo (Genus triumfetta) en la clarificación de una cerveza artesanal tipo APA (American Pale Ale). [en línea], (trabajo de titulación). Universidad Politécnica Estatal del Carchi, Tulcán, Ecuador. 2021. p. 46. [Consulta: 25 Noviembre 2022]. Disponible en: <http://repositorio.upec.edu.ec/handle/123456789/1312>.

**HACH. 2017.** *Aplicación: determinación de turbidez de la cerveza. Medición de turbidez total, turbidez permanente y turbidez fría de la cerveza* [blog]. USA: Hach Be Right, 12 de noviembre, 2017. [Consulta: 25 Noviembre 2022]. Disponible en: [https://latam.hach.com/?\\_bt=253934040220&\\_bk=hach&\\_bm=p&\\_bn=g&\\_bt=253934040220&\\_bk=hach&\\_bm=p&\\_bn=g&utm\\_id=go\\_cmp-281474232\\_adg-22662362832\\_ad-253934040220\\_aud-312640689355:kwd-171461142\\_dev-c\\_ext-\\_prd-&utm\\_source=google&gclid=Cj0KCQjwp86EBhD7ARIsAFkgakgn](https://latam.hach.com/?_bt=253934040220&_bk=hach&_bm=p&_bn=g&_bt=253934040220&_bk=hach&_bm=p&_bn=g&utm_id=go_cmp-281474232_adg-22662362832_ad-253934040220_aud-312640689355:kwd-171461142_dev-c_ext-_prd-&utm_source=google&gclid=Cj0KCQjwp86EBhD7ARIsAFkgakgn).

**HEEDDY ALBURQUEQUE, SERGIO CUEVA, MIGUEL UBILLUS & GONZALO URTEAGA. 2018.** Diseño de proceso productivo de cerveza artesanal a base de uva. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad de Piura, Piura, Perú. 2018. p. 37. [Consulta: 20 septiembre 2022]. Disponible en: [https://pirhua.udep.edu.pe/bitstream/handle/11042/3614/PYT\\_Informe\\_Final\\_Proyecto\\_Cerveza\\_de\\_uva.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://pirhua.udep.edu.pe/bitstream/handle/11042/3614/PYT_Informe_Final_Proyecto_Cerveza_de_uva.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

**HERNANDEZ M, CHÁVEZ M & BÁEZ R. 2003.** “Nueva tecnología para la obtención de bromelina de tallos de piña (Ananas comosus (L) Merr)”. *ResearchGate* [en línea], 2003, (Cuba) 20(3), p. 2. [Consulta: 25 noviembre 2022]. Disponible en: [http://www.actabp.pl/pdf/3\\_2004/609s.pdf](http://www.actabp.pl/pdf/3_2004/609s.pdf)

**HOUGH, J. 1990.** *Biotecnología de la cerveza y de la malta*. [en línea]. Zaragoza-España: ACRIBIA. S.A, 1990. pp. 167-168. [Consulta: 25 Noviembre 2022]. Disponible en: <http://www.bio-nica.info/biblioteca/HoughxxxBiotecnologiaCerveza.pdf>

- IBERICAS, CERVEZAS. 2021.** *La cerveza artesanal*. [blog]. España: Cervezas Ibéricas, 2021. [Consulta: 20 Septiembre 2022]. Disponible en: <https://cervezasiberica.com/cerveza-artesanal/>.
- JACOME, GONZALO. 2015.** Obtención de extractos clarificados y concentrados de inhibidores de proteasas a partir de semillas de cereales y leguminosas seleccionadas. [en línea] (Trabajo de titulación). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador. 2015. p. 36. [Consulta: 20 septiembre 2022]. Disponible en: <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/10594/1/CD-6272.pdf>
- LLANOS, JOAQUIN. 2020.** Cerveza artesanal versus cerveza industrial: Un análisis de las preferencias de los jóvenes universitarios en Mar del Plata. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Nacional de Mar de Plata, Mar de Plata, Argentina. 2020. [Consulta: 20 septiembre 2022]. Disponible en: <http://nulan.mdp.edu.ar/3350/1/llanos-2020.pdf>.
- MARTÍNEZ, ANNABEL. 2015.** Análisis comparativo de compuestos bioactivos en cerveza artesanal y cerveza industrial. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad de Lleida, Lleida, España. 2014. [Consulta: 20 septiembre 2022]. Disponible en: <https://repositori.udl.cat/bitstream/handle/10459.1/48689/amartinezm.pdf>.
- MENDOZA, KAROL. 2021.** Influencia de la concentración de enzima bromelina en la clarificación de cerveza artesanal. [en línea] (Trabajo de titulación) (Maestría). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú. 2021. P. 39 [Consulta: 25 noviembre 2022]. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/18804>.
- MÓNICA MULET HING, ANGELA GIRALT SÁNCHEZ & ANGEL ANTONIO REMESAL BYCHKO. 2018.** “Propuesta de automatización para el pasteurizador de la fábrica de cervezas Hatuey de Santiago de Cuba”. *Scielo* [en línea], 2018, (Cuba) 38(3), p. 2. [Consulta: 28 noviembre 2022]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v38n3/rtq07318.pdf>.
- MOREANO, MARJIURY CELINA. 2019.** Evaluación de las propiedades del toronche (*vasconcellea stipulata*) como ablandador de carnes de res. [en línea] (Trabajo de titulación). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2019. P. 26-31 [Consulta: 20 Agosto 2022]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/11823/1/84T00634.pdf>
- NTE INEN 1529-10:2013.** *Control Microbiológico de los alimentos. mohos y levaduras viables. recuentos en placa por siembra en profundidad.* [en línea]. [https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\\_inen\\_1529-10-1.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1529-10-1.pdf). Primera Edición
- NTE INEN 1529-17:98.** *Control Microbiológico de los alimentos. bacterias anaerobias mesófilas. recuento en tubo por siembra en masa.* [en línea] <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-17.pdf>. Primera Edición.
- NTE INEN 1998:2005.** *Frutas Frescas. Babaco. Requisitos.* [en línea] <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1998.pdf>. Primera Edición.

**NTE INEN 2262:2013.** *Bebidas Alcoholicas. Cerveza. Requisitos.* [en línea] [https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\\_inen\\_2262-1.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_2262-1.pdf).

**NTE INEN 2322:2002.** *Bebidas Alcoholicas. Cerveza. Determinación de alcohol.* [en línea] <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2322.pdf>. Primera Edición.

**NTE INEN 2323:2002.** *Bebidas Alcoholicas. Cerveza. Determinación de acidez total.* [en línea] <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2323.pdf>.

**NTE INEN 2325:2002.** *Bebidas Alcohólicas. Cerveza. Determinación del ph.* [en línea] <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2325.pdf>. Primera Edición.

**NTE INEN 349:1978-03 .** *Bebidas Alcoholicas determinacion de la densidad relativa.* [en línea] [https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/NTE\\_INEN\\_349.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/NTE_INEN_349.pdf).

**NTE INEN 380:1985-12.** *Conservass vegetales. determinación de sólidos solubles. metodo refractometrico. Instituto de Normalización Ecuatoriana.* [en línea] <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/380.pdf>.

**NTE INEN 389:1985.** *Conservas vegetales determinación de la concentracion del ion hidrógeno (pH) .* [en línea] <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/389.pdf>. Primera Revisión.

**NTE INEN 542: 1980-12.** *Alimento para animales. determinación de la fibra cruda.* [en línea] <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/542.pdf>.

**NTON 03:038–06.** *Bebida fermentadas. Cerveza. Especificaciones.* [en línea] [http://www.puntofocal.gov.ar/notific\\_otros\\_miembros/nic70\\_t.pdf](http://www.puntofocal.gov.ar/notific_otros_miembros/nic70_t.pdf). Primera revisión.

**OKAFOR, NDUKA. 2007.** *Modern Industrial/Microbiology and Biotechnology.* [en línea]. Jersey-United States of America: Science Publishers, 2007. pp. 258-259. [Consulta: 20 septiembre 2022]. Disponible en: <http://site.iugaza.edu.ps/mwhindi/files/Modern-Industrial-MicrobiologyBiotechnology.pdf>

**PALMER, JOHN. 1999.** *how to brew.* [en línea]: Brewers Publications, 1999. pp. 10-78. [Consulta: 20 septiembre 2022]. Disponible en: <http://www.howtobrew.com/>

**PAREDES, CARLOS. 2017.** Mejorar la extracción de azúcares y características de calidad de la cerveza durante la maceración de las cervezas red ale y blonde ale producidas en Andes Brewing Co [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador. 2017. p. 14. [Consulta: 20 noviembre 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/26871/1/AL%20652.pdf>.

**PERALTA, PAOLA. 2013.** Usos culinarios de la Cerveza. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador. 2013. p. 20. [Consulta: 20 septiembre 2022]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/1617>

**RAY, DANIELS. 1998.** *Designing Great Beers: La guía fundamental para la elaboración de estilos clásicos de cervezas.* [en línea]. EE. UU: Brewers Publications, 1998. p. 150. [Consulta: 20 septiembre 2022]. Disponible en: <https://thebeerhunting.com/descargables/>

**REINOSO, IRENE. 2016.** Proyecto de factibilidad para la creación de una empresa productora y comercializadora de dulce de toronche, en la ciudad de Loja. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Nacional de Loja, Loja, Ecuador. 2016. pp. 23-27. [Consulta: 20 Agosto 2022]. Disponible en: <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/10700/1/Irene%20Andreina%20Reinoso%20Pati%C3%B1o.pdf>.

**RODRÍGUEZ, HÉCTOR. 2003.** Determinación de Parámetros Físico-Químicos para la Caracterización de Cerveza Tipo Lager Elaborada por Compañía Cervecería Kunstmann S.A. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. 2003. pp. 30-32. [Consulta: 25 Noviembre 2022]. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2003/far696d/sources/far696d.pdf>

**ROJAS, VÍCTOR. 2009.** Evaluación de métodos de extracción y purificación de enzimas pectinolíticas obtenidas por fermentación en estado semisólido del *aspergillus niger*. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Eafit. Medellín, Colombia. 2009. pp. 19-20. [Consulta: 15 Octubre 2022]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/47237251.pdf>

**SAURINA, RUBÉN. 2015.** Diseño de una micro-planta de fabricación de cerveza y estudio de técnicas y procesos de producción. Ingeniería Química (EQ). [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona España. 2015. pp. 24-47. [Consulta: 15 Octubre 2022]. Disponible en: [https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/76575/02\\_Memoria.pdf?sequence=5&isAllowed=y](https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/76575/02_Memoria.pdf?sequence=5&isAllowed=y)

**SCHELDEMAN, XAVIER. 2002.** Distribution and potential of cherimoya (*annona cherimola* mill.) and highland (*annona cherimola* mill.) and highland. [en línea] (Trabajo de titulación). (Doctorado) Universiteit Gent, Belgica. 2002. pp. 25-67. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/294263060\\_Distribution\\_and\\_potential\\_of\\_Cherimoya\\_Anonna\\_cherimola\\_Mill\\_and\\_highland\\_papayas\\_Vasconcellea\\_spp\\_in\\_Ecuador](https://www.researchgate.net/publication/294263060_Distribution_and_potential_of_Cherimoya_Anonna_cherimola_Mill_and_highland_papayas_Vasconcellea_spp_in_Ecuador).

**SINCHE, MARCO. 2009.** Aislamiento, Purificación parcial y caracterización cinética de las proteasas presentes en el latex de los frutos de una planta del genero *vasconcellea*. [en línea] (Trabajo de titulación). Escuela Superior Nacional, Quito, Ecuador. 2009. pp. 36-40. [Consulta: 18 Octubre 2022]. Proyecto de titulación. <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1661/1/CD-2218.pdf>

**SUÁREZ, MARÍA. 2013.** Cerveza: componentes y propiedades. [en línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad de Oviedo, Oviedo, España. 2013. pp. 30. [Consulta: 18 Octubre 2022]. Disponible en: [https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/19093/TFM\\_%20Maria%20Suarez%20Diaz.pdf;jsessionid=D4F51848BF07682CCE60E2C3FF35338B?sequence=8](https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/19093/TFM_%20Maria%20Suarez%20Diaz.pdf;jsessionid=D4F51848BF07682CCE60E2C3FF35338B?sequence=8).

- SMITH, DAVID. 2018.** *Bromelina para clarificación de cerveza y bebidas, aditivos alimentarios.* [blog]. Enzima Gekerate, solo para una vida mejor, 2018. [Consulta: 18 Noviembre 2022]. Disponible en: <http://www.foodgradeenzyme.com/sale-10715392-bromelain-for-beer-and-beverage-clarification-food-additives.html>
- TORRES, FRANCO. 2021.** Elaboración de cerveza en base de harina de residuos agroindustriales de cacao. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador. 2021. p. 14. [Consulta: 25 noviembre 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/32128/1/BQ%20261.pdf>
- UNE EN ISO 11136:2017.** *Análisis sensorial. Metodología. Guía general para la realización de pruebas hedónicas con consumidores en una zona controlada.* [en línea] [http://eio.usc.es/pub/mte/descargas/ProyectosFinMaster/Proyecto\\_1673.pdf](http://eio.usc.es/pub/mte/descargas/ProyectosFinMaster/Proyecto_1673.pdf).
- UNE-EN ISO 7027-1:2016.** *Calidad del agua. Determinación de la turbidez. Parte 1: Métodos cuantitativos. (ISO 7027-1:2016).* [en línea] <https://www.une.org/encuentra-tu-norma/busca-tu-norma/norma?c=N0057502>.
- VALLE, PEDRO. 2000.** *Toxicología de alimentos.* [en línea]. México, D.F- México: Centro Nacional de Salud Ambiental, 2000. p. 172. [Consulta: 25 Noviembre 2022]. Disponible en: [https://www.fio.unicen.edu.ar/usuario/gmanrique/images/Toxicologia\\_de\\_Alimentos\\_VegaFlorentino.pdf](https://www.fio.unicen.edu.ar/usuario/gmanrique/images/Toxicologia_de_Alimentos_VegaFlorentino.pdf).
- VERDÚ, MAURO. 2004.** Diseño del proceso industrial para la elaboración de cerveza. [en línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España. 2004. pp. 26-28. [Consulta: 18 Octubre 2022]. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/73275/Dise%C3%B1o%20y%20puesta%20en%20marcha%20de%20una%20planta%20elaboradora%20de%20cerveza.pdf?sequence=3>
- VILLEGAS, LUIS. 2013.** Reingeniería de la planta de cerveza artesanal cherusker. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador. 2013. pp. 41-68. [Consulta: 20 septiembre 2022]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2185/1/T-UCE-0017-51.pdf>.
- VIÑAMAHUA M. Y SANCHEZ R. 2005.** Cuantificación del contenido de papaína y su Actividad Enzimática en seis especies del genero Vasconcellea, Nativas del sur del Ecuador. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador. 2005. pp. 47-63. [Consulta: 20 septiembre 2022]. Disponible en: <https://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/13059/3/Vi%C3%B1amagua%20C%C3%B3rdova%20Mar%C3%ADa%20Jackeline.pdf>
- WAGNER, MAURICIO. 2009.** *La Maceración y las Enzimas.* [blog]. México: Cerveza Casera, 2009. [Consulta: 20 Septiembre 2022]. Disponible en: <https://cervezacasera.com.mx/maceracion/>.

**WANG, Y AND LINGZHEN YE. 2021.** “Haze in Beer: Its Formation and Alleviating Strategies, from a Protein–Polyphenol Complex Angle”. *PudMed Central* [en línea], 2021, (China) 10(12), [Consulta: 25 noviembre 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8702196/#:~:text=According%20to%20the%20causes%20of,proteins%20at%20a%20certain%20proportion>



## ANEXOS

### ANEXO A: ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LAS CARACTERÍSTICAS BROMATOLÓGICAS DEL FRUTO TORONCHE

VARIABLE	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Mediana	Asimetría	Kurtosis
%HUMEDAD	4	92,79	0,3	0,32	92,55	93,17	92,72	0,71	-1,47
%CENIZA	4	0,75	0,06	8,36	0,69	0,84	0,74	1,13	-0,9
%FIBRA	4	1,64	0,17	10,41	1,42	1,8	1,68	-0,79	-1,33
%PROTEÍNA	4	0,9	0,17	19,35	0,73	1,14	0,87	0,99	-1,04
%GRASA	4	0,34	0,09	26,98	0,23	0,45	0,33	0,33	-1,02
%CARBOHIDRATOS	4	3,58	0,24	6,77	3,37	3,87	3,54	0,45	-1,65

### ANEXO B: ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL FRUTO TORONCHE

VARIABLE	n	Media	D.E.	Mín	Máx	Mediana
° BRIX	4	9,18	0,25	8,8	9,3	9,3
PH	4	4,78	0,1	4,7	4,9	4,75
% ACIDEZ	4	0,49	0,06	0,42	0,54	0,5

### ANEXO C: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL CONTENIDO DE PH EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA.

#### 1. RESULTADOS EXPERIMENTALES

TRATAMIENTO	NIVELES ENZIMA	PH				PROMEDIO
		R1	R2	R3	R4	
T0	0 g	4,43	4,45	4,38	4,52	4,45
T1	0,5 g	4,46	4,52	4,48	4,39	4,46
T2	1,0 g	4,45	4,46	4,44	4,28	4,41
T3	1,5 g	4,51	4,42	4,35	4,51	4,45

#### 2. ANÁLISIS DE VARIANZA

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	0,01	3	2,2E-03	0,45	0,7247	
TRATAMIENTOS		0,01	3	2,2E-03	0,45	0,7247
Error	0,06	12	4,9E-03			
Total	0,07	15				

### 3. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0.05)

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T2	4,41	4	0,04	A
T0	4,45	4	0,04	A
T3	4,45	4	0,04	A
T1	4,46	4	0,04	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

## ANEXO D: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL CONTENIDO DE ACIDEZ (%) EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA.

### 1. RESULTADOS EXPERIMENTALES

ACIDEZ TITULABLE						
TRATAMIENTO	NIVELES ENZIMA	R1	R2	R3	R4	PROMEDIO
T0	0 g	0,07	0,08	0,08	0,07	0,08
T1	0,5 g	0,08	0,07	0,08	0,08	0,08
T2	1,0 g	0,07	0,08	0,07	0,07	0,07
T3	1,5 g	0,08	0,08	0,07	0,07	0,07

### 2. ANÁLISIS DE VARIANZA

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	5,0E-05	3	1,7E-05	0,57	0,6445	
TRATAMIENTOS		5,0E-05	3	1,7E-05	0,57	0,6445
Error	3,5E-04	12	2,9E-05			

Total 4,0E-04 15

---

### 3. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0.05)

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T2	0,07	4	2,7E-03 A
T3	0,08	4	2,7E-03 A
T0	0,08	4	2,7E-03 A
T1	0,08	4	2,7E-03 A

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

## ANEXO E: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL CONTENIDO DE SÓLIDOS SOLUBLES (°BRIX) EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA.

### 1. RESULTADOS EXPERIMENTALES

°BRIX						
TRATAMIENTO	NIVELES ENZIMA	R1	R2	R3	R4	PROMEDIO
T0	0 g	3,23	4,23	3,80	3,43	3,68
T1	0,5 g	3,70	3,87	3,47	3,73	3,69
T2	1,0 g	2,90	3,70	3,33	3,57	3,38
T3	1,5 g	3,00	3,63	3,10	3,83	3,39

### 2. ANÁLISIS DE VARIANZA

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,36	3	0,12	0,95	0,4479
TRATAMIENTOS	0,36	3	0,12	0,95	0,4479
Error	1,52	12	0,13		
Total	1,88	15			

### 3. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0.05)

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T2	3,38	4	0,18 A
T3	3,39	4	0,18 A
T0	3,67	4	0,18 A

T1                      3,69    4            0,18    A

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

## **ANEXO F: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DENSIDAD (g/cm<sup>3</sup>) EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA.**

### 1. RESULTADOS EXPERIMENTALES

DENSIDAD ABSOLUTA (g/m3)						
TRATAMIENTOS	NIVELES ENZIMA	R1	R2	R3	R4	PROMEDIO
T0	0 g	1,0113	1,0121	1,0114	1,0112	1,0115
T1	0,5 g	1,0121	1,0124	1,0111	1,0104	1,0115
T2	1,0 g	1,0116	1,0111	1,0110	1,0108	1,0111
T3	1,5 g	1,0109	1,0111	1,0115	1,0107	1,0111

### 2. ANÁLISIS DE VARIANZA

#### **Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6,9E-07	3	2,3E-07	0,7405	0,5481
TRATAMIENTOS	6,9E-07	3	2,3E-07	0,7405	0,5481
Error	3,7E-06	12	3,1E-07		
Total	4,4E-06	15			

### 3. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0.05)

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T3	1,0111	4	0,0003 A
T2	1,0111	4	0,0003 A
T1	1,0115	4	0,0003 A
T0	1,0115	4	0,0003 A

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

## **ANEXO G: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL CONTENIDO DE ALCOHOL (%) EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA.**

### 1. RESULTADOS EXPERIMENTALES

% ALCOHOL						
TRATAMIENTOS	NIVELES ENZIMA	R1	R2	R3	R4	PROMEDIO
T0	0 g	6,30	6,41	6,86	6,20	6,44
T1	0,5 g	6,47	6,39	6,30	6,28	6,36
T2	1,0 g	6,47	6,92	6,45	6,63	6,62
T3	1,5 g	6,36	6,51	6,64	6,94	6,62

## 2. ANÁLISIS DE VARIANZA

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,20	3	0,07	1,31	0,3175
TRATAMIENTOS	0,20	3	0,07	1,31	0,3175
Error	0,60	12	0,05		
Total	0,80	15			

## 3. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0.05)

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T1	6,36	4	0,11 A
T0	6,44	4	0,11 A
T3	6,62	4	0,11 A
T2	6,62	4	0,11 A

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

## ANEXO H: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE TURBIDEZ PERMANENTE EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA.

### 1. RESULTADOS EXPERIMENTALES

TURBIDEZ PERMANENTE NTU						
TRATAMIENTOS	NIVELES ENZIMA	R1	R2	R3	R4	PROMEDIO
T0	0 g	10,9	10,7	10,2	10,2	10,50
T1	0,5 g	13,4	12,3	11,2	11,9	12,20
T2	1,0 g	10,6	10,1	11,2	9,8	10,43

T3	1,5 g	8,0	8,9	8,1	7,3	8,08
----	-------	-----	-----	-----	-----	------

## 2. ANÁLISIS DE VARIANZA

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo		34,47	3	11,49	25,84 <0,0001
TRATAMIENTO		34,47	3	11,49	25,84 <0,0001
Error		5,34	12	0,44	
Total		39,80	15		

## 3. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0.05)

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
T3	8,08	4	0,33 A
T2	10,43	4	0,33 B
T0	10,50	4	0,33 B
T1	12,20	4	0,33 C

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

## ANEXO I: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE TURBIDEZ FRÍA EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA.

### 1. RESULTADOS EXPERIMENTALES

TURBIDEZ TOTAL NTU						
TRATAMIENTOS	NIVELES ENZIMA	R1	R2	R3	R4	PROMEDIO
T0	0 g	54,7	55,6	54,4	53,0	54,43
T1	0,5 g	66,6	63,6	64,3	64,8	64,83
T2	1,0 g	55,8	54,0	54,6	52,7	54,28
T3	1,5 g	46,7	48,1	46,6	44,1	46,38

TURBIDEZ FRÍA NTU						
TRATAMIENTOS	NIVELES ENZIMA	R1	R2	R3	R4	PROMEDIO
T0	0 g	43,8	44,9	44,2	42,8	43,93

T1	0,5 g	53,2	51,3	53,1	52,9	52,63
T2	1,0 g	45,2	43,9	43,4	42,9	43,85
T3	1,5 g	38,7	39,2	38,5	36,8	38,30

## 2. ANÁLISIS DE VARIANZA

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	420,35	3	140,12	154,47	<0,0001
TRATAMIENTO	420,35	3	140,12	154,47	<0,0001
Error	10,89	12	0,91		
Total	431,23	15			

## 3. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0.05)

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
T3	38,30	4	0,48 A
T2	43,85	4	0,48 B
T0	43,93	4	0,48 B
T1	52,63	4	0,48 C

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

## ANEXO J: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE MOHOS Y LEVADURAS EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA.

### 1. RESULTADOS EXPERIMENTALES

MOHOS Y LEVADURAS (UFC/cm <sup>3</sup> )						
TRATAMIENTOS	NIVELES ENZIMA	R1	R2	R3	R4	PROMEDIO
T0	0 g	1,44E+02	1,42E+02	1,43E+02	1,40E+02	1,42E+02
T1	0,5 g	1,43E+02	1,43E+02	1,40E+02	1,43E+02	1,42E+02
T2	1,0 g	1,42E+02	1,42E+02	1,43E+02	1,44E+02	1,43E+02
T3	1,5 g	1,44E+02	1,45E+02	1,44E+02	1,44E+02	1,44E+02

### 2. ANÁLISIS DE VARIANZA

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	10,75	3	3,58	2,26	0,1334	
TRATAMIENTOS		10,75	3	3,58	2,26	0,1334
Error	19,00	12	1,58			
Total	29,75	15				

## 3. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P&lt;0.05)

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T1	142,25	4	0,63	A
T0	142,25	4	0,63	A
T2	142,75	4	0,63	A
T3	144,25	4	0,63	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**ANEXO K: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE MESÓFILOS ANAEROBIOS EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA.**

## 1. RESULTADOS EXPERIMENTALES

MESÓFILOS ANAEROBIOS (UFC/cm <sup>3</sup> )						
TRATAMIENTOS	NIVELES ENZIMA	R1	R2	R3	R4	PROMEDIO
T0	0 g	63	61	56	65	61
T1	0,5 g	61	60	71	57	62
T2	1,0 g	61	62	67	60	62
T3	1,5 g	61	67	65	58	63

## 2. ANÁLISIS DE VARIANZA

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	4,83	3	1,61	0,08	0,9679	
TRATAMIENTOS		4,83	3	1,61	0,08	0,9679
Error	232,23	12	19,35			
Total	237,06	15				

### 3. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0.05)

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T0	61,25	4	2,20	A
T1	62,10	4	2,20	A
T2	62,35	4	2,20	A
T3	62,75	4	2,20	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

## ANEXO L: ANÁLISIS ESENSORIAL EN LA CERVEZA ARTESANAL CON DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA.

### 1. OLOR

OLOR		T0	T1	T2	T3
Puntaje	Escala	N° Jueces	N° Jueces	N° Jueces	N° Jueces
1	Me disgusta mucho	1	1	1	0
2	Me disgusta	10	9	5	0
3	Ni me gusta ni me disgusta	23	23	16	25
4	Me gusta	38	32	43	37
5	Me gusta mucho	8	15	15	18
	TOTAL	80	80	80	80
$\bar{x} =$	$(P1 * \text{°NJ}) + (P2 * \text{°NJ}) \dots / T =$	3,53	3,64	3,83	3,91

### 2. APARIENCIA

APARIENCIA		T0	T1	T2	T3
Puntaje	Escala	N° Jueces	N° Jueces	N° Jueces	N° Jueces
1	Me disgusta mucho	1	1	0	0
2	Me disgusta	8	11	1	1
3	Ni me gusta ni me disgusta	28	21	17	16
4	Me gusta	36	41	43	39
5	Me gusta mucho	7	6	19	24
	TOTAL	80	80	80	80
$\bar{x} =$	$(P1 * \text{°NJ}) + (P2 * \text{°NJ}) \dots / T =$	3,50	3,50	4,00	4,08

### 3. COLOR

COLOR		T0	T1	T2	T3
Puntaje	Escala	N° Jueces	N° Jueces	N° Jueces	N° Jueces
1	Me disgusta mucho	0	0	0	0
2	Me disgusta	6	10	1	2
3	Ni me gusta ni me disgusta	33	37	16	16
4	Me gusta	32	24	43	37
5	Me gusta mucho	9	9	20	25
	TOTAL	80	80	80	80
$\bar{x} =$	$(P1 * \text{°NJ}) + (P2 * \text{°NJ}) \dots / T =$	3,55	3,40	4,03	4,06

### 4. SABOR

SABOR		T0	T1	T2	T3
Puntaje	Escala	N° Jueces	N° Jueces	N° Jueces	N° Jueces
1	Me disgusta mucho	3	5	3	1
2	Me disgusta	23	21	13	13
3	Ni me gusta ni me disgusta	28	26	20	30
4	Me gusta	15	23	34	23
5	Me gusta mucho	11	5	10	13
	TOTAL	80	80	80	80
$\bar{x} =$	$(P1 * \text{°NJ}) + (P2 * \text{°NJ}) \dots / T =$	3,10	3,03	3,44	3,44

## ANEXO M: ANÁLISIS ECONÓMICO DE LA OBTENCIÓN DE LA ENZIMA PARA APLICACIÓN EN LA CERVEZA ARTESANAL

### 1. COSTO DE PRODUCCIÓN POR PRODUCCIÓN Y PURIFICACIÓN DE LA ENZIMA PROTEOLÍTICA DEL TORONCHE

PRODUCTO	UNIDAD	CANTIDAD	PRECIO	UNIDAD	PRECIO	
			UNITARIO (\$)	USADA	CANTIDAD	UNITARIO (\$)
Fruto toronche	40	kg	4	24,040	kg	2,40
Etanol 96%	1000	ml	2,5	526,18	ml	1,32
cloruro de sodio	100	g	0,3	58,46	g	0,18
Sulfato de amonio	25	g	1,25	25,00	g	1,25

agua destilada	5000	ml	4,5	100	ml	0,09
TOTAL						5,23

2. COSTO DE PRODUCCIÓN DE CADA CANTIDAD DE ENZIMA PARA CADA TRATAMIENTO

COSTO DE PRODUCCIÓN DE ENZIMA POR TRATAMIENTO		
Costo enzima purificada	45,73 g	5,23
Costo por cada 11 g	11 g	1,26
T0	0 g	0
T1	0,5 g	0,06
T2	1 g	0,11
T3	1,5 g	0,17

**ANEXO N: ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL RENDIMIENTO DE LA OBTENCIÓN LÁTEX Y DE LA ENZIMA**

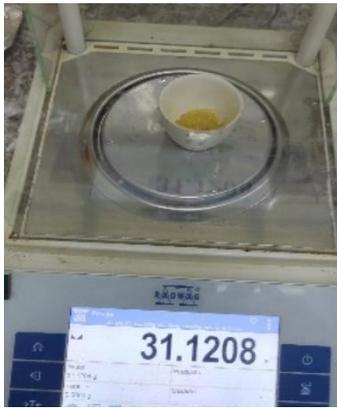
Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Mediana
PESO FRUTA (kg)	4	8,02	0,84	10,46	7,29	9,19	7,8
PESO FRUTA SIN LÁTEX (Kg)	4	7,24	0,68	9,45	6,71	8,22	7,02
LÁTEX CRUDO (g)	4	58,43	8,19	14,03	50,21	69,64	56,93
RENDIMIENTO DEL FRUTO (%)	4	90,36	1,2	1,33	89,44	92,04	89,98
RENDIMIENTO DEL LÁTEX (%)	4	0,73	0,03	4,03	0,69	0,76	0,74

Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Mediana
LÁTEX CRUDO (g)	4	58,43	8,2	14,03	50,21	69,64	56,93
LÁTEX PRECIPITADO (g)	4	25,8	6,45	25,01	20,51	35	23,84
ENZIMA LIOFILIZADA (g)	4	15,24	1,76	11,58	13,28	17,56	15,06
RENDIMIENTO (%)	4	26,15	0,68	2,59	25,22	26,8	26,29

**ANEXO O: SELECCIÓN Y LAVADO DE MATERIA PRIMA**



### ANEXO P: CARACTERIZACIÓN DEL FRUTO TORONCHE



### ANEXO Q: EXTRACCIÓN DEL LATEX DEL FRUTO TORONCHE



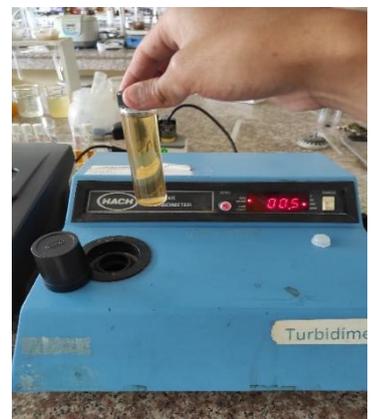
**ANEXO R: PRECIPITACIÓN Y PURIFICACIÓN DE LA ENZIMA DEL FRUTO TORONCHE**



## ANEXO S: ELABORACIÓN DE CERBEZA ARTESANAL GOLDEN ALE

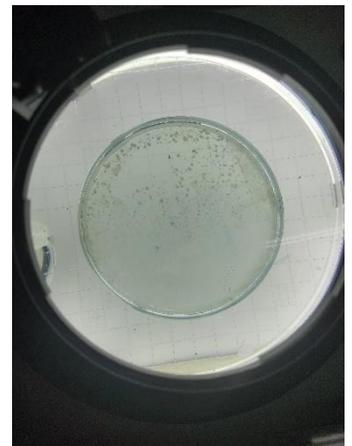


## ANEXO T: ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LA CERBEZA ARTESANAL A DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA





**ANEXO U: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA CERVEZA ARTESANAL A DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA**



**ANEXO V: ANÁLISIS SENSORIAL DE LA CERVEZA ARTESANAL A DIFERENTES NIVELES DE ENZIMA**







epoch

Dirección de Bibliotecas y  
Recursos del Aprendizaje

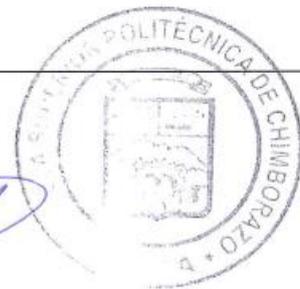
UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y  
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 20 / 01 / 2023

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Christian Giovanni Carrera Zavala
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias Pecuarias
<b>Carrera:</b> Ingeniería en Industrias Pecuarias
<b>Título a optar:</b> Ingeniero en Industrias Pecuarias
<b>f. responsable:</b> Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz

D.B.R.A.I.  
Ing. Cristhian Fernando Castillo



0094-DBRA-UTP-2023