

Universidad de Matanzas
Sede “Camilo Cienfuegos”
Facultad de Ciencias Técnicas
Departamento de Química



Título: Obtención de una bebida con mayor contenido de proteínas mediante el uso de fracciones de la molienda del bagazo de malta

Trabajo de diploma presentado como requisito parcial para optar por el título de Ingeniero Químico.

Autor: Joel Cepero Oropesa

Tutores: Dr.C. Marcelo Marcet Sánchez

Ing. Eddy Martínez Padrón

Matanzas

2019

Declaración de autoridad

Yo, Joel Cepero Oropesa, declaro ser el único autor de esta investigación; realizada en la Universidad de Matanzas, Sede “Camilo Cienfuegos”, como requisito parcial para optar por el título de Ingeniería Química. Autorizo que la misma sea utilizada por la mencionada Institución como material de consulta. Para que así conste, firma:

Nombre y apellidos

Firma

Dedicatoria

Gracias a todos, a todo aquel que en un momento estuvo y está a mi lado, familia y amigos, a todo aquel que me dijo tú puedes y al que dijo que no. Gracias a aquel que sonrió a mi lado en todo momento, aquel que está lejos, pero sonrío por mí. Muchas gracias a todos, sin decir nombre alguno, sabéis quienes son vosotros.

Agradecimientos

Siempre hay quien se destaca por su contribución en las tareas del hombre, serán a esas personas, a los que tanto admiro y me llevaron al lugar donde estoy ahora, a los que doy GRACIAS.

A mis dos tutores, Eddy y Marcelo, que tuvieron que soportar las visitas constantes de mis amigos de la universidad para probar experimentos tanto míos como de mis propios tutores. Además de brindarme sus apoyos, guías y consejos para poder realizar la tesis. Eddy, gracias por toda la ayuda prestada y el tiempo dado. Sin ti todo hubiera sido casi imposible de hacer. Eres increíble. Marcelo, gracias por la sabiduría entregada, fuiste piedra angular en todo momento. Eres inmenso maestro.

A mi familia en general por darme ánimos en todo momento de nunca abandonar mi sueño de ser ingeniero, pero en especial a mis hermanos Andy y Dachel, que sin importar nada, son las personas que más quiero.

A mis abuelos, que son inspiración para mí en todo sentido, donde quiera que estén, sepan que les agradezco todo y espero que puedan verme sonreír. Los extraños.

A mis amigos que siempre estuvieron a mi lado en momentos en los que era incluso difícil permanecer junto a mí, pero en especial a estos tres que conocí en mi primer año. Yosiel, eres quien me hizo prometer que al volverte a ver en tres años fuese ingeniero, aquí estoy mi amigo. Adrián, gracias por estar a mi lado, hiciste para mí la universidad un lugar acogedor. Froilán, gracias por ser mi amigo, me divertía cada momento que hablábamos, recuerda que siempre serás mi copia.

Al resto de mis compañeros y amigos, gracias por todo.

Resumen

En esta investigación se realiza el análisis de las fracciones de la molienda del bagazo de malta para determinar cuál presenta mayor concentración de macromoléculas. Para esto se analizaron diferentes fracciones de bagazo de malta, de las cuales se seleccionaron las dos con mayor concentración de proteínas para la fabricación de una bebida con características similares a una cerveza. Igualmente se diseñó y escaló un fermentador para ser instalado en el laboratorio de Biotecnología Ambiental de la Universidad de Matanzas. El criterio de escalado utilizado es el escalado geométrico. Con el uso del *software SuperPro Designer* y los datos obtenidos del escalado se simuló el proceso de fermentación para comparar con los datos de la experimentación.

Summary

In this investigation the analysis of the fractions of the milling malt bagasse is carried out to determine which presents the highest concentration of macromolecules. For this, different fractions of malt bagasse were analyzed. The two with the highest concentration of proteins were selected for the manufacture of a beverage with characteristics similar to a beer. A fermenter was also designed and scaled to be placed in the Environmental Biotechnology Laboratory of the University of Matanzas. The scaling criterion used is the geometric scaling. With the use of the SuperPro Designer software and the data obtained from the scaling, the fermentation process was simulated to compare with the experimental data.

Tabla de contenido

Introducción.....	1
Capítulo 1: Fundamentos teóricos.....	4
1.1 Consideraciones teóricas	4
1.2 Materias primas utilizadas para la producción de cerveza	4
1.3 Proceso de producción de la cerveza.....	9
1.4 Tipos de fermentaciones	11
1.5 Parámetros para medir la calidad de la cerveza	13
1.6 Molienda.....	16
1.7 Tipos de fermentadores	17
1.8 Métodos y criterios de escalado de reactores	19
1.8.1 Materiales de fabricación.....	20
1.8.2 Métodos de escalado.....	20
Conclusiones del capítulo	23
Capítulo 2: Materiales y métodos	24
2.1 Etapa experimental	24
2.1.1 Esquema de la metodología seguida para esta investigación	25
2.2 Análisis granulométrico del bagazo de malta	25
2.3 Instrumentación analítica	27
2.4 Reactivos y disoluciones	27
2.5 Utensilios de laboratorio.....	27
2.6 Técnicas de caracterización.....	28
2.6.1 Caracterización del bagazo de malta.....	28
2.6.2 Caracterización del mosto y de la bebida obtenida	30
2.7 Composición de las muestras para la elaboración de las bebidas	32
2.8 Escalado del fermentador	33
2.8.1 Ecuaciones de escalado.....	33
2.9 Uso del <i>software SuperPro Designer</i> en el diseño del fermentador	35

Capítulo 3: Análisis de resultados	37
3.1 Características del bagazo de malta	37
3.2 Características del mosto obtenido	37
3.3 Resultados de la fermentación	39
3.4 Características de la bebida obtenida	42
3.5 Escalado del fermentador	43
3.6 Uso del <i>software SuperPro Designeres</i> para la simulación del proceso de fermentación escalado.....	45
Conclusiones.....	47
Recomendaciones.....	48
Bibliografía	49

Introducción

Las macromoléculas, son la polimerización de moléculas biológicas más simples que alcanzan masas molares altas. Estas se sintetizan por deshidratación, la formación de un enlace covalente para unir dos monómeros y la liberación de una molécula de agua.

Las macromoléculas biológicas más importantes de las células animales son los carbohidratos, los lípidos, los ácidos nucleicos y las proteínas, siendo este último grupo el de mayor interés en el presente trabajo de investigación.

Debido al gran volumen de desechos que se producen en la industria cervecera y los mismos al conservar aún cantidades apreciables de proteínas y fibras, pueden ser utilizados en otras aplicaciones o en el mismo proceso de producción. Algunos autores reportan estudios realizados para la utilización de bagazo de malta.

Matias Falk (2018) propone un método de utilización de subproductos del proceso cervecero para la creación de ingredientes para la alimentación humana. También se han realizado otros estudios de posibles utilidades del bagazo de malta.

E. Gnansounou (2010) y P. Nigam (2011) realizaron estudios sobre la producción de bioetanol aprovechando los residuos de cebada en destilerías e industrias cerveceras ya que estos contienen cantidades apreciables de celulosa y almidón.

P. Nigam (2009) y S. I. Mussatto (2008) utilizaron el bagazo de malta para la producción de ácido láctico en un bioproceso empleando *Lactobacillus delbrueckii*. En estos trabajos se describe la biosíntesis del ácido láctico en una serie de pasos secuenciales: el proceso químico para hacer la celulosa más accesible a las enzimas, hidrólisis enzimática para obtener una solución

sacarificada que contenga la glucosa como azúcar principal y el paso final, la fermentación del hidrolizado por los microorganismos.

Para la producción de enzimas utilizando el bagazo de malta se han realizado múltiples estudios entre los cuales destaca el realizado por A. Knob (2013) donde utiliza el grano de malta como sustrato para la producción de la enzima xilanasa, cultivando el hongo *Penicillium glabrum*, demostrado que el bagazo de malta es un material potencialmente útil para este proceso biotecnológico.

En Cuba se viene creando desde hace varios años microindustrias o industrias locales de producción de cerveza para crear un atractivo turístico más variable. Estas microindustrias producen residuales que aún pueden ser utilizados. El residual que ocupa un mayor volumen es el bagazo de malta.

La Planta Piloto de la Universidad de Matanzas posee entre sus líneas de investigación el aprovechamiento de subproductos de la industria cervecera, entre los cuales se destaca el bagazo de malta. Teniendo en cuenta lo planteado anteriormente se propone el siguiente **problema de investigación**:

¿Cómo aumentar la extracción de macromoléculas en el proceso de obtención de una bebida a partir del bagazo de malta?

Hipótesis: Si se determina la clase de tamaño del bagazo de malta molido con mayor contenido de proteínas se podrá aumentar la extracción de estas macromoléculas en el proceso de obtención de una bebida con características similares a la cerveza.

Objetivo: Obtener una bebida con mayor contenido de proteínas mediante el uso de fracciones de la molienda del bagazo de malta.

Objetivos específicos:

1. Caracterizar desde el punto de vista físico-químico el bagazo de malta.

2. Determinar la fracción del bagazo de malta molido con mayor concentración de proteínas.
3. Obtener una bebida con características similares a la cerveza utilizando la fracción más conveniente.
4. Escalar el fermentador utilizado en la elaboración de la bebida.
5. Simular el fermentador escalado.

Capítulo 1: Fundamentos teóricos

En este capítulo se realiza una búsqueda bibliográfica, con su respectivo análisis, de la mayor cantidad de información relacionada con el tema de la tesis: Incremento de la extracción de macromoléculas mediante el uso de fracciones de la molienda del bagazo de malta.

1.1 Consideraciones teóricas

La cerveza es toda bebida fermentada a base de malta (cebada germinada), lúpulo, agua y levaduras. En algunos países la ley limita la utilización de los sustratos para la fermentación a cebada malteada y lúpulo, además de la levadura y el agua. En otros, es normal el que se añadan adjuntos (cereales no malteados, como la cebada, arroz, maíz y el trigo, refinado de fécula de papa y almíbares derivados de la caña de azúcar, remolacha azucarera o cereales) (García, 2013).

Corrientemente presenta tonos que van del amarillo oro al negro pasando por los marrones rojizos. Contiene CO₂ disuelto en saturación que se manifiesta en forma de burbujas a la presión atmosférica y suele estar coronada de una espuma más o menos persistente. Su aspecto puede ser cristalino o turbio. Su graduación alcohólica se encuentra entre los 3 % y los 9 % vol (Baik *and* Ullrich, 2009).

1.2 Materias primas utilizadas para la producción de cerveza

- Malta de cebada

Es la fuente de glucosa para la fermentación de la cerveza. Se obtiene mediante el malteado, este proceso consiste en tostar la malta de cebada germinada. Existen dos tipos, de 2 hileras de semillas y 6 hileras de semillas (Figura 1.1 y 1.2).



Figura 1.1. Cebada de dos hileras (*Hordeum distichum*) (Fuente: <https://cervezomicon.com>).



Figura 1.2. Cebada de seis hileras (*Hordeum hexastichon*) (Fuente: <https://cervezomicon.com>).

La variedad de dos hileras de semillas es más apta para la elaboración de la cerveza porque produce más azúcares fermentables y tiene menos proteína. La ventaja de la variedad de seis hileras para grandes fabricantes cerveceros es que convierte más de su propio peso de grano sin maltear, como el maíz o el arroz, pero requiere maquinaria de filtración, ya que presenta problemas de clarificación por su contenido en proteína (García, 2013).

El grano de cebada se compone en tres partes, cáscara, embrión o germen y endospermo. Éste último, consiste en almidón duro e insoluble (Figura 1.3).

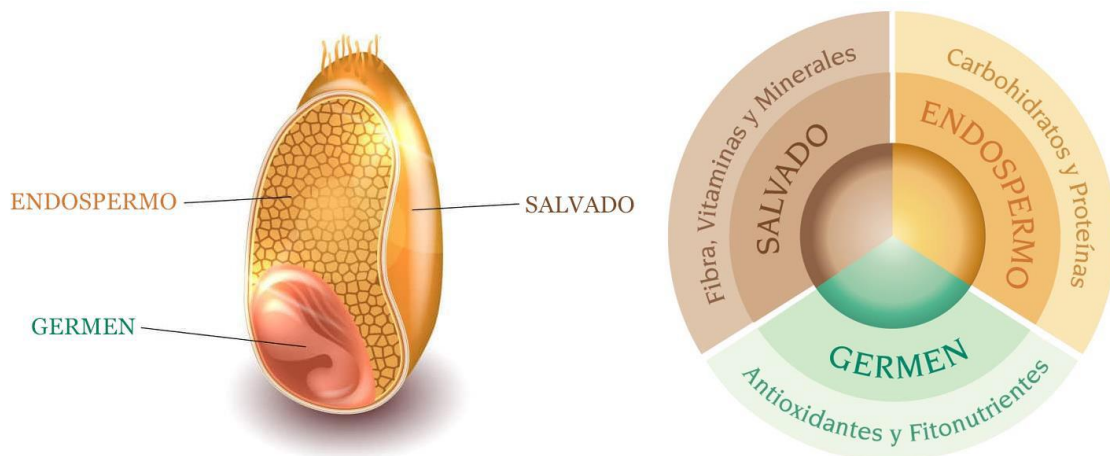


Figura 1.3. Estructura general de un grano entero de cebada. (Fuente: <https://wholegrainscouncil.org>).

El endospermo ocupa la mayor parte del grano y constituye la reserva alimenticia de la planta (almidón), la cual será usada como fuente de azúcares en el mosto de cerveza. Para posibilitar la metabolización del almidón por la levadura se debe transformar en azúcares más sencillos como la glucosa, maltosa y maltotriosa, debido a que estos poseen una estructura más sencilla y haciéndose bioquímicamente fermentables. Esto se logra mediante la maceración e incorporación de enzimas como la α amilasa y β amilasa a diferentes grados de temperatura (Lynch *et al.*, 2016).

- Lúpulo

El lúpulo (*Humulus lupulus*) es una de las materias primas más importantes en la obtención de cerveza, debido que proporciona el amargor y aroma a la bebida al ser cocidos junto al mosto. En este proceso de cocción se isomerizan o transforman las resinas en compuestos amargos. Además, este componente posee un ácido (ácido α) que favorece la acción de las levaduras y crea una proporción de equilibrio al dulzor de la malta. Dicho componente proviene de la flor hembra sin fecundar, donde en la base de sus bractéolas se encuentra la lupulina. Esta sustancia es la encargada de aportar el sabor amargo y aroma característicos de la cerveza. Del amargor son responsables los ácidos amargos, y los aromas proceden de aceites esenciales constituidos en especial por compuestos bastante volátiles y delicados a base de ésteres y de resinas. Existen numerosas variedades botánicas del lúpulo que son objeto de investigaciones intensas (Isebert, 2010).

Métodos de empleo de los lúpulos:

- *First Wort Hopping* (lupulado del primer mosto): incorporar el lúpulo en la caldera nada más empezar el trasiego del mosto. Era una práctica en desuso que resucitó en los años noventa. Mejora la calidad del amargor, más suave, y aporta sabor y aromas agradables.

- *Hop Back*: adición al final de la cocción, pasando el mosto por un filtro que contiene conos de lúpulo. Además de incorporar aromas frescos, los pétalos de las flores actúan como un nuevo filtro para el mosto.
- *Dry Hopping* (uso del lupulado en seco): es el método por excelencia para asegurar los aromas y es esencial para elaborar una IPA auténtica. Este método fue desarrollado en el siglo XIX en *Burton-on-Trent* para conservar la cerveza durante su larga travesía en barco de vela hasta la India. Se hace en la cerveza fría y la mayor parte de los compuestos volátiles se quedan en ella.

Efectos del lúpulo:

- Determina el sabor y aroma de cada cerveza.
- Proporciona el amargor necesario para contrarrestar el sabor dulce proveniente de la malta.
- Estabiliza la formación de la espuma.
- Ayuda en la acción de la levadura, aumenta la estabilidad.
- Posee propiedades antibacterianas al eliminar algunas bacterias.

Los tipos de lúpulo se clasifican atendiendo a su uso en la industria como amargos, aromáticos y mixtos.

Lo más usual es usar cantidades que oscilen entre los 25g y 50g por 25l de cerveza. En la industria cervecera lo más común es el uso de mezclas compuestas de diferentes tipos de lúpulos, pero para incorporar el amargor se utiliza una sola variedad (Lajçi *et al.*, 2013).

- Levadura

La levadura es un organismo eucariótico, un hongo microscópico unicelular, con mucha importancia debido a que es la encargada de transformar los azúcares fermentables en alcohol y dióxido de carbono, mediante la fermentación. La característica que le da importancia, es su destreza para metabolizar azúcares.

Han sido clasificadas sus cepas para poder ser usadas correctamente en cada proceso de producción de cada tipo de cerveza. Cada cepa otorga un sabor diferente, por lo que debe ser analizada antes de ser usada en dependencia de lo apetecido. Además, se deben considerar otras características de cada cepa a la hora de la selección, ejemplo de ello el requerimiento de oxígeno y la tasa de fermentación.

La floculación es también otra de las características de cada cepa de importancia. Una cepa de floculación lenta dejará demasiada levadura en suspensión al final de la fermentación y hará más difícil la separación de la cerveza (Kunze *and* Manger, 2014).

- Agua

Constituye el 90% de la composición de la cerveza, por lo que la convierte en la principal materia prima. Esta agua debe presentar un nivel bacteriológico limpio.

Mediante sus características físico-químicas se determinará posteriormente la transparencia, color de la cerveza, determinando así la calidad de la misma. Aunque su pH no es influyente hasta no ser combinados con el grano de la cebada.

Las aguas duras poseen niveles altos de bicarbonato que dificultan la acidificación, por lo que son usadas a la hora de fabricar cervezas oscuras ya que contrarrestan la acidez de las maltas oscuras logrando un pH óptimo de maceración. Un pH cercano a los 5.3, ligeramente ácido, favorece un mayor beneficio en la extracción de los azúcares por parte de las enzimas (García, 2012).

- Adjuntos

Comprenden las materias primas sustituyentes parcialmente de la malta. Entre ellos tenemos a las maltas especiales como también a las especias que se les pueden adicionar a la cerveza para personalizarla, su uso recomendable es que sea menor o igual al 25% del peso del extracto primitivo.

Poseen un gran valor en la fabricación de cervezas claras y estables. Por su almidón son una fuente de alcohol, lo mismo que el almidón de cebada, pero contribuyen poco al color, sabor, aroma y contenido de proteínas. Los cereales con un alto contenido de aceites son considerados indeseables en la fabricación de cerveza. En el mundo de la cerveza artesanal se emplea principalmente el trigo, cebada sin germinar y avena (Figura 1.4).



Figura 1.4. Diferentes granos para elaborar cerveza (Fuente: <http://blog.novozymes.com>).

1.3 Proceso de producción de la cerveza

La selección de la malta es el primer paso de la producción de cerveza, la malta contiene almidón que es sacarificada por la actividad enzimática en el grano, el proceso de malteado incluye la germinación del grano seguido de un tratamiento térmico para detener la germinación. El fabricante selecciona el agua, la cual es muy importante para la calidad de la cerveza y la actividad de la levadura, lo que

representa un 90 por ciento de la cerveza terminada. El agua debe tener algunos tipos de minerales en forma de sales e iones (Mg, Zn) que son determinantes para la velocidad de la fermentación. La concentración de sales e iones asociados a otros factores definen algunas características típicas de cervezas especiales (Comi *and* Manzano, 2009).

La harina de malta es mezclada con el agua, es calentada para permitir la degradación enzimática del sustrato, los compuestos de alta masa molar son hidrolizados a moléculas más pequeñas, las cuales son usadas por las levaduras durante el proceso de fermentación.

Seguidamente el mosto se lleva a temperatura de ebullición donde se le adiciona el lúpulo. Durante esta etapa ocurre la isomeración de los α ácidos y β ácidos del lúpulo encargados de aportar aroma y amargor a la cerveza. También se crean coágulos de proteínas por el efecto del calor. Posteriormente se enfría el mosto hasta la temperatura ambiente (Mesones, 2015).

Antes de agregar la levadura, el mosto es filtrado para eliminar el residuo del lúpulo y todos los compuestos que puedan haber coagulado. Entonces el mosto es oxigenado e inoculado con un cultivo puro de levadura.

Durante la fermentación la maltosa y cantidades más pequeñas de fructosa, glucosa, maltotriosa y sacarosa se convierten en etanol y en los sabores más importantes, durante la fermentación, los principales sabores incluyen ésteres (acetato de etilo, acetato de isoamilo) y alcoholes superiores (butanol, alcohol isoamílico, propanol). Todos ellos influyen en el carácter final de la cerveza (Comi *and* Manzano, 2009).

Al finalizar la fermentación las levaduras floculan y pueden ser utilizadas para producciones futuras, después de separar las levaduras, la cerveza es puesta a madurar. La maduración debe ser a temperaturas bajas del orden de los 2 °C, el período de maduración puede durar entre dos semanas y dos meses, en dependencia del tipo de cerveza. En esta fase el azúcar restante puede fermentarse y transformarse en etanol y CO₂, los cuales saturan la cerveza. La

maduración clásica dura varias semanas y termina con una floculación completa de la levadura que trae una clarificación total de la cerveza. Después de esta fase, la cerveza puede ser embotellada y preparada para el consumo (Figura 1.5).



Figura 1.5. Proceso de producción de cerveza. Fuente: (Suárez, 2013).

1.4 Tipos de fermentaciones

Para desarrollarse y funcionar bien, la levadura necesita nutrientes como carbohidratos fermentables, aminoácidos, vitaminas y minerales. Siendo el mosto más el lúpulo disponible, un medio que se puede considerar rico, de hecho, contiene carbohidratos asimilables, una amplia variedad de aminoácidos y otros componentes nitrogenados, sales minerales entre las que se encuentra el calcio, magnesio, sodio, potasio, hierro, zinc, cobre, manganeso, cloruros, sulfatos, carbonatos y fosfatos. También se encuentran presentes vitaminas tales como biotina, ácido pantotéico, inositol, tiamina, piridoxina y ácido nicotínico (García, 2013).

Durante el proceso de fermentación intervienen tres factores esenciales, la temperatura, el sustrato y el nivel de oxígeno. El tiempo y la temperatura de fermentado dependerá del tipo de levadura y estilo de cerveza que se desea realizar (González, 2017).

- Fermentación alta

Las cervezas de alta fermentación (13 a 20°C) o *Ale*, son de origen inglés (Islas Británicas) y son más antiguas que las *Lager*. Suelen ser ligeras, presenta un olor fuerte a lúpulo y poseen más contenido alcohólico: del 4 al 5 % (Cenzano del Castillo *et al.*, 2014).

Las ales presentan sabores muy marcados, tienen más carácter. Son aromáticas y con cuerpo. Una de las ventajas en la elaboración de las *ale* es su tiempo de fermentación (una a dos semanas) y generalmente no necesitan madurarse (Díaz, 2015).

- Fermentación baja

Las cervezas de baja fermentación (entre 0 y 4°C) se las denomina *Lager*. El origen del término *Lager* es alemán y significa almacenar, en alusión a los depósitos o profundas y frías cavernas en las que se maduraba a bajas temperaturas para que se desarrollen sus aromas y sabores típicos (Cenzano del Castillo *et al.*, 2014).

Durante la fermentación el mosto se somete a temperaturas que van desde 15 a 22 °C para cervezas “*Ale*” y desde 7 a 15 °C para cervezas “*Lager*”. En esta etapa las levaduras metabolizan los carbohidratos del mosto para la generación de etanol y CO₂ predominantemente.

La maduración consiste en someter al mosto fermentado a bajas temperaturas que van desde 4 a 10 °C por un tiempo de 5 a 10 días. Esta fermentación proporciona a la cerveza sus características finales de olor, color, sabor y brillantez (Hernandez, 2003).

1.5 Parámetros para medir la calidad de la cerveza

La calidad de la cerveza naturalmente presupone la ausencia de aspectos reconocidos generalmente como indeseables. La calidad de la cerveza depende de varios factores que tienen relación con las materias primas utilizadas, con el proceso de elaboración y principalmente con el mercado consumidor que evalúa esta calidad (Posada, 1995).

A continuación, se describen algunos de los parámetros físico-químicos usados para medir la calidad de la cerveza los cuales son medidos a conveniencia de cada productor.

- pH

Debido al control que ejerce frente a la contaminación bacteriana, así como en el crecimiento de las levaduras, la velocidad de fermentación y la producción de alcohol, el pH es un factor importante en la fermentación. La variación del pH durante el proceso de fermentación es debido a la transformación de los aminoácidos por pérdida de nitrógeno, pasando a ácidos, lo cual origina una disminución del pH del medio. Otro factor que puede originar una variación de pH es la producción de dióxido de carbono en la fase de fermentación aerobia produciendo una caída de pH. Durante la fermentación anaerobia, aparte de producirse etanol, se generan una serie de ácidos orgánicos como el ácido láctico, propiónico y pirúvico, que influyen también en la disminución del pH (Kunze *and* Manger, 2014).

- Color

La aplicación del calor puede ser la causa de muchas reacciones complejas que comprometen a los carbohidratos. La actividad del agua y los protones regulan el grado de liberación de azúcares reductores por hidrólisis a partir de sus conjugados glicosídicos en los alimentos. Después de la liberación ocurren muy pocas reacciones de los azúcares en medio acuosos a pH 4,0 aproximadamente (Kunze *and* Manger, 2014).

- Amargor

El amargor es uno de los cuatro sabores básicos y una característica deseable en toda cerveza. Se percibe en la parte posterior de la lengua y el cielo de la boca. Es la contrapartida del dulzor conferido por la malta. La intensidad y la calidad varían mucho según el estilo. En algunos estilos casi no se nota (Lambics < 10 IBU), mientras que en otros (algunas versiones americanas de IPA > 100 IBU) la intensidad de amargor es muy alta. La causa del amargor, es resultado de la solución de los iso- α -ácidos del lúpulo en el mosto durante la cocción. La intensidad y la calidad del amargor se manipulan a través de la elección de la variedad de los lúpulos, el contenido de α -ácidos o a veces la cantidad de β -ácidos oxidados que se cree que dan un tipo de amargor suave, la duración de la cocción de los lúpulos y el contenido mineral del licor (Caballero *and* Porras, 2012).

- Grado alcohólico

Se forma durante la etapa de fermentación del mosto (proceso anaeróbico), mediante el cual la levadura convierte la glucosa en etanol y dióxido de carbono, aunque también se forman numerosos subproductos del metabolismo de las levaduras, que contribuyen de forma importante al perfume y aroma de la cerveza, como son los ácidos orgánicos, ésteres y alcoholes (Bokulich *and* Bamforth, 2013).

El porcentaje de azúcares fermentables en el extracto total determina el límite de atenuación, que establece el alcohol que contendrá la cerveza final. Y en el extracto soluble, que se denomina mosto, el 60% de las sustancias son fermentables: maltosa, maltotriosa, sacarosa, glucosa y fructosa, que serán utilizadas por la levadura para producir el alcohol y el CO₂ durante la fermentación (Brányik *et al.*, 2012).

- Turbidez

Debido a la formación de complejos proteína-polifenoles o taninos los cuales forman partículas coloidales, se crean los problemas de turbidez en las cervezas, esto principalmente después del envasado.

La estabilidad de la cerveza se define como unidades de tiempo transcurridas hasta alcanzar un determinado nivel de turbidez. La pérdida de brillo, el descenso de la transparencia, el grado de enturbiamiento, incluso la floculación, precipitación y sedimentación, son las sucesivas manifestaciones visuales de la falta de estabilidad o inestabilidad de la cerveza (Kunze *and* Manger, 2014).

Los polifenoles formadores de turbidez, presentan al menos dos grupos con la capacidad de formar enlaces con la proteína, cada uno de los cuales tiene al menos dos grupos hidroxilo en un anillo aromático, son proantocianidinas y provocan enlaces más fuertes con las proteínas cuanto mayor tamaño tengan. En presencia de algunos metales y oxígeno disuelto actúan como catalizadores, pueden ser activados reaccionando con una o más moléculas de proteínas y precipitando el complejo formado (Jonson *et al.*, 2010).

- Espuma

La espuma es un sistema de dos fases formado por burbujas de gas separadas por una fina capa de líquido. En el caso de las comidas y bebidas la espuma es un complejo sistema formado por gases, líquidos, sólidos y compuestos tensoactivos (Blasco *et al.*, 2011).

La formación y estabilidad de la espuma está influenciada por dos factores principales, la calidad de la malta y el proceso de producción de la cerveza. Por eso a nivel mundial se utilizan maltas de la mayor calidad que contengan componentes que promuevan la formación de espuma, como las proteínas (Kordialik-Bogacka *and* Antczak, 2011)

- Producto final

El tiempo que transcurre desde el envasado hasta el momento de ser consumida es el factor más importante de la vida de la cerveza, durante el mismo están comprometidas la turbidez, la microbiología y la estabilidad del sabor. Otro factor es la temperatura, si se mantiene una correcta cadena de frío no se precisaría de la pasteurización y la cerveza tendría menos posibilidades de estropearse atendiendo al sabor, turbidez o infecciones (Esslinge, 2009).

Su valor energético deriva del etanol, proteínas y carbohidratos residuales que contengan, además de contener vitaminas del grupo B. Un litro de cerveza otorga entre 300 kcal y 400 kcal, 3 g de proteínas y pequeñas cantidades de vitaminas B.

1.6 Molienda

El proceso de molienda es tan importante como todos los procesos de elaboración de cerveza. Muchas cervecerías invierten mucho dinero en molinos especializados y en mejores técnicas de molienda, ya que la molienda y el tipo de molido determina muchos aspectos en el proceso cervecero y por supuesto en el producto final.

La molienda es un proceso mecánico que provee los cimientos para lograr una mayor eficiencia de extracción. Es importante mencionar que si la calidad de la malta es mala, el proceso de molienda debe ser más estricto (Martín, 2018).

Una técnica que emplean las cervecerías para una mejor molienda es el “*Wet Milling*”. Esta técnica se trata de rociar con agua los granos antes de molerlos para que la cascara se hidrate y se vuelva más flexible. Al moler los granos el proceso será el mismo, la endospermo se muele por completo pero la cascara queda completamente intacta.

1.7 Tipos de fermentadores

Es difícil formular una sola definición que comprenda todos los tipos de fermentadores. Estos principalmente se diferencian en dependencia de su altura, diámetro o su aspecto. Varios autores describen a los fermentadores como equipos no mecánicos, alargados y sirven para producir fermentos. La mayor diferencia entre tipos de fermentadores se debe al amplio grupo de estudios realizados basados en su diseño.

- Fermentador de tanque cilíndrico cónico

El uso de tanques cilíndricos cónicos en la producción de cerveza lager fue propuesto por primera vez por L. Natham en 1930, pero no fue hasta finales de los años 60 que fue adoptada en las industrias cerveceras. El tanque consiste en un tubo vertical de acero inoxidable donde la parte superior es de forma hemisférica y la base cónica con un ángulo aproximado de 70° (Figura 1.6) (Stanbury *et al.*, 2009).

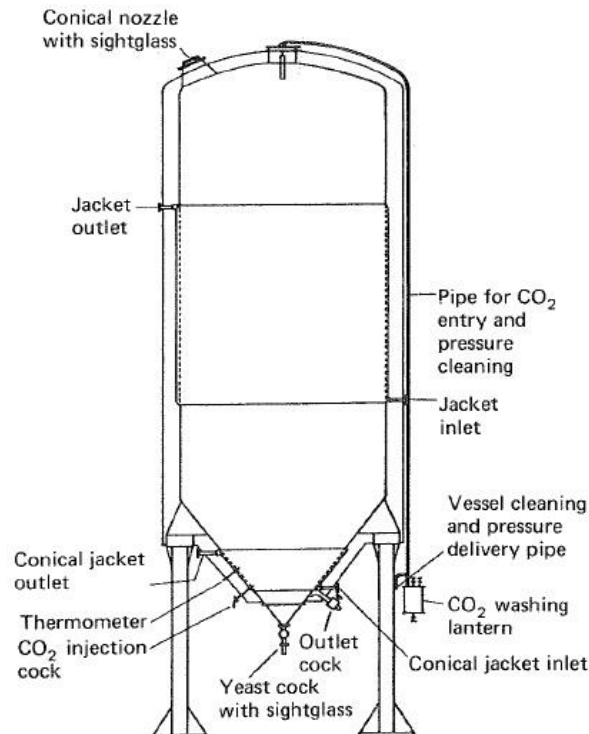


Figura 1.6 Fermentador de tanque cilíndrico cónico. Fuente: (Stanbury *et al.*, 2009).

- Fermentador de puente aéreo

El fermentador de puente aéreo es básicamente una entrada de gases que lleva a un tubo de subida que es por donde el líquido asciende conectado a otro que va hasta el fondo del fermentador. El aire o la mezcla de gases es introducida por la base de la tubería y esparcida durante condiciones normales de operación. La fuerza que conduce la circulación del medio por el tanque es producida por la diferencia de densidades entre el líquido de la columna ascendente y el líquido de la columna descendente. Figura 1.7.

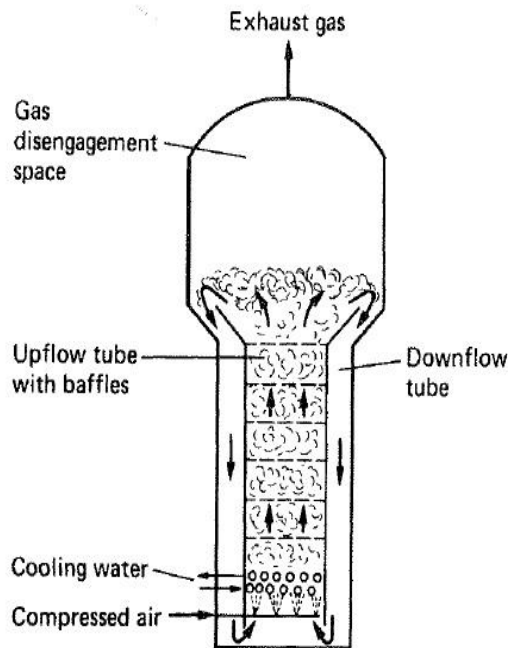


Figura1.7 Fermentador de puente aéreo. Fuente: (Stanbury *et al.*, 2009)

- El fermentador empaquetado

La torre de fermentación empaquetada tiene bien definida su aplicación para inmovilizar células. Es un cilindro vertical, las columnas están cubiertas generalmente por piezas de materiales inertes como la viruta de madera o agregados de polietileno. Inicialmente el medio y las células son introducidos por la parte superior del fermentador. Una vez que las células se hayan adherido a la pared formando una película fina se añade el medio fresco por encima de la torre y se recoge por el fondo. Los ejemplos más usados de estos fermentadores es en la producción de vinagre, donde el etanol es transformado a ácido acético

por medio de las bacterias acéticas los primeros usos de este fermentador están registrados en 1670 (Stanbury *et al.*, 2009).

- La columna de ciclón

En 1974 P. S. S. Dawson diseñó la columna de ciclón particularmente para el crecimiento de cultivos filamentosos. El cultivo líquido es bombeado desde el fondo hasta el tope de la columna a través de una vuelta cerrada. El líquido desciende por las paredes de la columna como en una película relativamente delgada. Los nutrientes y el aire se alimentan cerca de la base de la columna, aunque los gases de la descarga salen por la cima de la columna. Los gases buenos son intercambiados, la falta de espuma y el crecimiento limitado en la pared tienen consecuencias en la limpieza del fermentador (Figura 1.8) (Stanbury *et al.*, 2009)

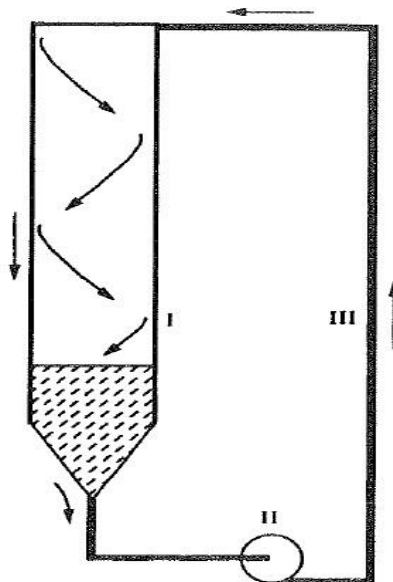


Figura 1.8 Columna de ciclón. Fuente:(Stanbury *et al.*, 2009).

1.8 Métodos y criterios de escalado de reactores

Aunque los avances en modelación matemática y medios de computación permiten cada vez más una interrelación mayor entre el diseño y el escalado, algunos investigadores lo delimitan, considerando que en el diseño se utilizan correlaciones bien establecidas y propiedades físicas estimadas o medidas, mientras que en el escalado se hace modificando un resultado medio por un

factor que involucra, entre otras cosas, la relación de las dimensiones lineales del modelo y el prototipo. El problema del escalado es encontrar ese factor. La verdad sobre el escalado es casi imposible de encontrar, pues la verdadera similitud no existe. Por ello, para el intento de un escalado se combinan diferentes técnicas que van desde el análisis matemático hasta la comparación de las correlaciones existentes de los resultados obtenidos del modelo experimental, incluyendo los experimentos a escala pequeña. Los sistemas biológicos, por las características especiales que tienen, son tratados en forma especial (González, 2005).

1.8.1 Materiales de fabricación

Los equipos de fermentación necesitan un estricto control de limpieza por lo que es importante la selección del material a utilizar para su construcción. A una pequeña escala (de 1 a 30 dm³) es posible usar cristal o acero inoxidable.

A escala piloto o gran escala, al momento de esterilizarse *in situ*, cualquier material utilizado tendrá que ser evaluado en su capacidad para soportar la presión de esterilización, corrosión, potenciales de toxicidad y costo.

Varios autores han discutido sobre la estabilidad de varios materiales usados en la construcción de fermentadores. A escala piloto e industrial los tanques son normalmente construidos de acero inoxidable o por lo menos tener un recubrimiento de acero inoxidable para limitar la corrosión.

El Instituto Americano de Hierro y Acero (AISI por sus siglas en inglés) plantea que el acero que contenga menos del 4 % de cromo es clasificado como aleación de acero y los que contengan cantidades mayores al 4 % son clasificados como acero inoxidable (Gray, 2017).

1.8.2 Métodos de escalado

Basio (1985) y Trambouze (1979) plantean como principales métodos de escalado los siguientes: Principios de similitud y modelación matemática.

- **Principios de similitud**

Este principio involucra las relaciones entre sistemas de diferentes tamaños. En el caso de un reactor químico esta similitud se representa generalmente por grupos adimensionales, que caracterizan los fenómenos del proceso y que permanecen constantes durante el escalado. El significado físico de estos grupos es una relación de constante de tiempo para los diferentes mecanismos involucrados. Por esta razón, mantener grupos adimensionales constantes significa que la importancia relativa de los mecanismos involucrados no cambia durante el escalado.

Similitud mecánica: se requiere de las similitudes geométricas, cinemáticas y dinámicas. La geométrica exige que el sistema tenga la misma geometría en ambas escalas, las cinemáticas que las velocidades de los fluidos tengan una relación constante en puntos correspondientes de los dos sistemas, mientras que la similitud dinámica exige que las fuerzas creadas sobre los fluidos mantengan una relación constante en puntos correspondientes de uno y otros sistemas.

Similitud térmica: se tiene en cuenta principalmente en sistemas en los cuales hay un flujo de calor de características importantes para el sistema.

Similitud química: para todas las reacciones químicas las temperaturas o los perfiles de temperatura-tiempo deben ser las mismas en las industrias grandes y en las pequeñas. En sistemas homogéneos, los tipos de reacción y las concentraciones iniciales deberán ser los mismos. En sistemas heterogéneos, el producto del tiempo de reacción por el área de interface de la unidad de volumen de reactor ha de ser el mismo para ambos.

- **Modelación matemática**

La representación de un sistema físico por una serie de ecuaciones las cuales, en forma limitada, pueden representar el sistema bajo estudio en dependencia

del nivel de descripción que se decida tomar. El modelo matemático es la implementación ideal para el escalado de un proceso.

Para la simulación del fermentador se cuenta con varios métodos en los que se destacan el uso de *software* como son *Matlab* y *SuperPro Designer*.

- *Matlab* es un *software* matemático que ofrece un entorno de desarrollo integrado (*IDE*) con un lenguaje de programación propio.
- *Hysys* es un *software* de diseño de procesos que cuenta con diferentes paquetes termodinámicos que permite representar adecuadamente el comportamiento de un fluido o mezcla de diferentes procesos.
- *SuperPro Designer* es un *software* para el diseño en estado estable, dimensionamiento básico de equipos, simulación y evaluación económica, entre otras aplicaciones, de procesos químicos, bioquímicos y ambientales.

Conclusiones del capítulo

- Las materias primas en la producción de cerveza son el agua, malta de cebada, lúpulo y levadura.
- Las características más importantes para determinar la calidad de la cerveza son el amargor, estabilidad de la espuma, pH, turbidez, grado alcohólico y el color.
- La molienda es una etapa importante para la producción de cerveza por facilitar la extracción de macromoléculas presentes en el grano de malta.
- En la literatura se registran varios tipos de fermentadores siendo el más utilizado el fermentador de tanque cilíndrico cónico.
- Dentro de los métodos de escalado el que más se utiliza es el de similitud mecánica.
- El *software SuperPro Designer* es el más recomendado para simulación del fermentador por las características del propio *software*.

Capítulo 2: Materiales y métodos

El trabajo experimental se realizó en la Planta Piloto de la Universidad de Matanzas, en el laboratorio de Biotecnología Ambiental, centrandó la atención en la etapa de maceración del proceso de producción de cerveza artesanal de la planta. Se realiza un muestreo de las materias primas, se indican los materiales utilizados en el trabajo experimental y métodos utilizados para los análisis de laboratorio.

2.1 Etapa experimental

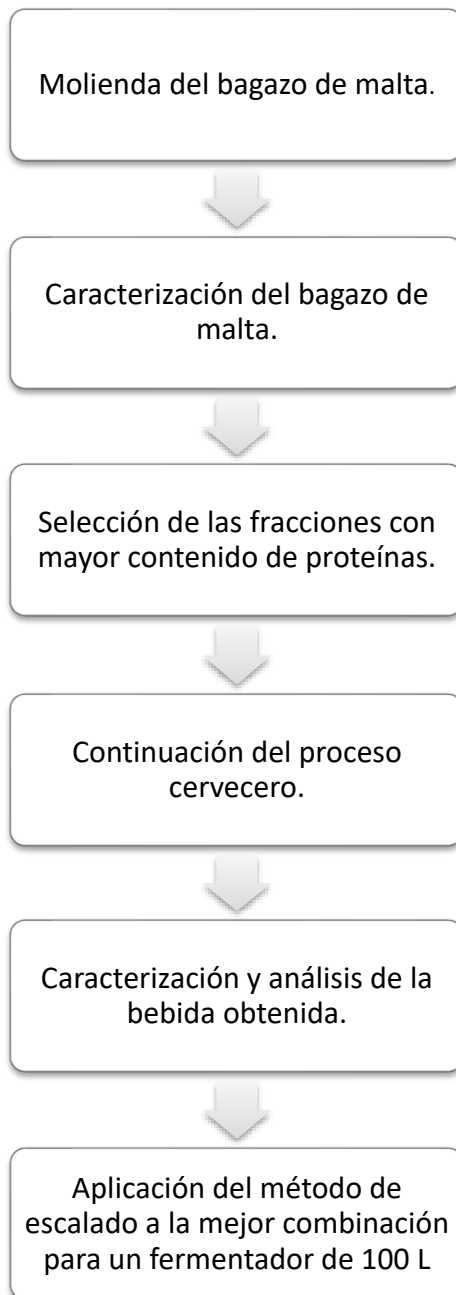
El rumbo principal que se siguió en el diseño experimental fue determinar que fracción de la molienda del bagazo de malta posee una mayor concentración de macromoléculas, como las proteínas, que luego serán procesadas durante la maceración para ser digeridas por las levaduras durante la fermentación. Para esto se realizó una caracterización del bagazo de malta, la caracterización consta de varios análisis como la determinación del porcentaje de humedad, el contenido de ceniza, nitrógeno amino libre y el % de proteínas siendo estos últimos los parámetros más importantes debido a su repercusión en la eficiencia durante la fermentación.

Las técnicas analíticas para estas determinaciones se tomaron de las normas cubanas de producción de cerveza (Normalización, 2008) y *American Society of Brewing Chemists* (2000).

Con las mejores porciones de bagazo de malta se produjo una bebida con características organolépticas similares a la cerveza. A esta bebida se le realizó de igual manera una caracterización para validar la selección de las porciones anteriores.

Para cada experimento se realizaron tres replicas y los valores reportados son los valores promedios.

2.1.1 Esquema de la metodología seguida para esta investigación



2.2 Análisis granulométrico del bagazo de malta

Para la determinación de la granulometría del bagazo de malta que posee mayor contenido de proteínas estructurales, se realiza previamente la molienda en un equipo *Nutry Bulle* y se empleó un tamizador marca *Retsch* provisto de tamices *Mesh S-Steel/RF*, como se observa en la Figura 2.1.



Figura 2.1 Equipo de tamizado

Las clases de tamaño analizadas comprendieron de +1 mm hasta +0.125 mm.

2.3 Instrumentación analítica

- Zaranda eléctrica
- Tamizador marca *Retsch*
- Espectrofotómetro
- pH metro PHSJ-3F
- Centrífuga de 3500 rpm
- Balanza técnica
- Estufa MLW WSU 400
- Balanza analítica *Sartorius*
- Mufla eléctrica

2.4 Reactivos y disoluciones

- Rojo de Metilo
- NaOH
- Ácido sulfúrico 96%
- K_2SO_4
- $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
- Ninhidrina
- $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$
- KH_2PO_4
- KIO_3
- Glicina
- Agua destilada
- Enzima papaína
- Enzima glucanasa
- Enzima α amilasa
- Enzima β amilasa
- Solución de yodo 0.1 N

2.5 Utensilios de laboratorio

- Pipeta graduada de 2 ml
- Pipeta graduada de 20 ml
- Baño de agua termostatado *MLW*
- Micropipeta *Rongtai* de 100-1000 μ l
- Refractómetro manual portátil, modelo: RHB-32 ATC
- *Erlenmeyer* de 250 ml

- *Erlenmeyer* de 2000 ml
- Vaso precipitado de 100 ml
- Vaso precipitado de 150 ml
- Vaso precipitado de 3000 ml
- Bureta graduada de 50 ml
- Placa calefactora
- Balón *Kjeldahl* de 500 ml
- Papel de filtro
- Cápsula de porcelana
- Vidrio reloj

2.6 Técnicas de caracterización

2.6.1 Caracterización del bagazo de malta

- **Determinación del grado de humedad**

Se pesa una muestra de 1 g de bagazo en un vidrio reloj y se coloca en una estufa a 100 °C durante 3 horas. Pasado este tiempo se coloca en una desecadora hasta que alcance la temperatura ambiente y al finalizar este proceso se pesa y la diferencia de peso corresponde al % de humedad.

$$\% \text{ humedad} = \{\text{peso perdido} \times 100\} \div \text{peso inicial} \quad (2.1)$$

- **Determinación del contenido de ceniza**

Mediante el uso de una balanza analítica se pesó 5 g de bagazo colocándolo luego en una cápsula de porcelana tarada dentro de una mufla eléctrica a 550°C por 2 h. Se determinó el contenido de cenizas mediante la diferencia de peso entre el inicio y fin de la incineración (ecuación 2.2). Antes de pesadas, las muestras fueron introducidas en una desecadora por 50 min.

$$\% \text{ cenizas} = [(A - B) \times 100]/W \quad (2.2)$$

Donde:

A: peso de la cápsula más la ceniza (g).

B: peso de la cápsula (g).

W: peso de la muestra (g).

- **Determinación de la cantidad de proteínas**

Grano de cebada:

Se pesan 1.50 g (± 0.005 g) y se transfieren a un balón *Kjeldahl*, donde se adicionan además 10 g de K_2SO_4 , 1 g de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ y 25 ml de H_2SO_4 al 96%. El balón *Kjeldahl* se debe colocar en posición inclinada durante el proceso de digestión. Incrementar la temperatura del balón. Cuando la digestión termine dejar hervir durante otros 30 min. Dejar enfriar el balón *Kjeldahl* hasta la temperatura ambiente.

Después de terminada la digestión y enfriado del balón *Kjeldahl*, con mucho cuidado añadir 250 ml de agua destilada a 25 °C. Adicionar 70 ml de solución de NaOH concentrado al 50 %. Poner el balón *Kjeldahl* a destilar, para capturar el destilado se prepara un *Erlenmeyer* de 250 ml con 50 ml del ácido estandarizado a 0.1N y 5-6 gotas de rojo de metilo, el destilado termina cuando alcance un volumen de aproximadamente 150 ml.

Al terminar el destilado se valora con NaOH a 0.1N, hasta que ocurra el cambio de coloración.

Procedimiento de cálculo:

$$\% \text{ proteín} = \frac{[(\text{ml } 0.1NH_2SO_4 - \text{ml } 0.1NNaOH) \times 0.0014 \times 6.25 \times 100]}{\text{peso de la muestra}} \quad (2.3)$$

Luego se calcula en base seca.

$$\% \text{ proteína en base seca} = (\% \text{ proteína} \times 100) / (100 - \% \text{ humedad}) \quad (2.4)$$

2.6.2 Caracterización del mosto y de la bebida obtenida

- **Determinación del pH**

Para la determinación del pH se utilizó el pH metro marca PHSJ-3F del laboratorio de Biotecnología Ambiental.

- **Determinación del color referencia**

Se utilizó el método espectrofotométrico. El método se basó en medir la absorbancia a una longitud de onda de 430 nm y 700 nm a 20 °C, previamente degasificada. Cuando la razón obtenida de los valores de absorbancia a 430 y 700 nm, es mayor o igual a 25 (factor), la muestra está libre de turbidez visible y se realiza el cálculo para la determinación de color. Luego se obtuvo el color en unidades °EBC.

$$^{\circ}\text{EBC} = 25 \times A_{430} \quad (2.5)$$

- **Determinación de amargor**

La determinación se basó en el método químico. Se transfirió 10 ml de cerveza fría (10°C) carbonatada a un tubo centrífuga de 50 ml, donde las sustancias amargas fueron extraídas con 20 ml de iso-octano en un medio acidificado con 1 ml de HCl 3N mediante centrifugación a una velocidad de 3500 rpm durante 15 minutos. Luego, se midió la absorbancia de la fase orgánica, la capa de iso-octano a 275 nm. Luego se obtuvo las unidades de amargor °BU.

Las unidades de amargor corresponden a:

$$^{\circ}\text{BU} = 50 \times A_{275} \quad (2.6)$$

- **Determinación del grado alcohólico**

Se toman 200 ml de cerveza descarbonatada y se añaden a un balón de destilación. La muestra es destilada hasta que se haya extraído todo el alcohol de la misma. El destilado es recogido y enfriado en un *Erlenmeyer* para luego

ser trasvasado a una probeta donde se enraza hasta 200 ml. Mediante el uso de un densímetro para alcoholes se determina el grado alcohólico de la bebida.

- **Determinación de la espuma**

Se debe verter todo el contenido de una botella de 350 ml en un vaso, debe encontrarse a una altura de 4 cm con respecto a la parte superior del vaso. Se medirá el tiempo hasta que todo el líquido haya caído hasta que desaparezca la espuma. Se clasificará según este tiempo en:

- > 5 min: excelente
- 3 – 5 min: muy buena
- < 2 min: mala

- **Determinación de los grados *Brix***

Mediante el uso del refractómetro se medirán los °*Brix* de la cerveza descarbonatada.

- **Determinación de la proteína**

Se toma una muestra de 25 ml de cerveza descarbonatada y se continúa con el procedimiento normal de digestión según el método planteado para la determinación de la proteína del bagazo.

Para determinar el % de proteínas en la cerveza es necesario preparar un blanco este se prepara de igual forma, pero sin el compuesto orgánico que se quiere determinar.

Procedimiento de Cálculo:

$$\% \text{ Proteína} = \frac{[(B - T) \times 0.0014 \times 6.25 \times 100]}{\text{densidad específica de la cerveza}} \quad (2.7)$$

B: ml usados de NaOH para valorar el blanco.

T: ml usados de NaOH para valorar la muestra.

- **Determinación de la concentración de nitrógeno amínico libre (NAL)**

Se disuelven 107.2 mg de glicina en un vaso precipitado con 100 ml de agua destilada, de los cuales se tomaron 2 ml en tubos de ensayo por triplicado.

En otro vaso precipitado se diluye 1 ml de cerveza anteriormente descarbonatada con 50 ml de agua destilada. En los tubos de ensayo previamente preparados se le adiciona 2 ml de cerveza diluida.

El blanco se prepara en tubos de ensayo por triplicado con 2 ml de agua destilada.

A cada tubo de ensayo se le adicionan 1 ml de ninhidrina y se tapan para evitar pérdidas por evaporización. Se colocan en un baño de agua termostataada temperatura de ebullición por 16 min. Luego se enfría la mezcla en agua a 20 °C por 20 min y se le adicionan 5 ml de disolución de KIO₃ con agua destilada y etanol, pasado este tiempo, se deja la mezcla 30 min en reposo. Finalmente se mezclan todos los volúmenes y se procede a medir la absorbancia a 570 nm. El orden de cálculo es:

$$NAL = \frac{\text{absorbancia neta de la solución}}{\text{absorbancia neta de la glycina estándar}} \times 2 \times \text{disolución} \quad (2.8)$$

$$\text{absorbancia neta de la solución} = \frac{\text{promedio de absorbancia del blanco}}{\text{promedio de absorbancia del mosto diluido de 1 en 100}} \quad (2.9)$$

$$\begin{aligned} \text{absorbancia neta de la solución} = & (\text{promedio de absorbancia de} \\ & \text{la cerveza diluida} - \text{absorbancia neta de la cerveza} \\ & \text{después de sustraer el blanco}) \quad (2.10) \end{aligned}$$

2.7 Composición de las muestras para la elaboración de las bebidas

Para realizar los experimentos se tomó como base el contenido mostrado en la Tabla 2.1

Tabla 2.1 Características de los experimentos

Variante	Bagazo de malta(kg)	Bagazo de malta procesado (kg)	Sacarosa refina (kg)	Agua (l)
1	0.120	0	0.120	1
2	0.060	0.060	0.120	1
3	0	0.120	0.120	1

Fuente: elaboración propia.

2.8 Escalado del fermentador

Para el escalado del fermentador propuesto se recomienda el uso de acero inoxidable AISI 316 debido a sus propiedades físico-químicas y su disponibilidad. Además de esto se tuvo en cuenta las temperaturas de trabajo, las sustancias a que estará expuesto el material, las presiones a que será sometido el fermentador.

Las temperaturas de trabajo oscilan entre los 12 y 1 °C. Las sustancias involucradas son el mosto dulce y levaduras cerveceras. Las presiones se encuentran entre las 1 y 1.5 kgf/cm² y el pH entre 4 y 6.

2.8.1 Ecuaciones de escalado

Siempre ha existido la problemática de cómo convertir los resultados obtenidos en un laboratorio, vinculándolos con otros conocimientos, a escala mayor de producción. Para ello se puede usar metodologías y procedimientos de escalado como el Principio de Semejanza.

Este principio se aplica a los sistemas donde se emplean modelos homólogos y prototipos, los cuales se diferencian entre sí en la escala.

En este trabajo se inició a escala de laboratorio (1l) en que se investigó los diferentes parámetros para establecer los mejores valores de los ensayos hasta

llevarlo a escala de Planta Piloto (50l) extrapolando los datos obtenidos para ajustarlo a las exigencias del proceso. Pueden ser utilizadas las ecuaciones 2.10 y 2.11 para poder calcular el factor de escala mediante la relación entre los volúmenes y los diámetros.

$$f_1 = \frac{V_p}{V_m} \quad (2.11)$$

Donde:

V_p : volumen del prototipo (l).

V_m : volumen del modelo (l).

$$f_2 = \frac{D_p}{D_m} \quad (2.12)$$

Donde:

D_p : diámetro del prototipo (m).

D_m : diámetro del modelo (m).

Como se desconoce el diámetro del prototipo se puede optar por el uso de la relación mostrada en la ecuación 2.13. Esta relación debe mantenerse igual a la relación que se muestra en la ecuación 2.14.

$$\frac{H_{tp}}{D_p} \quad (2.13)$$

$$\frac{H_{tm}}{D_m} \quad (2.14)$$

Donde

H_{tp} : altura total del modelo (m).

H_{tp} : altura total del prototipo (m).

Como el volumen del prototipo es conocido se puede utilizar la ecuación 2.16 para obtener el valor del diámetro mediante el despeje de la ecuación 2.15.

$$V_p = (\pi \times D_p^2 \times H_{tp})/4 \quad (2.15)$$

$$D_p = \sqrt[3]{\frac{V_p}{\left(\frac{\pi}{4}\right) \times \left(\frac{H_{tm}}{D_m}\right)}} \quad (2.16)$$

Al finalizar se calcula el nuevo factor de escala mediante la ecuación 2.12.

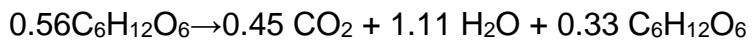
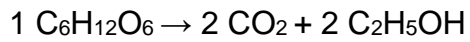
2.9 Uso del software *SuperPro Designer* en el diseño del fermentador

Una vez abierto el programa se selecciona el equipo que se desea diseñar, en la pestaña *Unit Procedures, Batch Vessel Procedure, in a Fermentory* se coloca la figura que representa el equipo.

Este programa permite la edición de componentes en cualquier momento en que se esté trabajando con el *software* para posibilitar la solución de posibles errores por parte del usuario. Las sustancias que interfieren en el proceso se seleccionan en la pestaña *Tasks, Pure Components, Register/Edit*, las cuales son dióxido de carbono, levadura, agua, etanol, nitrógeno, glucosa y oxígeno.

Luego se dibujan las líneas de flujo tantas como sean necesarias, en este caso solo se necesitó un flujo de entrada principal y dos de salida. Se especifica en la línea de flujo de entrada los componentes que entran, glucosa, agua y levadura.

Para poder obtener un correcto funcionamiento del equipo se debe especificar las características de trabajo seleccionando la opción *Operation Data*. Esta opción dará paso a una ventana donde se podrá especificar la temperatura de trabajo, agente de enfriamiento. Además, en esta ventana, existe una pestaña titulada *Reactions*, la cual permite describir las dos reacciones que ocurren en el fermentador, la primera ocurre mediante la transformación de la levadura en dióxido de carbono y etanol. La segunda reacción es la transformación de *glucosa* en *dióxido de carbono, agua y levadura*.



Ambas reacciones son controladas por la ecuación de *Monod*, donde el valor de la constante cinética (K_s) se especifica según la literatura, el sustrato, el componente de referencia y la biomasa se indican según la reacción.

Una vez terminado esto se procede a colocaren la corriente de salida inferior un decantador de igual forma como se procedió para insertar el fermentador.

Para especificar las condiciones de trabajo del mismo se procede igualmente; se especifica que se removerá el 95% de etanol y agua. Se adicionarán dos corrientes salidas para la correcta remoción de componentes. Para finalizar se inicia la simulación automática de ambos equipos del proceso.

Capítulo 3: Análisis de resultados

3.1 Características del bagazo de malta

Los resultados obtenidos para la caracterización del bagazo de malta se muestran en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1 Características del bagazo de malta

Clase de tamaño	Tamaño de partícula de bagazo de malta (mm)			
	+1	-1 +0.5	- 0.5 +0.25	-0.25 +0.125
Masa (g)	18	84	28	11
%humedad	0.058	0.048	0.064	0.078
% ceniza	10.349	3.847	3.488	3.868
% proteína	16.8	17.21	18.26	13.07

Fuente: creación propia.

Donde se observó una mayor concentración de proteína fue en las porciones de clases de tamaño de -1 +0.5 y -0.5 +0.25. Estas clases son las que se utilizarán en la elaboración de la bebida ya que una aporta mayor contenido de masa y la otra posee un contenido superior de proteínas. El resto de las fracciones más finas no se emplean en esta bebida ya que dificultan la etapa de filtración y presentan menor masa.

3.2 Características del mosto obtenido

Con las fracciones de la molienda del bagazo de malta se realizaron unas formulaciones con diferentes concentraciones de bagazo molido, los resultados de las formulaciones se muestran en la Tabla 3.3.

Tabla 3.2 Tipos de muestras

Muestras	Contenidos
0 %	120 g de bagazo de malta sin moler
50 %	60 g de bagazo de malta sin moler 60 g de bagazo de malta molido en igualdad de fracciones de tamizado elegidas
100 %	120 g de bagazo de malta molido en igualdad de fracciones de tamizado elegidas

Tabla 3.3 Características del mosto

Muestras	Porcientos usados de bagazo de malta molidos		
	0%	50%	100%
pH	5.48	5.30	5.19
Color referencia (°EBC)	4.05	4.725	4.9
^o Brix	0.4	1.5	3.2
% proteína	1.67	2.46	3.76
NAL (mg/l)	68	109	134
Densidad (kg/m ³)	847	843	836

Fuente: creación propia.

Los niveles de pH se encuentran entre los rangos promedios reportados en la literatura, entre 4.5 y 5.8 (González, 2017).

El color de referencia da valores bajos en comparación con otros mostos debido a la no incorporación de colorantes ni adjuntos. Se puede apreciar un aumento significativo de la concentración de sólidos disueltos debido a la mayor extracción que se obtiene del bagazo molido. Este aumento también ocurre en la extracción del NAL por igual motivo.

3.3 Resultados de la fermentación

- Grados *Brix*.

Tabla 3.4 Grados *Brix* de los experimentos

Grados Brix			
Día	50%	100%	0%
1	13,2	13,6	13,2
2	11,6	12,2	11,8
3	9,2	8,2	8,2
4	8,8	8	7,8
5	7,5	7,2	7
6	7	6	6
7	5,9	5,8	5
8	5,7	5,6	4,9
9	5,6	5	4,8
10	5	5	4,8

Fuente: creación propia.

Se puede apreciar una disminución de los grados *Brix* por el consumo de la azúcar por la levadura, evidenciando la actividad de la misma.

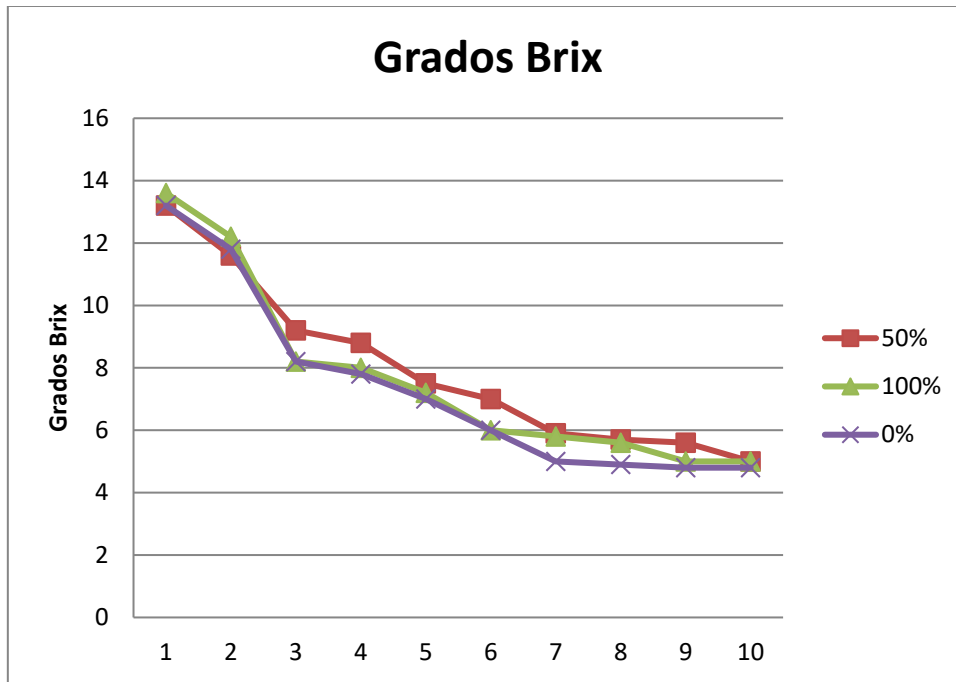


Figura 3.1 Gráfica de los grados *Brix* de los experimentos.

- Peso

Tabla 3.5 Pérdida de peso

Peso (g)			
Día	50%	100%	0%
1	1,093	1,079	1,074
2	1,089	1,074	1,071
3	1,081	1,048	1,049
4	1,061	1,04	1,042
5	1,055	1,034	1,035
6	1,051	1,028	1,03
7	1,043	1,019	1,02
8	1,039	1,017	1,019
9	1,035	1,016	1,017
10	1,031	1,015	1,015

Fuente: creación propia.

La pérdida de peso, aunque no es muy significativa, se basa en la pérdida de masa de CO₂ por el proceso de fermentación.

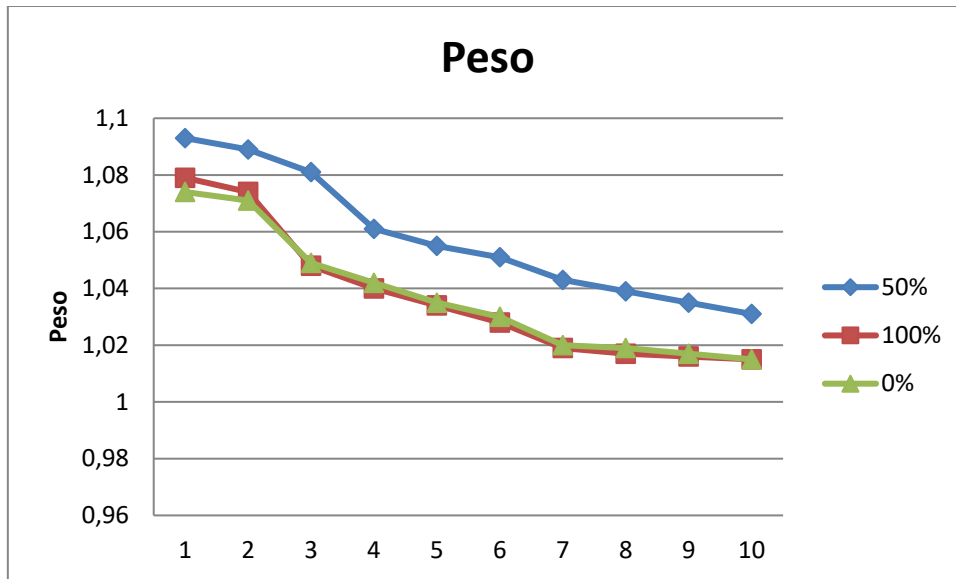


Figura 3.2 Gráfica del peso de los experimentos.

- Dióxido de carbono producido

Tabla 3.6 Producción de CO₂

Día	CO ₂		
	50%	100%	0%
1	0	0	0
2	0,004	0,005	0,003
3	0,008	0,026	0,022
4	0,02	0,008	0,007
5	0,006	0,006	0,007
6	0,004	0,006	0,005
7	0,008	0,009	0,01
8	0,004	0,002	0,001
9	0,004	0,001	0,002
10	0,004	0,001	0,002
Total	0,062	0,064	0,059

Fuente: creación propia.

La producción de CO₂ tiene un aumento considerable durante los primeros días debido a que la levadura se encuentra en su etapa exponencial y por haber una mayor concentración de azúcares para su alimentación.

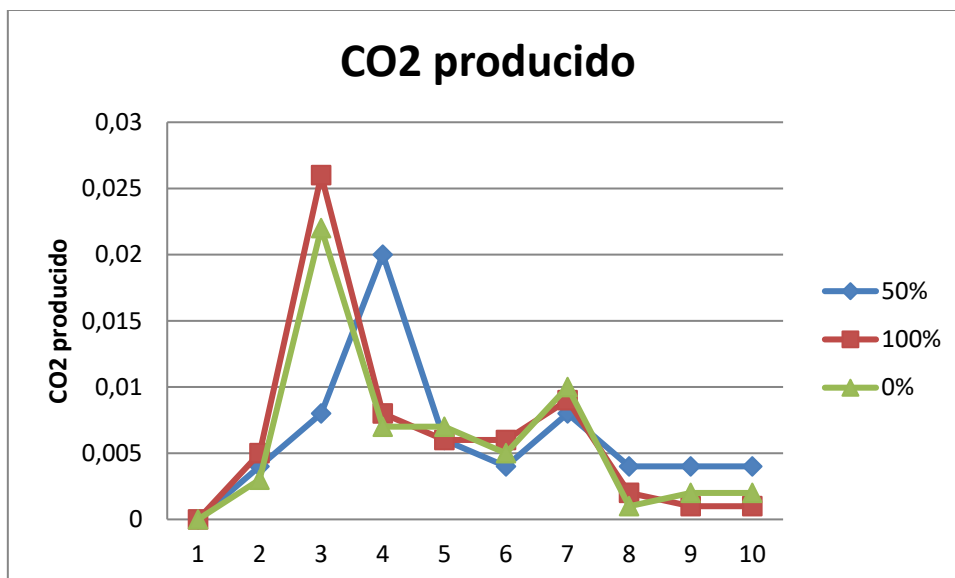


Figura 3.3 Gráfica de CO₂ producido en los experimentos.

3.4 Características de la bebida obtenida

Según el mosto seleccionado se obtuvo una bebida con las siguientes características, reportadas en la Tabla 3.3.

Tabla 3.7 Características de la bebida obtenida

Análisis	Valores	Valores normados
pH	4.05	3.5 – 4.8
Color referencia (°EBC)	13.8	Clara ≤ 25 < Oscura
Amargor (°BU)	17	15 – 20
Grado alcohólico (%.vol)	2.7	2.5 – 4 Ligera
Estabilidad de la espuma (min)	9.8	(-)
% proteína	1.82	(-)
Densidad (kg/m ³)	999	(-)

Fuente: creación propia.

Estos resultados muestran que la bebida obtenida posee características similares a las cervezas tipo *Lager*.

Según las comparaciones con la norma cubana NC 144 (Normalización, 2009) el valor de pH se acerca al límite superior pero se encuentra en el rango normado. El color corresponde a una cerveza clara. El amargor de la bebida se encuentra dentro de la norma al igual que el grado alcohólico.

La estabilidad de la espuma es mayor de los 5 min por lo que es clasificada de excelente. Según la literatura el % de proteína es aceptable.

3.5 Escalado del fermentador

Para realizar el escalado del fermentador se realizó el cálculo del factor de escala, mediante el uso de la ecuación 2.10 el cual daba un valor de 50, el cual no es recomendable según la literatura, este debe corresponder a un valor entre 2 y 15 para este tipo de reactor (Dyer *et al.*, 2002). Por lo que realizó el cálculo del factor de escala por la ecuación 2.11.

Como se indica en el capítulo anterior se desconoce el diámetro del prototipo, por lo que se puede realizar su búsqueda por el despeje de la ecuación 2.12 quedando como se indica en la 3.1.

$$H_{tp} = 3.67 \times D_p \quad (3.1)$$

Sustituyendo la ecuación 3.1 dentro de la ecuación 2.14 da como resultado la ecuación siguiente:

$$V_p = 0.785 \times 3.67 \times D_p^3 \quad (3.2)$$

Despejando el diámetro del prototipo de la ecuación 3.2 y sustituyendo los valores se obtiene la ecuación 3.3.

$$D_p = \sqrt[3]{\frac{0.05}{0.785 \times 3.67}} \quad (3.3)$$

La ecuación 3.3 da un valor de aproximadamente 0.3 m. Al finalizar se realizó el cálculo del nuevo factor de escala más adecuado para el equipo, el cual es de 3.33.

Los resultados del procedimiento de cálculo del escalado se muestran en la Tabla 3.4.

Tabla 3.8 Resultados del cálculo del factor de escalado

Valores	Resultados
f_1 (relación de volumen)	50
Relación de la ecuación 2.13	3.67
Dm (m)	0.09
f_2 (relación de diámetro)	3.33

Fuente: creación propia.

Las dimensiones del escalado del prototipo se muestran en la Tabla 3.5.

Tabla 3.9 Dimensiones del escalado

Características	Medidas
Diámetro (m)	0.3
Altura (m)	1.10

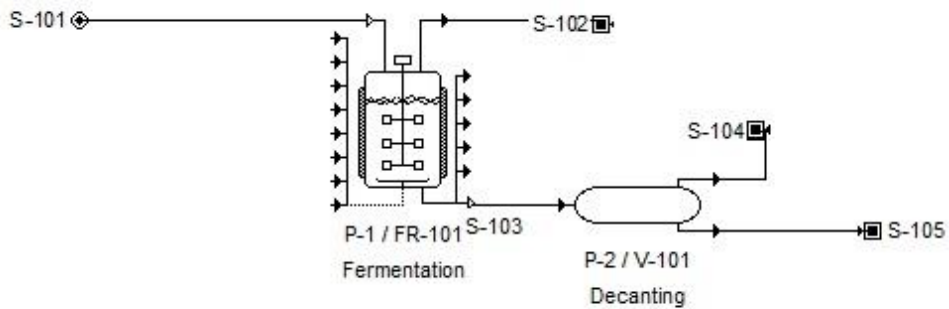
Fuente: creación propia.

Como el equipo no presenta agitación, serán estas medidas las necesarias para su diseño y construcción.

3.6 Uso del software *SuperPro Designer* para la simulación del proceso de fermentación escalado

A continuación, se muestran los resultados obtenidos de la simulación del proceso de fermentación:

- Diagrama del proceso.



Composición de las corrientes de entrada y salida.

- Corriente de entrada S-101.

	Ingredient Name	Comp ?	Flowrate (kg/batch)	Mass Comp. (%)	Concentration (g/L)	Extra-Cell %
1	Glucose	<input checked="" type="checkbox"/>	6,00000	10,5504	107,35772	100,0
2	Water	<input checked="" type="checkbox"/>	49,87000	87,6912	892,32158	100,0
3	Yeast	<input checked="" type="checkbox"/>	1,00000	1,7584	17,89295	100,0

- Corriente de salida S-102.

	Component	Flowrate (kg/batch)	Mass Comp. (%)	Concentration (g/L)	Extra-Cell (%)
1	Carb. Dioxide	1,82149	95,7349	1,761197	100,00
2	Nitrogen	0,06225	3,2718	0,060191	100,00
3	Oxygen	0,01890	0,9933	0,018273	100,00

- Corriente de salida S-104.

	Component	Flowrate (kg/batch)	Mass Comp. (%)	Concentration (g/L)	Extra-Cell (%)
1	Ethyl Alcohol	1,09307	2,2152	22,042078	100,00
2	Water	48,08882	97,4555	969,722137	100,00
3	Yeast	0,16249	0,3293	3,276618	100,00

- Corriente de salida S-105.

	Component	Flowrate (kg/batch)	Mass Comp. (%)	Concentration (g/L)	Extra-Cell (%)
1	Ethyl Alcohol	0,05753	1,0136	12,558341	100,00
2	Water	2,53099	44,5926	552,493318	100,00
3	Yeast	3,08728	54,3937	673,926787	100,00

Conclusiones

- Las fracciones de la molienda con mayor concentración de macromoléculas son las comprendidas entre los rangos de $-1 +0.5$ y $-0.5 +0.25$. Estas son lo suficientemente grandes para funcionar como medio filtrante luego de la etapa de maceración y poseen elevados valores de proteínas.
- Se caracterizó físico-químicamente el bagazo de malta dando como resultado una materia prima que ofrece posibilidades para su utilización.
- Se obtuvo una bebida con características similares a la cerveza tipo *Lager* utilizándose la variante compuesta por un 50 % de bagazo de malta molido y 50 % de bagazo de malta sin moler.
- Se escaló y simuló el fermentador para la etapa de fermentación. Los resultados obtenidos en la simulación fueron similares a los obtenidos en la etapa de experimentación.

Recomendaciones

- Estudiar el proceso de filtración.
- Analizar el proceso de extracción del almidón teniendo en cuenta las granulometrías estudiadas ya que define los ⁰*Brix* y el grado alcohólico de la bebida.
- Construir e instalar el fermentador escalado.

Bibliografía

- Cervezomición [Online]. Available: <https://cervezomicon.com>. [Accessed 14/02 2019].
- Verema. *Proceso de Molienda de la Malta para cerveza* [Online]. Available from: <https://www.verema.com/blog/el-blog-del-cervezero/1000485-proceso-molienda-malta-para-cerveza> [Accessed 19/02 2019].
- The whole grains council [Online]. Available: <https://wholegrainscouncil.org> [Accessed 14/02 2019].
- BAIK, B. K. & ULLRICH, S. E. 2009. Barley for food: characteristics, improvement, and renewed interest-Critical review.
- BJERREGAARD, M. F., CHARALAMPIDIS, A., FRØDING, R., SHETTY, R., PASTELL, H., JACOBSEN, C., ZHUANG, S., PINELO, M., HANSEN, P. B. & HOBLEY, T. J. 2018. Processing of brewing by-products to give food ingredient streams. *European Food Research and Technology*.
- BLASCO, L., VIÑAS, M. & VILLA, T. 2011. Proteins influencing foam formation in wine and beer: the role of yeast. *International Microbiology*, 14, 61-71.
- BOKULICH, N. A. & BAMFORTH, C. W. 2013. The microbiology of malting and brewing. *Microbiol Mol Biol Rev*, 77.
- BRÁNYIK, T., SILVA, D., BASZCZYNSKI, M. & LEHNERT, R. 2012. A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production. *J Food Eng* 108, 493-506.
- CABALLERO, I. & PORRAS, M. 2012. Iso- α -ácidos, bitterness and loss of beer quality during storage. *Trends in Food Science & Technology*.
- CENZANO DEL CASTILLO, E., ESTEIRE, E., ESTEIRE, L., MADRID, A., MADRID, J. & MADRID, A. 2014. *Elaboración de bebidas alcohólicas de alta graduación.*, Madrid. España.
- COMI, G. & MANZANO, M. 2009. Beer Production.
- CHEMISTS, A. S. O. B. 2000. Methods of analysis of the American Society of Brewing Chemists. Estados Unidos de América: American Society of Brewing Chemists.
- DÍAZ, I. 2015. *In: HISTORIA.*, R. A. C. (ed.).
- DYER, U. C., HENDERSON, D. A., MITCHELL, M. B. & TIFFIN, P. D. 2002. Scale-Up of a Vilsmeier Formylation Reaction: Use of HEL Auto-MATE and Simulation Techniques for Rapid and Safe Transfer to Pilot Plant from Laboratory. *Organic Process Research & Development*, 6, 311-316.
- ESSLINGE, H. 2009. *Handbook of Brewing: Process, Technology, Markets*, Weinheim, Alemania.
- GARCÍA, A. T. 2012. Una visión sobre nuestro mundo. El sector Cervezero Español. «Tratamiento de agua para fábricas de Cerveza y Malta, teniendo en cuenta las nuevas técnicas de procesos y datos de explotación». *Revista Cervezas y Malta*.
- GARCÍA, L. A. 2013. *Biología de la Producción de Cerveza.*, Universidad de Oviedo.
- GNANSOUNOU, E. 2010. Production and use of lignocellulosic bioethanol in Europe: current situation and perspectives. *Bioresour, Technol.* 101, 4842-4850.
- GONZÁLEZ, M. 2017. *Principios de elaboración de cervezas artesanales*.

- GRAY, K. 2017. *Clasificaciones AISI del acero* [Online]. Available: <https://www.ehowenespanol.com>.
- HERNANDEZ, A. 2003. *Microbiología industrial*.
- ISEBERT, L. 2010. Aspectos prácticos referentes a la utilización racional del lúpulo, de los concentrados y de los extractos del lúpulo. *Revista Cervezas y Malta*.
- JONSON, J. E., CLAVERIE, M. & WOOTON, D. 2010. The Colour and Turbidity of Beer. *Microptix Technologies*.
- KNOB, A., BEITEL, S. M., FORTKAMP, D., TERRASAN, C. R. F. & ALMEIDA, A. F. D. 2013. Production, purification, and characterization of a major *Penicillium glabrum* xylanase using brewer's spent grain as substrate. *BioMed Res. Int.* 72, 8735.
- KORDIALIK-BOGACKA, E. & ANTCZAK, N. 2011. Prediction of Beer Foam Stability from Malt Components. *Czech J. Food Sci.*, 29, 243-249.
- KUNZE, W. & MANGER, H.-J. 2014. *Technology Brewing & Malting*, VLB Berlin.
- LAJÇI, X., DOBBIBA, P. & LAJÇI, N. The evaluation of humulus lupulus utilisation during wort boiling and in beer. The 1st International Conference on Research and Education – Challenges Toward the Future (ICRAE2013), 2013 University of Shkodra “Luigj Gurakuqi”, Shkodra, Albania.
- LYNCH, K. M., STEFFEN, E. J. & ARENDT, E. K. 2016. Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. *Wiley Online Library*.
- MARTÍN, P. 2018. *Análisis de la molienda de la malta de cebada y efectos en el rendimiento del macerado*. Universidad de Sevilla.
- MESONES, B. D. 2015. *Proceso de elaboración básico y simplificado*.
- MUSSATTO, S. I., FERNANDES, M., MANCILHA, I. M. & ROBERTO, I. C. 2008. Effects of medium supplementation and pH control on lactic acid production from brewer's spent grain. *Biochem, Eng. J.* 40, 437–444.
- NIGAM, P. & PANDEY, A. 2009. Production of organic acids from agro-industrial residues. *Biotechnology-Agro-Industrial-Residues-Utilisation*, Springer Science & Business Media B.V, 37-60.
- NIGAM, P. & SINGH, A. 2011. Production of liquid biofuels from renewable resources. *Prog. Energy Combust.*, Sci. 37, 52–68.
- NORMALIZACIÓN, O. N. D. 2008. Industria de fermentación, cervezas y otras bebidas a base de malta. *Métodos de ensayo*. Ciudad de La Habana, Cuba: Oficina Nacional de Normalización.
- NORMALIZACIÓN, O. N. D. 2009. NC 144. *Cervezas — Especificaciones*. Cuba: Oficina Nacional de Normalización.
- NOVOZYMES. *Rethink tomorrow* [Online]. Available: <http://blog.novozymes.com> [Accessed 14/02 2019].
- POSADA, J. 1995. *Ciencia cervecera. Filtración.*, Madrid. España.
- STANBURY, P. F., WHITAKER, A. & HALL, S. J. 2009. *Principles of Fermentation Technology*.
- SUÁREZ, M. 2013. *Cerveza: componentes y propiedades*. Universidad de Oviedo.