

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA



Casa abierta al tiempo

**INFLUENCIA DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA CERVEZA
ARTESANAL DE MAÍZ AZUL EN LOS COMPUESTOS QUE LE DAN SABOR Y
COLOR**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN BIOTECNOLOGÍA**

P R E S E N T A:

M.en B. Alex María Daniela Flores Calderón

Comité Tutorial:

Director de Tesis:

Dr. José Ramón Verde Calvo^a

Asesores:

Dr. Héctor Manuel Luna Contla^b

Dr. Héctor Bernardo Escalona Buendía^a

^aDepartamento de Biotecnología. Unidad Iztapalapa.

^bDepartamento de Sistemas Biológicos. Unidad Xochimilco.
Universidad Autónoma Metropolitana.

Ciudad de México, Febrero de 2018

“El Doctorado en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluido en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT y además cuenta con el apoyo del mismo Consejo, con el No. De Registro 001466”. Agradecimiento al CONACYT por la beca 266023 otorgada a Alex María Daniela Flores Calderón para realizar sus estudios de Doctorado.

Esta tesis se realizó en el Laboratorio de Enología y Alimentos Fermentados del Departamento de Biotecnología de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa, bajo la dirección del Dr. José Ramón Verde Calvo. El trabajo experimental se llevó a cabo con financiamiento de CONACYT. Asimismo se agradece a la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación (SECITI) por el apoyo otorgado, 063/2013.

Ciudad de México a 23 de Febrero de 2018

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad
Iztapalapa aprobó la tesis

**Influencia del proceso de elaboración de la cerveza artesanal de maíz azul en los
compuestos que le dan sabor y color**

Que presentó:

M. en B. Alex María Daniela Flores Calderón

Comité Tutorial

Director: Dr. José Ramón Verde Calvo
Universidad Autónoma Metropolitana

Asesor: Dr. Héctor Manuel Luna Contla
Universidad Autónoma Metropolitana

Asesor: Dr. Héctor Bernardo Escalona Buendía
Universidad Autónoma Metropolitana

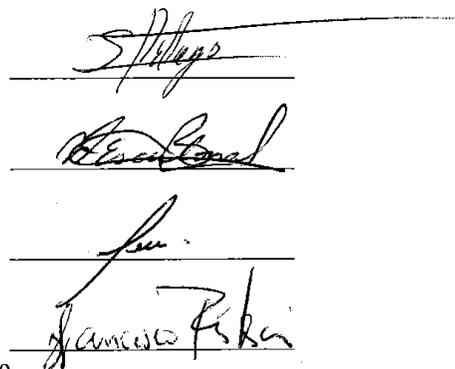
Comité de Evaluación

Presidente: Dra. Clara Pelayo Zaldivar
Universidad Autónoma Metropolitana

Secretario: Dr. Héctor Bernardo Escalona Buendía
Universidad Autónoma Metropolitana

Vocal: Dr. Héctor Manuel Luna Contla
Universidad Autónoma Metropolitana

Vocal: Dr. Francisco Ruíz Terán
Universidad Nacional Autónoma de México



The image shows four handwritten signatures, each written over a horizontal line. From top to bottom, the signatures correspond to the President, Secretary, and two vocal members of the evaluation committee. The signatures are written in dark ink and are somewhat stylized.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José Ramón Verde Calvo por permitirme formar parte de su equipo de trabajo, por todas sus asesorías, consejos y apoyo incondicional. Muchas gracias por todo Doctor, es un gran ejemplo como profesional, y excelente persona.

Al Dr. Héctor M. Luna Contla por su asesoría y apoyo en todo momento en la parte de cromatografía, por su tiempo y atención para la realización y mejora de este trabajo.

Al Dr. Héctor Escalona Buendía por sus asesorías en la parte estadística y fisicoquímica, por todas sus observaciones para corregir este trabajo, por su paciencia y apoyo.

A la Mtra. Frida Malpica Sánchez por sus acertadas sugerencias, consejos y por inyectarnos de buen humor.

A mis amigos Fry, Adri, Angie, Ara, Fer, Luis y Miguel, gracias por los buenos consejos y momentos felices.

Dedicado

A mi familia que tanto amo, a mi madre que es mi inspiración y razón para seguir adelante, a mi hermano Emmanuel que me guía y enseña a ser mejor persona, a mi hermana Lidia que alegra mis momentos, a mis hermosos sobrinos Alelí, Jonathan, Ulises y Emiliano, y a mi esposo Edgar que me ayuda a salir adelante. Gracias familia por todo su amor y apoyo. Dios les colme de bendiciones siempre.

CONTENIDO

	Pág.
Lista de Figuras	ix
Lista de Cuadros	xi
Resumen	xii
Abstract	xiv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	2
2.1 Maíz	2
2.2 Antocianinas y compuestos fenólicos en el maíz	4
2.3 Cerveza	7
2.4 Proceso de elaboración de la cerveza	9
2.4.1 Preparación de la malta	9
2.4.2 Producción del mosto	9
2.4.3 Fermentación	11
2.4.4 Procesamiento final	12
2.5 Cambios sensoriales durante el almacenamiento de la cerveza	13
2.6 Maltas base y tostadas	14
2.7 Cervezas elaboradas a partir de maltas distintas de la cebada	18
2.8 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en la cerveza	19
2.9 Análisis sensorial	22
3. ANTECEDENTES	22
3.1 Sendechó e Historia de la Cerveza de Maíz	22
4. JUSTIFICACIÓN	24
5. OBJETIVOS	25
6. HIPÓTESIS	26
7. MATERIALES Y MÉTODOS	27
7.1 Muestras	28
7.1.1 Maíz azul y maltas base y caramelo	28
7.1.2 Cervezas de maíz	30
7.2 Solventes, reactivos y estándares	32
7.3 Métodos	33
7.3.1 Caracterización del maíz azul y de las maltas base y caramelo	33
7.3.1.1 Análisis químico proximal	33
7.3.1.1.1 Determinación del contenido de humedad	33
7.3.1.1.2 Determinación del contenido de cenizas	33
7.3.1.1.3 Determinación del contenido de nitrógeno total y de proteína	33

cruda	
7.3.1.1.4 Determinación del contenido de extracto etéreo	34
7.3.1.1.5 Determinación del contenido de fibra cruda	34
7.3.1.2 Medición de color	35
7.3.1.3 Identificación de compuestos volátiles	35
7.3.1.4 Determinación de antocianinas totales	36
7.3.1.5 Determinación de antocianinas por HPLC	36
7.3.1.6 Preparación de estándar de melanoidinas y determinación	37
7.3.1.7 Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales	37
7.3.1.8 Determinación de compuestos fenólicos por HPLC	38
7.3.1.9 Determinación de la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH	38
7.3.2 Caracterización química y capacidad antioxidante de las cervezas de Maíz	39
7.3.2.1 Determinación de azúcares reductores totales	39
7.3.2.2 Determinación del contenido alcohólico	39
7.3.2.3 Determinación de pH	40
7.3.2.4 Determinación de acidez total	40
7.3.2.5 Determinación de unidades de amargor	40
7.3.2.6 Determinación de iso- α -ácidos por HPLC	41
7.3.2.7 Determinación de antocianinas totales	41
7.3.2.8 Determinación de polifenoles totales	42
7.3.2.9 Capacidad antioxidante de las cervezas de maíz por ABTS y DPPH	42
7.3.3 Contenido de antocianinas y caracterización de ácidos fenólicos en las cervezas de maíz	43
7.3.3.1 Determinación de antocianinas en cerveza de maíz por HPLC	43
7.3.3.2 Determinación de ácidos fenólicos libres y esterificados en cerveza de maíz	43
7.3.4 Evaluación sensorial de las cervezas de maíz	44
7.3.4.1 Análisis descriptivo cuantitativo	44
7.3.4.2 Estudio de consumidores	44
7.4 Análisis Estadístico	46
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
8.1 Caracterización del maíz azul y de las maltas base y caramelo	48
8.1.1 Análisis químico proximal (AQP) del grano de maíz y de la malta Base	48
8.1.2 Humedad y parámetros de color en el maíz y en las maltas	50
8.1.3 Identificación de compuestos volátiles en las maltas	52
8.1.4 Antocianinas en el maíz azul y en las maltas	53

8.1.5 Compuestos fenólicos en el maíz azul y en las maltas	55
8.1.6 Melanoidinas en las maltas	58
8.1.7 Capacidad antioxidante en el maíz azul y en las maltas	59
8.2. Caracterización química y capacidad antioxidante de las cervezas de maíz	61
8.2.1 Azúcares reductores totales y contenido alcohólico	61
8.2.2 pH y acidez total	63
8.2.3 Unidades de amargor e iso- α -ácidos	65
8.2.4 <i>Cis</i> - y <i>trans</i> -iso- α -ácidos	67
8.2.5 Antocianinas y compuestos fenólicos totales	69
8.2.6 Capacidad antioxidante por ABTS y DPPH	71
8.2.7 Caracterización de estilos de cervezas de maíz azul por Quimiometría	73
8.3. Contenido de antocianinas y caracterización ácidos fenólicos en las cervezas de maíz	76
8.3.1 Determinación de antocianinas en cerveza de maíz por HPLC	76
8.3.2 Determinación de compuestos fenólicos libres y esterificados en cerveza de maíz	77
8.4. Evaluación sensorial de las cervezas de maíz	80
8.4.1 Análisis descriptivo cuantitativo	80
8.4.2 Estudio de consumidores	84
8.4.2.1 Análisis de penalidades de las cervezas de maíz azul	84
8.4.2.2 Nivel de agrado e intención de compra	88
9. CONCLUSIONES	94
10. BIBLIOGRAFÍA	97
11. PUBLICACIONES Y TRABAJOS PRESENTADOS	108
12. ANEXOS	109

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
1. a) Principales productores de maíz y b) Producción de maíz en México	2
2. Mazorcas de la raza Chalqueño que se cultiva en el Oriente del Estado de México	3
3. Estructura química de los flavonoides	4
4. Estructuras químicas de las principales clases de flavonoides	5
5. Estructura química de α -ácidos y conversión de α -ácidos a iso- α -ácidos vía isomerización	11
6. Rueda de aroma y sabor de la cerveza	14
7. Rueda de maltas base, pale y especiales	16
8. Esquema cinético simplificado de la generación de sabor por la reacción de Maillard	17
9. Estructuras químicas de los ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos	20
10. Esquema general de la metodología en el desarrollo experimental	27
11. Proceso para obtener las maltas base y caramelo	28
12. Proceso de elaboración de la cerveza de maíz azul	30
13. Malta base y maltas caramelo de maíz azul	51
14. Productos de reacción de Maillard encontrados en las maltas caramelo de maíz azul	52
15. Capacidad antioxidante por ABTS y DPPH de las maltas caramelo de maíz azul	60
16. Azúcares reductores totales de los estilos de cervezas de maíz azul	61
17. Contenido de alcohol en los estilos de cervezas de maíz azul	62
18. pH de los estilos de cervezas de maíz azul	63
19. Acidez total de los estilos de cervezas de maíz azul	64
20. Unidades de amargor de los estilos de cervezas de maíz azul	65
21. Contenido de iso- α -ácidos de los estilos de cervezas de maíz azul	66
22. Contenido de <i>cis</i> -iso- α -ácidos de los estilos de cervezas de maíz azul	67
23. Contenido de <i>trans</i> -iso- α -ácidos de los estilos de cervezas de maíz azul	68
24. Contenido de antocianinas totales de los estilos de cervezas de maíz azul	69
25. Contenido de polifenoles totales de los estilos de cervezas de maíz azul	70
26. Capacidad antioxidante por ABTS de los estilos de cervezas de maíz azul	71
27. Capacidad antioxidante por DPPH de los estilos de cervezas de maíz azul	72
28. Análisis de agrupamientos jerárquicos (AAJ): A) y B) clasificación dendrográfica y C) perfil de las clases de los estilos de las cervezas de maíz	73
29. Gráfico de dispersión de puntuación y correlación entre los parámetros químicos analizados y los componentes principales	74
30. Contenido de antocianinas en los estilos de cervezas de maíz azul	76

31.	Perfil de apariencia de las cervezas de maíz azul	80
32.	Perfil de olor de las cervezas de maíz azul	81
33.	Perfil de sabor de las cervezas de maíz azul	82
34.	Perfil de sensaciones en boca de las cervezas de maíz azul	83
35.	Porcentajes para los niveles de JAR agregados sobre el nivel de agrado del estilo 6 de cerveza de maíz azul	84
36.	Efectos sobre la media de nivel de agrado del estilo 6 de cerveza de maíz azul	84
37.	Porcentajes para los niveles de JAR agregados sobre la intención de compra del estilo 7 de cerveza de maíz azul	86
38.	Efectos sobre la media de intención de compra del estilo 7 de cerveza de maíz azul	86
39.	Nivel de agrado promedio de seis cervezas de maíz azul	88
40.	Intención de compra promedio de seis cervezas de maíz azul	89
41.	Perfil de olor de las cervezas de maíz azul que menos agradaron y que más agradaron	90
42.	Perfil de sabor de las cervezas de maíz azul que menos agradaron y que más agradaron	91
43.	Perfil de sensaciones en boca de las cervezas de maíz azul que menos agradaron y que más agradaron	92

LISTA DE CUADROS

	Pág.
1. Tipos de cervezas y características sensoriales	8
2. Condiciones de temperatura y tiempo usadas en el tostado de las maltas caramelo de maíz azul	29
3. Formulación de las cervezas de maíz azul	31
4. Aspectos evaluados por los consumidores y escalas utilizadas en cada caso	45
5. Análisis químico proximal del grano y de la malta base de maíz azul	48
6. Contenido de humedad y parámetros de color en el maíz azul y las maltas	50
7. Contenido de antocianinas en el maíz azul y en las maltas	53
8. Contenido de compuestos fenólicos en el maíz azul y en las maltas	55
9. Contenido de ácidos fenólicos en el maíz azul y en las maltas base y caramelo	57
10. Contenido de melanoidinas en las maltas	58
11. Capacidad antioxidante por ABTS y DPPH en el maíz azul y en la malta base	59
12. Contenido de ácidos fenólicos de las cervezas de maíz	77
13. Resumen del análisis de penalidades para nivel de agrado	85
14. Resumen del análisis de penalidades para intención de compra	87

Resumen

El maíz en México ha sido ampliamente utilizado en bebidas tradicionales fermentadas. Recientemente hemos desarrollado un proceso para preparar cervezas con 100% de variedades de maíz pigmentadas que proporcionan polifenoles y antocianinas con propiedades antioxidantes. Por otra parte, se pueden crear nuevos estilos de cerveza al modificar las condiciones del proceso y los ingredientes; así, exploramos el efecto de la adición de malta caramelo y de diferentes cantidades de lúpulo y chile guajillo, generando varios estilos de cervezas de 100% malta de maíz azul. Para lograr lo anterior, se obtuvieron maltas base y caramelo y usaron para desarrollar ocho estilos de cervezas de maíz, con diferentes concentraciones de chile y lúpulo, a través de una fermentación tipo Ale. Los objetivos del proyecto fueron: 1) Caracterizar el maíz azul variedad Chalqueño, así como las maltas base y caramelo para evaluar el efecto del malteado y del tostado sobre el color, el perfil de compuestos volátiles, las características químicas y la capacidad antioxidante; 2) Evaluar los efectos de la adición de distintos tipos de malta y cantidades de chile y lúpulo sobre parámetros químicos y la actividad antioxidante en tres etapas del proceso (ebullición, fermentación y maduración); 3) Cuantificar el contenido de antocianinas y caracterizar los ácidos fenólicos en las cervezas maduras de maíz azul por HPLC para evaluar el efecto de la formulación; 4) Obtener el perfil sensorial de las cervezas y realizar una prueba de consumidores para evaluar el efecto de las distintas formulaciones sobre su nivel de agrado e intención de compra, así como para obtener información para mejorar el producto.

Los resultados obtenidos permitieron observar que el maíz azul Chalqueño presentó un análisis químico proximal similar al reportado en otros granos de maíz azul. El contenido de proteína en la malta base se encontró dentro del rango especificado para malta de cebada. El malteado no presentó efecto significativo sobre los parámetros de color, por el contrario en las maltas caramelo se observó un aumento de la luminosidad y de la cromaticidad, y una disminución del tono. Los productos de la reacción de Maillard entre los que se encuentra furanos, pirroles y pirazinas, fueron identificados en las maltas caramelo de maíz. La malta que fue tostada a 175 °C por 20 min presentó el mayor número de compuestos volátiles. Los contenidos de antocianinas y compuestos fenólicos totales en el maíz azul fueron similares a otras variedades azul y púrpura, y debido al malteado se observó una disminución de su contenido. Un tostado a menor temperatura por mayor tiempo provocó el mismo efecto sobre el contenido de antocianinas que un tostado a mayor temperatura por tiempo corto. El contenido de los ácidos fenólicos fue mayor en la malta base respecto al grano y las concentraciones de los ácidos fenólicos fueron dependientes de las condiciones de tostado, siendo mayor en la malta tostada a 240 °C. La concentración de melanoidinas también fue mayor en la malta tostada a mayor temperatura (240 °C). Por DPPH se observó una mayor capacidad antioxidante en la malta base que en el grano. En las maltas caramelo que contenían una mayor cantidad de compuestos fenólicos, se encontró una mayor capacidad antioxidante por ABTS, mientras que en las que contenían más melanoidinas se observó por DPPH una mayor respuesta antioxidante.

Se obtuvieron cervezas bajas en alcohol y los valores de azúcares reductores totales, alcohol, pH, acidez total, unidades de amargor e iso- α -ácidos durante las etapas del proceso fueron similares a los de las cervezas de cebada. Además, las concentraciones de antocianinas, polifenoles y capacidad antioxidante disminuyeron a través de las etapas del proceso. La interacción de los ingredientes produjo efectos sobre la composición química y la actividad antioxidante en las cervezas maduras. Después de un análisis estadístico, tanto por ANOVA univariando como por métodos multivariados (análisis de agrupamiento jerárquico y análisis de componentes principales), se encontró una mayor concentración de antocianinas y capacidad antioxidante por ABTS en dos estilos de cerveza formulados con 85% de malta base y 15% de malta caramelo (Estilos 6 y 7, respectivamente).

No se observó efecto de las diferentes formulaciones de cerveza de maíz en su etapa madura sobre el contenido de antocianinas. Los ácidos fenólicos fueron analizados en dos fracciones: en forma libre y esterificada. Los ácidos protocatéquico, p-coumárico y ferúlico fueron encontrados en forma libre en todos los estilos de cervezas y el ácido gálico estuvo presente solo en los estilos elaborados con malta caramelo. Los ácidos fenólicos esterificados encontrados incluyen los ácidos anteriores, además de los ácidos siríngico y sinápico. El ácido ferúlico fue mayoritario en ambas fracciones. En los ácidos fenólicos libres no se observó un efecto la formulación, mientras que el contenido de los ácidos fenólicos esterificados en general, fue mayor en los estilos elaborados con malta tostada y mayores cantidades de chile y lúpulo.

Un panel entrenado caracterizó a las cervezas de 100% malta base como de color cobrizo, turbidez intermedia y baja cantidad de espuma; olor a frutas fermentadas, lúpulo, levadura, cereales y plátano macho; y a los estilos elaborados con 15% malta tostada como de un intenso olor a caramelo, gusto amargo, ácido y sabor a malta, lúpulo y fruta fermentada; con carbonatación y cuerpo importantes y baja sensación picante. De acuerdo al análisis de consumidores, el picor en la mayoría de los estilos debe incrementarse para aumentar el nivel de agrado y la intención de compra. Por último, el estilo que más agradó y que tuvo la mayor intención de compra fue el estilo 6, al recibir calificaciones promedio de “me gusta” y “de vez en cuando”, este estilo fue elaborado con malta tostada (15%), mayor cantidad de chile (10 g/L) y menor cantidad de lúpulo (1.8 g/L).

Abstract

Corn in Mexico has been widely used in traditionally fermented beverages. We recently developed a process to prepare beers using 100% pigmented corn varieties that provide polyphenols and anthocyanins with antioxidant properties. Moreover, new styles could be created when modifying the process conditions and ingredients. Thus, we explored the effect of caramel malt addition and different amounts of hops and guajillo chili, generating several styles of 100% blue corn malt beers. To achieve this, base and caramel malts were obtained and used to develop eight styles of corn beers using different concentrations of chili and hops, via the ale fermentation process. The objectives of the project were: 1) to characterize the Chalqueño blue corn, as well as the base and caramel malts to evaluate the effect of malting and toasting on color, the profile of volatile compounds, the chemical characteristics and antioxidant capacity; 2) to evaluate the effects of the addition of different types of malt and quantities of chili and hops on chemical parameters and antioxidant activity in three different stages of the brewing process (boiling, fermentation and maturation); 3) to quantify anthocyanin content and characterize phenolic acids in mature corn beers by HPLC to evaluate the effect of the formulation; and 4) to obtain the sensory profile of the beers and to perform a consumer test to evaluate the effect of the different formulation on their level of pleasure and purchase intention, as well as to obtain information to improve the product.

The results obtained allowed to observe that the Chalqueño blue corn presented a proximal chemical analysis similar to those reported for other blue corn kernels. The protein content in the base malt was found within the range specified for barley malt. The malting has no significant effect on the color parameters, on the contrary in the caramel malts an increase of the lightness and chroma, and a decrease of hue angle were observed. Maillard reaction products including furans, pyrroles and pyrazines were identified in the caramel malts. The malt which was toasted at 175 °C for 20 minutes showed the highest number of volatile compounds. Anthocyanins and total phenolic compounds in blue corn were similar to other blue and purple varieties, and due to malting, a decrease in their content was observed. A toasting at lower temperature for longer time caused the same effect on the anthocyanin content as a toasting at higher temperature for short time. The content of the phenolic acids was higher in the base malt with respect to the grain and the concentrations of the phenolic acids were dependent on the toasting conditions, being higher in the toasted malt at 240 °C. The concentration of melanoidins was also higher in toasted malt at higher temperature (240 °C). DPPH showed higher antioxidant capacity in the base malt than in the grain. In the caramel malt higher antioxidant capacity by ABTS was observed in malts with greater amount of phenolic compounds, whereas by DPPH higher antioxidant response was present in malts with higher content of melanoidins.

Low alcohol beers were obtained and the values of total reducing sugars, alcohol, pH, total acidity, bitterness units and iso- α -acids during the steps of the process was similar to barley beers. Additionally, anthocyanin concentration, polyphenols and antioxidant capacity decreased through the processing steps. The ingredients interaction produced effects on the chemical composition and antioxidant activity in mature beers. After statistical analysis, by

both univariate ANOVA and multivariate methods (hierarchical cluster analysis and principal component analysis), a higher concentration of anthocyanins and ABTS antioxidant capacity was found in two beer styles that were formulated with 85% base malt and 15% caramel malt (Styles 6 and 7, respectively).

The effect of different formulations of corn beers on the content of anthocyanins in mature beer was not observed. The phenolic acids were analyzed in two fractions: in free and esterified form. Protochatequic, p-coumaric and ferulic acids were present as free phenolic acids in all styles of beers and gallic acid was present only in the styles made with caramel malt. The esterified phenolic acids found include the above acids in addition to the syringic and sinapic acids. Ferulic acid was present at the highest concentration in both fractions. No effect of formulation was observed on the free phenolic acids, whereas the esterified phenolic acids were generally higher in the styles made of toasted malt and with high amounts of chili and hops.

A trained panel characterized the corn beers as having a coppery color, intermediate turbidity and low amount of foam; odor of fermented fruits, hops, yeast, cereals and banana. Styles made of toasted malt had an intense caramel odor; bitter taste, acid and malt flavor, hops and fermented fruit; with an important carbonation and body and with low spicy perception. According to consumer analysis the spicy note in most styles should be increased to increase the level of pleasing and intent to purchase. Finally, the style that most liked and that had the greatest purchase intention was style 6, when receiving average ratings of “I like” and “from time to time”, this style was elaborated with toasted malt (15%), greater quantity of chili (10 g/L) and less amount of hops (1.8 g/L).

1. INTRODUCCIÓN

La creatividad de los maestros cerveceros para producir cervezas artesanales hoy en día está acaparando la atención de los consumidores que buscan disfrutar de nuevas sensaciones al degustar una cerveza, y que con ello, poco a poco van haciendo que este sector adquiera ganancias económicas importantes llamando con ello la atención de las grandes empresas cerveceras de nuestro país.

De manera específica, el movimiento de la elaboración de cerveza artesanal ha revivido estilos de cervezas antiguos, ha duplicado estilos de cervezas tradicionales y ha creado nuevos estilos de cervezas en su misión por introducir al mercado cervezas especiales de sabor completo y de fina elaboración. La identidad de los diferentes estilos de cervezas se obtienen a partir del uso de ingredientes específicos (tipos de malta, lúpulos, levaduras) y del procedimiento usado en su elaboración. El corazón de los estilos de cerveza se encuentra en el sabor desarrollado en gran parte por la aplicación generosa y a veces creativa de maltas especiales. Debido a que cada malta especial es única, necesita ser evaluada por su sabor, color y otras contribuciones al estilo de cerveza (Gruber A., 2001).

Bebidas tradicionales como el Tesgüino y Sendechó son una aproximación a una cerveza, las cuales siguen un proceso muy similar a las cervezas de cebada, solo que el cereal utilizado es maíz que se remoja, germina y cuece para obtener el mosto, que se deja enfriar para enseguida ser fermentado por pulque. Para nuestros antepasados el maíz era la materia misma con la que fuimos creados. Esto le otorgó un valor simbólico que trascendió su importancia como alimento y hoy en día se considera la base de nuestra alimentación y la identidad de nuestro México.

A partir de modificaciones en el proceso de elaboración del Sendechó, los grupos de investigación de los Doctores José Ramón Verde Calvo y Héctor Bernardo Escalona Buendía han elaborado y caracterizado fisicoquímica y sensorialmente cervezas de maíz de las variedades pigmentadas. Con el mismo propósito de brindar a los consumidores un mayor número de estilos de cervezas, en este caso particular cervezas de maíz, en el presente estudio se desarrollaron estilos de cervezas de maíz azul utilizando maltas base y caramelo, así como diferentes cantidades de chile y lúpulo. Asimismo, se llevó a cabo la caracterización del maíz azul Chalqueño y de las maltas. Finalmente, se determinaron las características químicas y la actividad antioxidante de los estilos de las cervezas de maíz durante tres etapas del proceso, cuantificando los compuestos bioactivos antocianinas y ácidos fenólicos en la cerveza madura y obteniendo el perfil sensorial y el nivel de agrado e intención de compra por los consumidores.

“La cerveza de maíz es nuestra identidad convertida en bebida con sabores y olores de maíz y chile que nos recuerdan nuestras tradiciones, lo que somos, y lo que consumimos a diario pero con las notas elegantes del lúpulo y un contenido de alcohol que hace agradable el momento”.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Maíz

El maíz, *Zea mays* L., pertenece a la familia de las Poáceas (Gramíneas), tribu Maydeas, y es la única especie cultivada del género *Zea*. Otras especies comúnmente llamadas teocinte y las especies del género *Tripsacum* conocidas como arrocillo o maicillo son formas salvajes emparentadas con *Zea mays* (Paliwal, 2001).

El maíz es una de las especies cultivadas más productivas, es el primer cereal en rendimiento de grano por hectárea, y tiene el más alto potencial para la producción de carbohidratos por unidad de superficie por día. En la actualidad el maíz es el segundo cultivo del mundo por su producción, después del trigo, mientras que el arroz ocupa el tercer lugar (Paliwal, 2001).

La producción mundial de maíz se pronosticó en 2017 en 1,054 millones de toneladas, un 1.4% o 14.6 millones de toneladas superior a la producción de 2016. Los principales países productores de maíz son Estados Unidos, China y Brasil, seguidos de países de la Unión Europea. La producción mundial a partir de 2013 aparece en la Figura 1a y la de México en la Figura 1b.

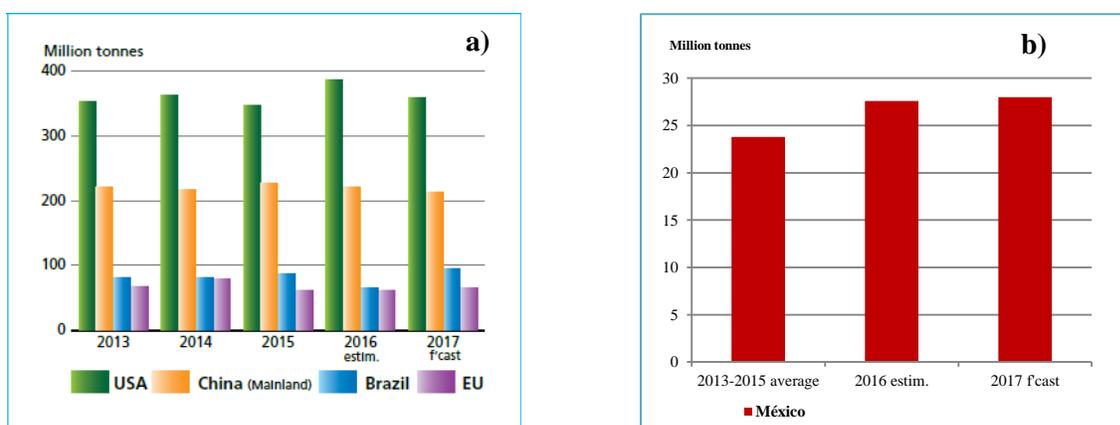


Figura 1. a) Principales productores de maíz y b) Producción de maíz en México. Valores estimados (FAO, 2017).

En México, el 69% del maíz producido es destinado al consumo humano, 20% al sector pecuario, 10% a la industrialización y 1% a la producción de semillas (Ortega y Ochoa, 2003). Los esfuerzos de la producción nacional se enfocan en la obtención de maíz blanco. El 50% de la producción de maíz se obtiene de cinco estados productores: Jalisco, Estado de México, Sinaloa, Chiapas y Michoacán.

En la Mesa Central de México se cultivan alrededor de 1.5 mill ha de maíz, de las cuales 85% se manejan en condiciones de temporal. De manera específica, los principales estados de la Mesa Central donde se cultiva maíz azul son Puebla, Tlaxcala, México e Hidalgo. Antonio

et al., (2004), determinaron que en aproximadamente 150 mil ha cultivadas en temporal se siembra maíz azul u otro color, obteniéndose rendimientos promedio de 2 a 3.5 t ha⁻¹.

El maíz tiene una amplia base genética como resultado de los múltiples procesos de selección, adaptación y manejo. En México se han clasificado al menos 59 razas con base en caracteres morfológicos y polimorfismos de isoenzimas (Sanchez *et al.*, 2000).

El maíz Chalqueño pertenece al grupo cónico, que incluye razas cuya característica distintiva es la forma cónica o piramidal de sus mazorcas. Este grupo se distribuye predominantemente en las regiones elevadas de más de 2,000 msnm y en su mayoría son endémicas de los valles altos y sierras del centro del país incluyendo el Valle de México, Valle de Toluca, la Sierra Norte de Puebla, la Meseta Purépecha en Michoacán y la Mixteca alta en Oaxaca (CONABIO).

La raza Chalqueño es polimórfica por sus variantes de textura (harinoso, semidentado y semicristalino) y coloración de grano (blanco, amarillo, rojo, rosado, azul). En el valle de Chalco-Amecameca se distinguen, los tipos: “crema”, de grano semicristalino con coloraciones amarillo claro a blanco y que son usados principalmente para tortillas; “palomo”, de textura semiharinoso, de color blanco y usado para harina de tamal; “azul”, de grano semiharinoso con coloraciones morado a azul oscuro; “colorado”, de textura semiharinoso y coloración rosada a rojo, ambas coloraciones “azul” y “rojo” son usadas para antojitos, golosinas (*burritos*: maíz tostado y mezclado con piloncillo) y pinole; y “amarillo”, de textura semicristalina usado para tortilla y forraje. Todas las variantes de esta última raza se usan como forraje tanto en planta entera ensilada como en rastrojo (plantas después de cosechar). La hoja (totomoxtle) que cubre la mazorca de esta raza es muy valorada para envolver tamales y para la elaboración de artesanías (CONABIO).

En las variedades de grano pigmentado pueden predominar los carotenoides o los flavonoides del tipo antocianinas, éstas confieren al grano de maíz colores desde rojo tenue hasta púrpura intenso (Salinas *et al.*, 1999).



Figura 2. Mazorcas de la raza Chalqueño que se cultiva en el Oriente del Estado de México.
(Tomado de www.citlalired.com)

2.2 Antocianinas y compuestos fenólicos en el maíz

El maíz (*Zea mays* L.) constituye la base de la alimentación de la mayor parte de los países en desarrollo, aspecto benéfico ya que contiene mayor cantidad de fenoles y capacidad antioxidante que otros cereales como trigo, arroz y avena (Escalante-Aburto *et al.*, 2013).

Los flavonoides y ácidos fenólicos presentes en el grano de maíz pueden estar en forma libre o soluble, o ligados a biomoléculas como proteínas y carbohidratos estructurales. Alrededor de 90% de los ácidos fenólicos en el grano del maíz se encuentra en forma ligada, principalmente a componentes de la pared celular, mientras que los flavonoides están predominantemente en forma extraíble o soluble (Salinas-Moreno *et al.*, 2012).

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular, formados de quince átomos de carbono, dispuestos en una configuración C6-C3-C6. La estructura consiste en dos anillos aromáticos, A y B, unidos por un puente de 3 carbonos, usualmente en forma de un anillo heterocíclico, C (Figura 3). El anillo aromático A se deriva de la vía acetato/malonato, mientras que el anillo B se deriva a partir de la fenilalanina a través de la vía de shikimato (Merken y Beecher, 2000).

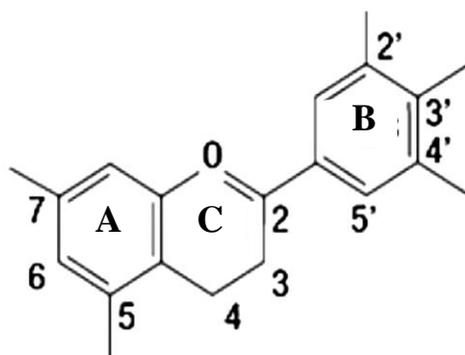


Figura 3. Estructura química de los flavonoides (Ignat *et al.*, 2011).

Las variaciones en los patrones de sustitución del anillo C dan como resultado las clases principales de flavonoides: flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanoles, isoflavonas y antocianinas (Hollman y Katan, 1999). Las estructuras químicas de las principales clases de flavonoides se presentan en la Figura 4.

Las antocianidinas son las estructuras básicas de las antocianinas. Cuando las antocianidinas se encuentran en su forma glicósida (unidas a un azúcar) se conocen como antocianinas. Los azúcares que se esterifican con el aglicón lo hacen principalmente en la posición 3 (Brouillard, 1982). Las antocianinas también pueden estar aciladas, es decir los ácidos orgánicos –usualmente ácidos fenólicos aromáticos o alifático, ácidos dicarboxílicos o una combinación de ambos- reaccionan con la fracción azucarada formando un enlace éster. Estos ácidos se unen en la posición 6 del monosacárido, aunque también se les ha encontrado en las posiciones 2, 3 y 4 (Cabrita, 2000).

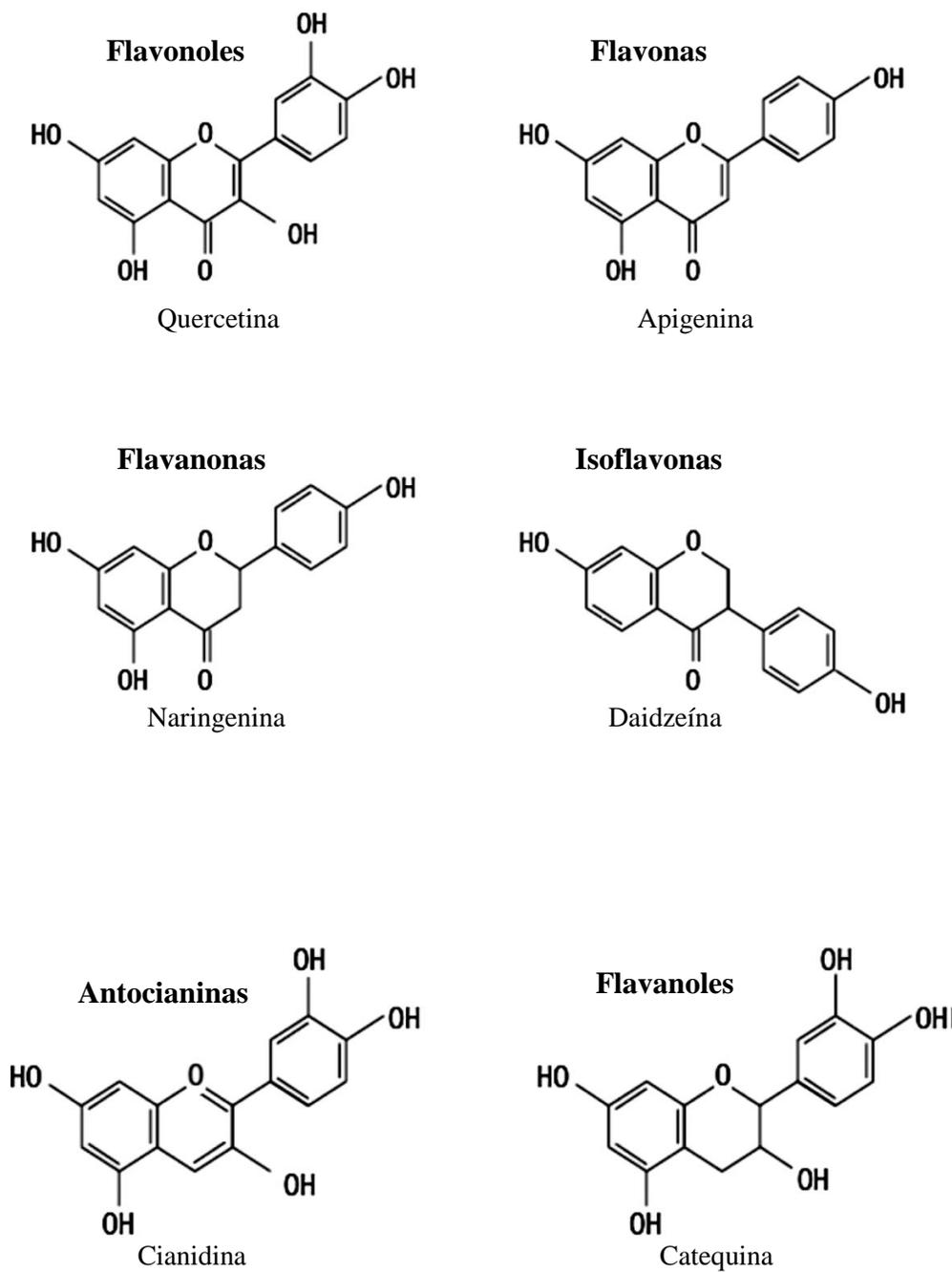


Figura 4. Estructuras químicas de las principales clases de flavonoides (Ignat *et al.*, 2011).

La caracterización de antocianinas en maíz azul se ha llevado a cabo por cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas, siendo mayoritarias la cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido (Abdel-Aal *et al.*, 2006; Escalante-Aburto *et al.*, 2013; Pascual-Teresa *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2009). Las antocianinas pueden estar presentes en el pericarpio, en la capa de aleurona o en ambas estructuras del grano

(Salinas-Moreno *et al.*, 2012). La estabilidad de las antocianinas es fuertemente afectada por el pH, temperatura, estructura y concentración de antocianina, entre otros factores (Verde-Calvo, 2006; Yang *et al.*, 2009; Sharma *et al.*, 2016). Los beneficios a la salud de compuestos fenólicos como las antocianinas se han reportado ampliamente, éstos incluyen actividad antioxidante, antimutagénica y anticarcinogénica (Pedreschi y Cisneros-Zevallos, 2007; Yang *et al.*, 2009; Escalante-Aburto *et al.*, 2013; Abdel-Aal *et al.*, 2006).

Respecto a la presencia de ácidos fenólicos, en maíz azul Peruano se han identificado los ácidos p-cumárico, vainílico y protocatéuico, así como derivados de quercetina y hesperidina (Pedreschi y Cisneros-Zevallos, 2007); y en maíz azul Mexicano, el ácido ferúlico y tres derivados de éste fueron identificados como los principales ácidos fenólicos, seguidos de dos derivados del ácido p-coumárico en cantidades menores (Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006). En maíz amarillo se han identificado los ácidos p-hidroxibenzoico, vainílico, protocatéuico, siríngico, p-coumárico, ferúlico, cafeico y sinápico (Adom y Liu, 2002; Dewanto *et al.*, 2002).

El principal ácido fenólico en el maíz es el ácido ferúlico, que representa alrededor del 85% de los compuestos fenólicos totales y se concentra en el pericarpio del grano en forma libre o esterificado en las heteroxilanas que constituyen la hemicelulosa de la pared celular (De la Parra *et al.*, 2007).

Las paredes celulares de las gramíneas se componen predominantemente de glucoronoarabinoxilanos y (1,3)(1,4)- β -D-glucanos, con cantidades menores de celulosa, heteromananos, proteínas y ácidos fenólicos esterificados.

Los efectos benéficos para la salud de otros compuestos fenólicos además de las antocianinas han sido también ampliamente reportados incluyendo actividad antioxidante (Adom y Liu, 2002; Dewanto *et al.*, 2002), antimutagénica (Cardador-Martínez *et al.*, 2002; Miyazawa y Hisima, 2003) y anticancerígena (Ferguson, 2001; Loo, 2003).

2.3 Cerveza

La cerveza es una bebida alcohólica no destilada que se obtiene de la fermentación de un mosto elaborado a partir de malta de cebada, con o sin la adición de otros cereales no malteados (adjuntos), la mezcla de estos cereales con agua se transforma en azúcares mediante digestión enzimática. Posteriormente se agrega a la mezcla lúpulo y se somete a un proceso de cocción (López *et al.*, 2002).

La cerveza puede ser clasificada en tres tipos básicos: Ale, Lager y Lámbica, al margen de esta última que se produce de manera local en Bélgica y es fermentada con levaduras salvajes (espóntaneas), los tipos *Ale* y *Lager* se distinguen por la especie de *Saccharomyces* que lleva a cabo la fermentación, siendo *S. cerevisiae* y *S. carlsbergensis* las utilizadas, respectivamente (Hughes y Baxter, 2001). Las cervezas tipo lager son las más consumidas, su fermentación se lleva a cabo a temperaturas entre 6-15 °C y al final de esta etapa las células de levadura se depositan en el fondo del fermentador, y generalmente se eliminan. Por el contrario, en las cervezas tipo Ale la fermentación ocurre a temperaturas entre 16-24 °C, después de lo cual las células de levadura se elevan a la superficie del fermentador, formando una película gruesa que generalmente no se elimina por completo (Moura-Nunes *et al.*, 2016).

Dentro de cada uno de estos dos tipos existen estilos o subtipos con diferentes características sensoriales, obtenidas a partir de variaciones en el procesamiento, formulaciones y composición de ingredientes (Hough, 1990; López *et al.*, 2002). Algunos estilos aparecen en el cuadro 1, incluyendo algunas marcas.

Una clasificación adicional de las cervezas se basa en cambios en el proceso de elaboración, como las cervezas de barril, que no son pasteurizadas, y cervezas sin alcohol, a menudo producidas por fermentación limitada. Los estilos de cerveza también pueden variar entre las regiones productoras, según los aspectos culturales y la disponibilidad de los ingredientes (Bamforth, 2003).

Químicamente, la cerveza puede ser considerada como una solución de agua-etanol con un pH de alrededor de 4.2 en el que cientos de moléculas diferentes se disuelven. Estas moléculas se originan a partir de las materias primas (agua, malta, lúpulo, adjuntos) y de los procesos de producción del mosto, fermentación y maduración. Sin embargo, los componentes de la cerveza recién embotellada no están en equilibrio químico. Termodinámicamente, una botella de cerveza es un sistema cerrado y tenderá a alcanzar un estado de energía mínima y entropía máxima. En consecuencia, las moléculas experimentan muchas reacciones durante el almacenamiento, que finalmente determinan las características de envejecimiento de la cerveza. Aunque muchas conversiones son termodinámicamente posibles, su importancia para el envejecimiento de la cerveza está determinada principalmente por las velocidades de reacción en condiciones de almacenamiento ordinarias (Vanderhaegen *et al.*, 2006).

Cuadro 1. Tipos de cervezas y características sensoriales.

Tipo de cerveza	Subtipos o estilos
<i>Ale</i>	<p>Pale. Clara, fuertemente aromatizadas con lúpulo, seca y muy amarga. Calavera American Pale Ale (Naucalpan) y Minerva Pale Ale (Zapopan).</p> <p>Bitter. Es clara con un alto contenido de lúpulo y con mucho cuerpo.</p> <p>Brown. Color intenso, sabores tostados y afrutados, es menos dulce y contiene menos lúpulo que las pálidas. La más popular Newcastle (Inglaterra). En México existen Raramuri (Batari Chònami) (Tijuana), Cucapá Oscura (Mexicali B.C.) y Calavera Project X (Naucalpan).</p> <p>Mild. Es semioscura, de sabor dulce, con poco cuerpo y amargor.</p> <p>Stout o Porter. Son las más oscuras, con mucho cuerpo, algunas intensamente amargas y otras en cambio dulces. Magna Porter (Guadalajara) es de este subtipo.</p>
<i>Lager</i>	<p>Pilsener, Hell o Pale. Es clara, con alto contenido de lúpulo, seca y con poco cuerpo. Este estilo es el de mayor consumo mundial en cervezas. Barrilito (Cd. De México), Bohemia clásica (Monterrey NL.), Carta blanca, (Monterrey NL.) y Estrella (Guadalajara) son algunas marcas.</p> <p>Dortmunder. Tiene características parecidas a la Pilsener pero con un menor contenido de lúpulo y sabor más suave.</p> <p>Munich, Donkel o Dark. Es oscura, aromática, con bajo contenido de lúpulo, amargor ligero, dulce y con mucho cuerpo. La marca León (México DF.) corresponde a este estilo.</p> <p>Märzen, Bock o Marzenbier. Tiene características parecidas a la Munich, pero con mayor contenido de alcohol. Una marca de este estilo es Tijuana bufadora (Tijuana).</p>

2.4 Proceso de elaboración de la cerveza

Los métodos de producción son diferentes para los tipos de cerveza, equipo utilizado y la legislación propia de cada país. Sin embargo los procesos comunes son: preparación de la malta, producción de mosto, fermentación y procesamiento final. A continuación se describe brevemente los aspectos bioquímicos de estas etapas.

2.4.1 Preparación de la malta

El grano limpio se remoja, y cuando alcanza una humedad mayor al 30% comienza la germinación. La absorción de agua tiene que hacerse bajo condiciones controladas de temperatura (12-18 °C), tiempo de vegetación, alternando períodos secos y húmedos (para reducir el riesgo de crecimiento microbiano, y para proporcionar oxígeno al grano y eliminar el CO₂ y el calor generado por el metabolismo del grano), y suministro de oxígeno (necesario para los núcleos de respiración, la falta de este elemento, puede provocar acumulación de CO₂ seguida de fermentación y por lo tanto intoxicación del germen) (Kreisz, 2007).

Durante la germinación se lleva a cabo la descomposición controlada de las paredes celulares y proteínas de la matriz, se debe buscar producir el nivel óptimo de enzimas hidrolíticas (proteasas, celulasas y amilasas), hidrolizar ciertas reservas de la cebada (p.ej. proteína para formar nitrógeno amino libre, FAN por sus siglas en inglés), y mantener una respiración activa hasta obtener producir una malta verde equilibrada y bien modificada para el secado. Lo anterior se alcanza controlando los siguientes parámetros: tiempo de vegetación (remojo + germinación: 120-168 h), máximo grado de remojo (42-48 % humedad), temperatura (12-20 °C), y uso de adjunto (si se permite o necesita) como el ácido giberélico a 0.01-0.5 ppm (Kreisz, 2007).

Al someter la malta verde a secado se busca terminar el proceso de modificación y el crecimiento de la planta, reducir la humedad a niveles adecuados para el almacenamiento de la malta, conservar los complejos enzimáticos desarrollados durante el malteado, y desarrollar las características de color y aroma, según lo requiera el cervecero. El color y el sabor se producen principalmente a través de las reacciones de Maillard, los productos más importantes son las melanoidinas, y además de impactar el color y aroma, también tienen efecto en el pH y estabilidad del sabor de la cerveza. El precursor de dimetilsulfuro (DMS) (S-metilmetionina) se convierte en DMS y se elimina en el secado (Kreisz, 2007).

2.4.2 Producción del mosto

La malta se somete a una molienda para facilitar la extracción y dilución de sus componentes, durante esta operación se deben mantener intactas las cascarillas para facilitar la operación de lavado. La maceración es la solubilización de componentes de la malta mediante procesos enzimáticos, físicos y químicos (Krottenthaler *et al.*, 2007).

Los procesos enzimáticos proteólisis, citólisis y amilólisis, permiten la hidrólisis de proteínas, sustancias de las paredes celulares y de almidón, respectivamente. El proceso de proteólisis debe ser controlado para proporcionar suficiente nitrógeno asimilable para una fermentación óptima, así como de proteínas de alto peso molecular para favorecer la estabilidad de la espuma; la citólisis para favorecer la separación del mosto dulce del grano gastado y la filtración; y la amilólisis para obtener los extractos fermentables requeridos (Krottenthaler *et al.*, 2007).

La hidrólisis enzimática durante la maceración puede ser controlada por la temperatura, viscosidad y pH del macerado, así como por el tiempo. Con el avance en los procesos de reproducción o de cultivo de las variedades de cebada cervecera, se produce una buena citólisis y proteólisis durante el malteado, de manera que el macerado para las cervezas ligeras sólo necesita ser ajustado para la amilólisis (Krottenthaler *et al.*, 2007).

En cebada, la temperatura de gelatinización en granos grandes de almidón (10-25 μm) comienza a 61-62 °C y en granos pequeños (1-5 μm) a 75-80 °C. Una rápida gelatinización y una alta actividad amilolítica garantizarán una rápida sacarificación facilitando una alta conversión de azúcares en alcohol y dióxido de carbono. El rango de temperatura óptimo en el macerado para favorecer la acción de la α -amilasa es 65-75 °C y el de pH es 5.6-5.8, los sustratos de esta enzima son α -glucanos de alto y bajo peso molecular y los productos de su actividad son oligosacáridos; por otro lado, las condiciones óptimas de la β -amilasa son temperatura de 60-65 °C, pH entre 5.4-5.6, su sustratos son α -glucanos y el producto de su actividad es maltosa (Krottenthaler *et al.*, 2007).

Transcurrido el tiempo indicado por el cervecero se procede a la separación de los granos gastados y del mosto dulce. Posteriormente el mosto se lleva a ebullición. Durante esta etapa se llevan a cabo dos procesos: mantenimiento en caliente y evaporación. En el primer caso se producen diferentes reacciones químicas tales como la isomerización del lúpulo, desarrollo de sustancias aromáticas, color y procesos de disolución, así como inactivación de enzimas y esterilización (Krottenthaler *et al.*, 2007).

El análisis cuantitativo de α -ácidos revela concentraciones mayores en el mosto y bajos niveles en la cerveza. Esto es porque durante la ebullición del mosto ocurre la más importante conversión química del proceso de elaboración de la cerveza: la isomerización térmica de los α -ácidos (humulona, cohumulona y adhumulona) a los iso- α -ácidos (isohumulona, isocohumulona e isoadhumulona) a través de una contracción tipo aciloína del anillo (Keukeleire, 1999) (Figura 5).

Durante la ebullición del mosto es necesario eliminar las proteínas y los complejos de taninos-proteína para obtener el mosto clarificado. Dentro de las reacciones de Maillard que se llevan a cabo, son de particular importancia los aldehídos de Strecker desarrollados a partir

de aminoácidos, que influyen en la estabilidad del sabor de la cerveza. Estos son productos primarios y secundarios de la reacción de Maillard y pueden reducirse dependiendo de la volatilidad, del sistema de ebullición utilizado y de la evaporación (Krottenthaler *et al.*, 2007).

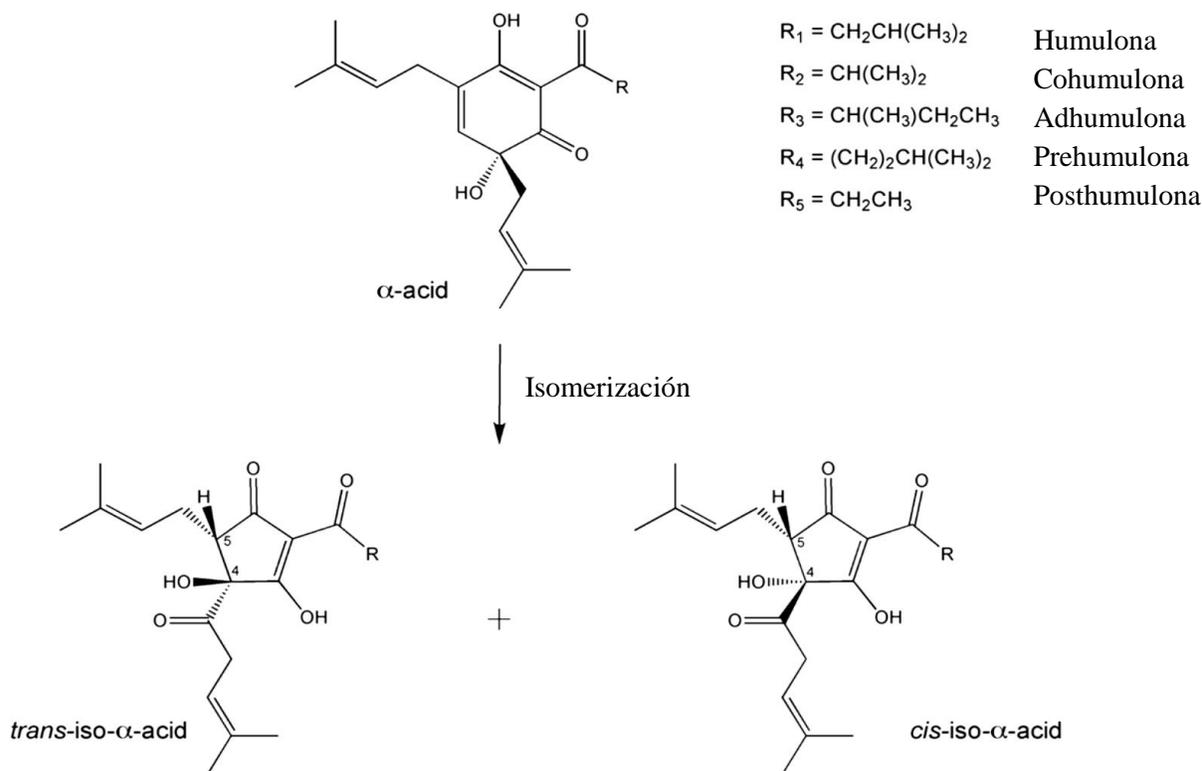


Figura 5. Estructura química de α -ácidos y su conversión a iso- α -ácidos vía isomerización (Caballero *et al.*, 2012).

La evaporación sirve para eliminar sustancias aromáticas no deseadas tales como mirceno del lúpulo y diferentes carbonilos y sustancias azufradas, especialmente dimetilsulfuro (DMS). Las sustancias aromáticas del metabolismo de los lípidos también se reducen por evaporación durante la ebullición del mosto (Krottenthaler *et al.*, 2007). Después de enfriar y filtrar la solución se obtiene un mosto compuesto principalmente por carbohidratos fermentables, aminoácidos y minerales. El mosto sirve como sustrato para el crecimiento de las levaduras y en la producción de etanol. Así mismo es fuente de precursores de aroma y sabor (Varnan y Sutherland, 1997).

2.4.3 Fermentación

Durante esta etapa la levadura transforma los azúcares fermentables a etanol y CO_2 . En este proceso también se obtienen subproductos de fermentación, que tienen un efecto

considerable sobre el perfil de aroma y el sabor de la cerveza. La fermentación inicia al añadir la levadura al mosto. Las levaduras cerveceras son principalmente dos tipos, denominadas de fermentación alta (*Saccharomyces cerevisiae*) y de fermentación baja (*Saccharomyces uvarum* var. *Carlsbergensis* y *Saccharomyces bayanus*) (Eßlinger, 2007).

Las levaduras *Saccharomyces* son anaerobios facultativos, es decir, ajustan su metabolismo aerobio a condiciones anaerobias. La levadura duplica o triplica su masa durante la fermentación; para ello requiere aminoácidos, lípidos ya que son componentes de la pared celular y son necesarios para la absorción de nutrientes, también minerales para la estabilización de sus sistemas enzimáticos y de oxígeno molecular que es necesario para la síntesis de lípidos a partir de acetil-coenzima A. Además de la concentración inicial de células de levadura (15-20 millones de células de levadura por mL), una fermentación satisfactoria depende de un suministro suficiente oxígeno a las células. Esto se hace aireando el mosto con aire estéril (o excepcionalmente con oxígeno). Un valor de 8-10 mg de O₂ por litro de mosto es óptimo (Eßlinger, 2007).

Las enzimas de la levadura transforman los azúcares del mosto en etanol y CO₂ a través de la glicólisis. La levadura hidroliza primero la sacarosa, después la maltosa y posteriormente la maltotriosa. Los subproductos de la fermentación se pueden categorizar en seis grupos: alcoholes alifáticos y aromáticos superiores, alcoholes multivalentes, ésteres, compuestos carbonílicos, compuestos azufrados y ácidos orgánicos. Todos estos compuestos tienen diferentes umbrales de sabor y olor. Sus contribuciones combinadas constituyen el sabor o defectos de la cerveza (Eßlinger, 2007).

Como resultado adicional del descenso de pH por los ácidos orgánicos, un cierto número de sustancias amargas disueltas coloidalmente y de polifenoles, alcanzan su punto isoeléctrico y luego precipitan. El resto de α -ácidos no isomerizados y algunas isohumulonas son capturados por las burbujas ascendentes de CO₂ y llevados a la espuma. La pérdida de sustancias amargas oscila entre 25 y 40% durante la fermentación (Eßlinger, 2007).

La concentración total de diacetilo se utiliza para evaluar la madurez de la fermentación de la cerveza. Esta concentración se debe disminuir por debajo de su umbral de sabor. El diacetilo se forma durante la síntesis de valina, en la fase de propagación de la levadura. Esta reacción es altamente dependiente de la temperatura y se produce muy lentamente por debajo de 10 °C (Eßlinger, 2007).

2.4.4 *Procesamiento final*

Una vez concluida la maduración, la cerveza puede ser clarificada, carbonatada, envasada y pasteurizada para su embalaje y distribución, o bien puede llevarse a cabo una adición de azúcar a la cerveza verde (para que lleve a cabo una segunda fermentación en botella y el

dióxido de carbono se produzca de manera endógena), envasada y almacenada en frío (0 y 2°C por 1-2 semanas). Durante este almacenamiento, la cerveza se aclara, permitiendo que la levadura y otros materiales que causan turbidez se depositen en el fondo del recipiente, y su sabor se refina y completa.

2.5 Cambios sensoriales durante el almacenamiento de la cerveza

El sabor y el aroma de la cerveza son reconocidos como los parámetros de calidad más importantes del producto. Su sabor debe ser constante, y el esperado corresponde al particular sabor de cerveza fresca. Las interacciones entre diferentes volátiles de aroma pueden enriquecer o suprimir el impacto al sabor de las moléculas (Vanderhaegen *et al.*, 2006).

Existe un lenguaje estándar a través del cual los catadores pueden correlacionar el aroma y sabor de la cerveza con una palabra o descriptor, que se localiza en la Rueda de Aroma y Sabor elaborada por el Dr. Morten Meilgaard en 1970 y que aparece en la Figura 6.

La maduración de la cerveza es un fenómeno complejo y durante el mismo el sabor de la cerveza puede cambiar. Estos cambios dependen del tipo de cerveza, de la concentración de oxígeno y de la temperatura. La determinación de sabor es el resultado de la formación y degradación de sustancias químicas. La formación de moléculas a concentraciones superiores a su respectivo umbral de sabor, permite notar nuevos efectos, mientras la degradación de las moléculas a concentraciones por debajo de su umbral de sabor puede causar la pérdida de sabores de cerveza fresca (Vanderhaegen *et al.*, 2006).

Puede observarse durante el almacenamiento de la cerveza una disminución del amargor debido a la degradación de iso-alfa-ácidos por especies reactivas de oxígeno, principalmente por el radical hidroxil (OH.) que al pH al que se encuentra la cerveza (4 – 5), es la especie dominante. A partir de esta reacción se forman compuestos químicos como cetonas, aldehídos, alcoholes y ácidos carboxílicos como acetona, 3-metil-butan-2-ona, 2-metil-propanal, 2-metil-buten-ol, ácido 2-metil-propiónico, entre otros. Otro cambio es el incremento en aroma y sabor dulce, debido a la síntesis de compuestos como etil-cinamato, fenil-acetaldehído y 2-acetilpirazina, los aldehídos se pueden formar a partir de la oxidación de alcoholes por la acción de especies reactivas de oxígeno. También se observa un incremento conforme transcurre el tiempo de almacenamiento de sabor a cartón este nota se debe principalmente al compuestos (*E*)-2-nonenal, que puede ser sintetizado a partir de diferentes rutas; mediante condensación de acetaldehído con heptanal, o bien por la oxidación del ácido linoleico durante la ebullición del mosto, el nonenal es reducido a nonenol por la levadura durante la fermentación y es reoxidado durante el almacenamiento. Por último, el incremento durante cierto intervalo de tiempo de olor a hojas de grosella negra se debe a la presencia temporal de los compuestos azufrados 3-metil-3-mercaptopbutil-formiato y 4-mercaptop-4-metil-penta-2-ona (Vanderhaegen *et al.*, 2006).

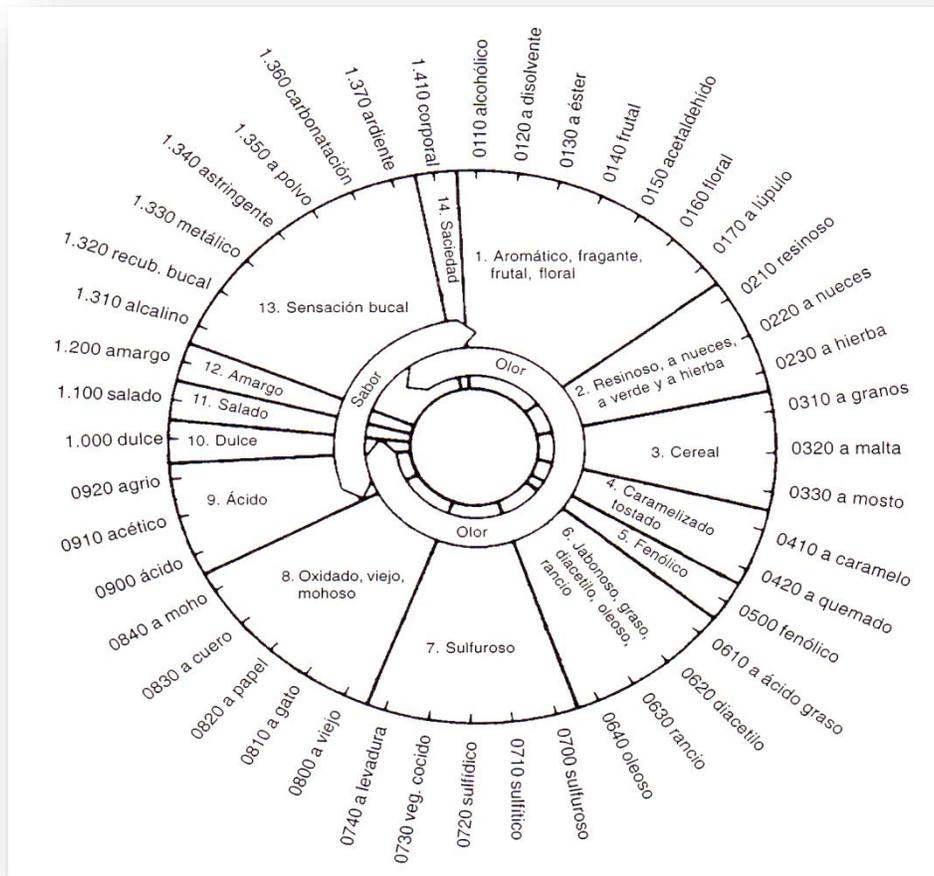


Figura 6. Rueda de aroma y sabor de la cerveza (según Meilgaard, 1970).
(Hughes y Baxter, 2001).

2.6 Maltas base y tostadas

En la cerveza de cebada, la malta Pilsner es el principal ingrediente para la producción de mostos (Coghe, *et al.*, 2006). La composición química de la malta varía de acuerdo a factores como el avance de la germinación o modificación del grano, sin embargo, durante su producción, son los procesos térmicos (secado y tostado) los que tienen un mayor impacto sobre el color y sabor de la malta (Yahya, *et al.*, 2014). Dependiendo de las condiciones aplicadas en los procesos térmicos, los colores obtenidos en la malta pueden ser desde amarillo pálido, ámbar, marrón hasta casi negro (Coghe, *et al.*, 2006), y mientras que algunas cervezas son elaboradas con malta Pilsner exclusivamente, otras deben su carácter típico de sabor y color a la adición de una baja cantidad de estas maltas tostadas o maltas especiales (Coghe, *et al.*, 2006, Yahya, *et al.*, 2014; Gruber, 2001).

Las reacciones químicas promovidas por el calor aplicado durante el proceso de tostado, son complejas e incluyen la degradación de los ácidos fenólicos, caramelización de los azúcares y reacciones de Maillard (incluyendo la degradación de aminoácidos de Strecker) y la

degradación térmica de los ácidos grasos oxigenados derivados de los lípidos química y enzimáticamente. Así pues, se forma un grupo de compuestos volátiles, como ácidos grasos, aldehídos, alcoholes, furanos, cetonas, fenoles, pirazinas y tiocompuestos. La presencia de estos compuestos en la malta significa que pueden hallarse en el mosto dulce, sin embargo, muchos se pierden durante el proceso de acción de la levadura (Yahya *et al.*, 2014).

Los compuestos como el furanol, maltol e isomaltol contribuyen al aroma de la cerveza. Durante el curso de las reacciones de Maillard el oxígeno del anillo furano puede ser sustituido por azufre o nitrógeno, lo cual da lugar a la formación de los correspondientes tiofenos y pirroles. Otros heterociclos formados durante el proceso de tostado de la malta son los tiazoles, tiazolinas, piridinas, pirrolizinas y pirazinas; algunos de estos últimos como las dimetilpirazinas. Estos compuestos se han descrito como maltosos, oxidados y dulces (Yahya *et al.*, 2014).

Los productos de las reacciones de Maillard responsables de la percepción del color son cromóforos de bajo peso molecular (< 1 kDa) y melanoidinas de alto peso molecular (> 100 kDa), estos últimos se producen en tiempos muy cortos (7 min) entre 157 y 166 °C en el tostado (Coghe *et al.*, 2006).

Dentro de las maltas oscuras se encuentra la malta caramelo que se obtiene del tostado de la malta verde (Coghe, *et al.*, 2006). El contenido de humedad de una malta verde oscila entre 38 y 45 %, y para obtener la malta caramelo estos granos se secan a temperaturas entre 65 y 75 °C, durante 60 o 90 minutos para favorecer la acción de proteasas y amilasas (α y β), y aumentar la concentración de aminoácidos y azúcares reductores que son los precursores de las reacciones de Maillard. Posteriormente se lleva a cabo la etapa de caramelización, donde los granos secos se someten al tostado, este puede ser a temperaturas entre 150-200 °C (Yahya *et al.*, 2014).

El contenido de humedad juega un papel clave en el exceso de reacciones de Maillard, tanto porque el agua es un participante directo en las vías de formación de sabor, como también porque actúa como disolvente, influyendo en la movilidad de los reactivos primarios. Las reacciones de Maillard en fase acuosa favorecen vías que requieren reacciones de isomerización asistidas por disolventes o aquellas que implican estados de transición de naturaleza polar estabilizados por la presencia de agua (Yahya, *et al.*, 2014). Con respecto al sabor, las maltas de caramelo contienen más productos volátiles de la reacción de Maillard (Coghe *et al.*, 2004).

El grado de pardeamiento no enzimático es un factor clave en la calidad de la malta, ya que no sólo implica la formación de color y sustancias volátiles de sabor (Figura 7), sino también la formación de antioxidantes. Estos antioxidantes son responsables de una mayor vida útil

y mejor estabilidad del sabor de la cerveza elaborada con maltas tostadas (Coghe, *et al.*, 2006).

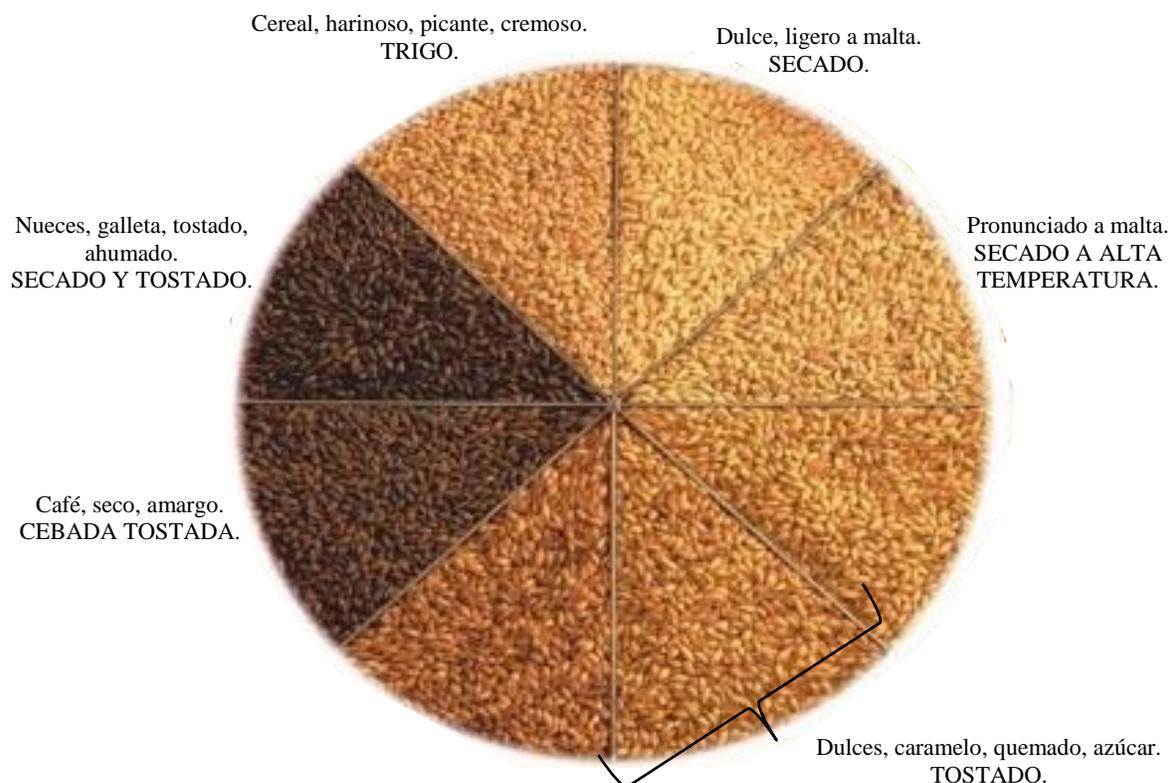


Figura 7. Rueda de sabor de maltas base, pale y especiales. (Gruber, 2001).

El esquema de cinética de reacción de formación de aromas que presenta la Figura 8 postula cuatro etapas básicas:

- 1) Condensación (R_2) de un azúcar con un aminoácido para formar un producto de reordenamiento de Amadori (PRA) o un producto de reordenamiento de Heys (PRH) (H). Alternativamente el azúcar también puede degradarse directamente (R_1), por ejemplo, mediante una reacción de caramelización a alta temperatura. Se postula que estas degradaciones directas son insignificantes a temperaturas bajas o medias (Jousse *et al.*, 2002).
- 2) El PRA o PRH intermedio puede ciclar (R_3) para formar compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno, tales como pirroles o piridinas. Alternativamente, puede escindirse (R_4) para dar azúcares reordenados que contienen la cadena intacta del azúcar de partida. Estos azúcares reordenados incorporan las 1-desoxi-2,3-dicetonas, y las 3-desoxi-1,2-dicetonas, así como un reordenamiento adicional a partir de éstas por medio de tautomerización cetoenol. Esta ruptura devuelve el aminoácido original (Jousse *et al.*, 2002).

3) Los azúcares reordenados pueden ciclarse (R_5) en compuestos heterocíclicos que contienen oxígeno, tales como furanos o fufurales. También pueden romperse (R_6) en fragmentos α -dicarbonilo que pueden recombinarse (R_7) para dar furanos (Jousse *et al.*, 2002).

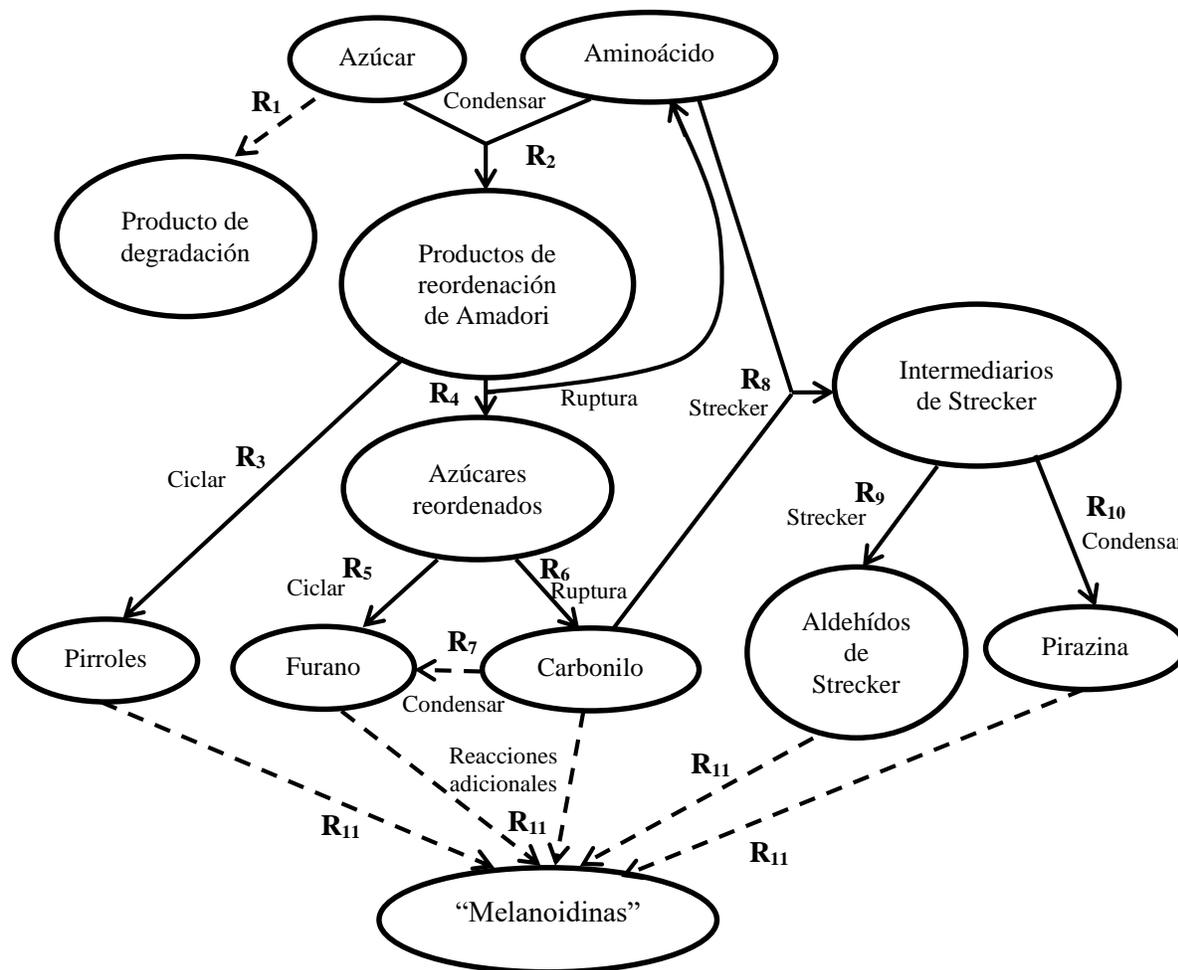


Figura 8. Esquema simplificado de la cinética de generación de sabor por reacciones de Maillard. (Jousse *et al.*, 2002)

4) Los fragmentos de dicarbonilo reaccionan (R_8) con el grupo amino del aminoácido en el mecanismo de degradación de Strecker, dando un intermediario, común a aldehído de Strecker y pirazinas. Alternativamente, los aldehídos de Strecker puede también generar sales nitrogenadas de compuestos heterocíclicos como pirrolina y pirrolidina procedentes de la reacción de dicarbonilos con prolina e hidroxiprolina (Mottram, 1994).

Además, se consideran otras reacciones adicionales (R_{11}) de los compuestos de sabor, para dar productos marrones poliméricos. Las velocidades de reacción se indican para los pasos

de reacción unimoleculares R_1 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_9 y R_{11} (expresadas “por segundo”) y para las reacciones bimoleculares R_2 , R_7 , R_8 y R_{10} (como “por segundo por molaridad”). La evolución temporal de este sistema está completamente determinada por el valor de las velocidades y por la concentración inicial en el azúcar y el aminoácido (Jousse *et al.*, 2002).

2.7 Cervezas elaboradas a partir de maltas distintas de la cebada

Desde épocas milenarias el hombre ha utilizado los granos a su alcance y ha elaborado bebidas fermentadas. La cebada es el cereal por excelencia para obtener cerveza, sin embargo otros cereales han sido malteados: arroz en Japón, maíz en México y mijo en África (López, 2012). Hoy en día estos cereales también se usan para elaborar estilos de cervezas con distintas características sensoriales y para proporcionar otras alternativas o beneficios a la salud del consumidor.

Cereales y pseudocereales distintos a la cebada han sido malteados para obtener cerveza, Mayer *et al.* (2014) elaboró una cerveza 100% de malta de arroz; Klose *et al.* (2011) desarrolló una cerveza de malta de avena; Phiarais *et al.* (2010) una de malta de trigo sarraceno y Espinosa-Ramírez *et al.* (2013) de malta de sorgo.

En todas las cervezas anteriores y en una cerveza de amaranto que se describe enseguida sus desarrollos están enfocados entre otras cosas a ofrecer el producto a personas que sufren de enfermedad celíaca, es decir, una intolerancia a las proteínas del gluten que se encuentran en la cebada y el trigo, y que deben seguir una dieta sin gluten (Mayer *et al.*, 2016; Klose *et al.*, 2011).

En la cerveza de arroz, a pesar del bajo contenido de nitrógeno, FAN y de azúcares en el mosto, la fermentación procedió con regularidad; y en el análisis sensorial la cerveza se caracterizó por tener un color amarillo pálido y una espuma blanca y gruesa de baja estabilidad, y todos los atributos de sabor estuvieron en un rango bajo y confirman un carácter relativamente plano (Mayer *et al.*, 2016).

En la cerveza de avena, el perfil proteico del mosto no mostró diferencias respecto al mosto de cebada, y la fermentación de ambos siguió la misma tendencia; fueron observadas diferencias en el pH que fue más alto, y en el contenido de alcohol que fue menor en la cerveza de avena. El análisis sensorial de la cerveza reveló un fuerte sabor a bayas (Klose *et al.*, 2011).

En la cerveza de sorgo, las enzimas amilolíticas exógenas, como la β -amilasa y la amilogucosidasa se usaron para contrarrestar la baja actividad amilolítica de la malta y para aumentar los rendimientos de etanol en las cervezas, alcanzando dicho objetivo, únicamente con la enzima amilogucosidasa (Espinosa-Ramírez *et al.*, 2013).

En el mismo grupo de investigación que dirige el Dr. José Ramón Verde Calvo, Pérez-Guerrero (2016) desarrolló el proceso de malteo para el grano de amaranto, y debido al bajo poder diastásico de la malta, evaluó tres métodos hidrolíticos (natural, químico y enzimático) del almidón, de los cuales, la hidrólisis enzimática fue el más eficiente, ya que permitió obtener cervezas con graduaciones mayores a 4% v/v. Esta cerveza sería otra alternativa de cerveza libre de gluten.

2.8 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en la cerveza

La presencia de los compuestos fenólicos es muy importante para los cerveceros debido a que le da estabilidad a la cerveza, inhibiendo, retardando o previniendo procesos de oxidación (Guido *et al.*, 2005); por otra parte estos compuestos le brindan a los consumidores beneficios a su salud, debido a las propiedades antioxidantes y antirradicales que poseen (Brand-Williams *et al.*, 1995; Gaulejac *et al.*, 1998). Los compuestos fenólicos contribuyen al sabor, color, formación de turbidez, estabilidad de espuma y estado redox de la cerveza (McMurrough, 1981).

Los compuestos fenólicos por sus contribuciones al sabor, turbidez, color, sabor, filtración, estabilidad de espuma y estado redox (McMurrough, 1981) contribuyen a la estabilidad de la cerveza inhibiendo, retardando o previniendo procesos de oxidación (Guido *et al.*, 2005). Su presencia es muy importante para el cervecero, además de los consumidores, ya que se ha reportado que poseen propiedades antioxidantes y antirradicales (Brand-Williams *et al.*, 1995; Gaulejac *et al.*, 1998).

Los compuestos fenólicos identificados en la cerveza incluyen ácidos fenólicos, flavonoides, proantocianidinas, taninos y compuestos amino-fenólicos (Gorinstein *et al.*, 2000; Montanari *et al.*, 1999). Quifer-Rada *et al.*, (2015) identificaron un total de 47 compuestos fenólicos en la cerveza e incluyen ácidos fenólicos simples, ácidos hidroxicinamoilquínicos, flavanoles, flavonoles, falvanonas, alquilmtoxifenoles, α - e iso- α -ácidos, ácidos hidroxifenilacéticos y prenilflavanoides, de los cuales siete de ellos se determinan por vez primera en cerveza y son : ácido feruloilquínico, ácido cafeico-O-hexosido, ácido coumárico-O-hexósido, ácido sinápico-O-hexósido, catequina-O-dihexósido, kaempferol-O-hexósido, y apigenina-C-hexósido-pentósido.

Estos compuestos provienen de las materias primas, de los cuales el 70-80% proceden de la malta y el 30-20% restantes provienen del lúpulo (De Keukeleire, 2000).

Los flavan-3-oles constituyen la clase principal de fenoles en la cebada. Aparecen en forma monomérica como la (+)-catequina y (-)-epicatequina, y formas poliméricas constituidas principalmente por unidades de (+)-catequina y (+)-galocatequina. Los dímeros más abundantes son prodelfinidina B3 y procianidina B3. Los principales trímeros son

procianidina, las denominadas proantocianidinas triméricas constituidas por dos unidades de catequina y una unidad de galocatequina unidas entre sí por enlaces C4-C8. Los flavan-3-ol monoméricos, diméricos y triméricos representaron entre el 58-68% del contenido fenólico total de tres variedades de cebada, con predominio de flavan-3-ol triméricos (Goupy *et al.*, 1999).

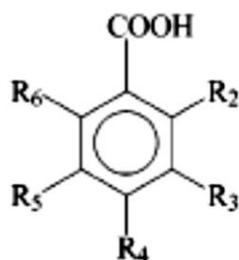
Ácidos hidroxibenzoico e hidroxicinámicos (Figura 9), como ésteres y en formas libres y ésteres glicosídicos, también están presentes en los granos de cebada. El ácido trans-ferúlico es el compuesto principal además de los ácidos p-coumárico y vainílico que también se han detectado (Bamforth y Kanauchi, 2001). El ácido ferúlico, junto con las proteínas, forma puentes de conexión entre las láminas de polisacáridos no amiláceos, arabinoxilanos y β -glucanos de la pared celular de la cebada (Bamforth y Kanauchi, 2001). Están presentes principalmente en la capa de aleurona y endospermo. Sus ésteres glicosídicos se detectaron en células de cáscara, testa y aleurona (Goupy *et al.*, 1999).

Por otra parte, el contenido de polifenoles del lúpulo depende del tipo de cerveza y de la cantidad de lúpulo añadido durante la elaboración de la misma (Quifer-Rada *et al.*, 2015).

La mayoría de los polifenoles del lúpulo están formados por compuestos de alto peso molecular como los taninos del tipo flavonol. Solamente alrededor del 20% de los polifenoles del lúpulo consisten en sustancias de bajo peso molecular como catequina o proantocianidinas, ácidos fenólicos (p. ej., ácido ferúlico) y flavonoles (p. ej., quercetina, kaempferol) que están glucosídicamente unidos a varios azúcares. Combinados representan aproximadamente 4-14% (p/p) del peso seco del lúpulo. Cada lúpulo tiene un patrón polifenólico y ha mostrado ser una fuente rica de polifenoles prenilados (prenilflavonoides), de ellos el que se encuentra en mayor cantidad es la chalcona prenilada xanthohumol (0.2-1.1% del lúpulo en peso seco). En la resina del lúpulo, el xanthohumol está acompañado de al menos 13 chalconas relacionadas, las cuales se producen a concentraciones 10-100 veces menores respecto al anterior. Otro prenilflavonoide es la 8-prenilnaringenina, que ha demostrado ser uno de los fitoestrógenos más potentes conocidos actualmente, sin embargo, el contenido de este compuesto es muy bajo (inferior al 0.01% en el lúpulo seco) (Magalhães *et al.*, 2010).

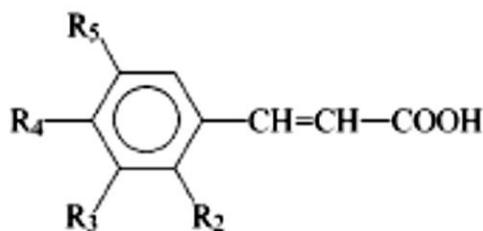
Otros antioxidantes endógenos en la cerveza además de compuestos fenólicos son productos de la reacción de Maillard y sulfito (Vanderhaegen *et al.*, 2006). Estudios en humanos, mostraron que todos los ácidos fenólicos medidos en plasma tendieron a aumentar después de la ingesta de cerveza (Ghiselli *et al.*, 2000).

Ácidos hidroxibenzoicos



R₃, R₄ = OH, ácido protocatéquico.
R₃, R₄, R₅ = OH, ácido gálico.
R₃, R₅ = OCH₃, R₄ = OH, ácido siríngico.

Ácidos hidroxicinámicos



R₄ = OH, ácido *p*-coumárico.
R₄ = OH, R₅ = OCH₃, ácido ferúlico.
R₂ = OCH₃, R₄ = OH, R₅ = OCH₃, ácido sinápico.

Figura 9. Estructuras químicas de los ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos (Floridi *et al.*, 2003).

Las cervezas exhiben una capacidad significativa de donación de hidrógeno (Zhao *et al.*, 2010). Los antioxidantes con actividad de eliminación de radicales DPPH podrían donar hidrógeno a radicales libres, particularmente a los peróxidos lipídicos o radicales hidroperóxido que son los principales propagadores de la cadena de autooxidación de lípidos, y formar especies no radicales, resultando en la inhibición de la fase de propagación de peroxidación de lípidos (Bamting *et al.*, 1993). Por lo tanto, la cerveza con mayor actividad de eliminación de radicales DPPH es importante para la estabilidad del sabor, ya que el envejecimiento de la cerveza generalmente conlleva la formación de *trans*-2-nonenal y otros aldehídos saturados e insaturados debidos a la oxidación de lípidos (Vanderhaegen *et al.*, 2006).

Muestras de cerveza presentaron actividades significativas de eliminación de radicales ABTS. Las diferencias cinéticas de reacción entre el fenol y el radical ABTS catiónico y el radical DPPH en un rango similar de concentraciones conduce a los diferentes resultados por los dos métodos (Campos y Lissi, 1996). En realidad, la actividad de eliminación de radicales de ABTS también refleja la capacidad donadora de hidrógeno. La cerveza con una actividad de eliminación de radicales ABTS más alta puede estabilizar los radicales activos de oxígeno y puede tener una mejor estabilidad de sabor (Zhao *et al.*, 2010).

2.9 Análisis sensorial

La caracterización sensorial descriptiva es importante para la industria alimentaria, ya que puede guiar el desarrollo de productos y la reformulación de los mismos, así como a identificar los principales descriptores sensoriales, esenciales para la aceptación por los consumidores y la comercialización de productos (Reinbach *et al.*, 2014).

El análisis descriptivo es informativo y revela qué características son diferentes y la magnitud de la diferencia entre las muestras. De este modo un equipo de desarrollo de una empresa puede encontrar que sus productos tienen significativamente menos o más de un determinado sabor respecto a una referencia de destino y recibir orientación sobre el área de desarrollo del producto en la que debe centrarse. Los datos de los perfiles sensoriales de las cervezas se pueden transformar en recetas finas que se pueden probar para la preferencia en pruebas ciegas y posteriormente en situaciones reales del mercado para investigar si se adaptan o no eficazmente al creciente segmento multiétnico del mercado (Donadini *et al.*, 2011).

El perfil descriptivo convencional se realiza con un panel capacitado para obtener una descripción objetiva de los productos alimenticios investigados (Lawless y Heymann, 2010).

La necesidad de métodos descriptivos menos costosos y económicos en la industria alimentaria ha apoyado el desarrollo y uso de métodos de perfilaje sensorial descriptivos más dinámicos y rápidos evaluados por panelistas, expertos en alimentos y consumidores. Algunos métodos fáciles de usar como escalas justo como lo esperaba (JAR: just about right), a los atributos, cuestionarios emocionales y el marcaje de todo lo que corresponda (CATA: check all that apply) se utilizan cada vez más para capturar la percepción de los consumidores (Reinbach *et al.*, 2014).

3. ANTECEDENTES

3.1 Sendechó e Historia de la Cerveza de Maíz

Nuestros antepasados conocieron también la cerveza, o una especie de cerveza, si bien distinta de la que se conoce actualmente, pero basada en el mismo principio de fermentación de un cereal que entonces fue el maíz, como actualmente es la cebada. Los Otomíes decían Zeydetha y los mazahuas Zeyrecha a una bebida hecha de maíz puesto a germinar, secado, molido y hervido después con agua. El Sendechó según los antiguos cronistas, era una bebida que daba fuerza y salud (Genin, 1924).

En el Laboratorio de Enología y Alimentos Fermentados de la Unidad Iztapalapa, López en 2012, realizó cambios al proceso de elaboración artesanal de Sendechó proporcionado por las Sras. Antonia Sánchez V. y Margarita Valdez M. del Mpio. San José del Rincón del Edo.

de México; desarrollando con ello una propuesta tecnológica a nivel de laboratorio, que a continuación se describe:

“Primero se limpia el maíz (azul o blanco), se pesa 1 kg y se le agregan 2 litros de agua potable para su remojo durante 25 h, transcurrido el tiempo, se escurre el exceso de agua para posteriormente colocarlos en un germinador entre 25 a 28 °C. Se deja en estas condiciones durante cinco días para que se inicie la germinación, después de este tiempo se coloca el maíz en un horno para secarlo a 50 °C, el proceso dura 72 h y después se muele en un molino hasta obtener un polvo fino el cual se pondrá en un recipiente de acero inoxidable con agua purificada en una relación de 1 kg de maíz por 4 litros de agua. Se adicionan cinco chiles guajillo y tres hojas de tepozán licuados. Se deja en ebullición durante 1 h y posteriormente se filtra para retirar los sólidos, se deja enfriar la mezcla y se adicionan 30 mL de inóculo pulque y se deja fermentar por 24 h”.

López (2012) al elaborar el Sendechó con la propuesta anterior, obtuvo los siguientes perfiles sensoriales para la bebida preparada con maíz azul:

- Sendechó elaborado con levadura. *Olor*: a frutas y maíz, *aroma en boca*: a chile y tamarindo, *gusto*: dulce y agrio, y *textura*: viscosa y granulosa.
- Sendechó elaborado con pulque. *Olor*: a maíz y grano, *aroma en boca*: a maíz y chile, *gusto*: dulce y agrio, y *textura*: granulosa y viscosa.

A partir de esta bebida tradicional nace la cerveza de maíz, que se obtuvo de modificaciones a la propuesta tecnológica del Sendechó, de ésta conserva el uso de malta de maíz, chile guajillo y levadura *Sacharomyces cerevisiae*, incorpora lúpulo y se obtiene bajo las condiciones de proceso de elaboración de cerveza de cebada. Con estos cambios Cruz-Rodríguez en 2013 en el Laboratorio de Enología y Alimentos Fermentados de la Unidad Iztapalapa elaboró las primeras cervezas de maíz, a partir de maltas base de los maíces pigmentados rojo y azul, y Romero-Medina en el mismo año en el Laboratorio de Análisis Sensorial de la misma Unidad de Estudios, las caracterizó sensorialmente como a continuación se describe.

Fermentación: Ale. *Contenido de alcohol*: 5% (v/v)

Olor: a nixtamal, maíz, mosto, bajo olor a frutas, alcohol y lúpulo.

Sabor: intenso aroma a maíz, gusto dulce, suave aroma a piloncillo y chile.

Sensación en boca: Notas picantes de bajas a moderadas, cuerpo ligero, baja carbonatación.

Apariencia: Color cobrizo, baja gasificación, espuma ligera blanca.

SRM (Standard Reference Method)-Color: 11-12. *IBU* (International Bitterness Units): 15.

En el mismo grupo de investigación Gómez-Linton en 2015 elaboró y caracterizó físicoquímica y sensorialmente cervezas de maíz rojo. A continuación se presentan las fichas de estilo de dos estilos.

1. Estilo elaborado con 100% malta base de maíz rojo:

Fermentación: Ale. *Contenido de alcohol:* 2.3% (v/v)

Olor: a frutas, levadura, maíz cocido, maíz rojo y azul y frutas fermentadas.

Sabor: salado, oxidado, verduras cocidas, grano cocido.

Sensación en boca: metálica, carbonatación media, bajo picor y cuerpo ligero.

Apariencia: color cobre ligero, gasificación media, espuma ligera.

SRM: 12-13. *IBU:* 14.3

2. Estilo formulado con una proporción de malta de maíz rojo tostada a 170 °C por 60 min:

Fermentación: Ale. *Contenido de alcohol:* 3.1% (v/v)

Olor: a frutas, maíz cocido, lúpulo, caramelo, frutas fermentadas, a flores.

Sabor: dulce, amargo, lúpulo, malta, semillas.

Sensación en boca: carbonatación media, ligera de alcohol, bajo picor y cuerpo medio.

Apariencia: color cobre, baja gasificación, espuma media.

SRM: 14. *IBU:* 15.4

4. JUSTIFICACIÓN

Con la intención de proporcionar una mayor cantidad de estilos de cerveza de maíz, que permitan a los consumidores experimentar distintos compuestos de sabor, color y olor, se propuso obtener en el presente proyecto, ocho estilos de cerveza de maíz azul con maltas base y seis maltas caramelo de maíz azul, y con distintas cantidades de chile y lúpulo, para ofrecer distintos tipos de cerveza a un mercado que crece gracias a la creatividad de los maestros cerveceros y a la exigencia de los consumidores.

Para fortalecer la aceptabilidad del producto por los consumidores es preciso considerar que el uso de malta de maíz azul, de maltas tostadas tipo caramelo, así como el uso de distintas cantidades de chile y de lúpulo proporcionarán una diversidad de compuestos que impactarán el perfil sensorial y serán además benéficos para la salud. En efecto, las antocianinas, compuestos fenólicos y productos de las reacciones de Maillard con propiedades antioxidantes están presentes en la malta de maíz azul, así como ácidos fenólicos en el chile guajillo y en el lúpulo. De acuerdo con lo anterior, cuando el consumidor deguste una cerveza de maíz azul además de deleitar los sentidos, estará incrementando su ingesta de compuestos benéficos a la salud.

Por otra parte, al utilizar maíz azul como materia prima se activará su producción y se diversificará el número de productos que actualmente se elaboran a partir de este cereal, con lo que aumentará su valor agregado, favoreciendo con ello a los productores agrícolas y comerciantes.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Evaluar el efecto de la interacción de distintas cantidades de los ingredientes malta base y caramelo de maíz azul, chile guajillo y lúpulo sobre las características químicas, capacidad antioxidante y propiedades sensoriales de ocho estilos de cervezas de maíz azul.

5.2 Particulares

5.2.1 Caracterización del maíz azul y de las maltas base y caramelo

Caracterizar el grano y la malta base de maíz azul a través de un análisis químico proximal, y evaluar el efecto del malteado y del tostado para obtener maltas base y caramelo de maíz azul, sobre el color, compuestos volátiles y los compuestos asociados a la capacidad antioxidante (melanoidinas, antocianinas, polifenoles) y la capacidad misma por ABTS y DPPH.

5.2.2 Caracterización química y capacidad antioxidante de las cervezas de maíz

Desarrollar cervezas de 100% malta de maíz azul; evaluar el efecto de diferentes niveles de tres ingredientes (tipo de malta, chile guajillo y lúpulo) en distintos parámetros químicos (azúcares reductores totales, pH, acidez total, unidades de amargor, *cis*- y *trans*-iso- α -ácidos por HPLC, antocianinas totales, polifenoles totales, actividad de eliminación de radicales ABTS y de radicales DPPH; y evaluar la evolución de los parámetros anteriores durante las etapas del proceso (ebullición-mosto, fermentación-cerveza verde y maduración-cerveza madura).

5.2.3 Contenido de antocianinas y caracterización de ácidos fenólicos en cervezas de maíz

Cuantificar el contenido de antocianinas en las cervezas; y caracterizar y determinar los contenidos de ácidos fenólicos libres y esterificados en los ocho estilos de cervezas de maíz azul.

5.2.4 Evaluación sensorial de las cervezas de maíz

Obtener el perfil sensorial de las cervezas de maíz; obtener y analizar las directrices para mejorar el producto, así como evaluar el agrado general de las muestras y la intención de compra de los consumidores.

6. HIPÓTESIS

6.1 General

El uso de distintas cantidades de ingredientes en la elaboración de la cerveza (tipos de malta, cantidad de lúpulo y chile) durante la obtención de estilos de cerveza de maíz azul modificará los compuestos presentes y su concentración en el mosto que serán transformados durante la fermentación y maduración proporcionando a las cervezas distintas características favorables de sabor, color, y capacidad antioxidante.

6.2 Particulares

6.2.1 Caracterización del maíz azul y de las maltas base y caramelo

El malteado del maíz azul para obtener malta base modificará la cantidad de antocianinas, el color, los fenoles totales, así como la capacidad antioxidante.

El aumento de temperatura y tiempo aplicadas a la malta verde para obtener distintas maltas caramelo modificarán el color, el perfil de compuestos volátiles, la concentración de antocianinas, fenoles totales, melanoidinas y actividad antioxidante.

6.2.2 Caracterización química y capacidad antioxidante de las cervezas de maíz

Los estilos de cerveza de maíz azul presentarán distintos parámetros químicos: azúcares reductores totales, pH, acidez total, unidades de amargor, *cis*- y *trans*-iso- α -ácidos, antocianinas totales, polifenoles totales, y actividad antioxidante por ABTS y DPPH, debido a las distintas cantidades de ingredientes utilizadas en su elaboración.

Durante las etapas del proceso de fabricación de la cerveza disminuirán todos los parámetros químicos a excepción de la acidez total, en todos los estilos de cerveza de maíz azul.

6.2.3 Contenido de antocianinas y caracterización de ácidos fenólicos en cervezas de maíz

Las cervezas de maíz azul estudiadas presentaran distintas cantidades de ácidos fenólicos libres y esterificados debido a las distintas cantidades de ingredientes usados en su formulación, una mayor concentración de estos compuestos se observará en estilos elaborados con mayor cantidad de malta base y chile.

6.2.4 Evaluación sensorial de las cervezas de maíz

El perfil sensorial de los estilos de cervezas de maíz se modificará debido a su formulación; el uso de malta base o de malta caramelo proporcionará una mayor diferencia en los perfiles; y una mayor aceptación por los consumidores se dará en los estilos elaborados con malta tostada.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo experimental de la investigación fue dividido en diferentes etapas que se indican en la Figura 10, y que corresponden a: 1) caracterización fisicoquímica y capacidad antioxidante del maíz azul y de las maltas base y caramelo usadas para elaborar la cerveza; 2) caracterización química y capacidad antioxidante de los estilos de cerveza de maíz elaborados durante las etapas del proceso; 3) determinación del contenido de antocianinas y caracterización de ácidos fenólicos en cervezas de maíz; y 4) evaluación sensorial de las cervezas de maíz.

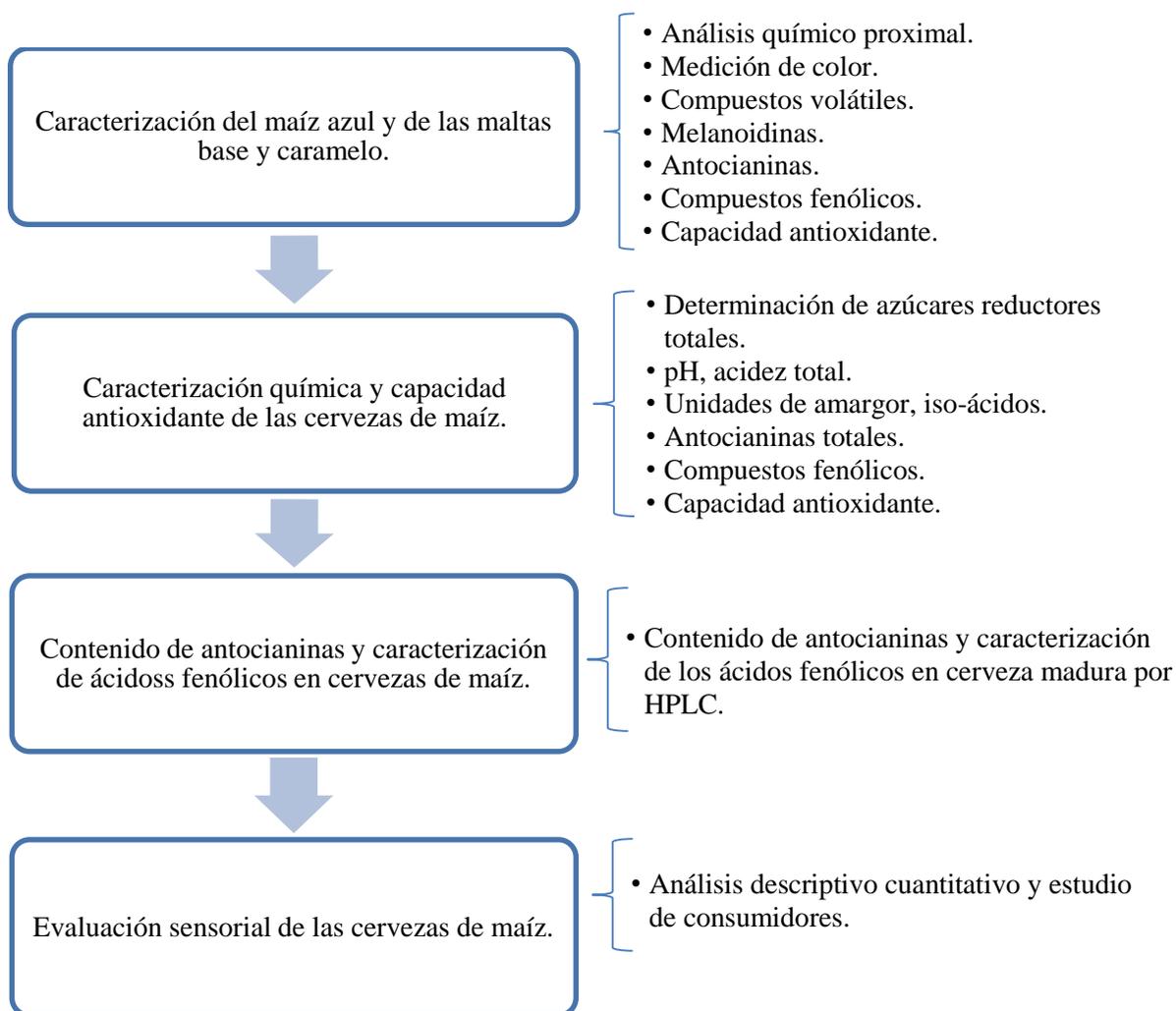


Figura 10. Esquema general de la metodología en el desarrollo experimental.

7.1 Muestras

7.1.1 Maíz azul y maltas base y caramelo

Se utilizó maíz azul variedad Chalqueño, producido en Milpa Alta, Ciudad de México. La malta base se obtuvo a través de un proceso de malteo previamente desarrollado (Patente en trámite: expediente MX/a/2014/009140, folio MX/E/2014/052564) que aparece en la Figura 11; en la misma figura se da el proceso que se siguió para obtener las maltas caramelo.

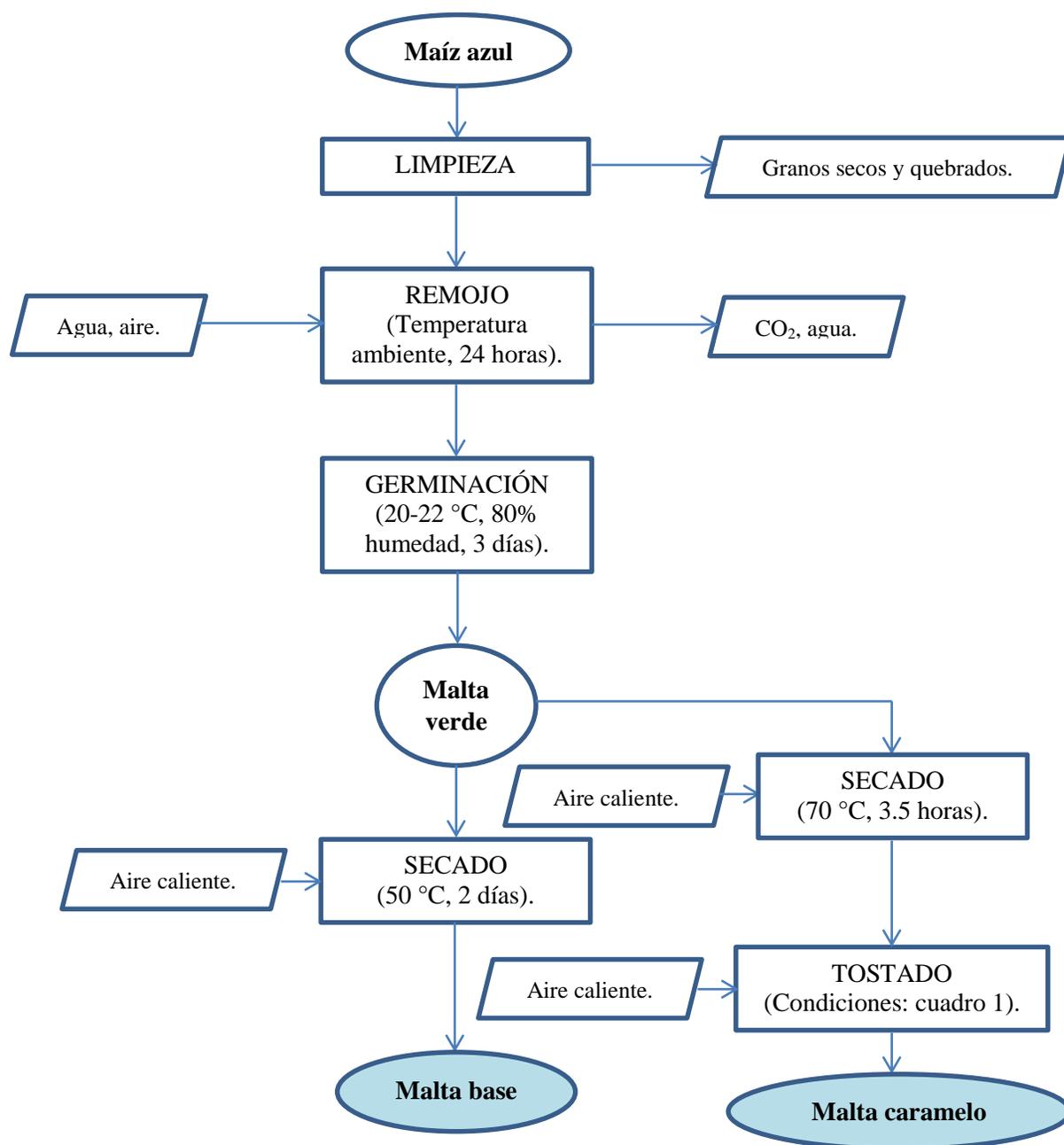


Figura 11. Proceso para obtener las maltas base y caramelo.

Cuadro 2. Condiciones de temperatura y tiempo usadas en el tostado de las maltas caramelo de maíz azul.

Malta caramelo	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
1	150	45
2	175	20
3	180	15
4	200	1
5	225	1
6	240	1

Las condiciones de temperatura y tiempo utilizadas en las maltas 1 y 3 fueron elegidas de acuerdo a las condiciones de tostado reportadas por Coghe *et al.* (2006) en malta de cebada (150 y 180 °C por 85 min en ambos casos), sin embargo, los tiempos de residencia en el tambor del tostador fueron acortados debido a que no se deseaban notas muy ahumadas en la malta y que bajo las condiciones utilizadas, los sabores y olores de las maltas fueron agradables. Previo a su análisis químico, el maíz azul y las maltas se molieron y pasaron por un tamiz No. 40.

7.1.2 Cervezas de maíz

Las maltas obtenidas por el proceso descrito anteriormente fueron utilizadas como materia prima para la elaboración de los estilos de cervezas de maíz azul, a través de los pasos indicados en el diagrama que a continuación se presenta en la Figura 12.

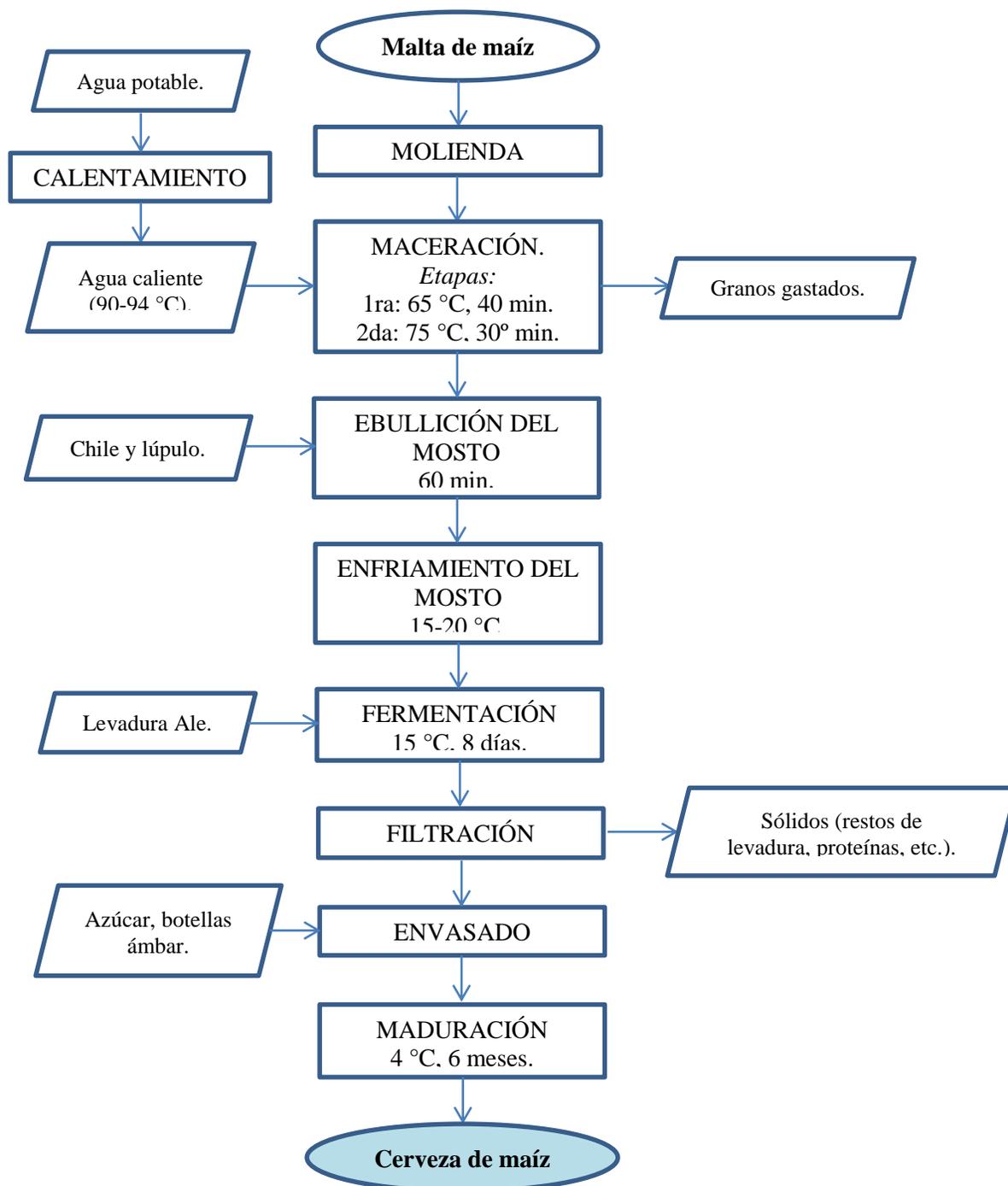


Figura 12. Proceso de elaboración de la cerveza de maíz azul.

Se elaboraron ocho estilos de cervezas de maíz azul de acuerdo a un diseño factorial completamente al azar. Los factores fueron tipo de malta, cantidad de chile y cantidad de lúpulo, con dos niveles en cada factor. Los niveles de tipo de malta fueron: 1) 100% malta base de maíz azul y 2) 15% malta caramelo con 85% malta base de maíz azul. Los dos niveles de cantidad de chile fueron 6 y 10 g/L y los de cantidad de lúpulo fueron 1.8 y 2.0 g/L de cerveza. La formulación específica de cada estilo se presenta en el cuadro 3. Cada estilo fue elaborado por duplicado. Las muestras que corresponden a los mostos, cervezas verdes y maduras se almacenaron en botellas ámbar a -20 °C hasta su análisis.

Cuadro 3. Formulaciones de las cervezas de maíz azul.

Estilo	Tratamiento
1	Malta base (100%), chile (6g/L), lúpulo (1.8g/L)
2	Malta base (100%), chile (10g/L), lúpulo (1.8g/L)
3	Malta base (100%), chile (6g/L), lúpulo (2g/L)
4	Malta base (100%), chile (10g/L), lúpulo (2g/L)
5	Malta caramelo (15%), chile (6g/L), lúpulo (1.8g/L)
6	Malta caramelo (15%), chile (10g/L), lúpulo (1.8g/L)
7	Malta caramelo (15%), chile (6g/L), lúpulo (2g/L)
8	Malta caramelo (15%), chile (10g/L), lúpulo (2g/L)

7.2 Solventes, reactivos y estándares.

La compañía Honeywell (Muskegon, MI) suministró el agua desionizada y metanol grado HPLC. En todos los experimentos se utilizó agua ultrapura Milli-Q. El ácido fosfórico (85-90%) grado HPLC fue surtido por Sigma-Aldrich (St. Louis, MO) y los siguientes reactivos por la compañía J.T. Baker (Xalostoc, México): ácido acético glacial, acetato de etilo, acetato de sodio, ácido bórico, ácido clorhídrico (37% p/p), ácido sulfúrico (98%), carbonato de sodio, cloruro de potasio, cloruro de sodio, D-glucosa, hexano, hidróxido de sodio, persulfato de potasio, sulfato de cobre pentahidratado, tartrato de sodio y potasio tetrahidratado, hidróxido de sodio, ferrocianuro de potasio y subacetato de plomo. Se utilizó la tableta catalizadora Kjeltabs CX (Gerhardt) compuesta de 5g de sulfato de potasio y 0.5g de sulfato de cobre; el reactivo de Folin-Ciocalteu de Hycel (Zapopan, Jalisco); la glicina de Merck (Darmstadt, Hesse); el etanol (96%) de la alcoholera Zapopan (Zapopan, Jalisco); y el metanol de Herschi Trading (Iztapalapa, Ciudad de México). El DPPH (2,2-Difenil-1-picrihidrazilo), el ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) y los estándares para la determinación de compuestos fenólicos y antocianinas por HPLC en maíz azul, maltas y cerveza fueron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO): ácido gálico (3,4,5-trihidroxibenzoico), ferúlico (predominante *trans*-isomero), p-coumárico (predominante *trans*-isomero), protocatequico (3,4-dihidroxibenzoico), sinápico (predominante *trans*-isomero), sirínico (4-hidroxi-3,5-dimethoxibenzoico), y cloruro de cianidina-3-glucósido (cloruro de kuromanina). Y como estándares para la cuantificación de iso- α -ácidos se usaron los extractos internacionales comprados a EBC (Zurich, Suiza): DCHA-Iso, ICS-I3 preparado de sales de dicitclohexilamina de *trans*-iso- α -ácidos (62.3% p/p); y DCHA-Rho, ICS-R2 preparado de sales de dicitclohexilamina de *cis*- ρ -iso- α -ácidos (65.3% p/p).

7.3 MÉTODOS

7.3.1 Caracterización del maíz azul y de las maltas base y caramelo

Preparación de las muestras

Se tomaron al azar 80 granos de maíz azul y se molieron en licuadora hasta obtener una harina que se hizo pasar a través del tamiz No. 40. Este proceso se realizó también para cada una de las maltas de maíz azul (base y caramelo). La determinación del contenido de humedad se hizo en todas las muestras, mientras que el análisis químico proximal completo únicamente se realizó en el maíz y en la malta base. Cada determinación se hizo por triplicado.

7.3.1.1 Análisis químico proximal

7.3.1.1.1 Determinación del contenido de humedad (925.10; AOAC, 2002)

En crisoles a peso constante se colocaron 2 g de cada muestra y se secaron en horno (Mod. 2424, FELISA, México) a 130 °C durante 1 hora. Posteriormente, se transfirieron las muestras al desecador, se dejaron enfriar por 30 minutos y se pesaron en una balanza analítica con sensibilidad de 0.1 mg (Explorer, OHAUS Corp., Suiza). El porcentaje de humedad se calculó por diferencia de pesos, utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ humedad} = \frac{(\text{crisol con muestra húmeda} - \text{crisol con muestra seca}) * 100}{(\text{crisol con muestra húmeda} - \text{crisol vacío})}$$

7.3.1.1.2 Determinación del contenido de cenizas (923.03; AOAC, 2002)

En crisoles a peso constante se pesaron 5 gramos de cada muestra seca, se llevaron a calcinación con mechero bunsen y después a incineración en la mufla (Mod. FB1315M, Siborne Thermolyne 1300, USA) a 525 °C durante 5 horas. Al término de este tiempo se disminuyó la temperatura a 200 °C, se pasaron los crisoles con las cenizas a un desecador para dejarlas enfriar durante tres horas y se pesaron en balanza analítica (Explorer, OHAUS Corp., Suiza). El porcentaje de cenizas se obtuvo por diferencia de pesos, usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(\text{Peso del crisol a peso constante con muestra seca (g)} - \text{peso del crisol con ceniza (g)}) * 100}{\text{Peso de la muestra seca (g)}}$$

7.3.1.1.3 Determinación del contenido de nitrógeno total y de proteína cruda (991.20; AOAC, 2002)

En matraces de Kjeldahl se colocaron 1 g de muestra, una pastilla de CuSO₄-K₂SO₄ y perlas de ebullición. La muestra fue digerida en campana de extracción con 7.5 mL de H₂SO₄

concentrado (98 %, libre de nitrógeno) durante 3 horas, hasta que ya no se observó desprendimiento de humo, los tubos fueron girados cada 20 minutos para que la digestión fuese homogénea. Terminada la digestión, y una vez que los tubos se enfriaron se adicionaron cuidadosamente a la muestra 10 mL de agua, se agitó y esta mezcla se transfirió al destilador automático tipo Kjeldahl (LABCONCO, USA) poco a poco, posteriormente se agregaron lentamente 9 mL de NaOH al 40% y simultáneamente a esta adición se recolectó el destilado en una solución de H₃BO₃ al 2% con indicador (rojo de metilo 0.2 % - azul de metileno 0.1 %). El destilado se recolectó durante 7 minutos y posteriormente se tituló con HCl 0.1 N. El contenido de proteína cruda en las maltas se calculó multiplicando el porcentaje de nitrógeno por el factor 6.25 que es el utilizado para maíz.

$$\% \text{ proteína} = \% \text{ N}_2 * \text{Factor}$$

$$\% \text{ N}_2 = (\text{mL de HCl gastados en la muestra/peso de la muestra}) * \text{meq N}_2 * \text{N HCl} * 100$$

Donde, meq N₂=0.014 g/meq, y N HCl= 0.1 meq/mL.

7.3.1.1.4 Determinación del contenido de extracto etéreo (920.35; AOAC, 2002)

En cartuchos de celulosa de diámetro y longitud externa de 27 x 80 mm (Whatman, Inglaterra) se pesaron 2 gramos de muestra seca y se colocaron en un extractor Soxhlet. Se utilizaron matraces bola de fondo plano de 250 mL, a los que se les adicionaron perlas de ebullición y fueron puestos a peso contante. En un matraz de los anteriores se adicionaron 120 mL de hexano, se le colocó el extractor Soxhlet, el refrigerante, y se aplicó calor al matraz con parilla eléctrica (CORNING, USA). La extracción se realizó durante tres horas, este tiempo fue suficiente para obtener una prueba negativa del papel. Para eliminar los residuos de hexano se colocó el matraz con extracto etéreo en estufa (Mod. FE 142, FELISA, México) a 70° C por 60 minutos, posteriormente se dejó enfriar en el desecador durante 2 horas y se registró el peso del matraz en la balanza analítica (Explorer, OHAUS Corp., Suiza). El porcentaje de extracto etéreo se obtuvo por diferencia de pesos, usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Extracto Etéreo} = \frac{(\text{Peso del matraz con extracto etéreo (g)} - \text{peso del matraz vacío (g)})}{\text{Peso de la muestra seca (g)}} * 100$$

7.3.1.1.5 Determinación del contenido de fibra cruda (M. Weende)

En un matraz bola de 250 mL se colocó 1 gramo de muestra desengrasada, se adicionaron 100 mL de H₂SO₄ 0.255 N, perlas de ebullición y se colocó la muestra a reflujo en ebullición por 30 minutos. Posteriormente, la muestra se filtró a través de gasa y se lavó el filtrado con agua caliente hasta que las aguas de lavado presentaron un pH neutro; entonces se transfirió el residuo a un matraz y se adicionaron 125 mL de NaOH 0.313 N y se colocó nuevamente la muestra a reflujo en ebullición por 30 minutos. A continuación se filtró en gasa y se

adicionaron 12.5 mL de solución de H₂SO₄ 0.255 N, seguida de tres lavados con agua y un lavado con 12.5 mL de EtOH al 95%. El filtrado se colocó en un crisol a peso constante y se secó en horno (Mod. 2424, FELISA, México) durante 2 horas a 130 °C, se dejó enfriar en desecador por 30 min y se pesó. Posteriormente, el filtrado se calcinó en mufla a 600 °C por 30 minutos, después de este tiempo se disminuyó la temperatura a 200 °C, se colocó en desecador por tres horas y se después se pesó. El porcentaje de fibra cruda se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{\text{Peso del crisol con residuo seco a } 130^{\circ}\text{C (g)} - \text{peso del crisol con cenizas (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

7.3.1.2 Medición de color (Salinas-Moreno *et al.*, 2012)

El color de las maltas de maíz fue medido con un colorímetro Hunter-Lab (Mini Scan XE Plus, USA) en una muestra de 30 granos montados sobre una base de plastilina gris simulando la forma que se encuentran en una mazorca. Los valores de L*, a* y b* se obtuvieron y se calculó el ángulo del tono o hue, el croma y la diferencia total de color (ΔE) de la siguiente manera:

$$\text{Hue (h)} = \arctan (b^*/a^*) \quad \text{Croma (C}^*) = (a^{*2}+b^{*2})^{1/2} \quad \Delta E = [\Delta L^2 + \Delta a^2 + b^2]^{1/2}$$

7.3.1.3 Identificación de compuestos volátiles (Dong *et al.*, 2013)

La extracción de compuestos volátiles en las maltas caramelo se realizó por microextracción en fase sólida. Una cantidad de 2 g de malta recientemente molida fue colocada en viales de 20 mL, se le adición 5.4 mL de NaCl al 20% en agua destilada, se colocó un agitador magnético, posteriormente el vial fue sellado, y colocado en agitación por 10 min, después de este tiempo se expuso una fibra negra de Carboxen/Polydimethylsiloxane (Carboxen/PDMS; Supelco, Bellefonte, PA, USA) de 75 μm de espesor al espacio de la cabeza de la mezcla de la malta, con agitación durante 60 min en baño de agua a 45 °C. Para cada malta la determinación se realizó por triplicado.

Los compuestos volátiles de las maltas caramelo se analizaron utilizando un cromatógrafo de gases Agilent 6890 con detector de ionización de flama, con una columna HP-5 (Agilent 19091 M) (5% Fenil-metil 30m x 320 μm x 0.25 μm). El inyector fue operado en modo splitless a 240 °C. La temperatura del horno fue programada de la siguiente manera: 40 °C x 5 min, seguido por las rampas de temperaturas de 2 °C/min hasta 50 °C, y 5 °C/min hasta 250 °C. El gas acarreador fue nitrógeno, que se suministró a una velocidad de 1.8 mL/min. La temperatura del detector fue de 250 °C. El flujo fue la fase móvil de 1.0 mL/min. La fibra se desorbió en el puerto de inyección por 10 min.

Las maltas caramelo sometidas a 150 y 225 °C fueron analizadas en un cromatógrafo de gases acoplado a masas (Agilent 7890B GC/MS), utilizando las condiciones de operación

anteriores. El detector selectivo de masas fue operado en el modo de ionización por impacto de electrones a 50 eV, en el intervalo de exploración m/z de 29-300. La temperatura de interfaz fue de 230 °C. Se llevó a cabo la identificación manual. La búsqueda del índice de Kovats para cada compuesto se realizó en las bases de NIST y Flavornet, de acuerdo a la columna y rampa de temperatura. De todos los compuestos identificados en las maltas se eligieron furanos, pirazinas y pirroles como marcadores y se buscaron en todas las maltas caramelo.

7.3.1.4 Determinación de antocianinas totales (Abdel-Aal y Hucl, 1999)

Para la extracción de antocianinas se mezclaron 0.125 g de muestra con 15 mL de EtOH 95% acidificado con HCl 1N (85:15) y se agitaron por 60 min en oscuridad a temperatura ambiente en parilla eléctrica (CORNING, USA). Se centrifugó el extracto a 3000 rpm por 15 min en agitador rotatorio (SOLBAT), se separó el sobrenadante y se ajustó el volumen a 15 mL con EtOH 95% acidificado con HCl 1N (85:15). Se midió la absorbancia del extracto a 535 nm en un espectrofotómetro Thermo Spectronic (Biomate3, USA) y posteriormente se almacenó a -20 °C. Se obtuvo la cantidad de antocianinas totales utilizando la siguiente ecuación:

$$AT = (A/\epsilon) * (Vol/1000) * (PM) * (1/\text{peso de la muestra}) * 10^6$$

Donde; A: absorbancia, ϵ : absortividad molar (cianidina 3-glucósido = 25965 M⁻¹cm⁻¹), PM: peso molecular de cianidina 3-glucósido = 449.2 g/mol, Vol: volumen final de la disolución (15 mL). Los resultados fueron expresados como mg equivalentes de cianidina 3-glucósido (ECG)/kg de muestra en masa seca.

7.3.1.5 Determinación de antocianinas por HPLC

Para esta determinación se usó el extracto obtenido para antocianinas totales. El disolvente se evaporó a presión reducida en rotavapor a 35 °C, se resuspendió en metanol acidificado con HCl al 0.01% y se pasó a través de un filtro de politetrafluoroetileno (PTFE) de 0.45 μ m. El análisis de antocianinas se realizó en un sistema LC Agilent 1260 Infinity, (Agilent Technologies, Alemania); equipado con una bomba cuaternaria con desgasificador integrado (G1311B), inyector automático (G1329B), calentador de columna (G1316A), y un detector de arreglo de diodos (G1315C). Se alcanzó la separación cromatográfica de acuerdo a Hebrero *et al.* (1988) con ligeras modificaciones. Se usó una columna Zorbax SB (250 x 4.60 mm, 5 μ m) (Agilent, USA) a 25 °C, como eluyentes A (agua-ácido fosfórico, 96:4, pH 1.0) y B (acetonitrilo), con elución por gradiente: 90 a 85% de A de 0 a 10 min; 85 a 80% de A del minuto 10 al 20; 80 a 70% de A del minuto 20 al 38; y 70 a 90% de A del minuto 38 al 40. Velocidad de flujo de 1 mL/min, volumen de inyección de 10 μ L, detector a 280 nm y 520 nm, tiempo total de análisis 40 min. En la curva de calibración por estándar externo se analizaron siete concentraciones de cianidina-3-glucósido en MeOH al 0.01% de HCl a una

concentración entre 0.03 a 0.25 μg . Los resultados fueron expresados como mg de cianidina-3-glucósido/kg de muestra en masa seca.

Obtención del extracto para el análisis de melanoidinas, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en maíz y maltas (Velioglu et al., 1998)

La extracción se realizó utilizando 0.4 g de muestra y 4 mL de MeOH al 80 % acidificado al 1 % con HCl 1 N, la mezcla se centrifugó a 3000 rpm por 15 min en agitador rotatorio (SOLBAT). El sobrenadante se colocó en frasco ámbar y a la fracción sólida se le agregaron nuevamente 4 mL de MeOH 80 % acidificado, se centrifugó la mezcla a las mismas condiciones, se juntaron los sobrenadantes y se midió el volumen de extracto. Los extractos fueron almacenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis.

7.3.1.6 Preparación del estándar de melanoidinas y determinación (Borrelli et al., 2002; Wagner et al., 2002)

Las melanoidinas se prepararon mediante el protocolo Cost Action 919 Preparation of Standar Melanoidins, para el modelo glucosa-glicina, de la siguiente manera: se preparó una solución equimolar de glucosa-glicina (0.5 M) en 50 ml de agua destilada, se congeló la solución durante 24 horas (tiempo mínimo), se liofilizó la solución congelada. La mezcla de glucosa y glicina liofilizada se introdujo en un horno (Mod. 2424, FELISA, México) precalentado a 125°C , se mantuvo en esta temperatura durante dos horas, posteriormente se retiró del horno, se dejó enfriar en desecador y se maceró en un mortero hasta obtener un polvo fino que correspondió a las melanoidinas. A un volumen de 20 mL de MeOH 80% acidificado al 1% con HCl 1N se le adicionó una cantidad de 20 mg de estándar y se agitó por 6 h, posteriormente la mezcla se filtró en papel filtro a peso constante y se dejó secar toda la noche a temperatura ambiente y después a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5 horas, enseguida se colocó en desecador y por último se pesó para determinar la cantidad de melanoidinas insolubles y corregir la concentración de la disolución del estándar. La curva de calibración se preparó en un intervalo de concentración de 60-360 mg de melanoidinas/L a 405 nm en un espectrofotómetro Thermo Spectronic (Biomate3, USA). El contenido de melanoidinas en los extractos descritos anteriormente fue determinado a través de su valor de absorbancia a 405 nm y posterior interpolación en la curva de calibración. Los resultados fueron expresados como mg de melanoidinas/kg de muestra en masa seca.

7.3.1.7 Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales (Folin-Ciocalteu) (Wrolstad, 1993)

En tubos de ensayo se colocaron 100 μL de extracto, se les añadió 0.75 mL de reactivo de Folin (diluido 1:10 con agua destilada) y se dejaron reaccionar por 5 min en obscuridad. Posteriormente, se adicionaron 0.75 mL de Na_2CO_3 (60 g/L) y después de 90 min se leyó su absorbancia a 725 nm en un espectrofotómetro Thermo Spectronic (Biomate3, USA). La

curva de calibración se elaboró con seis concentraciones de ácido gálico entre 25 y 250 mg/L. Los resultados fueron expresados como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de muestra en masa seca.

7.3.1.8 Determinación de compuestos fenólicos por HPLC

Para esta determinación se utilizó el mismo extracto que para compuestos fenólicos totales. El disolvente se evaporó a presión reducida en rotavapor a 40 °C, hasta obtener un volumen de alrededor de 0.8 mL y se pasó a través de un filtro de politetrafluoroetileno (PTFE) de 0.45µm.

El análisis de compuestos fenólicos se realizó en el sistema LC mencionado anteriormente: Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, Alemania). Se logró la separación cromatográfica usando una columna Zorbax SB (250 x 4.60 mm, 5 µm) (Agilent, USA) a 30 °C, eluyentes A (agua-ácido acético, 98:2, pH 2.5) y B (metanol), con elución por gradiente: 90 a 85 % de A de 0 a 10 min, 85 a 65 % de A del minuto 10 al 25, y 65 a 60 % de A del minuto 25 a 35. Velocidad de flujo de 0.8 mL/min, volumen de inyección de 10 µL, detector a 275 nm y tiempo de análisis de 35 min. En las curvas de calibración por estándar externo se analizaron seis concentraciones de disoluciones estándar metanólicas, entre 8.75-170 mg de ácido gálico/L, 2.75-55 mg de ácido siríngico/L y 5.25-105 mg de ácido p-coumárico/L. Los resultados fueron expresados como mg del respectivo ácido fenólico/g de muestra en masa seca.

7.3.1.9 Determinación de la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH (Kuskoski *et al.*, (2005)

El radical ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) se obtuvo tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato de potasio (2.45 mM) incubados a temperatura ambiente y en la oscuridad durante 16h. Una vez formado el radical ABTS se diluyó con etanol hasta obtener un valor de absorbancia entre 0.70 (± 0.1) a 754 nm en un espectrofotómetro Thermo Spectronic (Biomate3, USA). A 980 µL de la dilución del radical ABTS así generado se le determinó el valor de absorbancia y se le adicionaron 20 µL de extracto de la muestra. Se midió el valor de la absorbancia cada minuto hasta 7 minutos.

Un volumen de 1.95 mL de solución 0.115 mM de radical DPPH (2,2-difenil-1-picrihidracilo) disuelto en metanol al 80% fueron mezclados con 50 µL de dilución del extracto de la muestra, se homogeneizó y se mantuvo en oscuridad durante 30 min. Las medidas de absorbancia a 517 nm se realizaron antes de añadir la muestra y pasados 30 minutos.

En ambos métodos se construyó la recta de % de inhibición versus concentración en un intervalo de 20-320 mg de Trolox/L, y los resultados fueron expresados como mg equivalentes de Trolox/g muestra en masa seca.

7.3.2 Caracterización química y capacidad antioxidante de las cervezas de maíz

Preparación de las muestras

Los mostos, cervezas verdes y maduras que corresponden a las muestras de los estados de ebullición, fermentación y maduración de cada uno de los estilos de cerveza de maíz elaborados, se encontraban almacenados a -20 °C, y previo a su análisis fueron llevados a temperatura ambiente y clarificados por centrifugación a 2500 rpm durante 15 min en agitador rotatorio (SOLBAT). La cerveza madura se desgasificó por agitación en parrilla eléctrica (CORNING, USA) durante 30 min.

7.3.2.1 Determinación de azúcares reductores totales (Método volumétrico mosto-11 y cerveza-12B: Lane-Eynon, ASBC).

En matraces volumétricos de 100 mL se prepararon por separado diluciones de cada muestra; se tomó del mosto una alícuota de 10 mL, y de las cervezas verde y madura una alícuota de 50 mL, se añadieron 40 mg de subacetato de plomo y se diluyeron con agua destilada hasta el aforo. La dilución con mosto se dejó en reposo durante 10 min. Todas las muestras fueron centrifugadas a 2500 rpm durante 10 min en agitador rotatorio (SOLBAT), se separó el sobrenadante en vaso de precipitados evitando resuspender los sólidos y se colocó en una bureta. En un matraz Erlenmeyer con perlas de ebullición se depositaron 10 mL de reactivo de Fehling y 20 mL de agua destilada y se llevó a calentamiento, una vez iniciada la ebullición se agregó gota a gota la dilución de cada muestra hasta alcanzar un color amarillo paja. La lectura del volumen utilizado se sustituyó en la siguiente ecuación para determinar el contenido de azúcares reductores directos:

$$\% \text{ de azúcares reductores totales} = \frac{F \times A \times 100}{a \times v}$$

Donde; F: factor de Fehling (g glucosa), A: volumen del aforo (100 mL), 100: para transformar a %, a: alícuota de mosto (mL), v: volumen de disolución de mosto o cerveza gastada en la titulación (mL).

El factor de Fehling fue determinado bajo las mismas condiciones anteriores, pero utilizando una solución de glucosa en agua destilada (0.5g/100mL) como solución titulante. El contenido de azúcares reductores totales en las muestras fue expresado en por ciento, lo que corresponde a g de glucosa por 100 mL de muestra.

7.3.2.2 Determinación del contenido alcohólico (Método gravimétrico cerveza-4A: cerveza y destilado, ASBC).

En un matraz bola con perlas de ebullición se colocaron 50 mL de cerveza, se destiló la muestra hasta que se colectaron aproximadamente 40 mL de destilado y se aforaron a 50 mL con agua destilada, verificando que su temperatura fuera de 20 °C. Posteriormente se colocó

los 50 mL del destilado en un picnómetro seco y se pesó en balanza analítica (Explorer, OHAUS Corp., Suiza). Se determinaron el peso del picnómetro vacío (limpio y seco) y el picnómetro con agua destilada. El peso específico fue calculado de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Peso específico (20 °C)} = \frac{\text{peso picnómetro con destilado} - \text{peso picnómetro vacío}}{\text{peso picnómetro con agua} - \text{peso picnómetro vacío}}$$

A partir de tablas (AOAC, 1995) se determinó el contenido de alcohol (porcentaje de alcohol en volumen) del peso específico del destilado.

7.3.2.3 Determinación de pH (Método potenciométrico mosto-8 y cerveza-9, ASBC)

En las muestras este valor fue determinado utilizando un medidor CONDUCTRONIC PC45 (México). El equipo fue calibrado previo a ser utilizado con los buffer de pH de 4 y de 7.

7.3.2.4 Determinación de acidez total (Método potenciométrico mosto-7 y cerveza-8A, ASBC)

La solución de NaOH utilizada fue valorada con solución de biftalato de potasio 0.1 N, usando fenolftaleína como indicador. A un volumen de 40 mL de muestra se le adicionó poco a poco solución de NaOH valorada hasta que la muestra presentó un pH de 8.2. El volumen gastado de NaOH se sustituyó en la siguiente ecuación:

$$\text{Acidez total (g/100 mL)} = \frac{V_1 * N * 90 * 100}{1000 * v}$$

Dónde: V_1 = volumen de disolución de NaOH consumido en la valoración (mL), N: normalidad de la disolución de NaOH (meq/mL), 90= g/eq de ácido láctico y v = volumen de muestra (mL). La acidez total de la muestra fue expresada como gramos de ácido láctico por 100 mL.

7.3.2.5 Determinación de unidades de amargor (Método cerveza-23A, ASBC)

En tubos de centrífuga de 50 mL se colocaron 5 mL de muestra, se añadieron 0.5 mL de HCl 3N y 10 mL de 2, 2, 4-trimetilpentano (iso-octano), se agitó la mezcla en vórtex durante 1 min y posteriormente se centrifugó a 2500 rpm durante 10 minutos en agitador rotatorio (SOLBAT). La fase orgánica fue separada y su valor de absorbancia se leyó contra un blanco de iso-octano a 275 nm en un espectrofotómetro Thermo Spectronic (Biomate3, USA). Los valores de unidades internacionales de amargor (IBU) se obtuvieron multiplicando el valor de absorbancia por un factor de 50.

7.3.2.6 Determinación de iso- α -ácidos por HPLC

La extracción líquido-líquido se realizó de acuerdo a Jaskula *et al.* (2007) con ligeras modificaciones. Un volumen de 10mL de muestra se acidificó con 610 μ L de H_3PO_4 12M alcanzando un pH de 1.5, se adicionaron 20mL de iso-octano, se agitó en vórtex por 1 minuto y se centrifugó a 2500 rpm por 10 minutos en agitador rotatorio (SOLBAT). Se separó la fase orgánica y se eliminó el disolvente a presión reducida en rotavapor (Mod. D402-2, Prendo, México) a 35 °C. Se disolvió el residuo en 1 mL de MeOH acidificado con H_3PO_4 en la proporción de volúmenes 9.975/0.025, respectivamente, y se pasó a través de un filtro de PTFE de 0.45 μ m.

El análisis se realizó en un sistema LC Agilent 1260 Infinity, (Agilent Technologies, Alemania) descrito anteriormente. La separación cromatográfica se logró usando una columna Zorbax SB (250 x 4.60 mm, 5 μ m) a 35 °C, con elución isocrática 35% eluyente A (agua-ácido fosfórico; 96:4, pH 1.0) y 65% eluyente B (metanol), velocidad de flujo de 1.2 mL/min, volumen de inyección de 5 μ L, detector a 275 nm y tiempo de análisis de 70 min. Para la construcción de las curvas de calibración por estándar externo se analizaron seis concentraciones de disoluciones estándar metanólicas, entre 5-125 mg/L para los dos isómeros (*cis*- y *trans*-iso- α -ácidos).

7.3.2.7 Determinación de antocianinas totales (Método diferencial de pH, Giusti y Wrolstad, 2001)

A una serie de tubos de ensaye se adicionaron 2 mL de buffer de pH 1.0 de cloruro de potasio/ácido clorhídrico y a otra serie de tubos 2 mL de buffer pH 4.5 de acetato de sodio/ácido acético, a todos los tubos se adicionaron 500 μ L de muestra, se agitaron y se midió su absorbancia a 520 y 700 nm en un espectrofotómetro Thermo Spectronic (Biomate3, USA). Se determinó la concentración de antocianinas totales de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Antocianinas totales (mg/L)} = \frac{\Delta A * 1000 * PM * FD * \lambda}{\epsilon}$$

Donde $\Delta A = [(A_{520nm} - A_{700nm})_{pH=1}] - [(A_{520nm} - A_{700nm})_{pH=4.5}]$ es decir la diferencia de absorbancias a 520 y 700 nm a pH 1.0 y pH 4.5. PM: Peso molecular de cianidina-3-glucósido 449.2 g/mol, FD: factor de dilución, ϵ : absortividad molar de cianidina 3-glucósido 26 900 $M^{-1}cm^{-1}$ y λ : longitud de paso óptico 1 cm. Los resultados fueron expresados como mg de equivalentes de cianidina-3-glucósido por litro.

7.3.2.8 Determinación de polifenoles totales (Método Folin-Ciocalteu, Singleton y Rossi 1965)

En tubos de ensayo se colocaron 50 μ L de muestra, se añadieron 3 mL de agua, se agitaron los tubos en vórtex, enseguida se añadió 0.25 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu, se agitaron los tubos, posteriormente se adicionaron 0.75 mL de Na_2CO_3 (60 g/L) y se agitaron otra vez los tubos, transcurridos 120 min se leyó su absorbancia a 765 nm un espectrofotómetro Thermo Spectronic (Biomate3, USA). La medición se comparó con una curva de calibración estándar construida con seis concentraciones de ácido gálico en el intervalo de 50 a 1000 mg/L. Los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico por litro de muestra.

7.3.2.9 Capacidad antioxidante de las cervezas de maíz por ABTS y DPPH

La actividad de eliminación de cationes radicales de ABTS de las muestras se midió por el método desarrollado por Re *et al.*, (1999) y descrito por Kuskoski *et al.*, (2005). El radical ABTS se obtuvo tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2.45 mM, concentración final) incubados a temperatura ambiente y en oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical ABTS se diluyó con etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0,70 ($\pm 0,1$) a 754 nm. A 980 μ L de dilución del radical ABTS así generado se le determinó su absorbancia a 754 nm y se añadieron 20 μ L de dilución de la muestra. La absorbancia se midió cada minuto durante 7 minutos a 765 nm en un espectrofotómetro Thermo Spectronic (Biomate3, USA). Se utilizó Trolox como antioxidante de referencia. La curva de calibración se construyó en función del porcentaje de inhibición de radicales ABTS frente a la concentración en un intervalo de 20 a 320 mg/L en etanol al 96%. La capacidad antioxidante de las muestras se expresaron como mmol equivalentes de Trolox por litro.

La actividad de eliminación de radicales DPPH de las muestras se determinó de acuerdo al método desarrollado por Brand-Williams *et al.*, (1995) y descrito por Kuskoski *et al.*, (2005). En tubos de ensayo 50 μ L de dilución de muestra se mezclaron con 1.95 mL de una solución 0.1 mM de DPPH, se agitaron y dejaron en reposo por 30 min en oscuridad a temperatura ambiente. La absorbancia a 517 nm se midió en un espectrofotómetro Thermo Spectronic (Biomate3, USA) y el porcentaje de inhibición del radical DPPH fue calculado. El antioxidante de referencia utilizado fue Trolox y se analizó en un rango de concentración entre 20-320 mg/L en una solución de etanol al 80%. La curva de calibración se representó en función del porcentaje de inhibición del radical DPPH frente a la concentración. La actividad antioxidante se de las muestras se expresaron como mmol de Trolox por litro.

7.3.3 Contenido de antocianinas y caracterización de ácidos fenólicos en cervezas de maíz

Preparación de las muestras

Las cervezas maduras de cada uno de los estilos elaborados, se encontraban almacenados a -20 °C y previo a su análisis fueron llevados a temperatura ambiente, desgasificadas por agitación en parrilla eléctrica (CORNING, USA) durante 30 min y clarificadas por centrifugación a 2500 rpm durante 15 min en agitador rotatorio (SOLBAT).

7.3.3.1 Determinación de antocianinas en cerveza de maíz por HPLC

En frascos ámbar de 40 mL se colocaron 15 mL de cerveza madura, se congelaron durante 24 horas y se liofilizaron a -40 °C. La masa total liofilizada obtenida que fue de entre 0.90 y 0.92 g se mezcló con 20 mL de metanol de grado HPLC acidificado al 1% y se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente en frasco ámbar, posteriormente la mezcla se filtró al vacío y se lavó con 10 mL de metanol acidificado por duplicado. La solución se concentró al vacío en rotavapor (Mod. D402-2, Prendo, México) a 35 °C hasta obtener alrededor de 1 mL, se centrifugó a 10000 rpm durante 10 min y se pasó a través de un filtro de PTFE de 0.45 µm de tamaño de poro.

El análisis de las antocianinas se realizó en las mismas condiciones cromatográficas que en el análisis de antocianinas por HPLC en extractos de maíz y maltas. La concentración de cianidina-3-glucósido en la cerveza se calculó interpolando todas las áreas obtenidas a 520 nm en la curva de calibración, esta última se construyó con siete concentraciones de cianidina-3-glucósido en metanol acidificado al 0.01% con HCl en un rango de concentraciones entre 0.03 y 0.25 g. Los resultados se expresaron como miligramos de cianidina-3-glucósido por litro de cerveza.

7.3.3.2 Determinación de compuestos fenólicos libres y esterificados en cerveza de maíz

A un volumen de 30 mL de muestra se ajustó el pH a 2 con HCl concentrado, de la muestra anterior a 8 mL se les adicionaron 16 mL de acetato de etilo, la mezcla se agitó por 15 segundos en vortex y después se centrifugó a 2500 rpm durante 10 min. La fase orgánica se separó y se almacenó en frasco ámbar a -20 °C, conteniendo esta fracción a los ácidos fenólicos libres.

La fase acuosa se diluyó a 10 mL con agua destilada, de la dilución anterior se tomaron 4 mL se le añadieron 4 mL de NaOH 2N, se mezclaron y almacenaron en obscuridad a temperatura ambiente durante 3 horas. Transcurrido el tiempo, el pH de la mezcla se ajustó a 2 y los ácidos fenólicos esterificados se extrajeron con 16 mL de acetato de etilo agitando 15 segundos en vortex y después la mezcla se centrifugó a 2500 rpm durante 10 min. La fase orgánica se separó y se almacenó en un frasco ámbar a -20 °C. Los extractos de acetato de etilo se evaporaron a sequedad a presión reducida en rotavapor (Mod. D402-2, Prendo,

México) a 30 °C. Cada residuo se redisolvió en 1 mL de metanol grado HPLC y se pasó a través de un filtro de PTFE de 0.45 µm de tamaño de poro.

Los ácidos fenólicos se analizaron en el mismo sistema de cromatografía de líquidos descrito anteriormente. La separación se realizó de acuerdo con Piazzon et al., (2010) con ligeras modificaciones. Una columna Lichrosorb RP 18 (250 mm x 4.60 mm x 5 µm) a 30 °C fue utilizada, flujo de 0.8 mL/min, volumen de inyección de 10 µL y detector a 280 nm. La elución se llevó a cabo con una fase móvil A (agua-ácido acético, 98:2, v/v) y B (metanol) usando el siguiente gradiente: 98 a 88% de A de 0 a 30 minutos, de 88 a 80% de A de minuto 30 a 60, de 80 a 74% de A de minuto 60 a 85, de 74 a 98% de A de minuto 86 a 90, y elución isocrática a 98% de A de minuto 90 a 93. Tiempo total de la corrida 93 min. Los ácidos fenólicos se identificaron por comparación de sus tiempos de retención con los estándares. Las curvas de calibración fueron construidas por estándar externo donde seis concentraciones de los ácidos gálico, protocatéquico, ferúlico, p-coumarico, sinápico y siríngico en metanol fueron analizadas. Los valores de áreas de los cromatogramas fueron interpolados en las curvas de calibración y los resultados fueron expresados en mg de ácido fenólico por litro de cerveza.

7.3.4 Evaluación sensorial de las cervezas de maíz

7.3.4.1 Análisis descriptivo cuantitativo

Un panel entrenado conformado por 8 mujeres y 7 hombres, del laboratorio de Análisis Sensorial de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, llevó a cabo este análisis en los 8 estilos de cervezas de maíz azul.

El panel entrenado evaluó aspectos de apariencia, olor, sabor y sensaciones en boca de los ocho estilos de cervezas de maíz, se empleó una metodología de perfil convencional descriptivo (Romero-Medina, 2013), basada en el análisis descriptivo cuantitativo (Quantitative Descriptive Analysis: QDA) (Meilgaard et al., 2006; Díaz-Vela, 2017). Las sesiones se realizaron una vez a la semana, y en cada una se le proporcionaron dos estilos distintos. Las evaluaciones se realizaron en cabinas de evaluación sensorial individuales equipadas con el sistema de captura de datos electrónicos Fizz® (versión 2.5, Biosystems, Courtenon, Francia). De cada estilo se realizaron duplicados en sesiones diferentes, usando una escala no estructurada de 15 cm.

7.3.4.2 Análisis de consumidores

Los estilos analizados por los consumidores fueron seis: 1, 3, 4, 6, 7 y 8, los estilos 2 y 5 no se incluyeron debido a su similitud en el perfil obtenido (Figuras 31-34) y con la finalidad de no saturar a los consumidores con el número de muestras a evaluar.

Las encuestas fueron aplicadas en el festival de la cerveza artesanal “*Cervefest 2016*”, un total de 90 consumidores fueron reclutados. Las muestras durante su traslado y su evaluación se mantuvieron en hielo. Los consumidores evaluaron el nivel de agrado general, la intensidad de los sabores a maíz, tostado, chile y amargo, así como la intención de compra de cada muestra. Las escalas utilizadas en cada caso se presentan en el cuadro 4.

Cuadro 4. Aspectos evaluados por los consumidores y escalas utilizadas en cada caso.

Nivel de agrado	Intensidad de sabor	Intención de compra
1-Gusta muchísimo	1-Mucho menos de lo que esperaba	1-Nunca
2-Gusta mucho	2-Menos de los que esperaba	2-Esporádicamente
3-Gusta	3-Justo como lo esperaba	3-De vez en cuando
4-Gusta poco	4-Más de lo que esperaba	4-Frecuentemente
5-No gusta ni disgusta	5-Mucho más de lo que esperaba	
6-Disgusta poco		
7-Disgusta		
8-Disgusta mucho		
9-Disgusta muchísimo		

7.4 Análisis Estadístico

7.4.1 Caracterización del maíz azul y de las maltas base y caramelo

Los datos se expresaron como media \pm desviación estándar. Se usó la prueba t de Student en los siguientes análisis: 1) para comparar la composición química proximal de grano de maíz azul analizado respecto a los valores reportados, 2) para comparar la composición química proximal de la malta base de maíz azul con la correspondiente a la malta base de cebada, 3) para comparar los valores de color, antocianinas y compuestos fenólicos encontrados en el maíz azul con los reportados, y 4) para evaluar el efecto del malteado sobre el color, la composición química y el contenido de los compuestos asociados a la capacidad antioxidante de la malta base. Se realizó análisis de varianza (ANOVA) de dos factores seguido por la prueba de comparaciones múltiples de Tukey en las maltas caramelo para evaluar el efecto del tostado sobre el color, melanoidinas, antocianinas, polifenoles, y la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH.

7.4.2 Caracterización química y capacidad antioxidante de las cervezas de maíz

Para evaluar el efecto de los tres ingredientes sobre los diferentes parámetros químicos en la cerveza madura, se realizó un ANOVA para cada variable considerando los tres factores principales, interacciones dobles e interacción triple, según el siguiente modelo: $Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$, donde μ es la media general, α_i es el efecto del i-ésimo nivel de malta, β_j es el efecto del j-ésimo nivel de chile, γ_k es el efecto del k-ésimo nivel de lúpulo, $(\alpha\beta)_{ij}$ es el efecto de la combinación de malta y chile en ij, $(\alpha\gamma)_{ik}$ es el efecto de la combinación de malta y lúpulo en ik, $(\beta\gamma)_{jk}$ es el efecto de la combinación de chile y lúpulo en jk, $(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$ es el efecto de la combinación de malta, chile y lúpulo en ijk (interacción triple) y ε_{ijkl} es el error asociado con la determinación Y_{ijkl} . En el escenario donde las interacciones triples fueron significativas los resultados se discuten comparando los 8 estilos como tratamientos. Es decir, cada estilo es un tratamiento (la combinación triple de los niveles de cada ingrediente). Los parámetros analizados fueron: azúcares reductores, alcohol, pH, acidez total, unidades de amargor, *cis*- y *trans*-iso- α -ácidos, antocianinas totales, polifenoles totales, y capacidad antioxidante por ABTS y DPPH.

Se realizó un ANOVA seguido de pruebas de comparaciones múltiples de Tukey en cada estilo de cerveza de maíz para evaluar las diferencias significativas en las tres etapas del proceso: mosto, cerveza verde y cerveza madura. La prueba de t de Student se utilizó para comparar los parámetros de las cervezas de maíz, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante obtenidos con respecto a los valores reportados en la literatura.

Se efectuaron análisis de agrupamientos Jerárquicos (HCA por sus siglas en inglés Hierarchical Cluster Analysis) y análisis de componentes principales (PCA por siglas en

inglés Principal Component Analysis) para visualizar globalmente las muestras y agrupar los estilos de cerveza madura de acuerdo a sus características químicas.

7.4.3 Caracterización de antocianinas y ácidos fenólicos en cerveza madura

Se llevó a cabo un ANOVA y pruebas de comparaciones múltiples de Tukey para evaluar el efecto de las diferentes cantidades de materias primas en los ocho estilos de cervezas de maíz sobre los contenidos de antocianinas y ácidos fenólicos.

En todos los casos las diferencias fueron consideradas significativas cuando $p < 0.05$. Los análisis estadísticos fueron efectuados usando el programa XL-STAT (Estadística para Windows, versión 2012.5.02).

7.4.4 Evaluación sensorial de las cervezas de maíz

7.4.4.1 Análisis Descriptivo Cuantitativo

ANOVA de dos factores, considerando las formulaciones como factor principal y los jueces como bloques, se realizó para obtener los descriptores significativos; en caso de diferencia significativa se realizó la prueba de comparaciones múltiples Tukey. El análisis estadístico anterior se aplicó para evaluar el efecto del uso de diferentes cantidades de materias primas sobre las calificaciones de los jueces entrenados. Los análisis estadísticos fueron desarrollados usando el programa XL-STAT (Estadística para Windows, versión 2012.5.02).

7.4.4.2 Estudio de consumidores

El análisis de penalidades se realizó sobre el nivel de preferencia así como en la intención de compra. El análisis de penalidades es un método utilizado en el análisis sensorial para identificar las direcciones posibles para la mejora de los productos, sobre la base de encuestas realizadas con consumidores o expertos.

Se utilizan dos tipos de datos: de preferencia (o en este caso también intención de compra) y los recogidos (intensidad de sabor a maíz, tostado, picor y amargo) sobre una escala de justo como lo esperaba (en inglés Just About Right - JAR). El método basado en comparaciones múltiples consiste en identificar para cada característica estudiada en la escala JAR, si la clasificación en la escala anterior está relacionada con resultados significativamente diferentes de las puntuaciones de gusto o intención de compra. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa XL-STAT (Estadística para Windows, versión 2012.5.02).

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Caracterización del maíz azul y de las maltas base y caramelo

8.1.1 Análisis químico proximal (AQP) del grano de maíz y de la malta base

En el cuadro 5 se presentan los resultados del AQP. Los contenidos de humedad y extracto etéreo del maíz azul utilizado para obtener las maltas no fueron significativamente diferentes a los reportados por Ortiz (2006), quien analizó distintas variedades criollas de maíz azul. Por el contrario, el porcentaje de proteína y cenizas sí presentaron diferencias probablemente debidas a la variedad de maíz empleada, prácticas de manejo en campo, el clima, el suelo y los métodos de cosecha y poscosecha (Robutti, 2007).

Cuadro 5. Análisis químico proximal del grano y de la malta base de maíz azul.

	Humedad*	Proteína	Extracto etéreo	Cenizas	Fibra cruda	ELN*
Maíz azul	10.7 ± 1.2	9.1 ± 0.1	4.8 ± 0.3	1.3 ± 0.05	0.13 ± 0.05	73.9 ± 1.7
Malta base	4.5 ± 0.2	8.6 ± 0.5	5.0 ± 0.5	1.2 ± 0.1	0.11 ± 0.02	80.6 ± 1.3

ELN: extracto libre de nitrógeno. *: Indica diferencia significativa entre el maíz azul y la malta base.

Ortiz (2006) reporta en variedades criollas de maíz azul valores similares a los obtenidos de humedad de 9.02 ± 0.58 , proteína = 9.73 ± 0.72 , extracto etéreo = 5.35 ± 0.94 , y cenizas = 1.52 ± 0.11 . Mientras que Ruíz (2006) sólo reporta que el contenido de proteína en la malta de cebada fluctúa entre 8.5 a 10.9 %.

En nuestro país la cebada calidad maltera de los estados de Hidalgo y Tlaxcala tiene una humedad entre 10.1-12.4, proteína de 8.4-12.2, extracto etéreo de 1.5-3.0, y cenizas de 2-4 de acuerdo con lo reportado por Ruíz (2006). Al comparar el maíz azul utilizado, se observa que los porcentajes de humedad y proteína se encuentran dentro del rango especificado por Ruíz para la cebada. El contenido de humedad es de suma importancia para mantener la calidad del grano de maíz durante su almacenamiento (Méndez-Montealvo, *et al.*, 2003). Los componentes derivados de proteínas y proteínas son importantes debido a su efecto sobre el carácter organoléptico de la cerveza y su importancia para la nutrición de la levadura. Estos efectos incluyen cantidad y estabilidad de la espuma, formación de compuestos activos de sabor (productos de reacciones de Maillard), la estabilidad de la turbidez y el progreso de la fermentación de la levadura (Steiner *et al.*, 2012). La evidencia bioquímica ha establecido que la α -amilasa, la endoproteasa y la dextrinasa límite se producen de *novo* en capas de aleurona estimuladas por el ácido giberélico (Priest y Stewart, 2006); sin embargo este incremento en el contenido de enzimas no genera un cambio significativo en el contenido de proteína de la malta base respecto al grano de maíz azul.

El extracto etéreo en el grano del maíz fue significativamente mayor al reportado por Ruíz (2006) en la cebada. Priest y Stewart (2006) reportan que durante la elaboración de la cerveza, del 3% de los lípidos presentes en la malta de cebada, sólo se extrae al mosto el 0.01% de los

materiales lipídicos y estos son principalmente ácidos grasos. Lo mismo puede estar sucediendo en mostos elaborados con malta de maíz azul, pero para verificarlo es necesario una mayor investigación.

El maíz azul presentó un porcentaje de cenizas (1.3 ± 0.5) inferior al de la cebada (2 – 4 %); a pesar de esta diferencia, este contenido de cenizas permitió la elaboración de la cerveza de maíz, sin embargo se requiere una mayor investigación para evaluar de manera específica el efecto de la presencia y concentración de ciertos elementos en el proceso de elaboración de la cerveza de maíz. Las cenizas del maíz incluyen minerales como fósforo, potasio, magnesio y sodio principalmente (Ortiz, 2006). Los minerales durante la elaboración de la cerveza son necesarios para mantener la integridad estructural de la célula, floculación, expresión de genes, división celular, ingesta de nutrientes, actividad enzimática y otros procesos más para la levadura. Los metales más importantes que influyen en la fermentación son potasio, magnesio, calcio, manganeso, hierro, cobre y zinc (Tenge, 2007).

Por efecto del malteado se observó una disminución del porcentaje de humedad y un incremento del ELN (que representa los azúcares y almidones), debido probablemente al proceso térmico (secado) a que se sometió la malta. El resto de los componentes no variaron, lo que sugiere que los cambios ocurridos en la germinación (para mantener el crecimiento embrionario, la síntesis enzimática y las modificaciones al endospermo por proteólisis, amilólisis y citólisis) (Gupta *et al.*, 2010; Steiner *et al.*, 2012) no provocaron cambios significativos en los porcentajes de proteína, extracto etéreo, cenizas y fibra cruda. El contenido de proteína determinado en la malta de maíz azul (8.5 ± 0.5) se encuentra en el límite inferior del intervalo reportado por Ruíz (2006) para malta de cebada (8.5 – 10.9 %).

8.1.2 Humedad y parámetros de color en el maíz y en las maltas

Los contenidos de humedad y los parámetros de color del maíz azul y de las maltas se presentan en el cuadro 6. El contenido de humedad del grano disminuyó significativamente de 10.7 a 4.5 % en la malta base. De Meo *et al.*, (2011) reportan contenidos de humedad en maltas de sorgo, trigo sarraceno, quinoa y amaranto de 6.86, 5.32, 8.13 y 5.48, respectivamente, y Mayer *et al.*, (2014) para maltas de arroz, humedades entre 4.3 y 6.7%. Las maltas anteriores no difieren significativamente de la malta de maíz en su porcentaje de humedad.

Los contenidos de humedad en las maltas caramelo estuvieron entre 1.4 y 3.3%, siendo significativamente mayor en la malta sometida a 175 °C. El efecto del tostado manifestado como una disminución del contenido de humedad fue menor en la malta 175 °C, seguido de las maltas 150 y 200 °C, y el efecto fue mayor en las maltas que se tostaron a temperaturas entre 180 y 240° C, ya que estas últimas presentaron contenidos de humedad entre 1.6 y 1.4%. Yahya *et al.*, (2014) reportan en malta cristal un contenido de humedad de 5%, que es significativamente mayor a las maltas caramelo de maíz azul obtenidas.

Cuadro 6. Contenido de humedad y parámetros de color en el maíz azul y las maltas. Media \pm D.E.

Malta	Humedad (%)	L (%)	Tono (h) (°)	Croma
Maíz	10.7* \pm 1.2	14.7 \pm 0.71	333.7 \pm 10.2	1.73 \pm 0.25
Base	4.5 \pm 0.2	15.3 \pm 0.19	314.7 \pm 11.4	1.43 \pm 0.56
150 °C-45 min	2.0 \pm 0.1 b	22.6 \pm 0.66 b	274.9 \pm 2.41 c	6.39 \pm 0.65 b
175 °C-20 min	3.3 \pm 0.1 a	25.8 \pm 1.05 a	281.9 \pm 2.4 ab	7.62 \pm 1.41 ab
180 °C-15 min	1.6 \pm 0.1 c	21.2 \pm 0.23 bc	283.2 \pm 2.53 ab	8.04 \pm 0.33 ab
200 °C-1 min	1.7 \pm 0.2 bc	26.8 \pm 0.38 a	277.7 \pm 1.7 bc	7.25 \pm 0.24 ab
225 °C-1 min	1.4 \pm 0.1 c	19.6 \pm 1.64 cd	284.6 \pm 3.22 a	7.97 \pm 0.45 ab
240 °C-1 min	1.4 \pm 0.1 c	17.5 \pm 0.51 d	280.5 \pm 2.52 abc	8.58 \pm 0.77 a

L: luminosidad. *: Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) al comparar el maíz azul y la malta base. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las maltas caramelo.

En relación con las propiedades cromáticas del maíz azul utilizado y de la malta base obtenida, los valores de luminosidad (L^*) es un atributo relacionado con la claridad u oscuridad del color, fueron de 14.7 en el maíz azul y 15.3 en la malta base. Los valores del ángulo de tono (h, que denota el tipo de color observado) fueron 333.7° y 314.7° para el grano y la malta base, respectivamente. Los valores de croma (C^* , que indica la saturación del color) encontrados en el grano y en la malta base de maíz azul fueron 1.73 y 1.43 unidades CIELAB, respectivamente. Al comparar los valores de L^* , h y C^* entre el grano y la malta

base de maíz azul no se encontraron diferencia significativa, lo que indica que el malteado (principalmente el secado) del maíz no tuvo efecto significativo sobre los parámetros de color.

Salinas-Moreno *et al.*, (2012) analizaron 6 poblaciones de maíz azul de la variedad Chalqueño, reportando valores de L de 15.3 a 20.2, ángulo de tono o hue de 299 a 335.9 y croma de 0.5 a 2.3, especificando que de acuerdo a estos valores sus muestras son azul/morado oscuro y poco brillante. Los resultados obtenidos en el maíz azul utilizado en el presente proyecto se encuentran dentro de los rangos anteriores.

En la Figura 13 se presentan las maltas base y caramelo de maíz azul obtenidas. La luminosidad de la maltas caramelo aumentó respecto al grano; fue significativamente mayor en las maltas 175 y 200 °C, y menor en las maltas 225 y 240 °C. El tono en las maltas tostadas disminuyó en relación con el maíz azul; los valores se encontraron entre 274.9 y 284.6, éstos valores se aproximan a un tono azul cuyo h es de 270°, es decir las maltas caramelo pasaron de un tono azul/morado oscuro que tiene el grano a un azul por efecto del tostado. Los valores de C* aumentaron al comparar el maíz azul respecto a todas las maltas tostadas, y fue significativamente mayor en la malta 240 °C. Los cambios en los parámetros de color mostraron el efecto del tostado sobre los cambios en la concentración de los compuestos de color: la degradación de antocianinas y la formación de melanoidinas.



Figura 13. Malta base y maltas caramelo de maíz azul.

8.1.3 Identificación de compuestos volátiles en las maltas caramelo

Los productos de la reacción de Maillard encontrados en las maltas caramelo se muestra en la Figura 14, donde aparecen de acuerdo a su tiempo de retención. En general los furanos presentaron mayores áreas, y fueron seguidos por pirroles y a su vez por pirazinas. El orden descendente del número de compuestos volátiles en las maltas caramelo fue el siguiente: malta 175 > 200 > 150 y 180 > 225 y 240 °C.

El furfural tiene un descriptor de olor de pan, almendra y dulce (Flavornet), y el 2-hidroximetil-furano (2-furanmetanol) notas dulce y caramelo (Yahya et al., 2014).

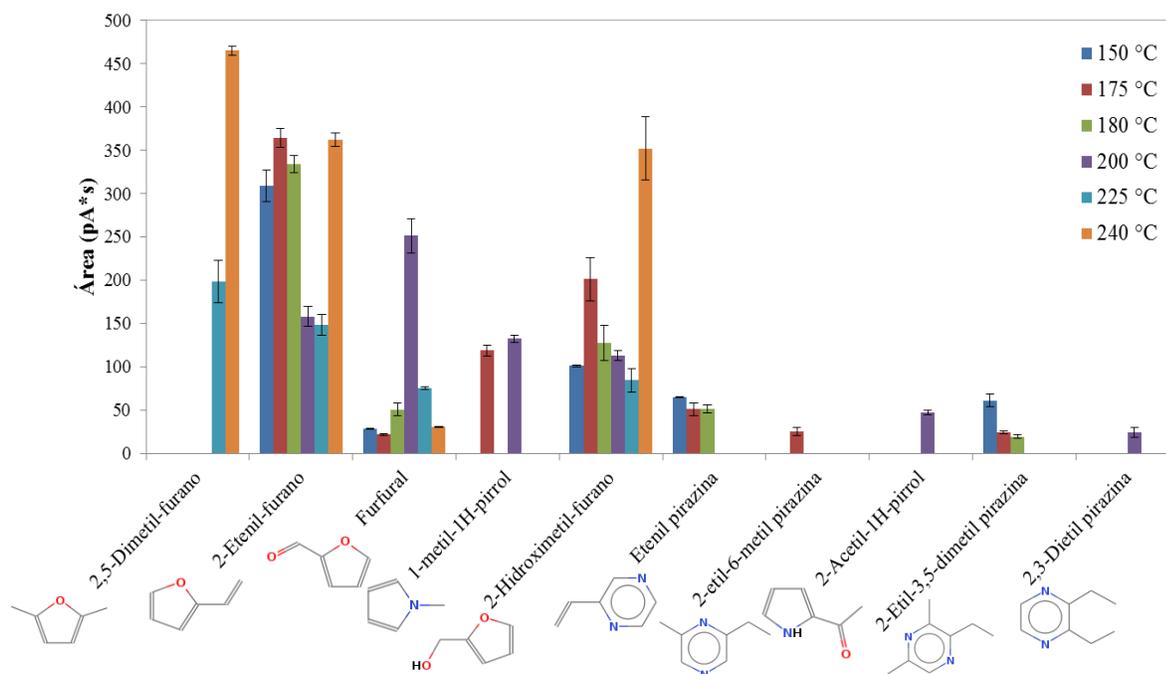


Figura 14. Productos de reacción de Maillard encontrados en las maltas caramelo de maíz azul. Medias \pm D.E. de los valores de área en los cromatogramas. La estructura química de cada compuesto aparece junto a su nombre.

Yahya *et al.*, (2014) reportan distintos compuestos volátiles para una malta de cebada, específicamente malta cristal, de los cuales dos coinciden con los determinados en las maltas caramelo de maíz, furfural y 2-hidroximetil-furano (2-furanmetanol).

Los mecanismos de formación para pirazina, pirrol y furfural se describen a continuación. La ruta principal para la producción de pirazina en sistemas térmicamente tratados es a través de la condensación de compuestos amino-carbonilos formados en la degradación de Strecker (Weenen *et al.*, 1994). Por su parte, el pirrol puede formarse térmicamente a través de una serie de mecanismos, incluyendo la pirólisis directa del aminoácido serina (Yaylayan y Keyhani, 2001), la reacción de amoníaco con furano o con una 3-desoxihexosona (Finot *et al.*, 1990). En el mecanismo propuesto por Yaylayan y Keyhani, (2001), el acetaldehído y α -

aminoacetaldehído reaccionan vía condensación aldólica para formar pirrol con la pérdida de 2 moléculas de agua. El furfural se forma en la reacción de Maillard de pentosas vía la deshidratación de un precursor cíclico formado del 3-desoxiosona (vía 1,2-enolización). También puede formarse directamente a partir de la pirólisis de glucosa, comenzando una vez más con una etapa de deshidratación, la fragmentación cíclica de Grob (Paine III *et al.*, 2008).

8.1.4 Antocianinas en el maíz azul y en las maltas

Se presentan en el Cuadro 7 los contenidos de antocianinas totales (AT) y los determinados por HPLC en las muestras de maíz azul y maltas base y caramelo.

Cuadro 7. Contenido de antocianinas en el maíz azul y en las maltas. Medias \pm D.E.

Muestra	Antocianinas (mg cianidina-3-glucósido/kg m.s)	
	Totales	HPLC
Maíz	1534* \pm 10.1	189.7* \pm 15.7
Base	1263 \pm 45.8	102.9 \pm 17.3
150 °C-45 min	135 \pm 6.6 d	31.7 \pm 1.0 d
175 °C-20 min	233 \pm 10.0 b	40.8 \pm 2.4 bc
180 °C-15 min	170 \pm 11.1c	34.2 \pm 3.1 d
200 °C-1 min	271 \pm 8.5 a	47.3 \pm 3.2 a
225 °C-1 min	157 \pm 6.8 c	45.7 \pm 1.5 ab
240 °C-1 min	130 \pm 10.2 d	37.8 \pm 4.1 cd

m.s: masa seca. El contenido de antocianinas por HPLC corresponde a la suma de todas las áreas encontradas a 520 nm y expresadas como cianidina-3-glucósido. *: Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) al comparar el maíz azul y la malta base. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las maltas caramelo.

El maíz azul Chalqueño presentó una cantidad de AT significativamente mayor a las reportadas para maíz púrpura de China, por Yang y Zhai (2010) (558 mg/kg) y por Zhao *et al.*, (2008) (127.4, 292.2 y 1493 mg/kg m.s para las variedades Jinheiyu, Perla negra y Shijiazhuang, respectivamente), así como a las determinadas por Salinas-Moreno *et al.*, (2012) para maíz azul (579.4 a 1046.1 mg ECG/kg m.s) de la misma variedad que utilizamos en el presente estudio.

El contenido de AT en masa húmeda en el maíz azul (1370.2 \pm 19.8 mg/kg) fue significativamente mayor al maíz azul y púrpura de Canadá (322.7 y 1277 mg ECG/kg.) (Abdel-Aal *et al.*, 2006), así como al maíz azul y púrpura (995 y 932 mg ECG/kg) de México (López-Martínez *et al.*, 2009).

Las diferencias en los contenidos de antocianinas en el maíz pueden deberse a varios factores, incluidos los genotipos, las etapas de desarrollo, las condiciones de crecimiento e incluso los métodos utilizados para su cuantificación (Jing *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2010).

Una disminución del 17.7% en el contenido de AT fue observado en la malta base debido al malteado. Lo anterior se puede deber a dos factores: 1) a la germinación, de acuerdo a lo reportado por Paucar-Menacho *et al.* (2007), quienes indican que la germinación del maíz púrpura provoca una reducción significativa de la mayor parte de las antocianinas presentes en el grano, y 2) al secado de la malta, ya que la estabilidad de las antocianinas se ve afectada por varios factores, uno de ellos la temperatura (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

El contenido de AT en las maltas caramelo se encontró entre 130 y 271 mg ECG/kg m.s, siendo significativamente mayor ($p < 0.05$) en la malta 200 °C, seguida de la malta 175 °C, lo que indica que un tostado a una temperatura mayor y tiempo corto permitió conservar una mayor cantidad de antocianinas que un tostado a menor temperatura por mayor tiempo. Las maltas 180 y 225 °C no mostraron diferencia significativa entre sí, así como las maltas 150 y 240 °C, estas últimas presentaron el menor contenido de antocianinas, de acuerdo a lo observado en estas cuatro maltas, un tostado a menor temperatura por mayor tiempo provocó el mismo efecto sobre el contenido de antocianinas que un tostado a mayor temperatura por menor tiempo.

El contenido de antocianinas en el maíz y en las maltas fue mayor por espectrofotometría que por HPLC. Este mismo comportamiento también es reportado por Abdel-Aal *et al.*, (2006) y Lao y Giusti (2016), estos últimos indican que se debe a la baja especificidad del método, debido a que la medición única a 535nm considera que la respuesta se debe únicamente a antocianinas. Sin embargo otros pigmentos rojos, como filobafenos, y su unidad de construcción, 3-desoxianocianinas, se ha reportado que se encuentran en maíz morado además de las antocianinas monoméricas y poliméricas (Selinger y Chandler, 1999; Winkel-Shirley, 2001). Abdel-Aal *et al.* (2006) encontraron que los desoxianocianinas representaron alrededor del 50% de las antocianinas totales. Los filobafenos son pigmentos solubles en alcohol, por lo que el método de las antocianinas totales podría sobrestimar las antocianinas en el grano.

El contenido de antocianinas por HPLC disminuyó un 45.8 % en la malta base respecto al grano. La concentración de antocianinas en las maltas caramelo se encontró entre 31.7 y 47.3 mg CG/kg m.s, siendo significativamente mayor ($p < 0.05$) en la malta 200 °C que no mostró diferencia significativa con la malta 225°C, esta última y la malta 175 °C no presentaron diferencia significativa entre sí, así como las maltas 175 °C y 240 °C que no exhibieron diferencias entre sí, y las maltas tostadas 150, 180 y 240 °C que presentaron una concentración de antocianinas significativamente menor ($p < 0.05$). De manera similar al comportamiento observado por espectrofotometría a 535nm, un tostado a mayor temperatura por menor tiempo tuvo el mismo efecto que uno a menor temperatura por mayor tiempo sobre el contenido de antocianinas cuantificado por HPLC. Las condiciones de temperatura y

tiempo de secado para obtener la malta base (50 °C por 2 días) mostraron el mismo efecto sobre el contenido de antocianinas que las condiciones de tostado para obtener la malta de 200 °C por 1 minuto. En el Anexo A se incluyen el perfil cromatográfico de las antocianinas presentes en el grano de maíz azul de la raza Chalqueño y en las maltas base y caramelo de maíz azul, así como del estándar cianidina-3-glucósido.

8.1.5 Compuestos fenólicos en el maíz azul y en las maltas

Los contenidos de compuestos fenólicos en el maíz azul y en las maltas se presentan en el Cuadro 8. Las concentraciones obtenidas por HPLC corresponden a la suma de los ácidos fenólicos encontrados en extractos orgánicos de las muestras, de manera específica estos ácidos se presentan más adelante.

Cuadro 8. Contenido de compuestos fenólicos en el maíz azul y en las maltas. Media \pm D.E.

Muestra	Compuestos fenólicos (mg eq. ácido gálico/kg m.s)	
	Folin-Ciocalteau	HPLC
Maíz	1307* \pm 62	37.9*
Base	2508 \pm 17	113.3
150 °C-45 min	2448 \pm 14.9 e	104.9
175 °C-20 min	3094 \pm 8.2 bc	104.0
180 °C-15 min	3256 \pm 86.0 a	112.6
200 °C-1 min	2996 \pm 65.7 cd	124.9
225 °C-1 min	2909 \pm 77.0 d	122.6
240 °C-1 min	3175 \pm 5.1 ab	117.6

m.s: masa seca. *: Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) al comparar el maíz azul y la malta base. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las maltas caramelo.

El contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) encontrados en el maíz azul fue 1307 ± 62 mg EAG/kg m.s, valor que se encuentra dentro del rango reportado para la misma variedad de maíz por Salinas-Moreno *et al.*, (2012) (918.9 a 1479.2 mg/kg m.s.), y que a su vez es significativamente menor ($p < 0.05$) a los reportados para variedades peruanas de maíz púrpura por Paucar-Menacho *et al.*, (2017) (16797 mg/kg m.s.) y por Jing *et al.*, (2007) (9500 a 14310 mg/kg m.s).

Durante la germinación, la concentración de CFT aumentó significativamente ($p < 0.05$) alcanzando un valor de 2508 mg EAG/kg m.s. Se ha reportado que la germinación aumenta los niveles de compuestos fenólicos totales en otros granos como el trigo, la cebada, el centeno, el arroz y la avena (Bondia-Pons *et al.*, 2009; Cáceres *et al.*, 2014; Donkor *et al.*, 2012; Tian *et al.*, 2010; Van Hung *et al.*, 2015).

El aumento observado en el contenido de ácidos fenólicos durante el malteado podría deberse a la acción de las esterasas endógenas sintetizadas durante la germinación, que pueden conducir a la liberación de compuestos fenólicos originalmente ligados a las paredes celulares (Maillard *et al.*, 1996, Acosta-Estrada *et al.*, 2014, Adom y Liu, 2012) o a través de la síntesis de *novo* (Krahl *et al.*, 2008, Tomková-Drábková *et al.*, 2015).

El contenido de CFT en la maltas caramelo fluctuó entre 2448 y 3256 mg EAG/Kg m.s, y fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en la malta 180 °C, que no mostró diferencia significativa con la malta 240 °C, esta última no mostró diferencia significativa con la malta 175 °C, las maltas 175 y 200 °C no presentaron diferencia significativa entre sí, así como 200 y 225 °C, y la malta 150 °C fue la que mostró una concentración significativamente menor de CFT. De acuerdo a lo anterior, el tostado a 180 °C por 15 minutos provocó el mismo efecto que el tostado a 240 °C por 1 min. Las condiciones de 150 °C - 45 minutos dieron lugar a un menor contenido de compuestos fenólicos en las maltas caramelo.

Con la finalidad de confirmar estos resultados, se realizó un análisis cromatográfico de los principales compuestos fenólicos en el maíz y en las maltas base y caramelo. El contenido de ácidos fenólicos en la malta base (113.3 mg ácidos/kg m.s) aumentó respecto al grano sin maltar (37.9 mg ácidos/kg m.s). Los contenidos en las maltas caramelo se encontraron entre 104.0 y 113.3 mg ácido/kg m.s., se observa que las concentraciones fueron mayores en las maltas tostadas a mayor temperatura (200, 225 y 240 °C) y dieron menores para las maltas tostadas por mayor tiempo a menor temperatura (150 y 175 °C). Las diferencias en las concentraciones se deben a que el método de HPLC es específico, de manera puntual se identificaron y cuantificaron en los extractos principalmente tres ácidos fenólicos, mientras que en el método de fenoles totales, el reactivo de Folin-Ciocalteu reacciona con otras sustancias reductoras diferentes a los compuestos fenólicos como las melanoidinas, de acuerdo a lo reportado por Pérez-Martínez *et al.* (2010).

Respecto al aumento en el contenido de compuestos fenólicos en las maltas caramelo, el proceso de tostado induce cambios estructurales en las paredes celulares de las plantas provocando una liberación de compuestos fenólicos previamente glicosilados/esterificados de acuerdo a lo reportado por Dewanto *et al.* (2002) y Chandrasekara y Shahidi (2011).

Las concentraciones de ácidos fenólicos en las muestras se presentan en el cuadro 9, el análisis por HPLC indicó la presencia de los ácidos gálico y p-coumárico en el maíz azul, y en las maltas caramelo además de los dos ácidos anteriores también se encontró ácido siríngico. De acuerdo con los resultados, el ácido gálico es el compuesto fenólico libre que se encontró en mayor cantidad en los extractos del maíz azul y de las maltas.

En maíz azul la mayoría de los autores han reportado la presencia principalmente de ácido ferúlico (De la Parra *et al.*, 2007; Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006; López-Martínez *et al.*, 2009), sin embargo nosotros no lo identificamos, lo cual consideramos se puede deber a las condiciones de extracción, y a que no llevamos a cabo una hidrólisis específica para liberarlo,

ya que se reporta que se encuentra unido a través de enlaces éter a fragmentos de lignina, con arabinosilanas por medio de enlaces éster, y también forma puentes diferúlico entre heterosilanas que constituyen la hemicelulosa de la pared celular (Cabrera-Soto *et al.*, 2009). En maíz blanco, Del Pozo-Insfran *et al.*, (2007) reporta la presencia de ácido gálico y p-coumárico; Adom y Liu (2002) en maíz amarillo, reportan los ácidos siríngico, p-coumárico y ferúlico entre otros.

Cuadro 9. Contenido de ácidos fenólicos en el maíz azul y en las maltas base y caramelo. Media \pm D.E.

Muestra	Ac. gálico (mg/kg m.s)	Ac. siríngico (mg/kg m.s)	Ac. p-coumárico (mg/kg m.s)
Maíz	26.1* \pm 1.6	ND	11.8* \pm 0.2
Base	41.4 \pm 6.0	39.7 \pm 0.9	32.2 \pm 0.7
150 °C-45 min	55.0 \pm 1.5 b	33.5 \pm 0.2 c	16.4 \pm 0.5 d
175 °C-20 min	66.9 \pm 5.0 a	20.6 \pm 0.7 d	16.6 \pm 0.8 d
180 °C-15 min	65.4 \pm 2.7 a	30.0 \pm 1.9 cd	17.2 \pm 0.3 cd
200 °C-5 min	41.7 \pm 0.6 c	63.9 \pm 10 a	19.3 \pm 1.4 bc
225 °C-5 min	47.6 \pm 0.9 c	49.2 \pm 3.2 b	25.8 \pm 2.1 a
240 °C-5 min	62.2 \pm 2.9 a	33.7 \pm 2.1 c	21.7 \pm 0.4 b

m.s: masa seca. ND: no detectado.*: Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) al comparar el maíz azul y la malta base. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las maltas caramelo.

El contenido de los ácidos fenólicos fue significativamente mayor en la malta base en comparación con el del grano, y además se identificó el ácido siríngico en la malta base. Como se mencionó anteriormente se ha reportado que durante el germinado se incrementa la concentración de compuestos fenólicos, el incremento en el ácido p-coumárico puede ser explicado de acuerdo a lo reportado por Tomková-Drábková *et al.* (2015), quienes indican que la enzima 4-cumarato-CoA ligasa cataliza la conversión de los tres derivados de ácido cinámico en ácidos fenólicos, uno de ellos el ácido 4-cumárico.

En las maltas caramelo, el contenido de ácido gálico fue significativamente mayor seguido del ácido siríngico y del ácido p-coumárico, los contenidos se encontraron entre 41.7 – 66.9, 20.6 – 63.9 y 16.4 – 25.8 mg/kg m.s., respectivamente. La concentración de ácido gálico en las maltas 175, 180 y 240 °C no mostró diferencia significativa entre sí y fue significativamente mayor a las maltas 150 °C y a su vez a las maltas 200 y 225 °C. Respecto al ácido siríngico, observamos que la concentración fue significativamente mayor en la malta 200 °C seguido de la malta 225 °C y de las maltas 240, 150 y 180 °C que no mostraron diferencia significativa entre sí, y las maltas 180 y 175 °C no mostraron diferencia significativa entre sí y presentaron una concentración significativamente menor. El ácido p-coumárico fue significativamente mayor en la malta 225 °C, seguido de la malta 240 °C que no mostró diferencia significativa con la malta 200 °C, esta última no mostró diferencia

significativa con la malta 180 °C, y las maltas 150 y 175 °C que presentaron concentraciones significativamente menores. En general observamos que las maltas 200 y 225 °C mostraron las menores cantidades de ácido gálico y por el contrario las mayores cantidades de ácido siríntrico y p-coumárico, mientras que las maltas 175 y 180 °C presentaron las mayores cantidades de ácido gálico y las menores cantidades de ácido siríntrico y p-coumárico, la malta 240 °C mostró cantidades mayores de ácido gálico y menores de ácido p-coumárico y siríntrico, por último la malta 150 °C presentó concentraciones intermedias de ácidos gálico y siríntrico y menores de ácido p-coumárico. De acuerdo a lo anterior el efecto del tostado sobre las concentraciones de los tres ácidos fenólicos fue dependiente de las condiciones de tiempo y temperaturas usadas en el proceso térmico.

8.1.6 Melanoidinas en las maltas

El contenido de melanoidinas en las maltas base y caramelo de maíz azul se presenta en el cuadro 10. La cuantificación de estos compuestos se hizo para evaluar el incremento de su concentración debido al procesamiento térmico.

Cuadro 10. Contenido de melanoidinas en las maltas. Media \pm D.E.

Muestra	Melanoidinas (mg/kg m.s)
Maíz	ND
Base	1071* \pm 41
150 °C-45 min	4870 \pm 388 e
175 °C-20 min	6728 \pm 61 b
180 °C-15 min	6085 \pm 82 c
200 °C-1 min	4708 \pm 154 e
225 °C-1 min	5386 \pm 73 d
240 °C-1 min	8929 \pm 347 a

m.s: masa seca. *: Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) al comparar el maíz azul y la malta base. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las maltas caramelo. ND: no detectado.

Durante el malteado el contenido de melanoidinas aumentó debido a los procesos térmicos, en la malta base su concentración fue de 1071 \pm 41 mg/kg m.s., mientras que en las maltas tostadas fluctuó entre 4708 a 8929 mg/kg de m.s. El contenido significativamente mayor lo presentó la malta 240 °C, seguido de las maltas 175, 180, 225 y de las maltas 200 y 150 °C que presentaron concentraciones significativamente menores. La malta 200 °C además de presentar la menor cantidad de melanoidinas también presentó el mayor concentración de antocianinas, revelando con ello un tostado menos intenso. El efecto del tostado sobre el contenido de melanoidinas fue dependiente de las condiciones de temperatura y tiempo empleadas, por un lado el tostado a la mayor temperatura de tostado (240 °C - 1 min) fue

significativamente mayor, mientras que el tostado a la menor temperatura (150 °C – 45 min) por el mayor tiempo presentó un contenido de melanoidinas significativamente menor.

8.1.7 Capacidad antioxidante en el maíz azul y en las maltas

Los valores de capacidad antioxidante del maíz y de la malta base determinados por ABTS y DPPH se presenta en el cuadro 11, donde podemos observar que por ABTS las capacidades antioxidantes entre el maíz y la malta base no fueron significativamente diferentes, por el contrario, por DPPH se observó una capacidad significativamente mayor en la malta base que en el grano sin maltear, lo que nos indica la contribución de los compuestos a la capacidad antioxidante, ya que en la malta base aunque presentó una menor cantidad de antocianinas, las concentraciones de compuestos fenólicos y melanoidinas fueron mayores.

Cuadro 11. Capacidad antioxidante por ABTS y DPPH en el maíz azul y la malta base. Media \pm D.E.

Muestra	ABTS (g equivalentes de Trolox/kg m.s)	DPPH (g equivalentes de Trolox/kg m.s)
Maíz	78.3 \pm 4.1	51.7 \pm 7.6 *
Base	83.8 \pm 7.4	78.3 \pm 4.4

m.s: masa seca. *: Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) al comparar las muestras.

La capacidad antioxidante por los métodos de ABTS y DPPH de las maltas caramelo se presenta en la Figura 15. Los valores de capacidad antioxidante equivalentes de Trolox de las diferentes maltas caramelo fueron mayores al medir por DPPH (162.8 - 214.8 mg ET/kg m.s) que por ABTS (115.9 - 135.8 mg ET/kg m.s). Serpen *et al.* (2007), al evaluar la actividad antioxidante en materiales insolubles de alimentos, ingredientes de alimentos y de productos de reacción de Maillard (PRM), observaron que el ABTS suele ser más sensible a los compuestos que contienen fenoles, mientras que DPPH es más sensibles a los PRM. Lo anterior explica lo que observamos en los extractos metanólicos de las maltas, debido a que las especies que se encontraron en mayor cantidad fueron melanoidinas seguidas de compuestos fenólicos totales.

Varios autores han reportado que las melanoidinas contribuyen en gran medida a la actividad antioxidante general de ciertos alimentos, tales como el café tostado (Borrelli *et al.*, 2002; Delgado-Andrade y Morales, 2005; Pérez-Hernández *et al.*, 2012), maltas caramelo de cebada (Coghe *et al.*, 2006) y en maltas tostadas de quinoa (Carciochi *et al.*, 2016).

Por ABTS la capacidad antioxidante fue significativamente mayor en las maltas 240 y 180 °C y no mostraron diferencia significativa con la malta 175 °C, por el contrario fue significativamente menor en las maltas 225 y 150 °C. Con lo que confirmamos lo indicado por Serpen *et al.*, (2007), ya que las maltas 240 y 180 °C fueron las que presentaron las mayores concentraciones de compuestos fenólicos totales y las maltas 225 y 150 °C fueron las que presentaron las menores.

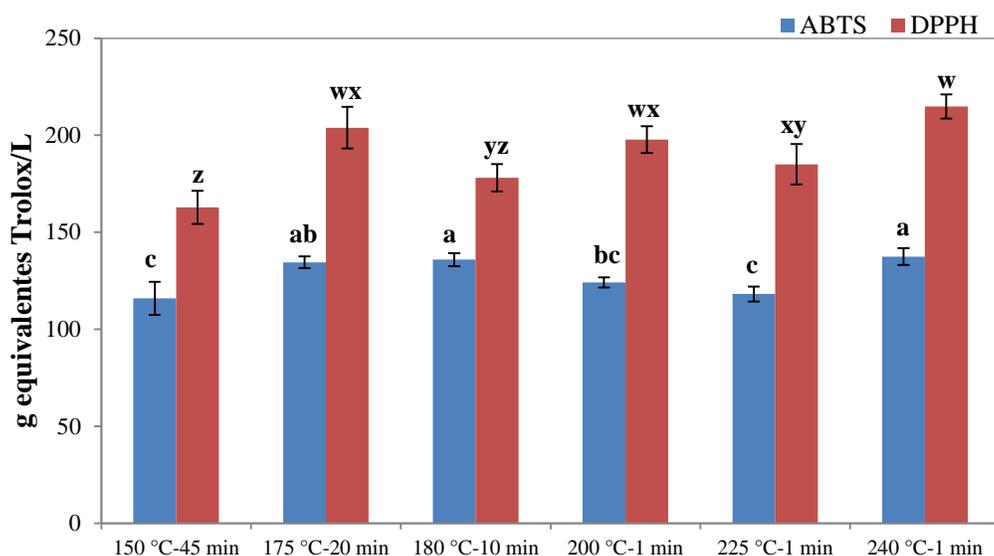


Figura 15. Capacidad antioxidante por ABTS y DPPH de las maltas caramelo de maíz azul. Las letras de la a-c indican diferencia significativa entre las maltas por el método de ABTS y las letras w-z por el método de DPPH.

Por DPPH la malta que presentó la capacidad antioxidante significativamente mayor fue 240 °C, y no mostró diferencia significativa con las maltas 200 y 175 °C, por el contrario la malta 150 °C mostró una capacidad antioxidante significativamente menor. La tendencia de la respuesta antioxidante por DPPH fue la misma que se observó en el contenido de melanoidinas a excepción de la malta 200 °C, que presentó un contenido de melanoidinas significativamente menor, pero que mostró el mayor contenido de antocianinas, por lo que consideramos que la respuesta antioxidante también fue debida a la presencia de estos compuestos fenólicos.

8.2. Caracterización química y capacidad antioxidante de las cervezas de maíz

8.2.1 Azúcares reductores totales y contenido alcohólico

A continuación se presentan los contenidos de azúcares reductores en el mosto, cerveza verde y cerveza madura de cada uno de los ocho estilos de cervezas de maíz azul.

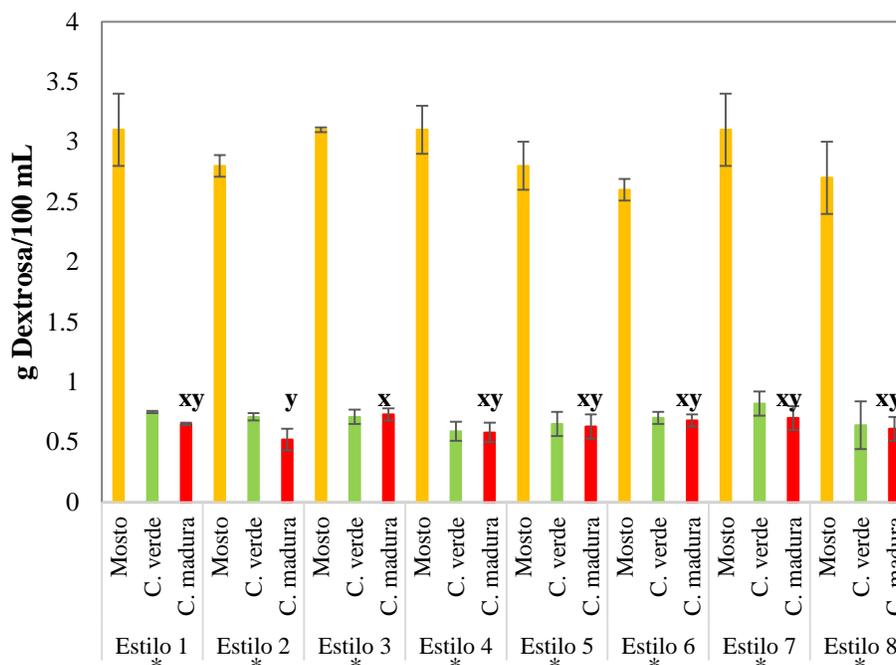


Figura 16. Azúcares reductores totales de los estilos de cervezas de maíz azul. Media de dos repeticiones \pm D.E. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los estilos ($p < 0.05$) por el método de Tukey. *: Indica diferencia significativa en ese estilo a través de las etapas del proceso.

El contenido total de azúcares reductores determinado en los mostos fue de 2.6 a 3.1 g glucosa/100 mL. El consumo de los azúcares reductores durante la fermentación fue de 1.9 a 2.5 g glucosa/100 mL (cantidad determinada en la cerveza verde). Se observaron diferencias significativas en los azúcares reductores totales en cada estilo durante los tres pasos del proceso.

Este rango de concentraciones de azúcares presentes en el mosto nos da información de que los procesos hidrolíticos (proteólisis y citólisis) durante la germinación pudieron no haber sido suficientes para permitir la exposición del almidón a la acción de las amilasas durante el macerado, también durante la germinación una baja cantidad de amilasas se pudieron haber formado, y por otro el tiempo de maceración pudo no haber sido suficiente para permitir la acción de las proteasas, arabinosilasas y amilasas, en todos los casos se necesita una mayor investigación para confirmar estas posibilidades.

Los contenidos de azúcares reductores totales en el mosto permitieron obtener los siguientes contenidos de etanol en las cervezas verdes y maduras (Figura 17).

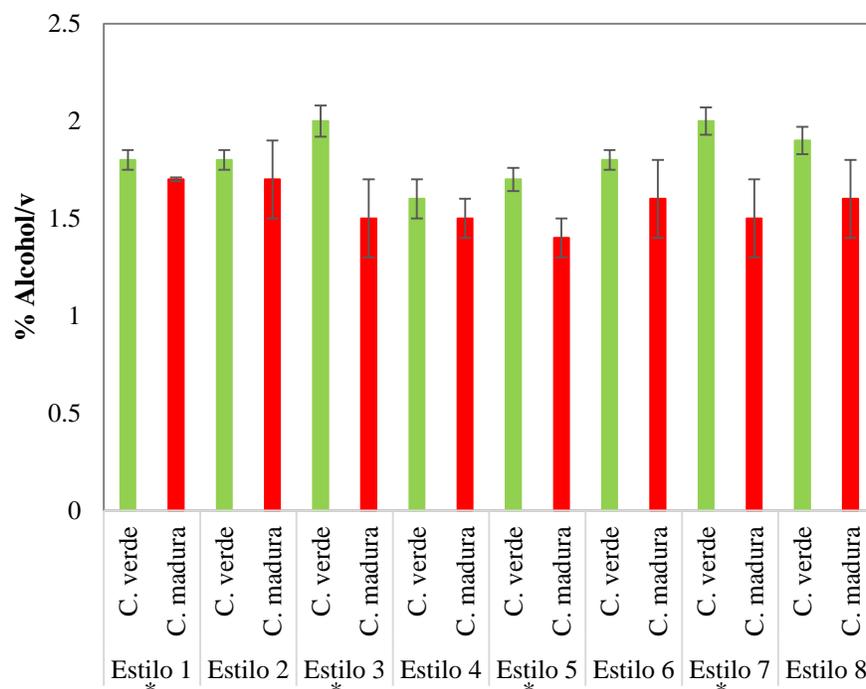


Figura 17. Contenido de alcohol en los estilos de cervezas de maíz azul. Media de dos repeticiones \pm D.E. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los estilos ($p < 0.05$) por el método de Tukey. *: Indica diferencia significativa en ese estilo a través de las etapas del proceso.

El contenido de alcohol producido en las cervezas verdes fue entre 1.6 a 2.0% (v/v). No hubo diferencias significativas en el contenido de alcohol en las cervezas maduras, los cuales contuvieron entre 1.4 y 1.7% alcohol/v. El contenido de alcohol en los estilos 1, 3, 5 y 7 disminuyó significativamente durante la maduración, lo que puede ser atribuido a la síntesis de ésteres etílicos, ya que éstos son formados por vía enzimática entre ácidos orgánicos y etanol (Tenge, 2007).

El contenido de azúcares reductores y alcohol en los estilos de cervezas de maíz puede ser atribuido al bajo poder diastásico de la malta de maíz, de acuerdo a lo reportado por Meussdoerffer y Zarnknow (2007) donde diferentes cereales y pseudocereales fueron malteados a las mismas condiciones y los poderes diastásicos encontrados para amaranto y quinoa fueron 88 y 81, respectivamente, y en cebada, avena, trigo, sorgo y maíz azul fueron 311, 269, 405, 83 y 82, respectivamente.

8.2.2 pH y acidez total

En la Figura 18 se presentan los valores de pH de los estilos de cervezas de maíz azul observados durante las etapas del proceso.

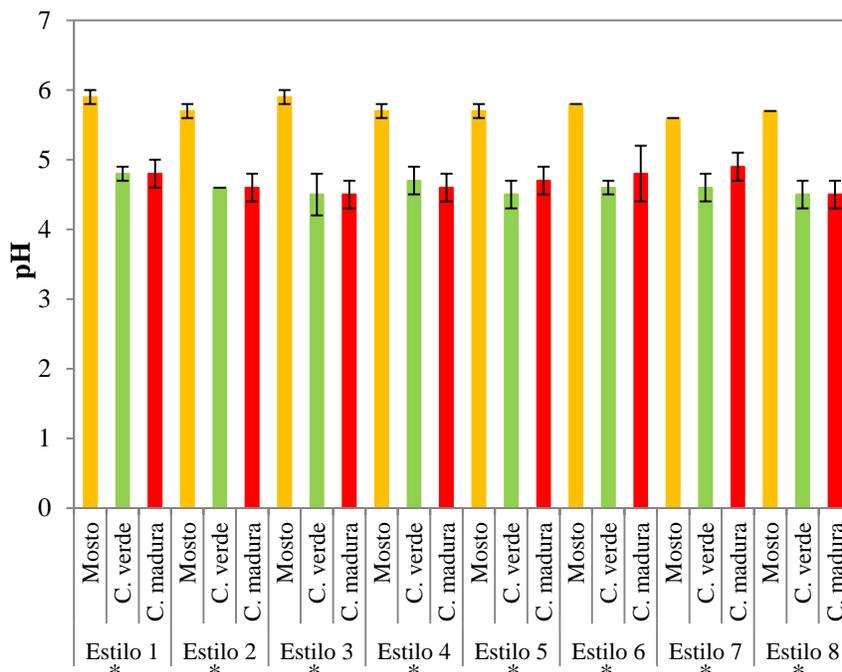


Figura 18. pH de los estilos de cervezas de maíz azul. Media de dos repeticiones \pm D.E. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los estilos ($p < 0.05$) por el método de Tukey. *: Indica diferencia significativa en ese estilo a través de las etapas del proceso.

Los valores de pH en los mostos se encontraron entre 5.6 - 5.9, y en cervezas maduras entre 4.5 - 4.8; estos valores están de acuerdo a valores reportados para mostos (5.5-5.95) y cervezas de cebada (4.3-4.6) (Kreis, 2007; Eßlinger, 2007), así como en mostos y cervezas de malta de arroz los cuales presentaron valores de pH entre 5.20 - 5.41 y 4.59 - 5.12, respectivamente (Mayer *et al.*, 2016). En cervezas maduras, no se encontraron diferencias significativas de pH entre estilos. Se observaron diferencias significativas de pH en los estilos durante las tres etapas del proceso.

Los valores de acidez total de los estilos de cervezas de maíz azul durante las etapas del proceso se presentan en la Figura 19.

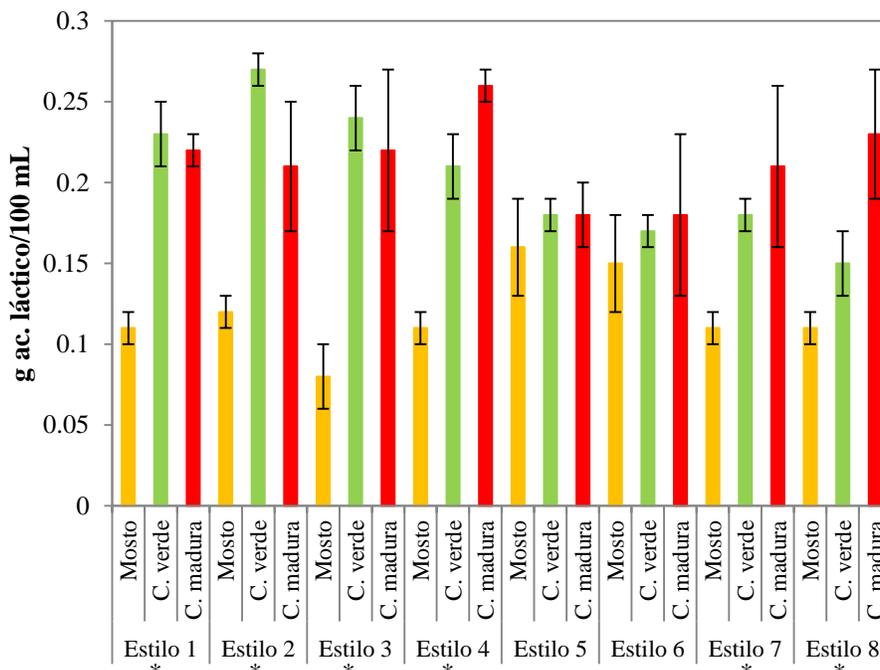


Figura 19. Acidez total de los estilos de cervezas de maíz azul. Media de dos repeticiones \pm D.E. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los estilos ($p < 0.05$) por el método de Tukey. *: Indica diferencia significativa en ese estilo a través de las etapas del proceso.

Los valores de acidez total se encontraron en el rango entre 0.18 - 0.26 g de ácido láctico por 100 mL, los cuales corresponden a 0.12 y 0.17 g de ácido acético por 100 mL; estos valores fueron más bajos que los valores reportados por Popescu *et al.*, quienes reportaron valores de acidez total de 2.7-3.2 g ácido acético/L para cervezas light y de 3.8-4.1 para cervezas oscuras de cebada.

Se observaron diferencias significativas en la acidez total de los estilos de cervezas de maíz excepto para los estilos 5 y 6 durante las tres etapas del proceso. La acidez total de las cervezas maduras es significativamente mayor que en los mostos debido a la formación de ácidos orgánicos volátiles (acético, fórmico) y ácidos no volátiles (pirúvico, málico, cítrico, láctico) obtenidos a partir de aminoácidos por desaminación durante la fermentación (Eßlinger, 2007).

8.2.3 Unidades de amargor e iso- α -ácidos

Los valores de unidades de amargor de los estilos de cervezas de maíz azul durante los estados del proceso se muestran a continuación en la Figura 20.

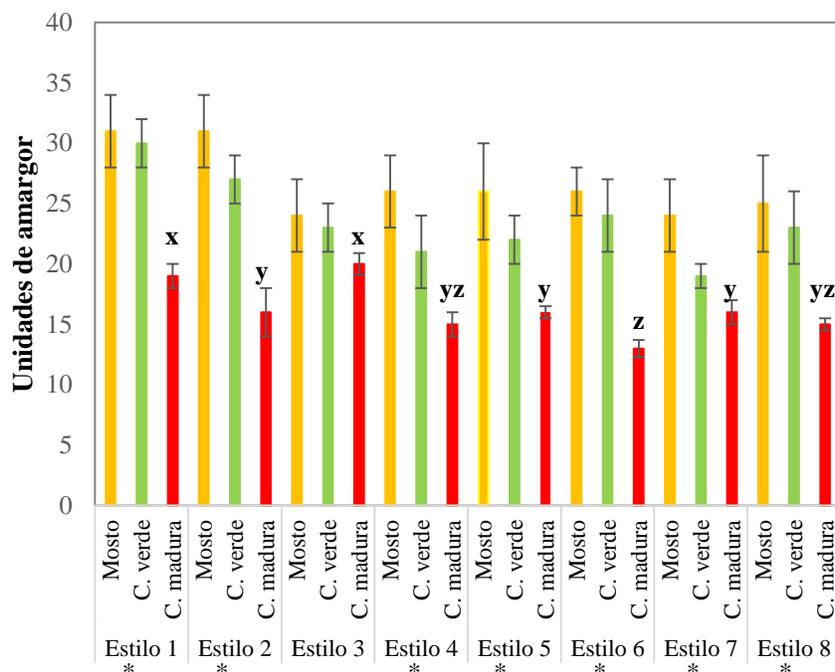


Figura 20. Unidades de amargor de los estilos de cervezas de maíz azul. Media de dos repeticiones \pm D.E. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los estilos ($p < 0.05$) por el método de Tukey. *: Indica diferencia significativa en ese estilo a través de las etapas del proceso.

Las unidades de amargor de los mostos se encontraron entre 24-31 y en la cerveza madura entre 13-20. Las cervezas maduras de los estilos 1 y 3 presentaron unidades de amargor significativamente mayores. Las unidades de amargor de las cervezas de maíz no fueron significativamente diferentes a cervezas industriales con unidades de 15.8 y 21.0 (Moura-Nunes *et al.*, 2016).

Todos los estilos de cervezas de maíz mostraron una disminución significativa de las unidades de amargor durante las etapas del proceso, a excepción del estilo 3. Este comportamiento coincide con lo reportado por Popescu *et al.*, quien observó que las unidades de amargor disminuyeron gradualmente durante el proceso (ebullición, fermentación y embotellado), con valores de unidades de 32-35 en los mostos, 23-26 en cerveza verde y entre 18-21 en cervezas light de cebada.

A continuación en la Figura 21 se presentan los valores de iso- α -ácidos determinados por HPLC de los estilos de cervezas de maíz durante las etapas del proceso.

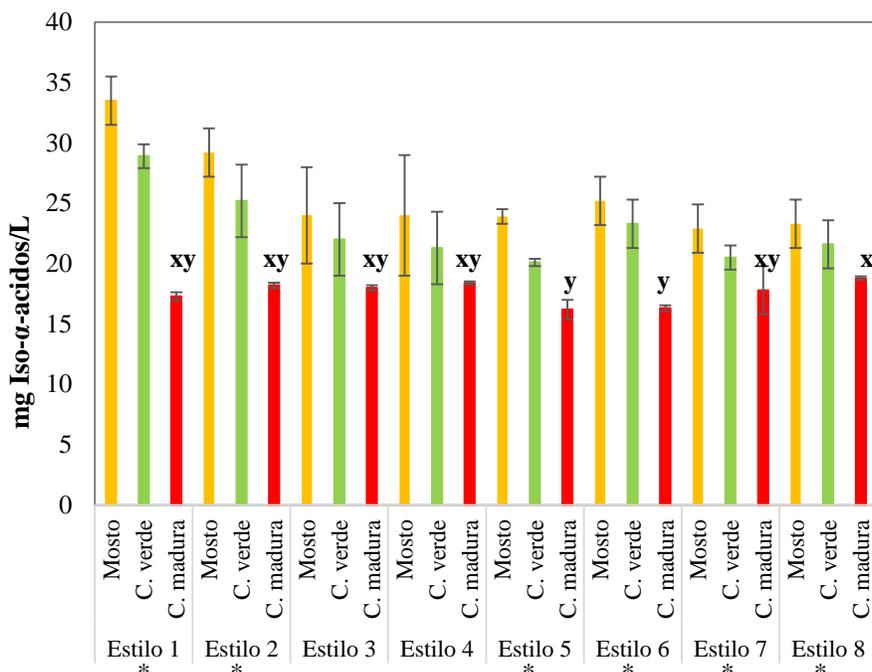


Figura 21. Contenido de iso- α -ácidos de los estilos de cervezas de maíz azul. Media de dos repeticiones \pm D.E. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los estilos ($p < 0.05$) por el método de Tukey. *: Indica diferencia significativa en ese estilo a través de las etapas del proceso.

Los *cis*- y *trans*-iso- α -ácidos son compuestos que imparten el sabor amargo a la cerveza; en el presente estudio fueron medidos por HPLC y la concentración total se encontró entre 21.4-33.5 mg/L en el mosto, y 15.2-21.3 mg/L en la cerveza madura. La cerveza madura del estilo 8 presentó una concentración significativamente más alta de iso- α -ácidos. Con excepción de los estilos 3 y 4, todos los estilos de cervezas de maíz mostraron una disminución significativa de compuestos de amargor durante las tres etapas del proceso.

Los estilos 3, 4, 7, y 8 fueron preparados con una mayor cantidad de lúpulo (11% mayor, respecto a los otros estilos), de los cuales únicamente los estilo 3 y 8 mostraron una concentración significativamente mayor de compuestos de amargor, de acuerdo a lo determinado por el método espectrofotométrico y por HPLC. La cantidad de compuestos de amargor en los estilos 4, 6 y 8 en la cerveza madura fueron significativamente mayores por HPLC que por el método espectrofotométrico, mientras que los estilos 1 y 3 presentaron el comportamiento opuesto y los estilos restantes no mostraron diferencias significativas en estos compuestos por ambos métodos.

8.2.4 Cis- y trans-iso- α -ácidos

Las concentraciones de *cis*-iso- α -ácidos en los estilos de cervezas de maíz azul durante los estados del proceso se presentan en la Figura 22.

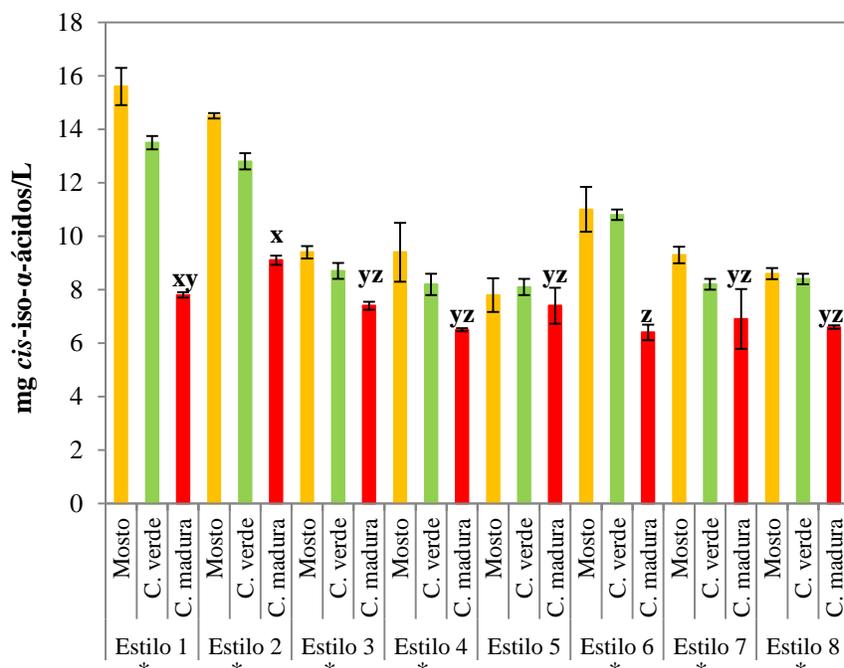


Figura 22. Contenido de *cis*-iso- α -ácidos de los estilos de cervezas de maíz azul. Media de dos repeticiones \pm D.E. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los estilos ($p < 0.05$) por el método de Tukey. *: Indica diferencia significativa en ese estilo a través de las etapas del proceso.

La concentración de *cis*-isómeros fue significativamente menor comparada con *trans*- en el mosto y cerveza verde de todos los estilos a excepción del estilo 2. Las cantidades de *trans*-isómeros son resultado de la energía de activación de formación, 9 KJ/mol, más baja que los *cis*-isómeros (Jaskula *et al.*, 2008).

Concentraciones significativamente mayores de *cis*-isómeros en mosto, que disminuyeron durante la fermentación y maduración fueron observadas en todos los estilos, excepto en el estilo 5. En las cervezas maduras, el estilo 2 tuvo una concentración significativamente mayor de *cis*-iso- α -ácidos que los otros estilos.

A continuación en la Figura 23 se presentan las concentraciones de *trans*-iso- α -ácidos en los estilos de cervezas de maíz durante las etapas del proceso. Se observaron concentraciones de *trans*-isómeros significativamente mayores en el mosto, los cuales disminuyeron durante la fermentación y maduración en todos los estilos. Durante la fermentación y maduración de las cervezas de maíz una disminución en la concentración de ambos compuestos (*cis*- y *trans*-) fue observada; en cerveza madura el estilo 8 tuvo una concentración significativamente mayor de *trans*-isómeros que los otros estilos, a excepción del estilo 4.

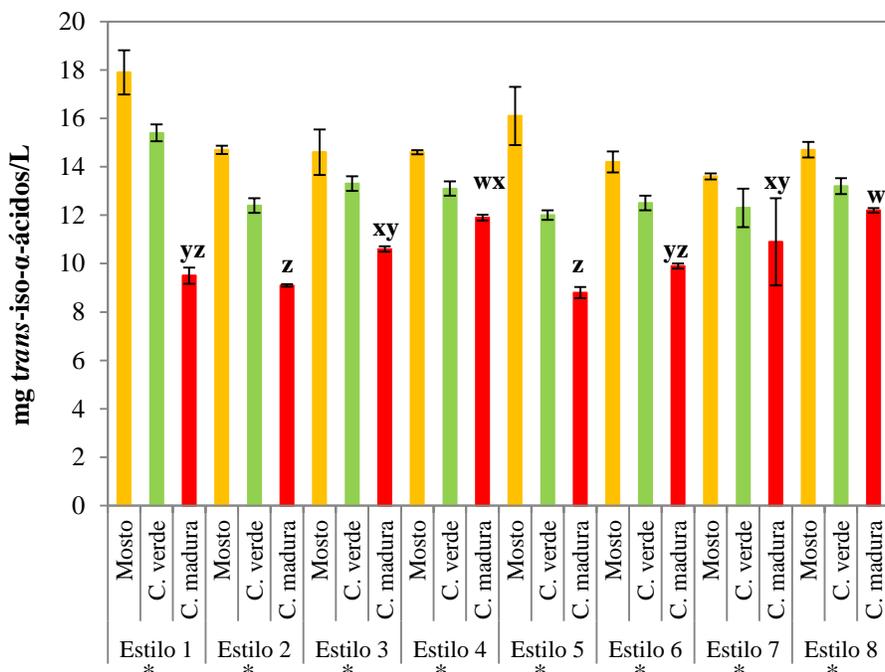


Figura 23. Contenido de *trans*-iso- α -ácidos de los estilos de cervezas de maíz azul. Media de dos repeticiones \pm D.E. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los estilos ($p < 0.05$) por el método de Tukey. *: Indica diferencia significativa en ese estilo a través de las etapas del proceso.

En los mostos de cebada durante la ebullición alrededor de 50% de los α -ácidos se isomeriza y menos del 25% del potencial de amargor sobrevive en la cerveza (Caballero *et al.*, 2012). Factores como el pH, la densidad del mosto, velocidad de adición, producto(s) de lúpulo utilizado, presencia de cationes divalentes, duración y temperatura de ebullición, y grado de dispersión de α -ácidos después de la adición de lúpulo tienen influencias importantes en el rendimiento de isomerización (Jaskula *et al.*, 2008). La disminución del contenido de iso- α -ácidos de las cervezas de maíz, a través del proceso, también se presenta en cervezas de cebada, durante las etapas de fermentación, maduración y filtración (Jaskula *et al.*, 2008), debido a que estos compuestos son muy susceptibles a la foto-oxidación (Kao y Wu, 2013) y oxidación asistida por especies reactivas de oxígeno (Jaskula *et al.*, 2008). Estudios indican que los electrones de iso- α -ácidos son liberados en presencia de un aceptor de electrones adecuado, que no requiere necesariamente la participación de oxígeno (Vanderhaegen *et al.*, 2006).

La determinación de compuestos de amargor por HPLC permitió observar los cambios específicos de iso-ácidos durante los estados del proceso de elaboración de la cerveza, así como la concentración específica de cada isómero. En el Anexo B se incluye un cromatograma de los compuestos de amargor en una cerveza de maíz.

8.2.5 Antocianinas y compuestos fenólicos totales

Las concentraciones de antocianinas totales en los estilos de cervezas de maíz azul durante los estados del proceso se muestran a continuación en la Figura 24.

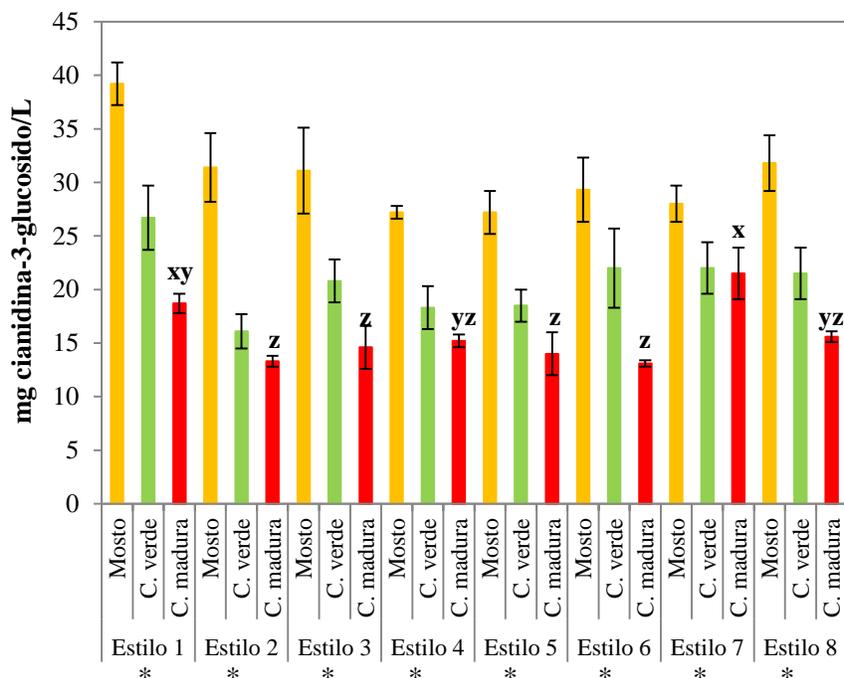


Figura 24. Contenido de antocianinas totales de los estilos de cervezas de maíz azul. Media de dos repeticiones \pm D.E. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los estilos ($p < 0.05$) por el método de Tukey. *: Indica diferencia significativa en ese estilo a través de las etapas del proceso.

En las cervezas maduras, el estilo 7 presentó el contenido de antocianinas totales significativamente mayor (19.4 ± 0.2 mg cianidina-3-glucosido/L) que los otros estilos, excepto el estilo 1 (18.7 ± 0.9 cianidina-3-glucosido/L). En todos los estilos se observó una disminución significativa de antocianinas totales durante las etapas del proceso, principalmente durante la fermentación. La estabilidad de estos compuestos es afectada por muchos factores como el pH, temperatura de almacenamiento, concentración, la presencia de enzimas oxidantes, luz, oxígeno, proteínas y otros (Castañeda-Ovando *et al.*, 2011). Dos posibles mecanismos se han propuesto para la degradación de antocianinas durante la fermentación y maduración de las cervezas de maíz: 1) la degradación puede ser debida a la formación de complejos antocianinas con taninos y proteínas, como es descrito por Jing y Guisti (2007) quienes usando maíz azul, evaluaron diferentes condiciones de extracción y aplicaron una proteasa neutra a los extractos, ésta descompuso eficazmente la proteína principal que se creía contribuía a la complejación de antocianinas; en nuestro sistema, un precipitado de color rosa fue observado en el fondo del fermentador y de las botellas ámbar en donde se envasó la cerveza, lo cual consideramos se debió a la formación del complejo anteriormente mencionado; 2) la estabilidad del color de las antocianinas en soluciones acuosas depende de equilibrio de cuatro especies debido a cambios de pH, protonación y

reacciones de hidratación; a pH entre 4-6, se presenta ataque nucleofílico por agua a C-2 que produce formas hemiacetales incoloras (pseudobases carbinol), que pueden tener apertura del anillo para producir chalconas amarillas (Castañeda-Ovando *et al.*, 2011). Las reacciones anteriores pudieron ocurrir en el sistema debido al pH de las muestras durante las etapas del proceso.

A continuación se presentan las concentraciones de polifenoles totales en los estilos de cervezas de maíz durante las etapas del proceso.

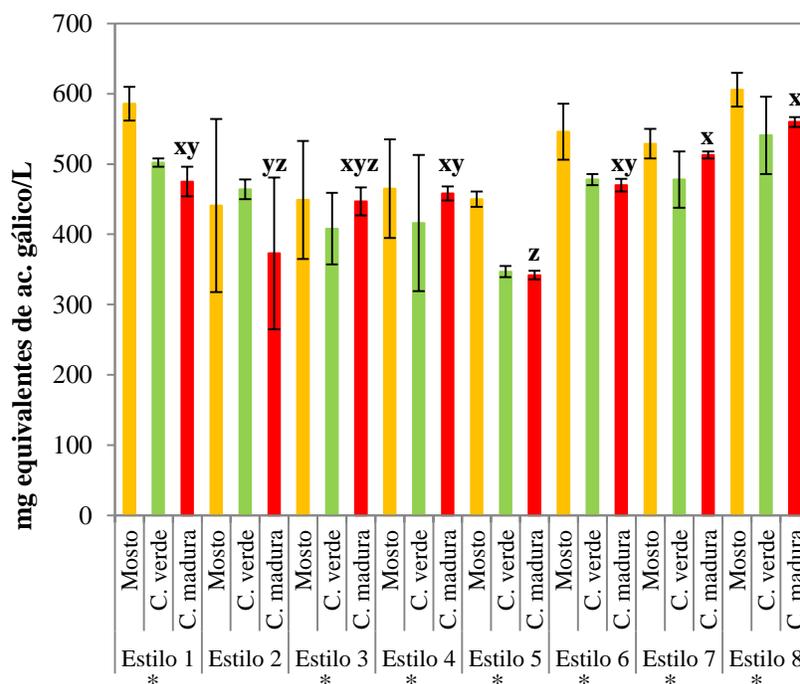


Figura 25. Contenido de polifenoles totales de los estilos de cervezas de maíz azul. Media de dos repeticiones \pm D.E. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los estilos ($p < 0.05$) por el método de Tukey. *: Indica diferencia significativa en ese estilo a través de las etapas del proceso.

Los contenidos de polifenoles totales en las cervezas maduras se encontraron entre 342-560 mg equivalentes de ácido gálico por litro. En cervezas maduras, los estilos 7 y 8 mostraron concentraciones significativamente mayores de polifenoles totales a excepción de los estilos 1, 3, 4 y 6. En general altos contenidos de polifenoles totales fueron encontrados en los estilos elaborados con malta caramelo, lo que se pueden atribuir a las melanoidinas presentes en la malta, pues se reporta que dan respuesta positiva con el reactivo de Folin-Ciocalteu (Pérez-Martínez *et al.*, 2010). En la mayoría de los casos, un alto contenido de compuestos fenólicos en la cerveza madura es debido al uso de más chile y lúpulo. Durante las etapas del proceso hubo una disminución del contenido de polifenoles totales, con cambios significativos en la concentración de todos los estilos excepto el estilo 2.

8.2.6 Capacidad antioxidante por ABTS y DPPH

La figura 26 se presenta la capacidad antioxidante por ABTS en los estilos de cervezas de maíz azul durante los estados del proceso.

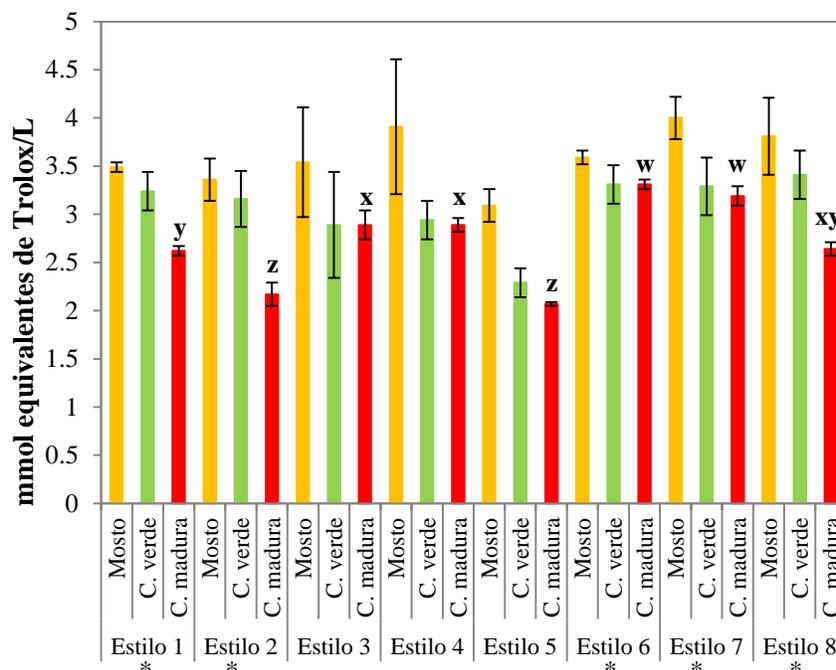


Figura 26. Capacidad antioxidante por ABTS de los estilos de cervezas de maíz azul. Media de dos repeticiones \pm D.E. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los estilos ($p < 0.05$) por el método de Tukey. *: Indica diferencia significativa en ese estilo a través de las etapas del proceso.

Todas las cervezas maduras mostraron considerables niveles de capacidad antioxidante usando este método y los valores se encontraron entre 2.07-3.31 mmol equivalentes de Trolox por litro. En cerveza madura, la capacidad antioxidante fue significativamente mayor en los estilos 6 y 7, ambos elaborados con malta caramelo, y en el primer caso con más chile y en el segundo con más lúpulo (este estilo presentó la mayor concentración de antocianinas). De acuerdo a lo anterior, se observó un efecto sinérgico de los antioxidantes que provienen de la malta caramelo (antocianinas y melanoidinas), chile (flavonoides) lúpulo (chalconas preniladas). Diferencias significativas fueron observadas en los estilos 1, 2, 6, 7 y 8 durante las etapas del proceso.

Los resultados obtenidos fueron significativamente mayores a los reportados por Moura-Nunes *et al.* (2016) (0.9-1.75 mmol ET/L) que analizaron diferentes tipos y estilos de cervezas de Brasil; y Zhao *et al.*, (2010) quienes en cervezas lager de mercados de China determinaron capacidades antioxidantes por ABTS entre 0.55-1.95 mmol ET/L. Adicionalmente, con excepción de los estilos 2 y 5, los otros estilos mostraron capacidades significativamente mayores a Zhao *et al.*, (2013) en cervezas de mercados de China (0.16-2.23 ET/L).

Las capacidades antioxidantes por DPPH en los estilos de cervezas de maíz durante las etapas del proceso se muestran a continuación en la Figura 27.

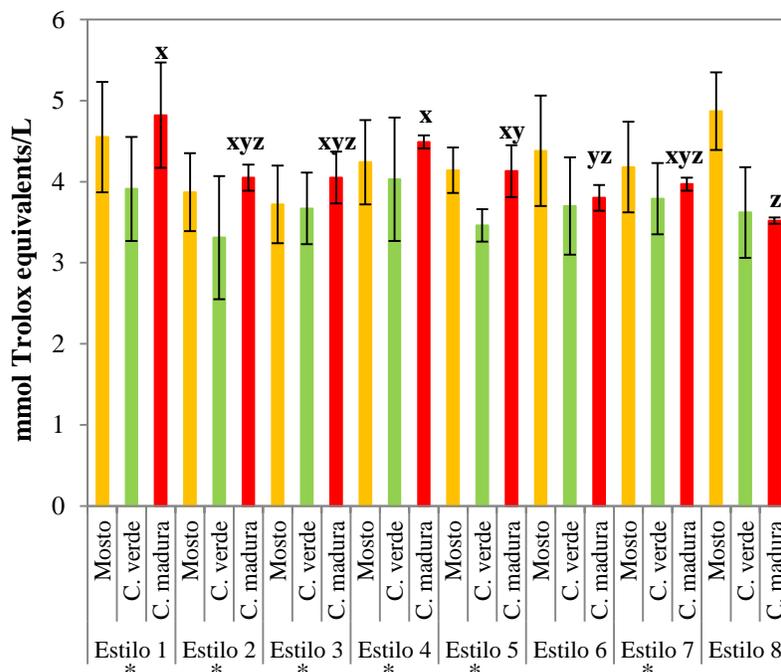


Figura 27. Capacidad antioxidante por DPPH de los estilos de cervezas de maíz azul. Media de dos repeticiones \pm D.E. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los estilos ($p < 0.05$) por el método de Tukey. *: Indica diferencia significativa en ese estilo a través de las etapas del proceso.

Todas las cervezas maduras mostraron fuertes capacidades antioxidantes estimadas por este métodos y los valores se encontraron entre 3.52-4.82 mmol ET/L. Los estilos 1 (menor cantidad de chile y lúpulo) y 4 (mayor cantidad de chile y lúpulo) mostraron una capacidad antioxidante significativamente mayor que las otras formulaciones a excepción de los estilos 2, 3, 5 y 7. El Estilo 8 presentó una capacidad antioxidante significativamente menor, este estilo fue hecho con malta caramelo y alta concentración de chile y de lúpulo. Un efecto sinérgico de los antioxidantes provenientes de las materias primas fue observado, a excepción del estilo 8. Diferencias significativas fueron observadas en todos los estilos de cervezas de maíz durante las etapas del proceso, con excepción de los estilos 6 y 8.

Los resultados obtenidos fueron significativamente mayores a los reportados por Mitic *et al.*, (2014) en diferentes estilos de cervezas de Serbia (0.26-0.83 mmol ET/L), y Zhao *et al.*, (2013) (0.24-0.97 mmol ET/L) y Zhao *et al.*, (2010) (0.24-1.35 mol ET/L). Esto puede ser debido a las diferencias en las muestras de cerveza, especialmente en el uso de chile guajillo en nuestro estudio.

8.2.7 Caracterización de estilos de cervezas de maíz azul por Quimiometría

En análisis previos, se describieron y analizaron individualmente los parámetros químicos determinados durante las etapas del proceso, los cambios en el contenido de los compuestos asociados con la capacidad antioxidante y los cambios inducidos por las diferentes formulaciones (estilos).

Identificar tendencias es fácil de determinar cuando todos los parámetros son evaluados simultáneamente; en este mismo sentido se aplicaron AAJ y ACP para caracterizar los estilos de cervezas maduras, así como para verificar si las diferentes formulaciones tienen un efecto general sobre los parámetros químicos. Los resultados se presentan en las Figuras 28 y 29.

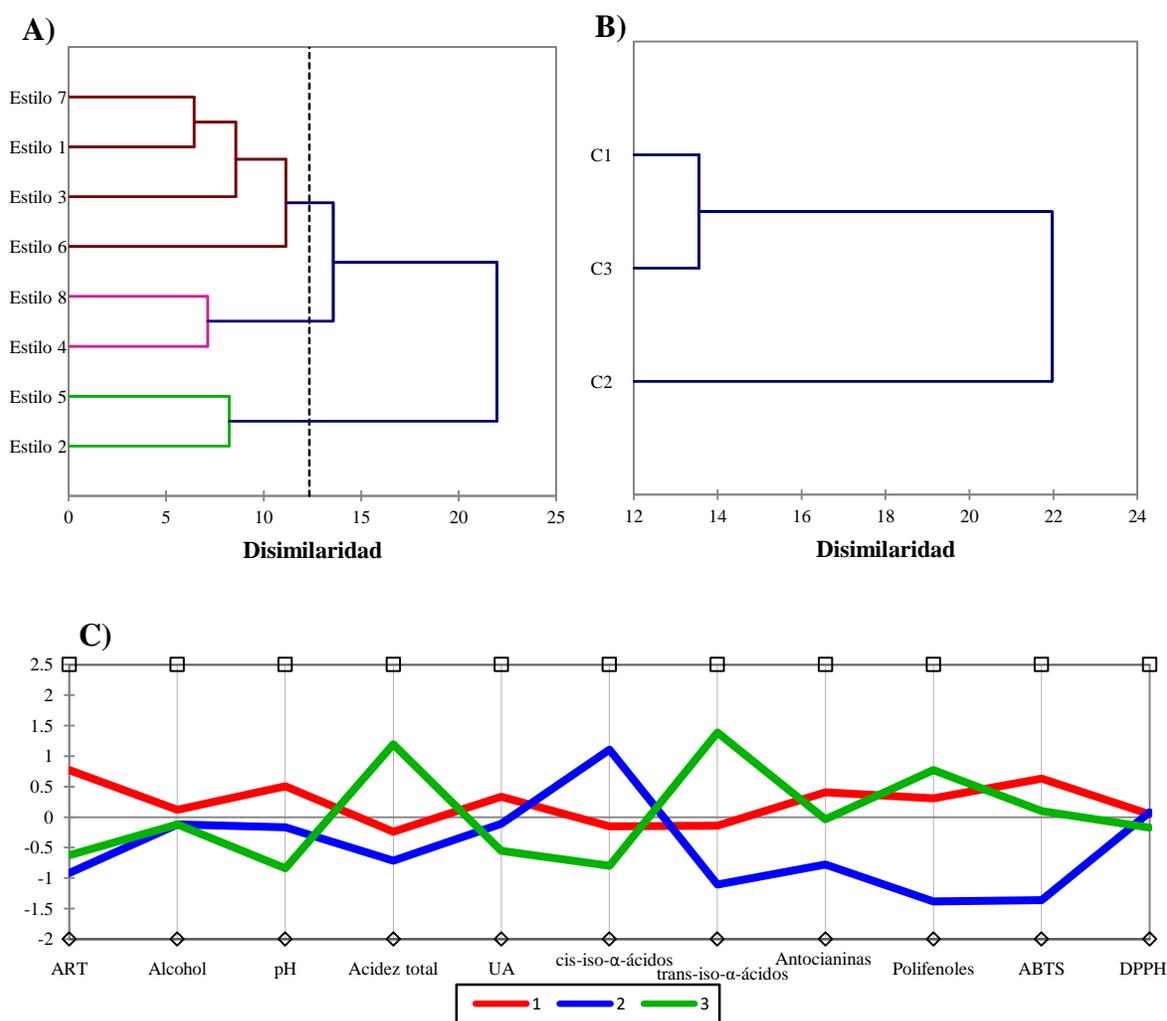


Figura 28. Análisis de agrupamientos jerárquicos (AAJ): A) y B) clasificación dendrográfica y C) perfil de las clases de los estilos de las cervezas de maíz. Las líneas: roja, azul y verde corresponden a las clases 1, 2 y 3, respectivamente. UA: unidades de amargor.

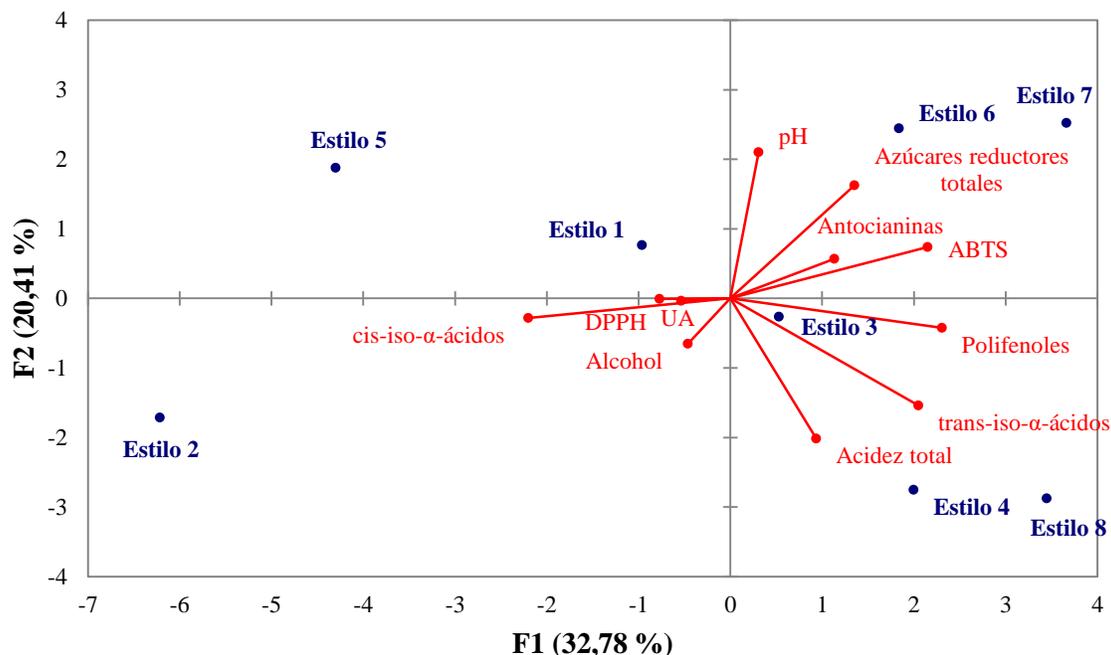


Figura 29. Gráfico de dispersión de puntuación y correlación entre los parámetros químicos analizados y los componentes principales (CP1 + CP2 explican el 53.19% del total de la varianza de la matriz). UA: unidades de amargor.

El análisis de agrupamientos jerárquicos (AAJ) y el análisis de componentes principales (ACP) combinados se han usado para la clasificación de bebidas espirituosas de ciruela (Sádecká *et al.*, 2016) y para la determinación de parámetros de calidad de cervezas (Llario *et al.*, 2006).

De acuerdo al dendograma (Figuras 28A y 28B) tres clases fueron observadas en los estilos de cervezas de maíz. El perfil de clases (Figura 28C) muestra que la clase 1 (estilos 1, 3, 6 y 7) presentó el mayor contenido de azúcares reductores totales, pH, unidades de amargor, antocianinas y capacidad antioxidante por ABTS. La clase 2 incluye los estilos 2 y 5, los cuales mostraron una mayor acidez total y concentración de *trans*-iso- α -ácidos, así como de polifenoles totales. Finalmente la clase 3 (estilos 4 y 8) que presentó una mayor concentración de *cis*-iso- α -ácidos y la menor concentración de *trans*-isómeros, antocianinas, polifenoles y capacidad antioxidante por ABTS. En general, para todas las clases, el contenido de alcohol y la capacidad antioxidante por DPPH fue muy similar y por el contrario, la acidez total y el contenido de los compuestos de amargor fueron muy diferentes.

Los estilos de la clase 1 fueron formulados con: estilos 1 y 3 con 100% malta base y menos cantidad de chile, los estilos 6 y 7 con 15% malta caramelo, los estilos 1 y 6 con menos cantidad de lúpulo, y los estilos 3 y 7 con mayor cantidad de lúpulo. En la clase 2: los estilos 2 y 5 fueron elaborados con menos lúpulo; y la clase 3: los estilos 4 y 8 fueron hechos con más cantidad de chile y de lúpulo.

La Figura 29 muestra la clasificación obtenida por ACP, a través del gráfico de dispersión de puntuación de las muestras en el espacio bidimensional formado por el primer y segundo componente, los cuales explican el 53.19% del total de la varianza. Los parámetros químicos: alcohol, DPPH, y unidades de amargor no contribuyen a la caracterización de los estilos de cervezas de maíz. Los estilos de las clases 1 están dispersos, los estilos 6 y 7 están más cercanos entre sí y se caracterizan por un alto valor de pH, azúcares reductores totales, antocianinas y capacidad antioxidante por ABTS, debido a que ambos estilos se encuentran en la dirección de dichos vectores, es decir, correlacionan positivamente; estilos 1 y 3 están próximos entre sí, el estilo 3 tiene un alto contenido de *trans*-iso- α -ácidos, polifenoles y acidez total, por el contrario, el estilo 1 tiene una baja cantidad de esos compuestos. Los estilos de la clase 2 (2 y 5) están alejados: hacia valores negativos del componente uno y en diferentes cuadrantes del componente dos, el estilo 5 tiene bajos valores de polifenoles, *trans*-iso- α -ácidos y acidez total, por su parte el estilo 2 tiene menores cantidades de azúcares reductores totales, antocianinas y capacidad antioxidante por ABTS, ya que estos estilos se encuentran en dirección contraria a la dirección del vector, lo que significa que correlacionan negativamente. Los estilos de la clase 3 (4 y 8) están cercanos entre sí y tienen alto contenido de acidez total y *trans*-iso- α -ácidos.

Los resultados obtenidos por AAJ y ACP muestran que las diferencias entre los estilos pueden ser debidas a la formulación, y las tres clases que fueron obtenidas presentan diferentes tendencias sobre los parámetros químicos.

8.3. Contenido de antocianinas y caracterización de ácidos fenólicos en cervezas de maíz

8.3.1 Determinación de antocianinas en cerveza de maíz por HPLC

El contenido de antocianinas en las cervezas maduras se encontró entre 190-232 μg de cianidina-3-glucósido por 100 mL. Las diferentes formulaciones no mostraron diferencias significativas en el contenido de estos compuestos, a pesar del uso de una mayor cantidad de malta base (estilos 1 a 4) o de sustituir parte de ésta por malta tostada (estilo 5 a 8), el efecto fue el mismo sobre el contenido de estos compuestos, así como el uso de diferentes cantidades de chile y lúpulo que no proporcionan antocianinas pero tiene el mismo efecto en la estabilidad de las antocianinas.

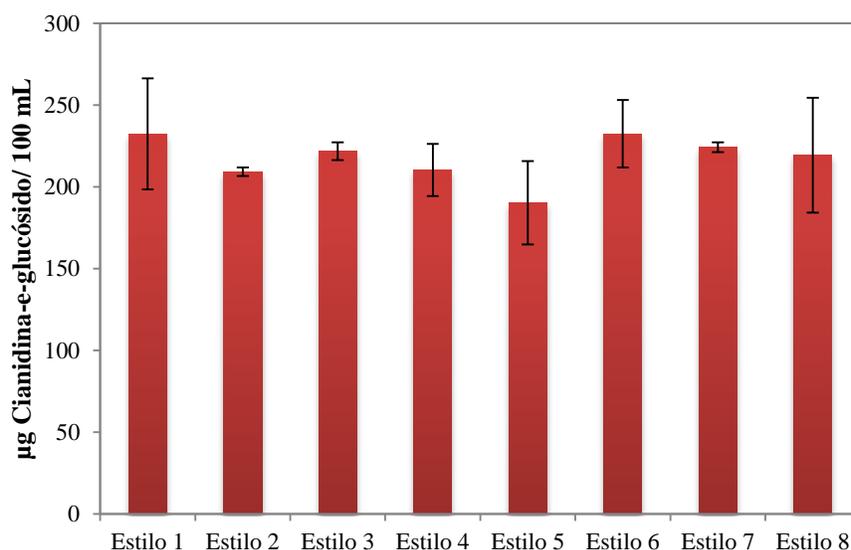


Figura 30. Contenido de antocianinas en los estilos de cervezas de maíz azul. Media \pm D.E.

El contenido de antocianinas de las cervezas de maíz expresado en masa seca se encontró entre 29.4-34.1 mg/Kg. Las cantidades corresponden a aproximadamente a una décima o una novena parte de la cantidad de las antocianinas reportadas por Del Pozo- Insfran *et al.*, (2006) en maíz azul (314 mg/Kg); estos valores indican la proporción de antocianinas que resisten a las etapas del proceso de elaboración de las cervezas de maíz.

La presencia de antocianinas en las cervezas de maíz azul es muy importante desde el punto de vista nutricional, debido a los beneficios a la salud que están asociados a estos compuestos; así como en el aspecto sensorial por su aporte a la coloración de la cerveza.

En el Anexo C se incluye el perfil cromatográfico de las antocianinas presentes en la cerveza de maíz azul y del estándar cianidina-3-glucósido.

8.3.2 Determinación de ácidos fenólicos libres y esterificados en cerveza de maíz

Seis ácidos fenólicos: gálico, protocatéquico, siríngico, p-coumárico, ferúlico y sinápico fueron identificados entre los diferentes estilos de cervezas de maíz, los resultados son presentados en el cuadro 12. Este perfil de compuestos fenólicos está de acuerdo con estudios en cervezas de cebada (Nardini y Ghiselli, 2004; Vanbeneden *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2010; Moura-Nunes *et al.*, 2016).

Cuadro 12. Contenido de ácidos fenólicos de las cervezas de maíz (mg/L).

Ácido	1	2	3	4	5	6	7	8
Gálico								
Libre	Nd	Nd	Nd	Nd	0.4 ± 0.02 d	0.71 ± 0.04 b	0.66 ± 0.01 c	0.77 ± 0.01 a
Esterificado	0.12 ± 0.0 cd	0.11 ± 0.01 cd	0.09 ± 0.0 d	0.24 ± 0.0 b	0.17 ± 0.01 c	0.24 ± 0.04 b	0.24 ± 0.03 b	0.31 ± 0.05 a
Protocatéquico								
Libre	1.36 ± 0.01 a	1.09 ± 0.05 cd	1.23 ± 0.04 b	1.00 ± 0.06 de	1.17 ± 0.03 bc	0.91 ± 0.04 e	1.01 ± 0.01 de	1.08 ± 0.03 cd
Esterificado	0.55 ± 0.02 a	0.43 ± 0.03 b	0.54 ± 0.01 ab	0.52 ± 0.07 ab	0.48 ± 0.04 ab	0.47 ± 0.05 ab	0.48 ± 0.04 ab	0.50 ± 0.04 ab
Siríngico								
Esterificado	0.55 ± 0.06 ab	0.47 ± 0.00 bc	0.47 ± 0.05 bc	0.63 ± 0.06 a	0.36 ± 0.05 c	0.53 ± 0.08 ab	0.60 ± 0.05 ab	0.56 ± 0.03 ab
p-Coumárico								
Libre	0.68 ± 0.02 bc	0.78 ± 0.04 ab	0.31 ± 0.02 d	0.61 ± 0.04 c	0.79 ± 0.10 ab	0.87 ± 0.06 a	0.68 ± 0.01 bc	0.72 ± 0.03 bc
Esterificado	1.26 ± 0.13 b	1.08 ± 0.15 bc	0.98 ± 0.10 c	1.13 ± 0.03 bc	1.02 ± 0.06 bc	1.29 ± 0.12 b	1.61 ± 0.05 a	1.89 ± 0.08 a
Ferúlico								
Libre	1.10 ± 0.08 ab	1.44 ± 0.19 a	1.27 ± 0.07 ab	1.14 ± 0.23 ab	1.02 ± 0.12 b	1.23 ± 0.08 ab	1.04 ± 0.02 b	1.10 ± 0.07 ab
Esterificado	12.96 ± 0.67 abc	11.47 ± 0.44 cd	11.43 ± 0.45 cd	9.78 ± 1.45 d	15.52 ± 1.06 a	11.97 ± 1.65 bcd	13.64 ± 0.90 abc	14.53 ± 0.50 ab
Sinápico								
Esterificado	4.67 ± 0.10 ab	3.79 ± 0.37 bc	3.53 ± 0.44 c	3.32 ± 0.13 c	2.98 ± 0.14 c	4.56 ± 0.74 ab	5.31 ± 0.12 a	5.20 ± 0.25 a
Totales	23.3 ± 0.66	20.7 ± 0.99	19.8 ± 1.03	18.4 ± 1.54	24.0 ± 0.99	22.8 ± 2.43	25.3 ± 0.92	26.6 ± 1.01

Los ácidos protocatequico, p-coumarico y ferúlico fueron identificados como ácidos fenólicos libres en todos los estilos de cervezas y el ácido gálico estuvo presente solo en los

estilos elaborados con malta caramelo (estilos de 5-8). La presencia de ácido gálico como ácido fenólico libre en los estilos hechos con malta caramelo se puede deber al tostado a que se sometió la malta, ya que Dewanto *et al.*, (2002) y Chandrasekara y Shahidi (2011) reportan que el procesamiento térmico incrementa los contenidos de ácidos fenólicos libres y conjugados debido a la liberación de ácidos fenólicos unidos a través de ambos parámetros de tiempo y temperatura de calentamiento en maíz dulce y nuez de la india, respectivamente.

El cuadro 4 muestra que los ácidos fenólicos protocatéquico y ferúlico son los ácidos fenólicos libres presentes en mayor cantidad y que representaron más del 50% del contenido total de compuestos fenólicos individuales presentes en todas las muestras. Los niveles de ácido gálico, protocatéquico, p-cumárico y ferúlico se encontraron en los rangos de 0.45-0.77 mg/L, 0.91-1.36 mg/L, 0.31-0.87 mg/L y 1.02-1.44 mg/L, respectivamente.

No se encontró una tendencia en los ácidos fenólicos libres presentes en las cervezas de maíz por efecto de las diferentes formulaciones. Los resultados están de acuerdo a lo reportado por Zhao *et al.* (2010) en cervezas lager de China para los ácidos protocatéquico, p-coumárico y ferúlico como ácidos fenólicos libres; así como los reportados por Vanbeneden *et al.*, (2008) en diferentes estilos de cervezas de Bélgica para los ácidos p-coumárico y ferúlico.

Los seis ácidos fenólicos identificados en cervezas de maíz fueron ácidos fenólicos esterificados. El ácido ferúlico (9.78-15.52 mg/L) fue el más abundante ácido fenólico esterificado, seguido del ácido sinápico (2.98-5.31 mg/L), p-coumárico (0.98-1.89 mg/L), siríngico (0.36-0.63 mg/L), protocatéquico (0.43-0.55 mg/L) y gálico (0.09-0.31 mg/L). Los ácidos fenólicos esterificados encontrados en la cerveza de maíz con la excepción de los ácidos protocatéquico y ferúlico fueron generalmente mayores en los estilos elaborados con malta tostada y con mayores cantidades de chile y lúpulo. De acuerdo con lo anterior, se observó un efecto aditivo del uso de estos ingredientes. Los ácidos p-coumárico y ferúlico como ácidos fenólicos esterificados estuvieron de acuerdo con lo reportado por Vanbeneden *et al.*, (2008).

Los ácidos hidroxicinámicos como los ácidos p-coumárico, ferúlico y sinápico están asociados principalmente con polisacáridos en las paredes celulares de la planta. En granos de cereales, están principalmente esterificados con arabinoxilanos (Vanbeneden *et al.*, 2008). Los arabinoxilanos son los principales componentes de la pared de la aleurona, testa, el pericarpio y el endospermo en el maíz (Saulnier *et al.*, 1995; Huisman *et al.*, 2000). Algunos estudios de identificación y cuantificación de compuestos fenólicos en maíz azul reportan los ácidos protocatéquico, p-coumárico y ferúlico principalmente. Ácidos ferúlico, p-coumárico, protocatéquico y gálico fueron identificados en maíz blanco procesado en nixtamal (Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006).

En cerveza de cebada, durante el proceso de elaboración, arabinoxilanos son extraídos y solubilizados por arabinoxilan hidrolasas a partir de la malta al mosto (Debyser *et al.*, 1997; Taylor *et al.*, 2013). Los ácidos ferúlico, p-coumárico y sinápico pueden ser liberados por actividad de la cinamoil esterasa durante la maceración (Vanbeneden *et al.*, 2007;

Vanbeneden *et al.*, 2008). Otras enzimas que hidrolizan arabinosilanos, como xilanasas, arabinofuranosidasas y xilosidasas se cree que actúan en sinergia con la cinamoyl esterasa en la liberación de ácidos hidroxycinámicos de sus formas unidas (Sancho *et al.*, 2001). De acuerdo a los ácidos fenólicos encontrados en el presente estudio es probable que este comportamiento que ocurre en cerveza de cebada también pueda ocurrir en cerveza de maíz, sin embargo mucha más investigación necesita ser desarrollada.

La suma de los contenidos de los compuestos fenólicos en los diferentes estilos de cervezas de maíz se encontró en el rango de 18.4 ± 1.54 mg/L (estilo 4) a 26.6 ± 1.01 mg/L (estilo 8). Las variaciones en el contenido de compuestos fenólicos de los estilos de cervezas de maíz pueden ser debido a las diferencias en materias primas. De manera similar a nuestros resultados, el ácido ferúlico fue el mayor fenolico identificado en cervezas de Europa y China (Piazzon *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2010). Además, el ácido sinápico fue observado en cervezas europeas a altas concentraciones Piazzon *et al.*, 2010).

La contribución de ácidos fenólicos a las cervezas de maíz por el chile guajillo y el lúpulo Magnum puede ser baja debido a las cantidades que son usadas en el proceso de elaboración. Niveles predominantes de los ácidos vainílico y clorogénico en extractos acuosos a partir del lúpulo Magnum fueron encontrados (Kowalczyk *et al.*, 2013); mientras que el chile guajillo contiene cantidades importantes de polifenoles totales de acuerdo a lo indicado por Hervert-Hernández *et al.*, (2010), por otro lado Materska y Perucka (2005) reportan que los principales ácidos fenólicos aislados de chile rojo fueron glicósidos de sinapoyl y feruloyl. De acuerdo a lo anterior, los ácidos fenólicos a partir del lúpulo no fueron encontrados en la cerveza, los ácidos sinápico y ferúlico pueden provenir del chile pero principalmente de la malta de maíz azul, de acuerdo a los encontrados en las cervezas de maíz.

8.4. Evaluación sensorial de las cervezas de maíz

8.4.1 Análisis descriptivo cuantitativo

Los descriptores seleccionados por los jueces para caracterizar las cervezas de maíz fueron 4 para apariencia, 19 para olor, 14 para sabor y 6 para sensación en boca; su definición es mostrada en el Anexo E.

Los resultados del análisis sensorial de los atributos de apariencia, olor, sabor y sensación en boca por los jueces entrenados, permitieron la caracterización de los estilos de cervezas de maíz, que se presentan en las Figuras 31-34.

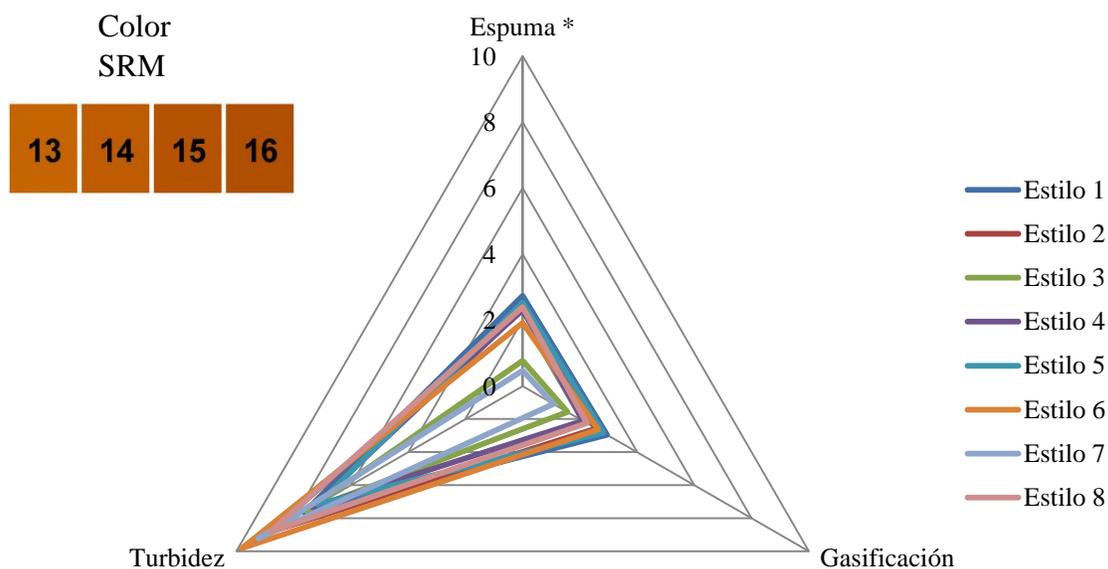


Figura 31. Perfil de **apariciencia** de las cervezas de maíz azul.

*: Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los estilos.

El color de las cervezas de maíz azul se encontró en valores de SRM (Standard Reference Method) entre 13 y 16, que corresponden a un color cobrizo ligero y cobrizo intenso, respectivamente (Figura 31, parte superior izquierda). El color de las muestras es resultado de la extracción de antocianinas, de carotenoides provenientes del chile, de cromóforos provenientes de la malta tostada (en los estilos del 5 al 8) y de los productos de Maillard obtenidos durante la ebullición del mosto, así como de las condiciones a que se sometieron estos compuestos durante el proceso de elaboración.

De los atributos de apariencia, la cantidad de espuma fue significativa en las cervezas de maíz, los estilos 3 y 7 presentaron cantidades significativamente menores (0.6 y 1.8, respectivamente) y los estilos 1, 5 y 8, por el contrario, cantidades significativamente mayores (2.7-2.8), esta prueba de comparaciones múltiples de Tukey se presenta en el Anexo G. De acuerdo con lo anterior, y a lo observado en el laboratorio, en las cervezas de maíz se

requiere una mayor estabilidad de espuma, debido a que al abrir la botella se aprecia buena cantidad de espuma y de gas pero disminuye rápidamente con el tiempo.

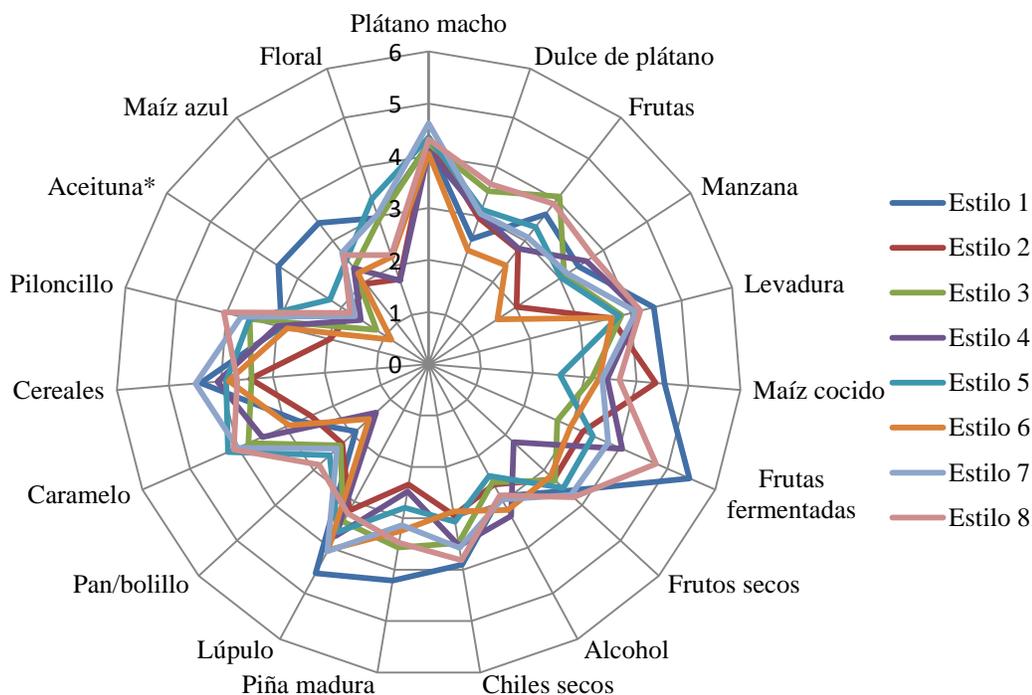


Figura 32. Perfil de olor de las cervezas de maíz azul.
*: Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los estilos.

Un total de diecinueve descriptores de olor fueron asignados a las cervezas de maíz azul por los jueces entrenados. Los perfiles de olor de las muestras en contraste con los de apariencia presentaron mayores diferencias. En general, los atributos de olor que recibieron calificaciones más altas fueron los descriptores de frutas fermentadas, lúpulo, levadura, cereales, plátano macho y piña madura.

De los descriptores de perfil de olor, únicamente aceituna fue significativo, los estilos 3 y 6 fueron calificados por los jueces con un contenido significativamente menor (0.8 y 1.2, respectivamente), y el estilo 1 con una cantidad significativamente mayor (3.4) (Anexo G).

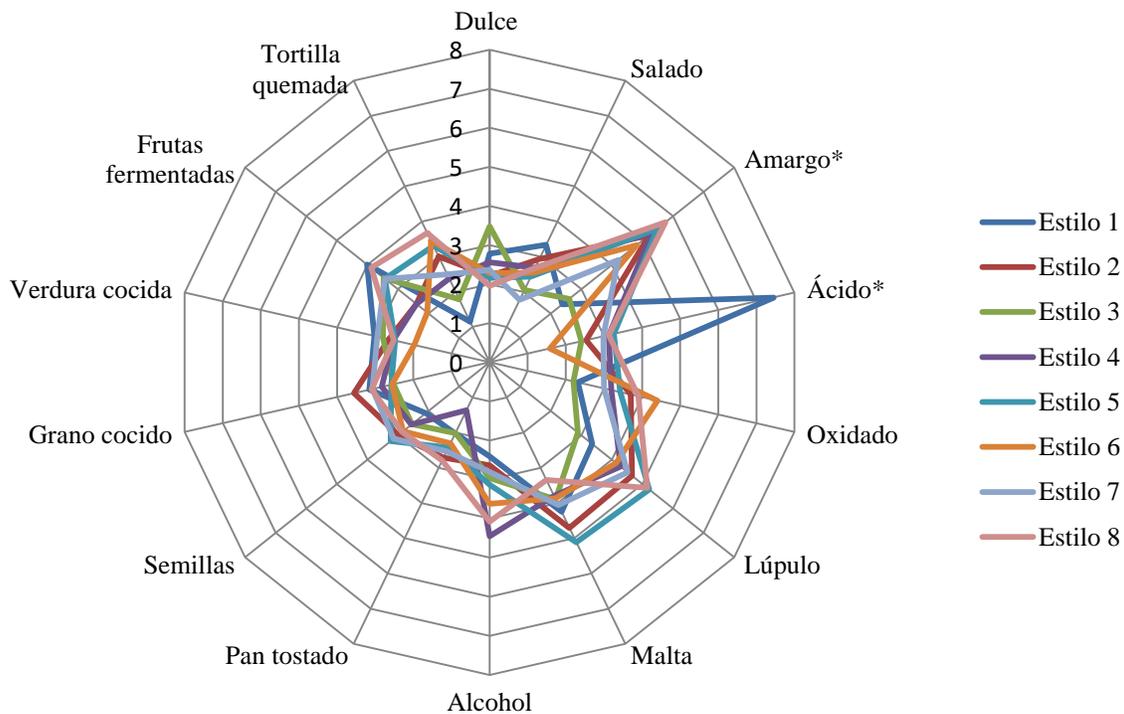


Figura 33. Perfil de **sabor** de las cervezas de maíz azul.
*: Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los estilos.

Un total de catorce descriptores de sabor, incluyendo cuatro gustos básicos forman el perfil de sabor de las cervezas de maíz azul. Los descriptores amargo, ácido, lúpulo y malta fueron evaluados con mayores calificaciones por los jueces entrenados.

Los atributos amargo y ácido fueron significativos en las muestras de cerveza de maíz. Los estilos 1 y 3 fueron calificados por los jueces con un contenido significativamente menor (2.4 y 2.6, respectivamente), y el estilo 8 una cantidad significativamente mayor (5.7). Los estilos 3 y 8 fueron elaborados con mayor cantidad de lúpulo (2 g/L), de acuerdo con lo anterior, el efecto de la formulación se observó únicamente en el estilo 8. Por su parte, el descriptor ácido fue significativamente mayor en el estilo 1 con una media de 7.4; este contenido fue muy superior a los otros estilos, debido a que las calificaciones de ácido asignadas por los jueces a los otros estilos se encontraron entre 1.6 y 3.3.

Los jueces no proporcionaron descriptores de sabor relacionados al chile, esto se puede deber a que la cantidad de chile utilizado en la formulación (6 y 10 g/L) fue inferior a los umbrales de identificación de estos compuestos, así como a posibles transformaciones de los mismos durante la maduración. Se necesita más investigación para esclarecer este punto.

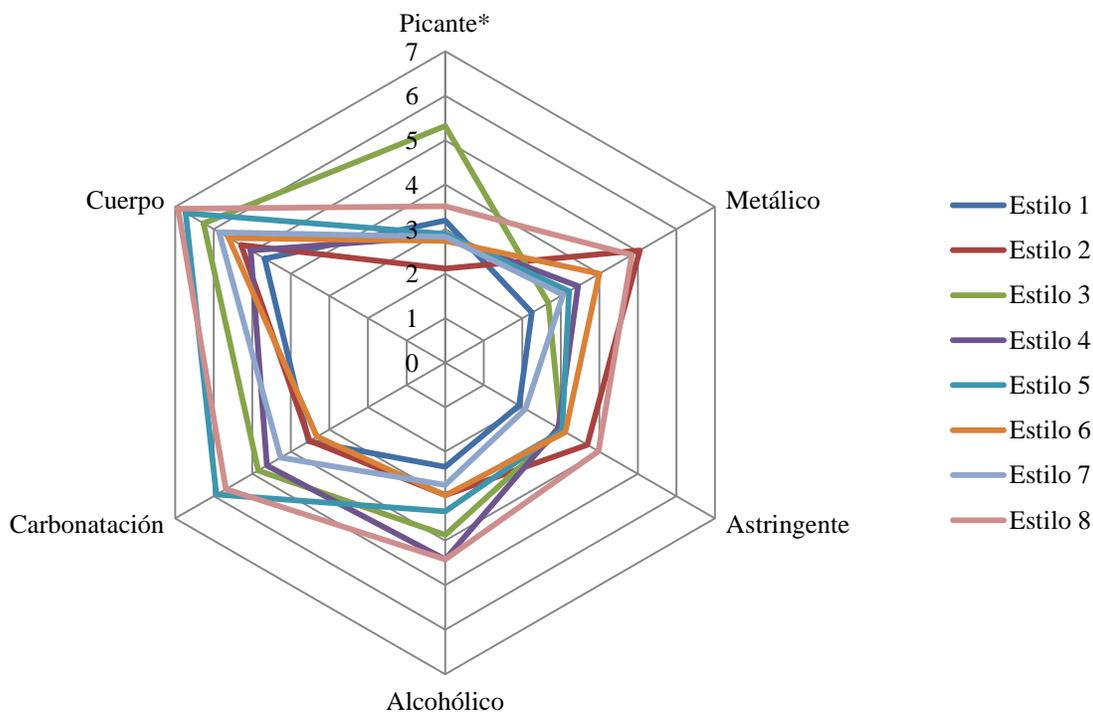


Figura 34. Perfil de **sensaciones en boca** de las cervezas de maíz azul.

*: Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los estilos.

De los perfiles de los atributos de las cervezas, el perfil de sensaciones en boca muestra mayores diferencias. Seis descriptores fueron evaluados por los jueces, de los cuales carbonatación y cuerpo mostraron mayores calificaciones, y por el contrario astringente y picante (a excepción del estilo 3) presentaron las menores.

De los atributos de sensaciones en boca, el descriptor picante fue significativamente diferente. El estilo 2 fue calificado por los jueces con una cantidad significativamente menor (2.1), y el estilo 3 con un contenido significativamente mayor (5.3). Los resultados anteriores son contrarios a su formulación, debido a que el estilo 2 fue preparado con mayor cantidad de chile (10 g/L) y el estilo 3 con menor (6 g/L). Lo que pudo haber ocurrido es que durante el proceso una mayor evaporación del agua durante la ebullición del mosto permitió que se concentraran los capsaicinoides en la muestra. Por lo tanto un efecto del uso de mayores cantidades de chile no fue observado en el descriptor picante de las cervezas de maíz azul.

8.4.2 Estudio de consumidores

8.4.2.1 Análisis de penalidades de las cervezas de maíz azul

Este análisis fue utilizado para identificar las direcciones posibles para la mejora de las cervezas de maíz azul. La Figura 35 presenta los porcentajes para los niveles JAR (Just About Right) agregados y en la Figura 36 los efectos sobre la media del nivel de agrado del estilo 6 de cerveza de maíz azul. En los Anexos H e I se presentan las gráficas de los niveles JAR y los efectos sobre la media de nivel de agrado de todos los estilos de cervezas de maíz azul.

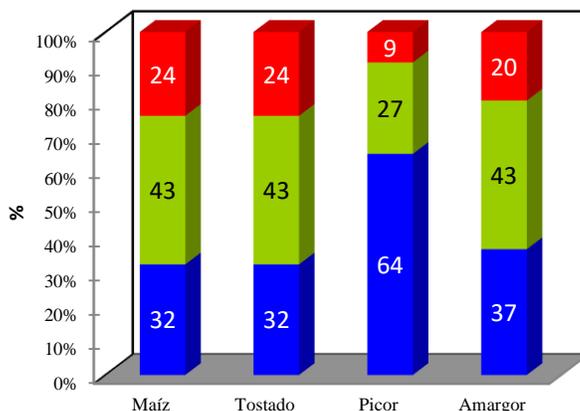


Figura 35. Porcentajes para los niveles de JAR agregados sobre el **nivel de agrado** del **estilo 6** de cerveza de maíz azul. **Azul:** “insuficiente”, **verde:** JAR, y **rojo:** “demasiado”.

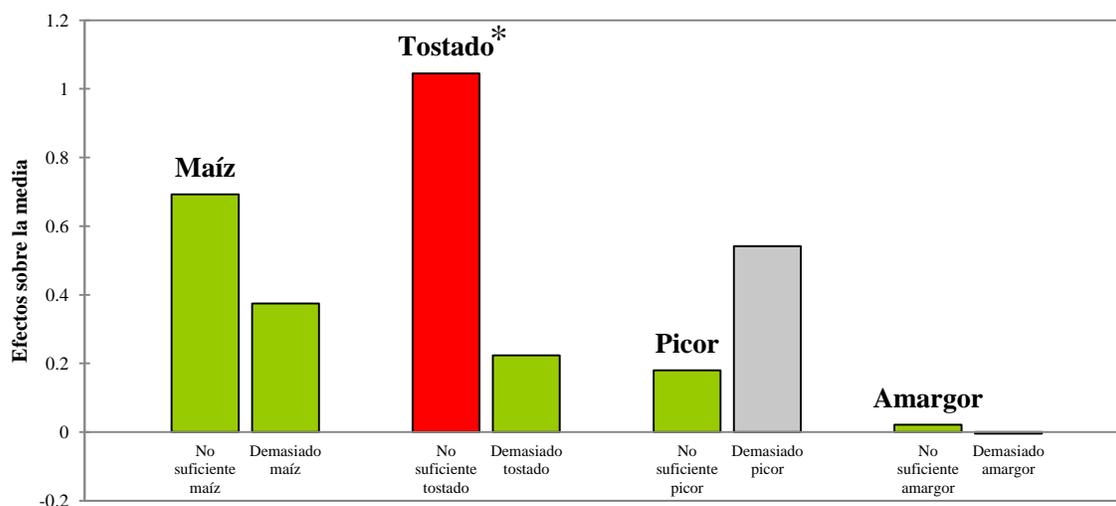


Figura 36. Efectos sobre la media del **nivel de agrado** del **estilo 6** de cerveza de maíz azul. *: Indica que la prueba general fue significativa para ese descriptor.

Para el análisis de penalidades se deben observar de manera complementaria los porcentajes de los niveles JAR agregados (Fig. 35) y los efectos sobre la media (Fig. 36). A continuación se presenta el análisis para un estilo.

Malta tostada con más chile y menos lúpulo (Estilo 6)

Las notas de maíz, tostado y amargor tuvieron el mayor porcentaje de JAR y fue el mismo en los tres casos (Fig. 35). Las notas de *maíz* y *amargor* no fueron significativas para ambos niveles ni para la prueba en general (Fig. 36), de acuerdo a lo anterior y a los porcentajes de JAR *no* es necesario *modificar* estas notas.

El *tostado* de este estilo para el nivel “demasiado” no fue significativo, mientras que para insuficiente y la prueba general sí lo fue (Fig. 36); considerando lo anterior se debe *aumentar* esta nota ya que el nivel insuficiente está siendo penalizado y tiene un porcentaje importante para incorporar a JAR (Fig. 35).

El *picor* no fue significativo para “insuficiente” y la prueba general, para “demasiado” el porcentaje de casos no fue superior a 20 (Fig. 36); debido a que la prueba general no fue significativa *no* es necesario *modificar* esta nota.

El análisis de los demás estilos se realizó de la misma manera que el análisis anterior, y a continuación en el cuadro 13 se presenta un resumen del análisis de penalidades para el nivel de agrado de todas las muestras.

Estilo	Formulación	Descriptor			
		Maíz	Tostado	Picor	Amargor
1	B: 100%, C: 6g/L, L: 1.8g/L	↑	↑	□	↑
3	B: 100%, C: 6g/L, L: 2g/L	□	↑	□	↑
4	B: 100%, C: 10g/L, L: 2g/L	□	↑	↑	□
6	B-T: 85:15%, C: 10g/L, L: 1.8g/L	□	↑	□	↑
7	B-T: 85:15%, C: 6g/L, L: 2g/L	□	↑	□	□
8	B-T: 85:15%, C: 10g/L, L: 2g/L	↑	↑	↑	□

Cuadro 13. Resumen del análisis de penalidades para el nivel de agrado. **B:** malta base, **C:** chile, **L:** lúpulo. **T:** malta tostada. ↑: significa que la nota debe incrementarse y □: que se debe mantener su nivel.

De acuerdo con el Cuadro 13, la nota que en todos los estilos debe incrementarse es el tostado, ya que fueron penalizados por tener una baja nota. Para incrementar la nota a tostado se pueden elevar las condiciones de temperatura y tiempo en del tostado de las maltas caramelo. La nota de maíz en dos de los seis estilos fueron declarados que deben elevarse. Los estilos 1, 3 y 4 fueron elaborados con 100% malta base, y los estilos 6, 7 y 8 con 85% malta base 15% malta caramelo.

La nota de amargor en la mitad de los estilos se debe incrementar, ya que fueron penalizadas las muestras por tener una baja nota amarga, estos tres estilos fueron elaborados con menor cantidad de lúpulo (1.8 g/L). De acuerdo con lo anterior, se sugiere utilizar en las

formulaciones, la concentración de 2 g/L, debido a que a esta condición las muestras no fueron penalizadas.

El chile utilizado en la elaboración de la cerveza es chile guajillo ancho (el que menos pica). Considerado el bajo picor de este chile y los hábitos de consumo de chile en la población mexicana, la formulación de 6 e incluso 10 g/L de chile guajillo ancho es insuficiente para que los consumidores determinen JAR en la cerveza.

La Figura 37 presenta los porcentajes para los niveles JAR (Just About Right) agregados y en la Figura 38 los efectos sobre la media de la intención de compra del estilo 7 de cerveza de maíz azul.

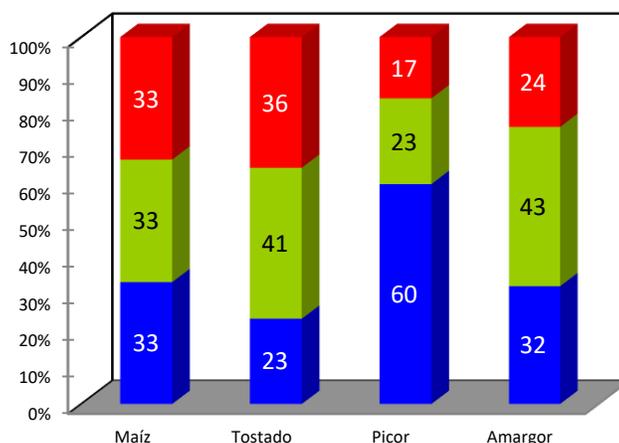


Figura 37. Porcentajes para los niveles de JAR agregados sobre la intención de compra del estilo 7 de cerveza de maíz. **Azul:** “insuficiente”, **verde:** JAR, **rojo:** “demasiado”.

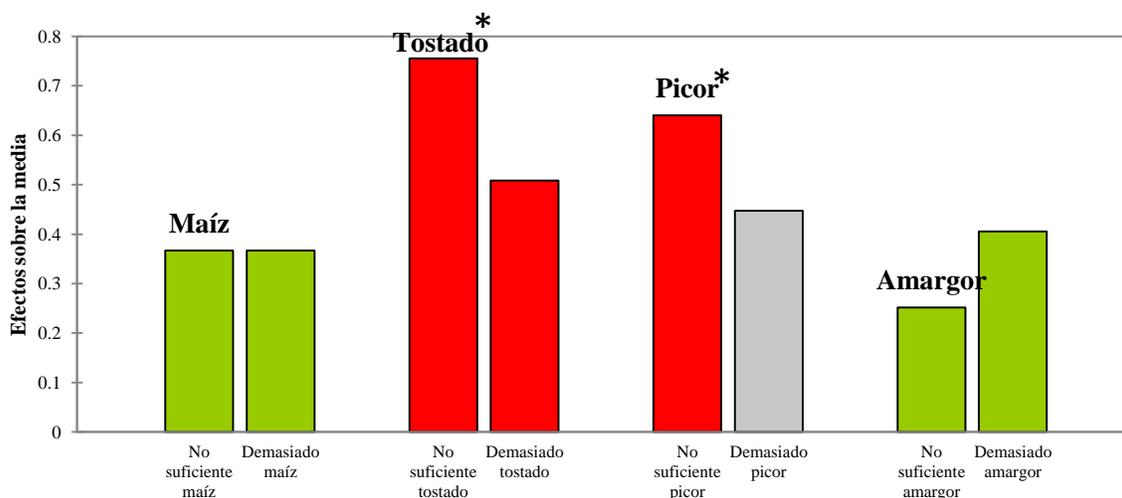


Figura 38. Efectos sobre la media de intención de compra del estilo 7 de cerveza de maíz azul. *: Indica que la prueba general fue significativa.

En los Anexos J y K se presentan las gráficas de los niveles JAR y los efectos sobre la media de intención de compra de todos los estilos de cervezas de maíz azul. El análisis de penalidades del estilo 7 es presentado a continuación; de igual forma se deben observar de manera conjunta los valores de porcentajes de niveles JAR agregados (Figura 37) y los efectos sobre la media de la intención de compra (Figura 38).

Estilo 7 (Malta tostada con menos chile y más lúpulo)

La nota de *maíz* se encontró balanceada (33% para cada nivel), ambos niveles y la prueba general no fueron significativas, en este caso se debe *mantener* esta nota (Fig. 38).

El *tostado* tuvo un porcentaje elevado de JAR (41) (Fig. 37); ambos niveles y la prueba general fueron significativas, en este caso se debe *subir* esta nota (Fig. 38).

El *picor* para el nivel “insuficiente” y la prueba general fue significativa, y para “demasiado” el porcentaje fue menor a 20 (Fig. 38); debido a que está penalizado el nivel insuficiente se debe *subir* esta nota.

El *amargor* tuvo el mayor porcentaje de JAR (Fig. 37); ambos niveles y la prueba general no fueron significativas (Fig. 38), por lo que se puede *mantener* la nota.

El análisis de los demás estilos se realizó de la misma manera que el análisis anterior, a continuación en el cuadro 14 se presenta un resumen del análisis de penalidades para la intención de compra de todas las muestras.

Estilo	Formulación	Descriptor			
		Maíz	Tostado	Picor	Amargor
1	B: 100%, C: 6g/L, L: 1.8g/L	↑	□	□	↑
3	B: 100%, C: 6g/L, L: 2g/L	□	□	↑	□
4	B: 100%, C: 10g/L, L: 2g/L	□	↑	↑	□
6	B-T: 85:15%, C: 10g/L, L: 1.8g/L	□	↑	□	↑
7	B-T: 85:15%, C: 6g/L, L: 2g/L	□	↑	↑	□
8	B-T: 85:15%, C: 10g/L, L: 2g/L	↑	↑	↑	↑

Cuadro 14. Resumen del análisis de penalidades para la intención de compra. **B:** malta base, **C:** chile, **L:** lúpulo. **T:** malta tostada. ↑: significa que la nota debe incrementarse y □: que se debe mantener su nivel.

En el Cuadro 14 se puede observar que para los consumidores el picor y tostado para la mayoría de los estilos debe incrementarse; por el contrario la nota a maíz en general debe mantenerse, únicamente en los estilos 1 y 8 se debe aumentar; por otra parte la nota de amargor en los estilos 1, 6 y 8 es necesario subir para aumentar la intención de compra de los consumidores.

8.4.2.2 Nivel de agrado e intención de compra

En las Figuras 39 y 40 se presentan respectivamente el nivel de agrado promedio y la intención de compra de los estilos de cervezas de maíz azul.

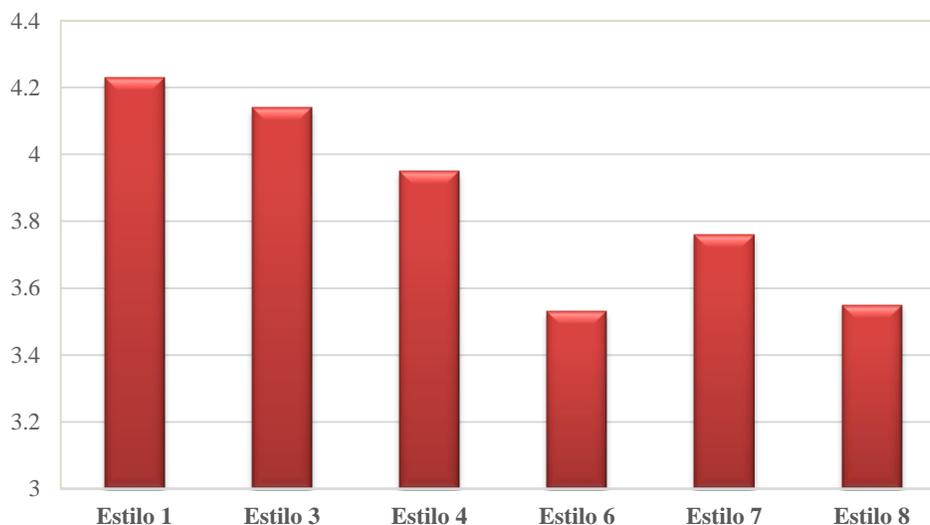


Figura 39. Nivel de agrado promedio de seis cervezas de maíz azul.

En la figura 39, la escala mínima de 3 corresponde a “gusta”, 4 a “gusta poco” y 5 a “no gusta ni disgusta”, de acuerdo a la escala de 9 puntos de nivel de agrado (página 45); en dicha figura se observa que los estilos 1, 3 y 4 fueron los que menos agradaron a los consumidores al recibir calificaciones promedio cercanas a “gusta poco”, por su parte, el estilo 7, comparado con los anteriores recibió menos calificaciones de “gusta poco”, y los estilos que más agradaron fueron 6 y 8, al presentar calificaciones promedio cercanas a “gusta”. Ambos estilos fueron elaborados con 15% de malta tostada, mayor cantidad de chile (10 g/L) y ambas cantidades de lúpulo (1.8 y 2 g/L).

Las gráficas de frecuencia de nivel de agrado para cada uno de los estilos se presentan en el Anexo L, en ellas se puede observar, que para el estilo 6, el orden descendente del número de juicios fue: “me gusta”, seguido de “no gusta ni disgusta”, a su vez de “gusta mucho” y de “gusta poco”, y para el estilo 8 “me gusta”, seguido de “gusta poco”, “gusta mucho” y “no gusta ni disgusta”.

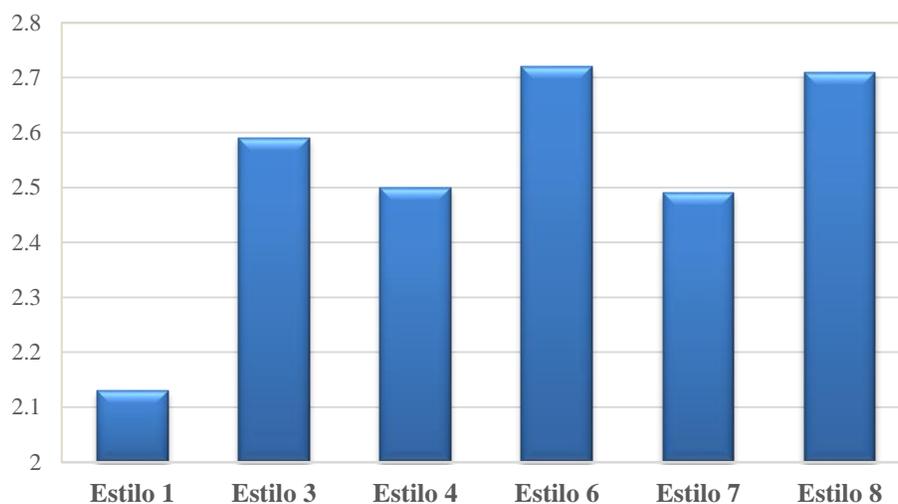


Figura 40. Intención de compra promedio de seis cervezas de maíz azul.

En la figura 40 la escala mínima de 2 en el eje de las ordenadas, corresponde a “esporádicamente” y 3 a “frecuentemente” (página 45), por lo tanto se observa que el estilo que mostró una menor intención de compra fue el 1, los estilos 4 y 7 recibieron mayores calificaciones de “frecuentemente” ya que su media fue de 2.5, el estilo 6 presentó una calificación ligeramente mayor a los dos estilos anteriores, y los que tuvieron mayor intención de compra fueron los estilos 6 y 8. El resultado anterior, es similar al observado en el prueba de nivel de agrado, es decir, que los estilos que gustaron más presentaron mayor intención de compra (estilos 6 y 8), y el estilo que gusto menos la menor intención de compra (estilo 1).

Las gráficas de frecuencias de intención de compra para cada una de las muestras se presentan en el Anexo M. En él se puede observar que el estilo 6 tuvo el mayor número de “frecuentemente” con 21 y del estilo 8 con 16 frecuencias. Los estilos 6 y 8 presentaron el menor número de frecuencias para la intención de “nunca”.

A continuación se presentan en las Figuras de la 41 a la 43 los perfiles sensoriales de los estilos que menos agradaron y los que más agradaron en la prueba de consumidores. El estilo 7, está incluido en el grupo de los que más agradaron, aunque su agrado fue menor que el de los estilo 6 y 8, su análisis se debe a que presentó una importante cantidad de antocianinas y mayor capacidad antioxidante por ABTS.

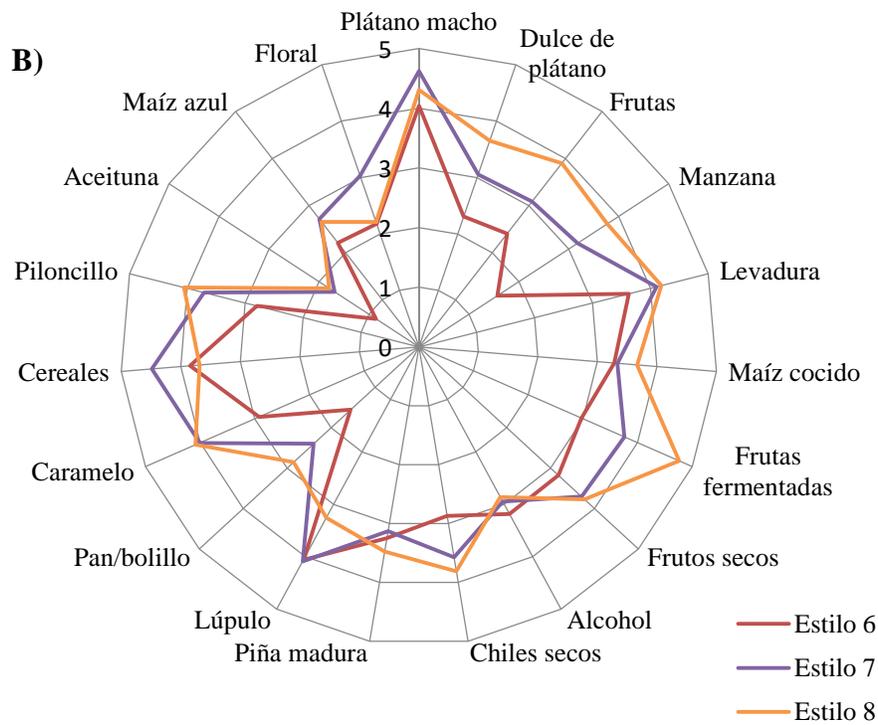
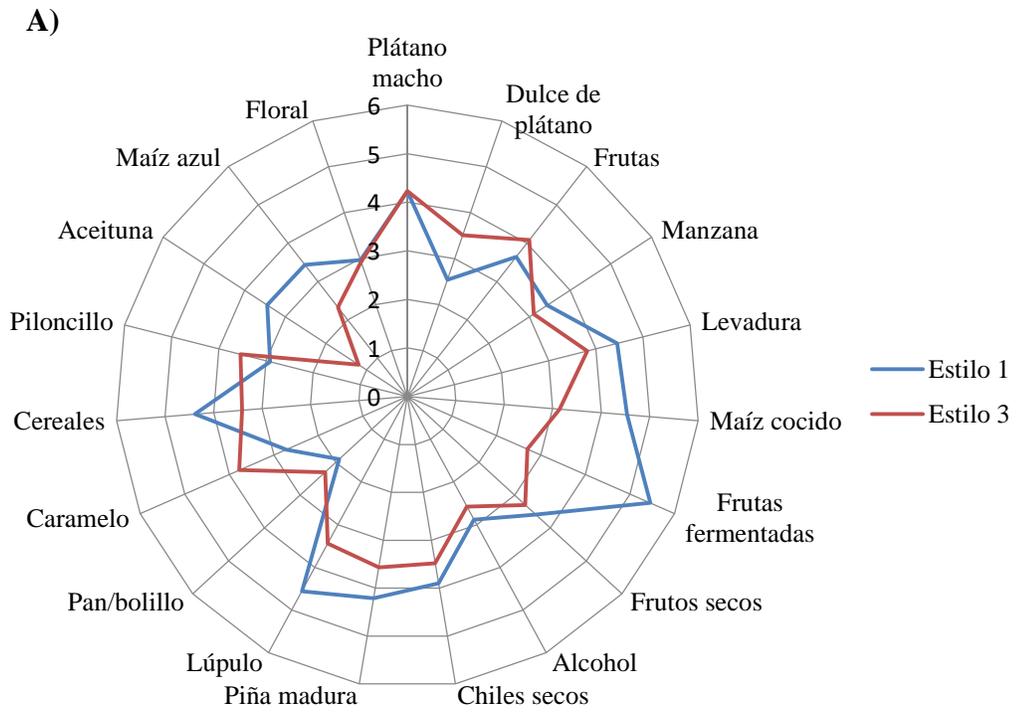


Figura 41. Perfil de olor de las cervezas de maíz que menos agradaron (A) y los que más agradaron (B).

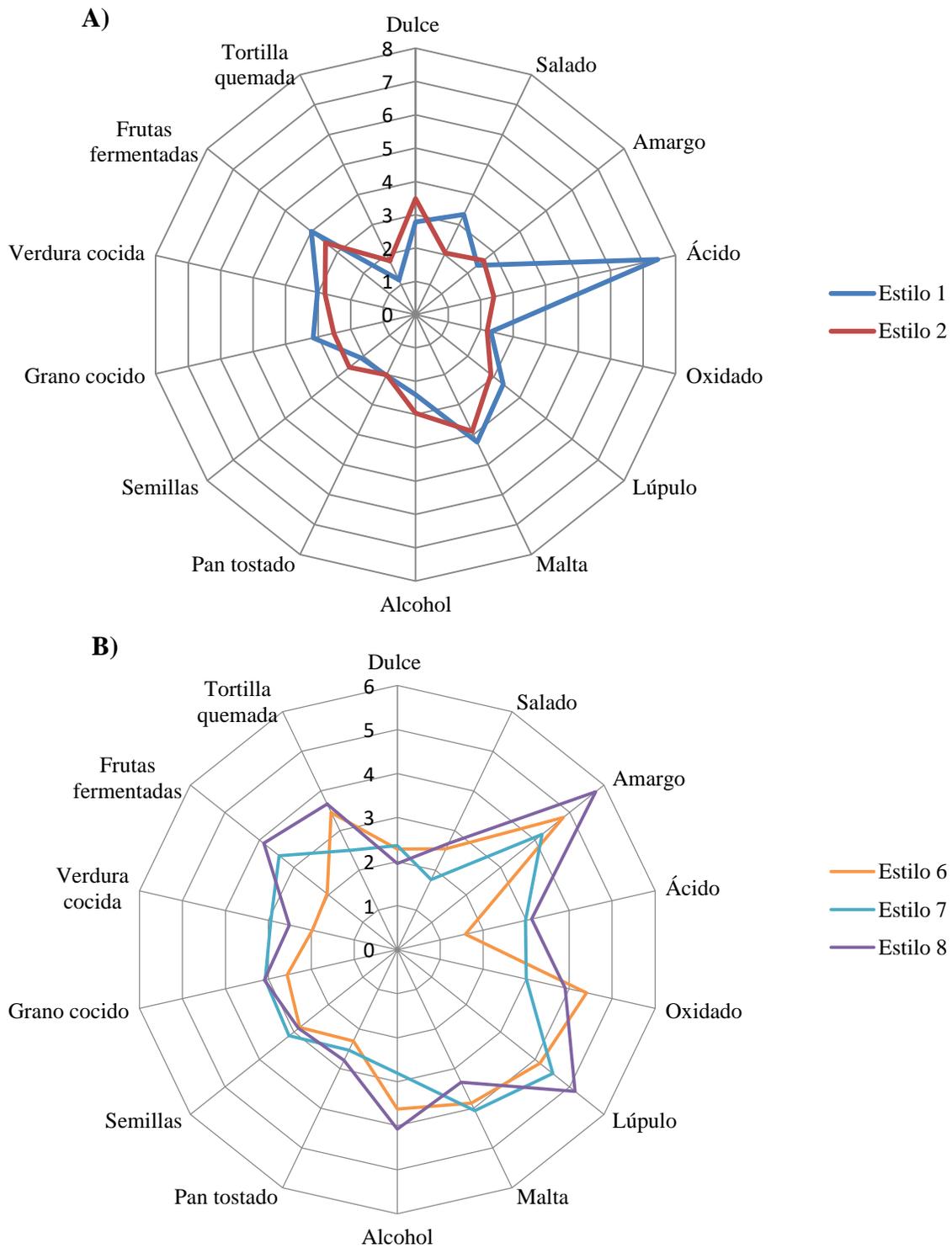


Figura 42. Perfil de sabor de los estilos de cervezas de maíz que menos agradaron (A) y de los que más agradaron (B).

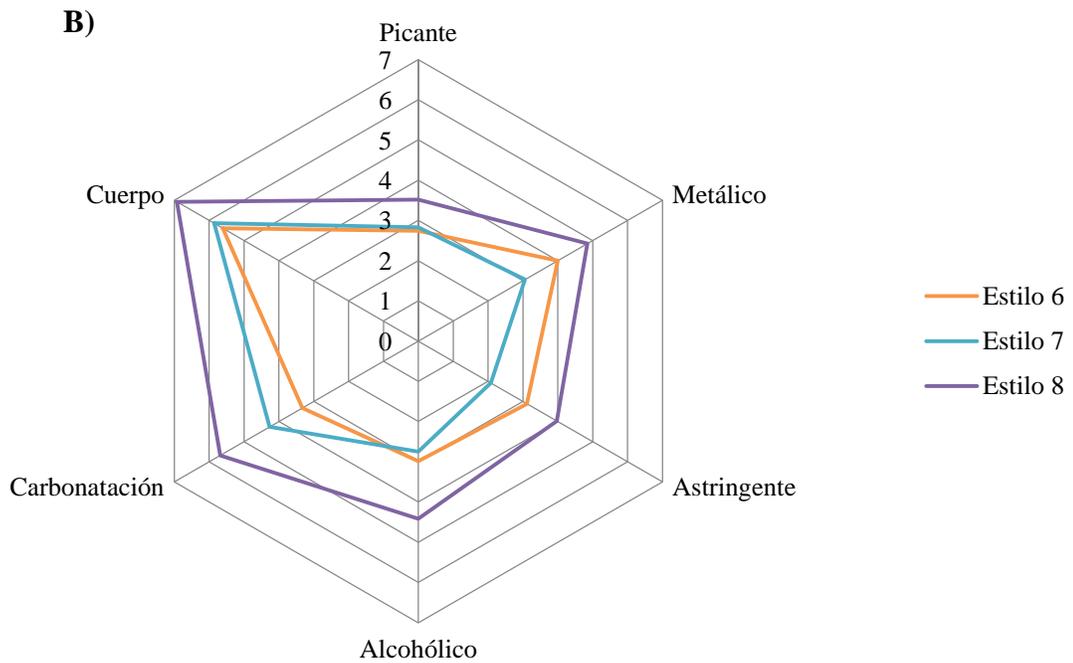
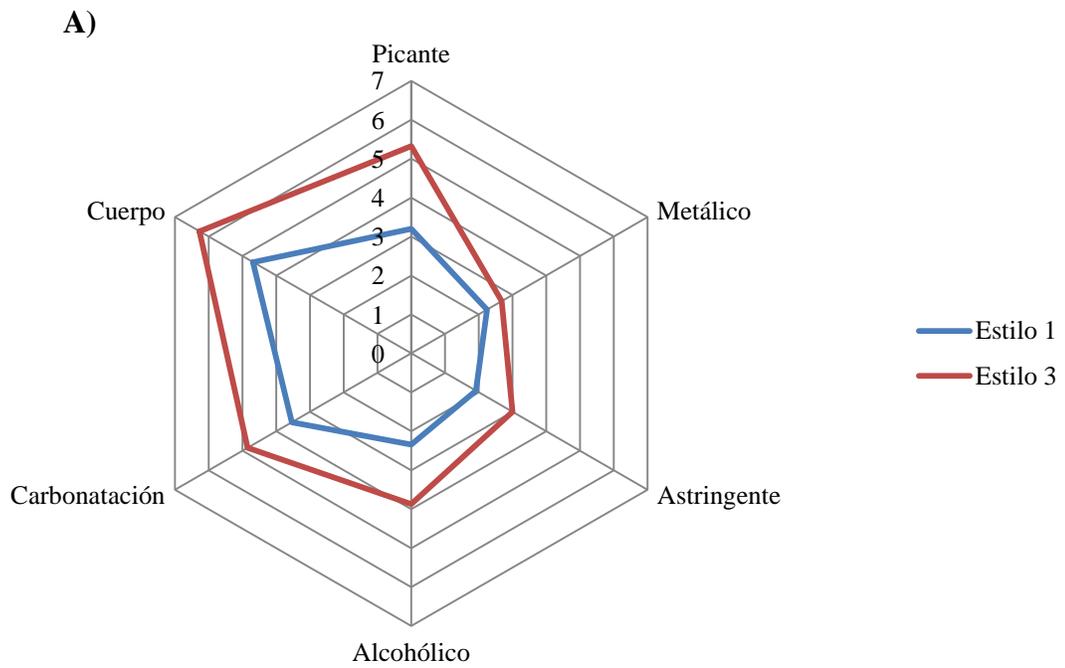


Figura 43. Perfil de sensaciones en boca de los estilos de cervezas de maíz que menos agradaron (A) y de los que más agradaron (B).

De acuerdo con los perfiles mostrados en las figuras anteriores se observa lo siguiente. Los atributos de olor (Fig. 41) que se presentaron con mayor intensidad en el estilo 1 que fue el que menos agrado, y que consideramos se deben evitar o tratar de disminuir su concentración, son: maíz cocido, piña madura, aceituna y maíz azul; las intensidades de estos descriptores fueron menores en el estilo 3, esto puede justificar el hecho de que este último estilo agradara más que el estilo 1. El estilo 7 mostró notas dentro de las intensidades entre el estilo 6 y 8, únicamente presentó mayor intensidad a cereales y floral. Respecto a los estilos que más gustaron, los descriptores que fueron elevados en estas muestras (estilos 6 y 8) y que debemos conservar o promover son olor a lúpulo, caramelo y levadura; cabe resaltar que las notas que están presentes en estos estilos en baja intensidad son olor a plátano macho, manzana y frutas fermentadas, en este sentido, esas notas se deben mantener así, en bajos niveles.

Los atributos de sabor que fueron más intensos en la cerveza que agrado menos (estilo 1) fueron ácido y dulce; por el contrario, este estilo presentó bajas notas de sabor a lúpulo, pan tostado y semillas. El estilo 7 mostró una mayor intensidad de nota a verdura cocida y menor a alcohol, esto nos indica los descriptores por los que agrado menos a los consumidores. En tanto, los estilos que más gustaron (6 y 8) presentaron sabores más intensos de amargo, lúpulo, pan tostado, semillas, tortilla quemada y a su vez, menor nota ácida, frutas fermentadas y gusto dulce; de acuerdo con los anterior los consumidores perciben con agrado cervezas más amargas y con malta tostada, y les desagrada esas notas ácidas y dulces.

Las sensaciones en boca del estilo que menos agrado (estilo 1), fueron intensidades menores a astringente y alcohólico, así como el estilo 7 que mostró menor sensación astringente; y las sensaciones que se presentaron con mayor intensidad en los estilos que más agradaron fueron astringente, alcohólico, carbonatación y cuerpo. En general, todas las sensaciones en boca deben incrementarse, con excepción de metálico, y el picor debe elevarse de acuerdo con el análisis de penalidades.

9. CONCLUSIONES

Caracterización del maíz azul y de las maltas base y caramelo

El maíz azul usado para obtener las maltas base y caramelo presentó un análisis químico proximal similar a otros granos de maíz azul reportados. Durante el malteado se observaron cambios en los contenidos de humedad y extracto libre de nitrógeno, y se obtuvo una malta base con un contenido de proteína dentro del rango especificado para malta de cebada. De acuerdo a los valores de L*, h y C* en el grano y la malta base de maíz azul el malteado no tiene efecto significativo sobre los parámetros de color, mientras que en las maltas tostadas se observó un aumento de la luminosidad y de croma, y una disminución de hue, mostrando los cambios debido a la degradación de antocianinas y la formación de melanoidinas. Productos de la reacción de Maillard entre los que se encuentra furanos, pirroles y pirazinas, fueron identificados en las maltas caramelo de maíz. Los furanos presentaron mayores áreas, y fueron seguidos por los pirroles y las pirazinas. La malta que fue tostada a 175 °C por 20 min presentó el mayor número de compuestos volátiles. Dependiendo de las condiciones de temperatura y tiempo de tostado, diferentes tipos de productos de reacción de Maillard se formaron en las maltas caramelo de maíz azul.

Las antocianinas totales (AT) en el maíz azul se encontraron dentro del intervalo reportado para otras variedades azul y púrpura, y debido al malteado se observó una disminución de su contenido. En las maltas caramelo, la malta tostada a 200 °C presentó la mayor cantidad de AT, así como de antocianinas por HPLC; en ambos casos un tostado a menor temperatura por mayor tiempo provocó el mismo efecto sobre el contenido de antocianinas que un tostado a mayor temperatura por tiempo corto. El contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) en el maíz azul se encontró dentro del rango reportado para la misma variedad de maíz, y en la malta base aumentó su concentración. El contenido de CFT fue mayor en las maltas tostadas a 180 y 240 °C. El análisis de compuestos fenólicos por HPLC indicó la presencia de los ácidos gálico y p-coumárico en el maíz azul, en las maltas base y caramelo además de los anteriores también se encontró ácido siríngico. El contenido de los ácidos fenólicos fue mayor en la malta base respecto al grano y las concentraciones de los ácidos fenólicos fueron dependientes de las condiciones de tostado, siendo mayor en la malta tostada a 240 °C. Respecto a la concentración de melanoidinas, esta fue mayor en la malta tostada a mayor temperatura (240 °C), indicando que el efecto de la temperatura sobre el incremento de la concentración de estos compuestos es mayor al emplear una mayor temperatura, que al utilizar una menor temperatura por un tiempo prolongado para el tostado de las maltas caramelo.

Las capacidades antioxidantes del maíz azul y la malta base por ABTS no fueron diferentes, mientras que por DPPH se observó una mayor capacidad en la malta base que en el grano. En las maltas caramelo una mayor capacidad antioxidante por ABTS se observó en las maltas con mayor cantidad de compuestos fenólicos, mientras que por DPPH una mayor respuesta antioxidante se presentó en las maltas con mayor contenido de melanoidinas.

Caracterización química y capacidad antioxidante de las cervezas de maíz

El desarrollo de cervezas de 100% malta de maíz azul con chile guajillo nos permitió evaluar en la cerveza madura el efecto de la interacción de los ingredientes sobre los parámetros químicos y antioxidantes seleccionados. Únicamente el porcentaje de alcohol, el pH y la acidez total no fueron afectados por las diferentes formulaciones. El comportamiento durante las etapas del proceso de los parámetros químicos: azúcares reductores totales, alcohol, pH, acidez total, unidades de amargor e iso- α -ácidos fue similar a las cervezas de cebada. Por otro lado, se observó una disminución en la concentración de antocianinas, polifenoles y capacidad antioxidante a través de las etapas del proceso. El análisis estadístico de las cervezas maduras, tanto individual como en conjunto (métodos multivariados: Análisis de Agrupamientos Jerárquicos y Análisis de Componentes Principales), mostró las tendencias de los parámetros químicos y antioxidantes en los diferentes estilos; los resultados coincidieron en una mayor concentración de antocianinas en los estilos 1, 6 y 7, y una mayor capacidad antioxidante por ABTS en los estilos 6 y 7.

Contenido de antocianinas y caracterización de ácidos fenólicos en las cervezas de maíz

Las diferentes formulaciones de cervezas de maíz no presentaron diferencias significativas en el contenido de antocianinas por HPLC. Los ácidos protocatéquico, p-coumárico y ferúlico fueron identificados como ácidos fenólicos libres en todos los estilos de cervezas y el ácido gálico estuvo presente solo en los estilos elaborados con malta caramelo. Los ácidos fenólicos esterificados encontrados incluyen los anteriores además de los ácidos siríngico y sinápico. El ácido ferúlico fue mayoritario en ambas fracciones. En los ácidos fenólicos libres no se observó un efecto por la formulación, mientras que los ácidos fenólicos esterificados fueron generalmente mayores en los estilos elaborados con malta tostada y con mayores cantidades de chile y lúpulo. Ácidos fenólicos a partir del lúpulo no fueron encontrados en la cerveza, y los ácidos sinápico y ferúlico que pueden provenir del chile, provienen principalmente de la malta de maíz, de acuerdo a las cantidades de ésta última utilizadas en el proceso. La presencia de estos compuestos bioactivos en las cervezas de maíz es muy importante ya que permite conservar las características sensoriales de la cerveza al darle una mayor estabilidad antioxidante, y permite, por otra parte, proporcionar a los consumidores una bebida que dará beneficios a su salud.

Evaluación sensorial de las cervezas de maíz

El panel entrenado caracterizó a las cervezas de maíz con un color cobrizo, turbidez intermedia y baja cantidad de espuma; olor a frutas fermentadas, lúpulo, levadura, cereales, plátano macho y a estilos elaborados con malta tostada, un intenso olor a caramelo; gusto amargo, ácido y sabor a malta, lúpulo y fruta fermentada; con carbonatación y cuerpo importantes, y con baja sensación picante.

De acuerdo al análisis de consumidores, el picor en la mayoría de los estilos debe incrementarse, también las notas de maíz y tostado en cuatro estilos, así como el amargor en la mitad de los estilos, ya que el nivel de agrado de estas muestras fue penalizado por los consumidores. Para aumentar la intención de compra de las cervezas de maíz, la nota a maíz presente debe mantenerse, el picor en todos los estilos debe incrementarse, así como el tostado y amargor en tres estilos, de acuerdo a lo indicado por los consumidores.

Por último, los estilos que más agradaron y que fueron calificados con mayor intención de compra por los consumidores fueron 6 y 8, al recibir una respuesta media de “me gusta”. Ambas muestras fueron elaboradas con malta tostada, mayores cantidades de chile y ambas cantidades de lúpulo.

De estos dos estilos, el estilo 6 fue uno de los que presentó mayor capacidad antioxidante por ABTS. Considerando lo anterior, el perfil sensorial y estudio de consumidores, los estilos que más agradaron presentaron mayor intensidad de olor: a lúpulo, caramelo y levadura; intenso sabor: amargo, lúpulo, pan tostado, semillas, tortilla quemada; y mayor intensidad de sensaciones astringente, alcohólico, carbonatación y cuerpo, en boca. Por lo tanto estas características deben mantenerse o aumentarse (según sea el caso), para incrementar el nivel de agrado y la intención de compra de los consumidores.

Este trabajo pone en evidencia que una cerveza de maíz malteado es factible, pero que aún es necesario realizar algunas modificaciones a la composición de la bebida, para aumentar su aceptación.

10. BIBLIOGRAFÍA

Abdel-Aal, E. M., Young, J. C., y Rabalski, I. (2006) Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 54: 4696–4704.

Abdel-Aal, E.S. M., y Hucl, P.A. (1999) A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats, *Cereal Chemistry*, 76: 350–354.

Acosta-Estrada, B.A., Gutiérrez-Urbe, J. A., y Serna-Saldívar, S.O. (2014) Bound phenolics in foods, a review, *Food Chemistry*, 152: 46-55.

Adom K.K, y Liu R.H., (2002) Antioxidant activity of grains, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6182-6187.

American Society of Brewing Chemists (ASBC). (2009) Methods of Analysis. Wort-11 and Beer-12B, Reducing sugars: Copper reducing substances-Lane-Eynon volumetric method. The Society, St. Paul. Minnesota.

American Society of Brewing Chemists (ASBC). (2009) Methods of Analysis. Beer-4B, Alcohol: Beer and distillate measured gravimetrically. The Society, St. Paul. Minnesota.

American Society of Brewing Chemists (ASBC). (2009) Methods of Analysis. Wort-8 and Beer-9, pH: Hydrogen ion concentration. The Society, St. Paul. Minnesota.

American Society of Brewing Chemists (ASBC). (2009) Methods of Analysis. Wort-7 and Beer-8, Total acidity. The Society, St. Paul. Minnesota.

American Society of Brewing Chemists (ASBC). (2009) Methods of Analysis. Beer-23A, Beer bitterness (Bitterness units – International method). The Society, St. Paul. Minnesota.

Antonio, M. M.; Arellano, V. J. L.; García- de los Santos, G.; Miranda, C.S.; Mejía, J. A. y González, C. F. 2004. Variedades criollas de maíz azul raza Chalqueño. Características agronómicas y calidad de semilla, *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27 (1): 9-15.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1995) Official Methods of Analysis. Appendix C. 913.02 Percentages by volumen 15.56° C (60 °F) of ethyl alcohol corresponding to apparent specific gravity at various temperatures. (Patricia Cunniff). p. 2. Arlington. Virginia.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2002) Official Methods of Analysis. 925.10: Moisture; 923.03: Ash; 991.20: Protein; 920.35: Lipids. 16 edition. International Gaithersburg, USA.

Bamforth, C. W. (2003) Beers, history and types. In B. Caballero, L. C. Trugo, y P. M. Finglas (Eds.), *Encyclopedia of food sciences and nutrition* (2nd ed., pp. 418–422). London: Academic Press.

Bamforth, C.W., y Kanauchi, M. A. (2001) Simple model for the cell wall of the starch endosperm in barley, *Journal of the Institute Brewing*, 107: 235–240.

-
- Bondia-Pons, I., Aura, A.M., Vuorela, S., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., y Poutanen, K. (2009) Rye phenolics in nutrition and health, *Journal of Cereal Science*, 49 (3): 323-336.
- Borrelli, R.C., Fogliano, V., Monti, S.M., y Ames, J.M. (2002) Characterization of melanoidins from a glucose-glycine model system. *European Food Research and Technology*, 215: 210-215.
- Borrelli, R.C., Visconti, A., Mennella, C., Anese, M., y Fogliano, V. (2002) Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins, *Journal Agricultural Food Chemistry*, 50: 6527-6533.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technoogie*, 28: 25–30.
- Brouillard, R. (1982) Chemical structure of anthocyanins. En: Anthocyanins as Food Colors. Pericles Markakis (ed.), Academic Press Inc., New York, p-1-38.
- Caballero, I., Blanco, C., y Porras, M. (2012) Iso- α -acids, bitterness and loss of beer quality during storage, *Food Science Technology*, 26: 21–30.
- Cabrera- Soto, M.L., Salinas-Moreno, Y., Velázquez-Cardelas, G.A., y Espinosa-Trujillo, E. (2009) Content of soluble and insoluble phenols in the structures of corn grain and their relationship with physical properties, *Agrociencia*, 43: 827-839.
- Cabrita, L., Fossen, T., y Andersen, O. M. (2000) Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions, *Food Chemistry*, 68: 101-107.
- Cáceres, P.J., Martínez-Villaluenga, C., Amigo, L., y Frias, J. (2014) Maximising the phytochemical content and antioxidant activity of Ecuadorian brown rice sprouts through optimal germination conditions, *Food Chemistry*, 152: 407-414.
- Campos, A. M., y Lissi, E. A. (1996) Kinetics of the reaction between 2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS) derived radical cation and phenols, *International Journal of Chemical Kinetics*, 29: 219–224.
- Carciochi, R.A., Dimitrov, K., y Galván, D´A. L. (2016) Effect of mating conditions on phenolic content, Maillard reaction products formation, and antioxidant activity of quinoa seeds. *Journal Food Science Technology*, 53 (11): 3978-3985.
- Cardador-Martínez, A., Castaño-Tostado, E., y Loarca-Piña, G. (2002) Antimutagenic activity of natural phenolic compounds present in the common bean (*Phaseolus vulgaris*) against aflatoxin B₁, *Food Additives and Contaminants*, 19: 62-29.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M., Rodríguez, J., and Galán-Vidal, C. (2011) Chemical studies of anthocyanins: a review, *Food Chemistry*, 113: 859-871.
-

Chandrasekara, N., y Shahidi, F., (2011) Effect of roasting on phenolic content and antioxidant activities of whole cashew nuts, kernels, and testa. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 59: 5006–5014.

Coghe, S., Gheeraert, B., Michiels, A., y Delvaux, F.R. (2006) Development of Maillard reaction related characteristics during malt roasting, *Journal of the Institute of Brewing*, 112 (2): 148-156.

Coghe, S., Martens, E., D'Hollander, H., Dirinck, P.J. and Delvaux, F.R. (2004) Sensory and instrumental flavour analysis of wort brewed with dark specialty malts, *J Inst Brew.* 110, 94-103.

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Razas de maíz de México. Fecha de consulta: 04 de Julio de 2017. <http://www.biodiversidad.gob.mx/usos/maices/grupos/chalqueno.html>

De Keukeleire, D. (2000) Fundamentals of beer and hop chemistry, *Quimica Nova*, 23 (1): 108–112.

De la Parra, C., Serna Saldivar, S.O., y Hai, L.R. (2007) Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 4177-4183.

De Meo, B., Freeman, G., Marconi, O., Booer, C., Perretti, G., y Fantozzi, P. (2011) Behaviour of malted cereals and pseudo-cereals for gluten-free beer production, *Journal of the Institute of Brewing*, 117 (4): 541-546.

Debyser, W., Derdelinckx, G., Delcour, J. A. (1997) Arabinoxylan and arabinoxylan hydrolysing activities in barley malts and worts derived from them. *Journal Cereal Science* 26: 67–74.

Del Pozo-Insfran, D., Brenes, C.H., Serna Saldivar, S.O., y Talcott, S.T. (2006) Polyphenolic and antioxidant content of white and blue corn (*Zea mays* L.) products, *Food Research International*, 39: 696-703.

Delgado-Andrade, C., y Morales, F.J. (2005) Unraveling the contribution of melanoidins to the antioxidant activity of coffee brews, *Journal Agricultural Food Chemistry*, 53: 1403-1407.

Dewanto, V., Wu, X., y Liu, R.H. (2002) Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 4959–4964.

Díaz-Vela, J., Totosaus, A., Escalona-Buendía, H. B., y Pérez-Chabela, M. L. (2017) Influence of the fiber from agro-industrial co-products as functional food ingredient on the acceptance, nephobia and sensory characteristics of cooked sausages, *J Food Sci Technol*. 54 (2): 379-385.

-
- Donadini, G., Fumi, M.D., y De Faveri, D.M. (2011) Sensory characteristics of Romanian, Polish, Albanian and Former Yugoslavian beers, *Journal of the Institute Brewing*, 117 (4): 507-515.
- Donkor, O.N., Stojanovska, L., Ginn, P., Ashton, J., y Vasiljevic, T. (2012) Germinated grains - sources of bioactive compounds. *Food Chemistry*, 135 (3): 950-959.
- Escalante-Aburto, A., Ramírez-Wong, B., Torres-Chávez, P., Barrón-Hoyos, J., Figueroa-Cárdenas, J., and López-Cervantes, J. (2013) The nixtamalization process and its effect on anthocyanin content of pigmented maize, a review, *Revista Fitotecnica Mexicana*, 36(4), 429–437.
- Espinosa-Ramírez, J., Pérez-Carrillo, E., Serna-Saldivar, S.O., (2013) Production of lager beers from different types of sorghum malts and adjuncts supplemented with β -amylase or amyloglucosidase, *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 7(4), 208-213.
- Eßlinger, H. M. (2007) Fermentation, maturation and storage in Handbook of Brewing. Processes, Technology, Markets. Eßlinger, M. (ed.), Freiberg. Chapter 8, pp.207, 209, 212, 215.
- FAO. Junio 2017. Perspectivas alimentarias. Informe semestral sobre los mercados globales de alimentos. Pp. 19, 106. Fecha de consulta: 04 de Julio de 2017. <http://www.fao.org/3/a-i7343e.pdf>.
- Ferguson, L.R. (2001) Role of plant polyphenols in genomic stability. Review, *Mutation Research*, 465: 89-111.
- Finot, P.A., Aeschbacher, H.U., Hurell, R.F., and Liardon, R. (1990) The Maillard reaction in food processing, human nutrition and physiology, *Springer*. p. 516.
- Flavornet and human odor space. Fecha de consulta: 04 de Marzo de 2017 <http://www.flavornet.org/>
- Gaulejac, N. S.-C., Provost, C., & Vivas, N. (1998) Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 425–431.
- Gómez-Linton, D. R., (2015) Elaboración y caracterización fisicoquímica y sensorial de cervezas artesanales elaboradas con maíz rojo”. Posgrado en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México.
- Gorinstein, S., Caspi, A., Zemser, M., & Trakhtenberg, S. (2000) Comparative contents of some phenolics in beer, red and white wines, *Nutrition Research*, 20: 131–139.
- Goupy, P., Hugues, M., Boivin, P., y Amiot, M. J. (1999) Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 1625-1634.
-

Gruber M. A. 2001. The flavor contributions of kilned and roasted products to finished beer styles, *Technical Quarterly*, 38: 227-233.

Guido, L. F., Boivin, P., Benismail, N., Goncalves, C. R., y Barros, A. A. (2005) An early development of the nonenal potential in the malting process, *Proceedings of the European Brewing Convention*, Prague, 13.

Guiselli, A., Natella, F., Scaccini, C., Montanari, I., Fantozzi, P., y Scaccini, C (2000) Beer increases plasma antioxidant capacity in humans, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 11: 76-80.

Guisti, M., y Worslad, R. (2001) Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Wiley. New York.

Gupta, M., Abu-Ghannam, N., and Gallagher, E. (2010) Barley for brewing: characteristic changes during malting, brewing and applications of its by-products, *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9: 318-328.

Hebrero, E.C., Santos-Buelga, C., y Rivas-Gonzalo, J.C. (1988) High performance liquid chromatography-diode array spectroscopy identification of anthocyanins of *Vitis vinífera* variety Tempranillo, *American Journal of Enology and Viticulture*, 39: 227-233.

Hervert-Hernández, D., Sonia G. Sáyago-Ayerdi, and Isabel Goñi. (2010) Bioactive Compounds of Four Hot Pepper Varieties (*Capsicum Annuum* L.), Antioxidant Capacity, and Intestinal Bioaccessibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (6): 3399–3406.

Hollman, P. C. H., y Katan, M. B. (1999). Dietary flavonoids: Intake, health effects and bioavailability, *Food and Chemical Toxicology*, 37: 937–942.

Hough, J. (1990) *Biología de la cerveza y la malta*. Editorial Acribia. España.

Hughes P. y Baxter E. (2001) *Cerveza. Calidad, higiene y características nutricionales*. Acribia. España.

Huisman, M. M. H., Schols, H. A., & Voragen, A. G. J. (2000) Glucuronoarabinoxylans from maize kernel cell walls are more complex than those from sorghum kernel cell walls, *Carbohydrate Polymers*, 43 (3): 269–279.

Ignat, I., Volf, I., y Popa, V.I., (2011) A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables, *Food Chemistry*, 126: 1821-1835.

Jaskula, B., Goiris, K., de Rouck, G., Aerts, G., y de Cooman, L. (2007) Enhanced quantitative extraction and HPLC determination of hop and beer bitter acids, *Journal of the Institute of Brewing*, 113: 381–390.

Jaskula, B., Kafarski, P., Aerts, G., y de Cooman, L. (2008) A kinetic study on the isomerization of hop α -acids, *Journal Agricultural Food Chemistry*, 56: 6408–6415.

Jing, P., Noriega, V., Schwartz, S. J., y Giusti, M. M. (2007) Effects of growing conditions on purple corn cob (*Zea mays* L.) anthocyanins. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 55: 8625–8629.

Jing, P., y Giusti, M. (2007) Effects of extraction conditions on improving the yield and quality of an anthocyanin-rich purple corn (*Zea mays* L.) colour extract, *Food Chemistry Toxicology*, 72: 366–368.

Jousse, F., Jongen, T., Agterof, W., Russel, S., y Braat, P. (2002) Simplified kinetic scheme of flavour formation by the Maillard Reaction, *Journal of Food Science*, 67 (7): 2534-2542.

Kao, T., y Wu, G. (2013) Simultaneous determination of prenylflavonoid and hop bitter acid in beer lee by HPLC-MS, *Food Chemistry*, 141: 1218–1226.

Klose, C., Mauch, A., Wunderlich, S., Thiele, F., Zarnkow, M., Jacob, F., Arendt, E.K., (2011) Brewing with 100% oat malt, *Journal of the Institute Brewing*, 117 (3): 411-421.

Kowalczyk, D., Świeca, M., Cichocka, J., y Gawlik-Dziki, U. (2013) The Phenolic Content and Antioxidant Activity of the Aqueous and Hydroalcoholic Extracts of Hops and Their Pellets. *Journal of the Institute of Brewing*, 119: 103-110.

Krahl, M., Back, W., Zarnkow, M., y Kreis, M. (2008) Determination of optimized malting conditions for the enrichment of rutin, vitexin and orientin in common Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Journal of the Institute of Brewing*, 114: 294–299.

Kreis, S. (2007) Malting in Handbook of Brewing. Processes, Technology, Markets. Eßlinger, M. (ed.), Freiberg. Capítulo 6, p. 150, 152, 155, 163.

Krottenthaler, M., Back, W., y Zarkow, M. (2007) Wort Production in Handbook of Brewing. Processes, Technology, Markets. Eßlinger, M. (ed.), Freiberg. Capítulo 7, p. 165, 168-171, 186, 187, 207.

Kuskoski, E., Asuero, A., Troncoso, A., Filho, J., y Fett, R. (2005) Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos, *Tecnología Alimentaria Campinas*, 25 (4): 726–732.

Lao, F., y Giusti, M. (2016) Quantification of purple corn (*Zea mays* L.) anthocyanins using spectrophotometric and HPLC approaches: method comparison and correlation, *Food Analytical Methods*, 9: 1367-1380.

Lawless, H. T., y Heymann, H. (2010) Sensory evaluation of food: Principles and practices (2nd ed.). New York, NY: Springer.

Llario, R., Iñón, F., Garrigues, S., y De la Guardia, M. (2006) Determination of quality parameters of beers by the use of attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectroscopy, *Talanta*. 69: 469-480.

Loo, G. (2003) Redox-sensitive mechanisms of phytochemical-mediated inhibition of cancer cell proliferation. Review, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14: 64-73.

-
- López, A., García, G.M., Quintero, R.R., López-Munguía A., Canales, I. (2002) Biotecnología alimentaria. Editorial Limusa. México. pp. 263-312.
- López-Martínez, L. X., Oliart-Ros, R.M., Valerio-Alfaro, G., Chen-Hsien, L., Parkin, K.L., y García, H.S. (2009) Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize, *LWT- Food Science and Technology*, 42: 1187-1192.
- Magalhães, P. J., Vieira, J. S., Gonçalves, L. M., Pacheco, J. G., Guido, L. F., y Barros, A. A. (2010) Isolation of phenolic compounds from hop extracts using polyvinylpyrrolidone: Characterization by high-performance liquid chromatography-diode array detection-electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217(19), 3258–3268.
- Maillard, M.N., Soum, M.H., Boivin, P., y Berset, C. (1996) Antioxidant activity of barley and malt: relationship with phenolic content, *LWT- Food Science Technology*, 29: 238–244.
- Materska, M. y Perucka, I. (2005) Antioxidant Activity of the Main Phenolic Compounds Isolated from Hot Pepper Fruit (*Capsicum Annum L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (5): 1750–56.
- Mayer, H., Ceccaroni, D., Marconi, O., Sileoni, V., Perretti, G. y Fantozzi, P. (2016) Development of an all rice malt beer: A gluten free alternative, *LWT – Food Science Technology*, 67: 67–73.
- Mayer, H., Marconi, O., Regnicoli, G. F., Perretti, G., and Fantozzi, P. (2014) Production of a saccharifying rice malt for brewing using different rice varieties and malting parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62, 5369-5377.
- Meigaard, M. C., Civille, G. V., Carr, B. T. (2006) Sensory Evaluation Techniques, Chapter 10: Descriptive Analysis Techniques, CRC Press, Taylor & Francis Group. Fourth Edition.
- Méndez-Montealvo G., Solorza F.J., Velásquez V. M., Gómez M.N., Paredes L. O. y Bello P. L. A. (2005) Composición química y caracterización calorimétrica de híbridos y variedades de maíz cultivadas en México. *Agrociencia*, 39: 267-274.
- Merken, H.M, y Beecher, G.R. (2000) Measurement of food flavonoids by high performance liquid chromatograph: A review, *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 48: 577-599.
- Meussdoerffer, F. y Zarnknow, M. (2007) Starchy raw materials in Handbook of Brewing. Processes, Technology, Markets. Eßlinger, M. (ed.), Freiberg. Capítulo 2, pp.56-57.
- Mitic, S.S., Paunovic, D. D., Pavlovic, A. N., Tasic, S.B., Stojkovic, M. B., y Mitic, M. N. (2014) Phenolic profiles and total antioxidant capacity of marketed beers in Serbia, *International Journal Food Properties*, 17: 908–922.
- Miyazawa, M., y Hisima, M. (2003) Antimutagenic activity of phenylpropanoids from clove (*Syzygium aromaticum*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 6413-6422.
- Montanari, L., Perretti, G., Natella, F., Guidi, A., & Fantozzi, P. (1999) Organic and Phenolic Acids in Beer. *LWT - Food Science and Technology*, 32(8): 535–539.
-

Mottram, D.S. (1994) Flavor compounds formed during the Maillard reaction. In: Parliament TH, Morello MJ, McGorin RJ, editors. Thermally generated flavors. Washington, D.C.: American Chemical Society. pp. 104-126.

Moura-Nunes, N., Brito, T., da Fonseca, N., de Aguiar P., Monteiro, M., Perrone, D., y Torres, A. (2016) Phenolic compounds of Brazilian beers from different types and styles and application of chemometrics for modelling antioxidant capacity, *Food Chemistry*, 199: 105–113.

Nardini, M., y A. Ghiselli. 2004. “Determination of Free and Bound Phenolic Acids in Beer.” *Food Chemistry*, 84 (1): 137–43.

National Institute of Standards and Technology (NIST). U.S. Department of Commerce. Fecha de consulta: 04 de Marzo de 2017. <https://www.nist.gov/>

Ortega, R. C. y Ochoa, B. R. 2003. El maíz: un legado de México para el mundo. Claridades Agropecuarias, pp.3-16.

Ortíz, P. S. (2006) Determinación de la composición química proximal y fibra dietaria de 43 variedades criollas de maíz de 7 municipios del sureste del estado de Hidalgo. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo.

Paine III, J.B., Pithawalla, Y.B., and Naworal, J.D. (2008) Carbohydrate pyrolysis mechanism from isotopic labelling: Part 4. The pyrolysis of d-glucose: the formation of furans. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 83(1), 37.

Paliwal, R.L., 2001. Introducción al maíz y su importancia, tomado del libro: El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. Departamento de Agricultura. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Fecha de consulta: 04 de Julio de 2017: http://www.fao.org/docrep/003/X7650S/x7650s02.htm#P0_0

Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., y Rivas-Gonzalo, J.C., (2002) LC-MS analysis of anthocyanins from purple corn cob, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 1003-1006.

Paucar-Menacho, L.M., Martínez-Villaluenga, C., Dueñas, M., Frias, J., y Peñas, E. (2017) Optimization of germination time and temperature to maximize the content of bioactive compounds and the antioxidant activity of purple corn (*Zea mays* L.) by response surface methodology, *LWT -Food Science Technology*, 76: 236-244.

Pedreschi R. y Cisneros-Zevallos L. (2007) Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.), *Food Chemistry*, 100: 956-963.

Pérez-Guerrero M.F. (2016) Malteo de la semilla de amaranto para la elaboración de cerveza artesanal. Tesis de Maestría. Posgrado en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. Ciudad de México.

Pérez-Hernández, L.M., Chávez-Quiroz, K., Medina-Juárez, L.A., y Gámez Meza, N. (2012) Compuestos fenólicos, melanoidinas y actividad antioxidante de café verde y procesado de las especies *Coffea arabica* y *Coffea canephora*, *Biotecnia*, 15 (1): 51-56.

Pérez-Martínez, M., Caemmerer, B., Paz de Peña, M., Cid, C., y Kroh, L.W. (2010) Influence of brewing method and acidity regulators on the antioxidant capacity of coffee brews. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 58: 2958-2965.

Phiarais, B.P., Mauch, A., Schehl, B.D., Zarnkow, M., Gastl, M., Hermann, M., Zannini, E., y Arendt, E.K. (2010) Processing of a top fermented beer brewed from 100% buckwheat malt with sensory and analytical characterization, *Journal of the Institute of Brewing*, 116 (3): 265-274.

Piazzon, A., Forte, M., y Nardini, M. (2010) Characterisation of phenolics content and antioxidant activity of different beer types, *Journal Agricultural Food Chemistry*, 58: 10677–10683.

Popescu, V., Soceanu, A., Dobrinás, S. y Stanciu, G. (2013) A study of beer bitterness loss during the various stages of the Romanian beer, *Journal of the Institute of Brewing*, 119: 111–115.

Priest, F. G. y Stewart, G. G. (2006) *Handbook of Brewing*. Second edition. CRC Press Taylor & Francis Group. 6000. Broken Sound Parkway NW, Suite 300, Boca Raton, FL 33487-2742.

Quifer-Rada, P., Vallverdú-Queralt, A., Martínez-Huélamo, M., Chiva-Blanch, G., Jáuregui, O., Estruch, R., & Lamuela-Raventós, R. (2015) A comprehensive characterisation of beer polyphenols by high resolution mass spectrometry (LC-ESI-LTQ-Orbitrap-MS). *Food Chemistry*, 169: 336–343.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Panala, A., Yang, M. y Rice-Evans, C. (1999) Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (9/10): 1231–1237.

Reinbach, H. C., Giacalone, D., Ribeiro, L. M., Bredie, W. L. P., y Frost, M. B. (2014). Comparison of three sensory profiling methods based on consumer perception: CATA, CATA with intensity and Napping??. *Food Quality and Preference*, 32, 160–166.

Romero-Medina, M. A., (2013) Caracterización de cervezas de malta de maíz y de cebada basadas en su perfil sensorial, compuestos volátiles y capacidad antioxidante. Tesis de Maestría. Posgrado en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México.

Ruíz S. Y., (2006) Elaboración y evaluación de maltas cervceras de diferentes variedades de cebada (*Hordeum vulgare*) producidas en los estados de Hidalgo y Tlaxcala. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo.

Sádecká, J., Jakubíková, M., Májek, P., y Kleinová, A. (2016) Classification of plum spirit drinks by synchronous fluorescence spectroscopy, *Food Chemistry*, 196: 783-790.

Salinas, M. Y.; Soto, H. M.; Martínez, B. F.; González, H. V. y Ortega, P. M. (1999) Análisis de antocianinas en maíces de grano azul y rojo provenientes de cuatro razas, *Revista Fitotecnia Mexicana*, 22:161-174.

Salinas-Moreno, Y., Pérez-Alonso, J., Vázquez-Carrillo, G., Aragón-Cuevas, F., y Velázquez-Cardelas, G. (2012) Anthocyanins antioxidant activity in maize grains (*Zea mays* L.) of chalqueño, elotes cónicos and bolita races. *Agrociencia*, 46: 693-706.

Sanchez, G. J., Goodman, M. M., y Stuber, C. W. (2000). Isoenzymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico, *Economic Botany*, 54: 43-59.

Sancho, A. I., Bartolome, B., Gomez-Cordoves, C., Williamson, G., y Faulds, C. B. (2001) Release of ferulic acid from cereal residues by barley enzymatic extracts. *Journal of Cereal Science*, 34: 173–179.

Saulnier, L., Vigouroux, J., y Thibault, J.F. (1995) “Isolation and Partial Characterization of Feruloylated Oligosaccharides from Maize Bran.” *Carbohydrate Research*, 272 (2): 241–53.

Selinger, D.A., y Chandler, V.L. (1999) A mutation in the pale aleurone color1 gene identifies a novel regulator of the maize anthocyanin pathway, *Plant Cell*. 11: 5-14.

Serpen, A., Capuano, E., Fogliano, V., y Gökmen, V. (2007) A new procedure to measure the antioxidant activity of insoluble food components, *Journal Agricultural Food Chemistry*, 55: 7676-7681.

Sharma, R. J., Gupta, R. C., Singh, S., Bansal, A. K., and Singh, I. P. (2016) Stability of anthocyanins- and anthocyanidins-enriched extracts, and formulations of fruit pulp of *Eugenia jambolona* (‘jamun’), *Food Chemistry*, 190: 808–817.

Shrivastava, A., y Grupta, V.B. (2011) Methods for the determination of limit of detection and limit of quantification of the analytical methods, *Chronicles Young Scientist* 2, 21-25.

Singleton, L., y Rossi, J. (1965) Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144–158.

Steiner, E., Auer, A., Becker, T., y Gastl, M. (2012) Comparison of beer quality attributes between beers brewed with 100% barley malt and 100% barley raw material. *Journal Science Food Agricultural*, 9: 803–813.

Taylor, J. R. N., Dlamini, B. C., y Kruger, J. (2013) 125th anniversary review: The science of the tropical cereals sorghum, maize and rice in relation to lager beer brewing. *Journal of the Institute of Brewing*, 119 (1–2): 1–14.

Tenge, C. (2007) *Yeast in Handbook of Brewing. Processes, Technology, Markets*. Eßlinger, M.(ed.), Capítulo 5, p.129, 134.

Tian, B., Xie, B., Shi, J., Wu, J., Cai, Y., Xu, T. (2010) Physicochemical changes of oat seeds during germination. *Food Chemistry*, 119 (3): 1195-1200.

Tomková-Drábková, L., Psota, V., Sachambula, L., Leišova-Svobodova, L., Míkyška, A., y Kučera, L. (2016) Changes in polyphenol compounds and barley laccase expression during the malting process. *Journal Science Food Agricultural*. 96: 497–504.

Vanbeneden, N., Gils, F., Delvaux, F., y Delvaux, F. R., (2008) Formation of 4-vinyl and 4-ethyl derivatives from hydroxycinnamic acids: Occurrence of volatile phenolic flavour compounds in beer and distribution of Pad1-activity among brewing yeasts, *Food Chemistry*, 107: 221–230.

Vanbeneden, N., Gils, F., Delvaux, F., y Delvaux, R.F. (2007) Variability in the release of free and bound hydroxycinnamic acids from diverse malted barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars during wort production. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 55: 11002–11010.

Vanderhaegen, B., Neven, H., Verachtert, H., y Derdelinckx, G. (2006). The chemistry of beer aging - A critical review, *Food Chemistry*, 95 (3): 357–381.

Van-Hung, P., Maeda, T., y Morita, N. (2015) Improvement of nutritional composition and antioxidant capacity of high-amylose wheat during germination, *Journal Food Science Technology*, 52 (10): 6756-6762.

Variedades Chaqueño. Fecha de consulta: 24 de Julio de 2017
<https://www.citlalired.com/index.php/288-los-hombres-del-maiz-variedades-y-razas-de-maiz>

Varnam A. y Sutherland J. (1994) Beverages. Technology, chemistry and microbiology. Chapman Hall. Gran Bretaña.

Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L., y Oomah, B. (1998) Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4113-4117.

Verde-Calvo, J. (2006) Efecto del pH, concentración del sulfuroso, temperatura y tiempo de añejamiento sobre las antocianinas mono y poliméricas en el vino tinto elaborado con Cabernet Sauvignon. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. p. 15. Ciudad de México.

Wagner, K.H., Derkits, S., Herr, M., Schuh, W., y Elmadfa, I. (2002) Antioxidative potential of melanoidins isolated from a roasted glucose-glycine model, *Food Chemistry*: 78, 375-382.

Weenen, H., Tjan, P.J., de Valois, P.J., Bouter, N., Pos, A., y Vonk, H. (1994) Mechanism of pyrazine formation. In T. H. Parliament, M. J. Morello, y R.J. McGorin (Eds.). *Thermally Generated Flavours*. (Vol. 543, pp. 142-157). Washington DC: American Chemical Society.

Winkel-Shirley, B. (2001) Flavonoid biosynthesis. A colourful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*, 126 (2): 485-493.

Xu, J.G., Hu, Q.P., Wang, X.D., Lou, J.Y., Liu, Y., y Tian, C.R. (2010) Changes in the main nutrients, phytochemicals, and antioxidant activity in yellow corn grain during maturation. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 58: 5751–5756.

Yahya, H., Linforth, R. S. T., y Cook, D. J. (2014) Flavour generation during commercial barley and malt roasting operations: a time course study. *Food Chemistry*, 145: 378-387.

Yang Z., y Zhai W. (2010) Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.) *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11: 169–176.

Yang, Z., Chen, Z., Yuan, S., Zhai, W., y Piao, X. (2009) Extraction and identification of anthocyanin from purple corn (*Zea mays* L.), *International Journal Food Science Technology*, 44: 2485–2492.

Yaylayan, V.A., y Keyhani, A., (2001) Elucidation of the mechanism of pyrrole formation during thermal degradation of (13)C-labelled L-serines, *Food Chemistry*. 74 (1): 1-9.

Zhao, H., Chen, W., Lu, J., y Zhao, M. (2010) Phenolic profiles and antioxidant activities of commercial beers, *Food Chemistry*, 119: 1150–1158.

Zhao, H., Li, H., Sun, G., Yang, B., y Zhao, M. (2013) Assessment of endogenous antioxidative compounds and antioxidant activities of lager beers, *Journal Science Food Agricultural*, 93: 910–917.

Zhao, X. Y., Corrales, M., Zhang, C., Hu, X. S., Ma, Y., y Tauscher, B. (2008) Composition and thermal stability of anthocyanins from Chinese purple corn (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 10761–10766.

11. TRABAJOS PRESENTADOS Y PUBLICACIONES

11.1 Publicaciones

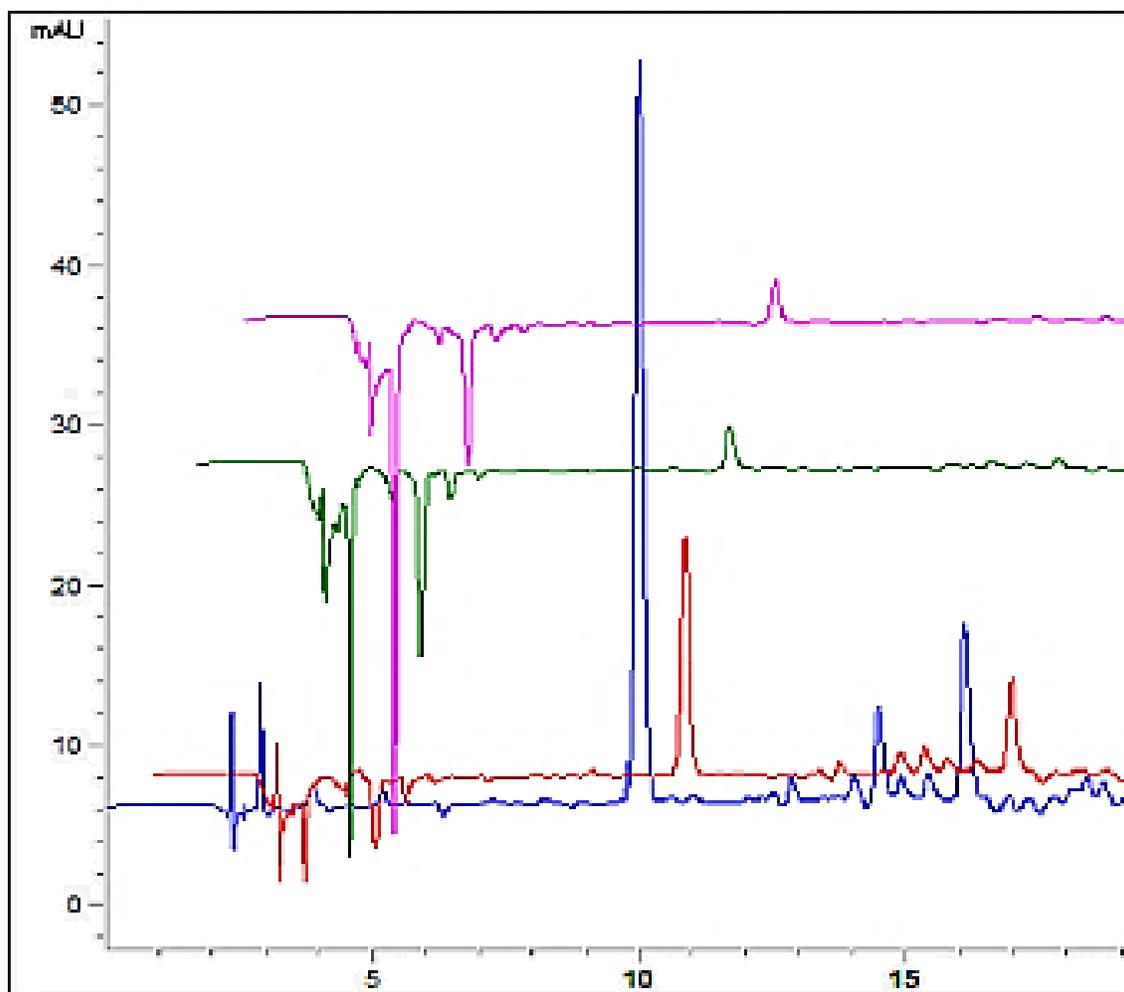
Alex M. Daniela Flores-Calderón, Héctor Luna, Héctor Bernardo Escalona-Buendía, José Ramón Verde-Calvo. 2017. Chemical characterization and antioxidant capacity in blue corn (*Zea mays* L.) malt beers. *Journal of the Institute of Brewing*, 123 (4): 505-518.

11.2 Congresos

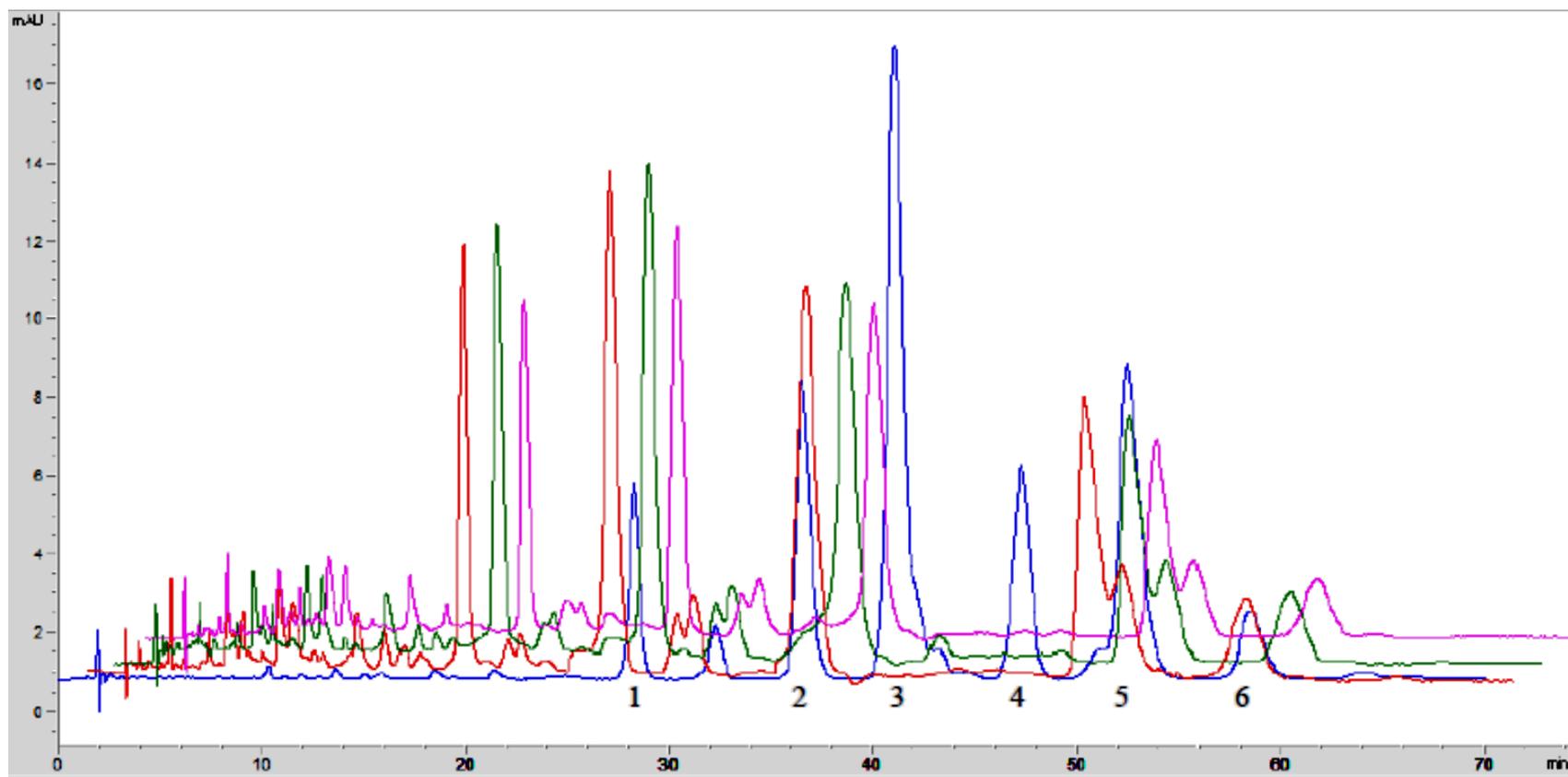
Alex María Daniela Flores Calderón, Héctor Bernardo Escalona-Buendía, Héctor Manuel Luna Contla, José Ramón Verde Calvo. 2015. Characterization of blue corn-caramel malts and their use in the preparation of corn beer. Presentación en Poster en el área de Química de Alimentos en el Congreso Internacional organizado por el Instituto de Tecnólogos en Alimentos (Institute of Food Technologists). Chicago, Illinois, USA. Julio de 2015.

12. ANEXOS

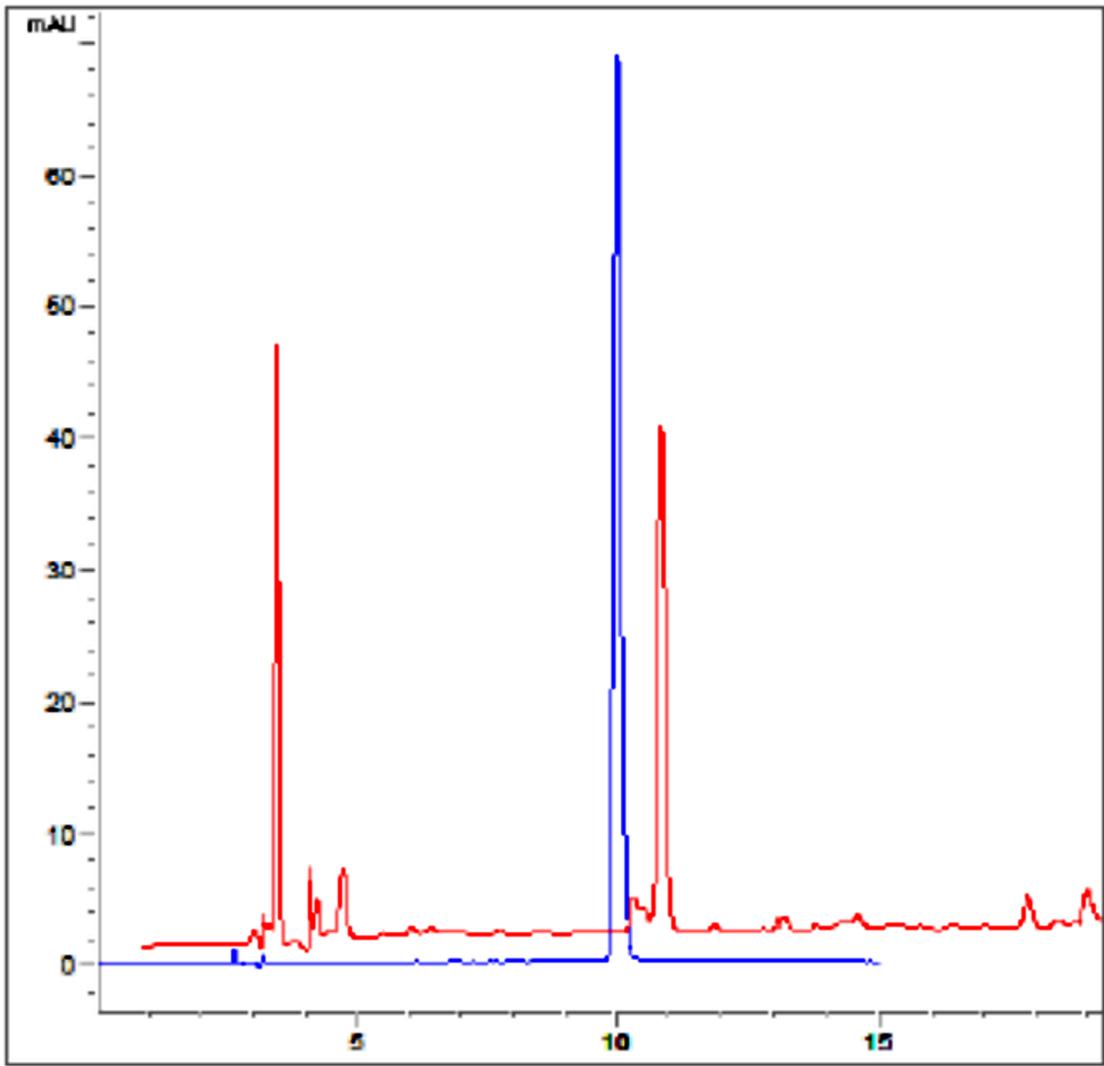
ANEXO A. Cromatograma de las antocianinas presentes en el grano de maíz azul de la raza Chalqueño y en las maltas base y caramelo de maíz azul. Línea azul-extracto etanólico del maíz azul; línea roja-malta base; línea verde-malta tostada a 150°C por 45 min (malta 1); línea fucsia-malta tostada a 175 °C por 20 min (malta 2). Tiempo de retención de cianidina-3-glucósido: 10.01 min.



ANEXO B. Chromatograma de la mezcla de estándares de iso- α -ácidos (línea azul): 1) *cis*-isocohumulona (28.69 min), 2) *trans*-isocohumulona (37.14 min), 3) *cis*-isohumulona (41.69 min), 4) *cis*-isoadhumulona (47.88 min), 5) *trans*-isohumulona (53.71 min), y 6) *trans*-isoadhumulona (59.29 min). Los iso- α -ácidos encontrados en mosto (línea roja), cerveza verde (línea verde), y cerveza madura (línea fucsia) en el estilo 2 (malta base con más chile y menos lúpulo) fueron *cis*-isocohumulone (1), *trans*-isocohumulone (2), *trans*-isohumulone (5), and *trans*-isoadhumulone (6).



ANEXO C. Cromatograma del estándar de cianidina-3-glucósido (tiempo de retención: 10.01 min) (línea azul) y cerveza madura del estilo 1 (malta base con menos cantidad de chile y lúpulo) (línea roja).



ANEXO D. Parámetros analíticos de los métodos espectrofotométrico y HPLC. CR: rango de concentración. PE: pureza del estándar. R²: coeficiente de determinación. LD: límite de detección. LC: límite de cuantificación. Longitudes de onda: 275 nm para los compuestos 1 a 6; 765 nm para el compuesto 7; 754 nm para el compuesto 8 y 517 nm para el compuesto 9.

Estándar	RC (mg/L)	PE (%)	Ecuación de las curvas de calibración	R²	LD (mg/L)	LC (mg/L)
1. <i>Cis</i> -isocohumulone	5.21-73.0	65.3	y=5.0378x-0.0051	0.9999	0.021	0.064
2. <i>Cis</i> -isohumulone	23.77-351.5	65.3	y=5.0375x+0.0122	0.9999	0.017	0.051
3. <i>Cis</i> -isoadhumulone	9-127.4	65.3	y=5.0376x-0.0041	0.9999	0.022	0.067
4. <i>Trans</i> - isocohumulone	8.64-126	62.3	y=5.9501x+0.0003	0.9999	0.021	0.065
5. <i>Trans</i> -isohumulone	11.1-170.5	62.3	y=5.9503x-0.0108	0.9999	0.020	0.061
6. <i>Trans</i> - isoadhumulone	2.73-47.8	62.3	y=5.9471x+0.1203	0.9999	0.319	0.968
7. Gallic acid	50-1000	≥99	y=167.54x+0.0064	0.9998	0.030	0.088
8. Trolox (ABTS)	70-320	≥98	y=64.617x +0.7706	0.9949	0.215	0.651
9. Trolox (DPPH)	20-320	≥98	y=18.019x-0.3447	0.9974	0.233	0.705

Los límites de detección y cuantificación de los métodos fueron calculados y basados en la curva de calibración usando las siguientes formulas: LD = $(3.3\sigma/S)$ y LC = $(10\sigma/S)$ donde σ representa la desviación estándar calculada de la respuesta y S es la pendiente de la curva de calibración (Shrivastava y Gupta, 2011).

ANEXO E. Definición de los descriptores acordados por los jueces para la evaluación de las cervezas de maíz azul.

DEFINICIÓN	
Descriptor	Apariencia
Color	Color de la cerveza, se mide con la guía de color de la Beer Judge Certification Program (BJCP).
Espuma	Cantidad de espuma formada (mínimo-máximo)
Gasificación	Sin gas, casi sin gas, poco gas, equilibrada, abundante (mínimo-máximo).
Turbidez	Cristalina, poco transparente, turbia, opaca.
Olor	
Plátano macho	Olor a plátano macho
Dulce de plátano	Olor a dulce de plátano
Frutas	Olor característico a una mezcla de frutas: melón, peras, frutas no cítricas.
Manzana	Olor a manzana fresca
Levadura	Olor típico de levadura de cerveza
Maíz cocido	Olor asociado a maíz de lata, esquites.
Frutas fermentadas	Olor asociado a una mezcla de frutas en proceso de fermentación.
Frutos secos	Olor característico a una mezcla de frutos secos: pasas, melón deshidratado, manzana deshidratada.
Alcohol	Olor asociado a etanol
Chiles secos	Olor asociado a chiles secos, guajillo, pasilla, ancho.
Piña madura	Olor típico a piña madura.
Lúpulo	Olor característico de pellets de lúpulo.
Pan/bolillo	Olor típico de un bolillo.
Caramelo	Olor asociado a caramelo de flan, tostado.
Cereales	Olor asociado a cereales, maíz.
Piloncillo	Olor típico del piloncillo.
Aceituna	Olor característico de una aceituna.
Maíz azul	Olor asociado al grano de maíz azul.
Floral	Olor característico de una mezcla de flores.
AROMA	
Dulce	Gusto básico dulce
Salado	Gusto básico salado
Amargo	Gusto básico amargo
Ácido	Gusto básico ácido

Oxidado	Sabor a metal, moneda
Lúpulo	Sabor típico a lúpulo.
Malta	Sabor a malta
Alcohol	Sensación de ardor por el alcohol
Pan tostado	Sabor a pan tostado
Grano cocido	Sabor a esquites
Verdura cocida	Sabor característico del agua de los vegetales cocidos como brócoli, coliflor, calabaza
Frutas fermentadas	Sabor a Tepache
Tortilla quemada	Sabor a tortilla quemada

SENSACIONES EN BOCA

Picante	Sensación de ardor que se experimenta en toda la boca y lengua
Metálico	Sensación o sabor a hierro, monedas, metal
Astringente	Sensación de sequedad en la boca
Alcohólico	Sensación de calor en la boca
Carbonatación	Sensación de gasificación, burbujas
Cuerpo	Sensación de plenitud que recibimos al poner la cerveza en la boca. Cerveza con mucho cuerpo: cuando bebiendo poca cantidad aparecen sensaciones intensas, y cervezas de poco cuerpo cuando la sensación es similar al agua.

ANEXO F. ANOVA de dos factores (fijo: estilos y anidado: jueces) de los descriptores de apariencia, olor, sabor y sensaciones en boca de los estilos de cervezas de maíz azul. *: Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras.

Apariencia	Valor p	Sabor	Valor p
Color	0.187335	Dulce	0.592821
Espuma	0.000129*	Salado	0.551569
Gasificación	0.221604	Amargo	0.001620*
Turbidez	0.270983	Ácido	0.000000*
Olor	Valor p	Oxidado	0.203713
Plátano macho	0.999850	Lúpulo	0.184411
Dulce de plátano	0.914000	Malta	0.671082
Frutas	0.653396	Alcohol	0.302189
Manzana	0.326020	Pan tostado	0.865315
Levadura	0.98739	Semillas	0.948074
Maíz cocido	0.625895	Tortilla quemada	0.077693
Frutas fermentadas	0.225336	Grano cocido	0.970626
Frutos secos	0.886999	Verduras cocidas	0.983260
Alcohol	0.977467	Frutas fermentadas	0.562485
Chiles secos	0.954142	Sensaciones en boca	Valor p
Piña madura	0.733931	Picante	0.020965*
Lúpulo	0.872791	Metálico	0.030145
Pan (bolillo)	0.767179	Astringente	0.315043
Caramelo	0.572358	Alcohólico	0.222815
Cereales	0.933753	Carbonatación	0.092818
Piloncillo	0.497009	Cuerpo	0.183660
Aceituna	0.047470*		
Maíz azul	0.885932		
Floral	0.454064		

ANEXO G. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey con $p < 0.05$, para los descriptores significativos en el ANOVA de dos factores del Anexo F. Los valores corresponden a la media de cada estilo.

ESPUMA		
Estilo	Grupo A	Grupo B
7	0.5875	
3	0.805	
6	1.767	1.767
2	2.062	2.062
4	2.479	2.479
8		2.665
5		2.700
1		2.775

ACEITUNA		
Estilo	Grupo A	Grupo B
6	0.854	
3	1.200	
4	1.555	1.555
7	1.687	1.687
2	1.787	1.787
8	1.795	1.795
5	2.262	2.262
1		3.444

AMARGO		
Estilo	Grupo A	Grupo B
1	2.375	
3	2.605	
7	4.200	4.200
6	4.813	4.813
2	5.219	5.219
4	5.313	5.313
5	5.487	5.487
8		5.755

ÁCIDO		
Estilo	Grupo A	Grupo B
6	1.585	
3	2.405	
2	2.531	
7	2.981	
8	3.125	
4	3.126	
5	3.262	
1		7.450

PICANTE		
Estilo	Grupo A	Grupo B
2	2.112	
6	2.739	2.739
7	2.831	2.831
4	2.842	2.842
5	2.894	2.894
1	3.194	3.194
8	3.515	3.515
3		5.320

ANEXO H. Porcentajes para los niveles JAR (Just About Right) sobre el nivel de agrado de seis estilos de cervezas de maíz azul.

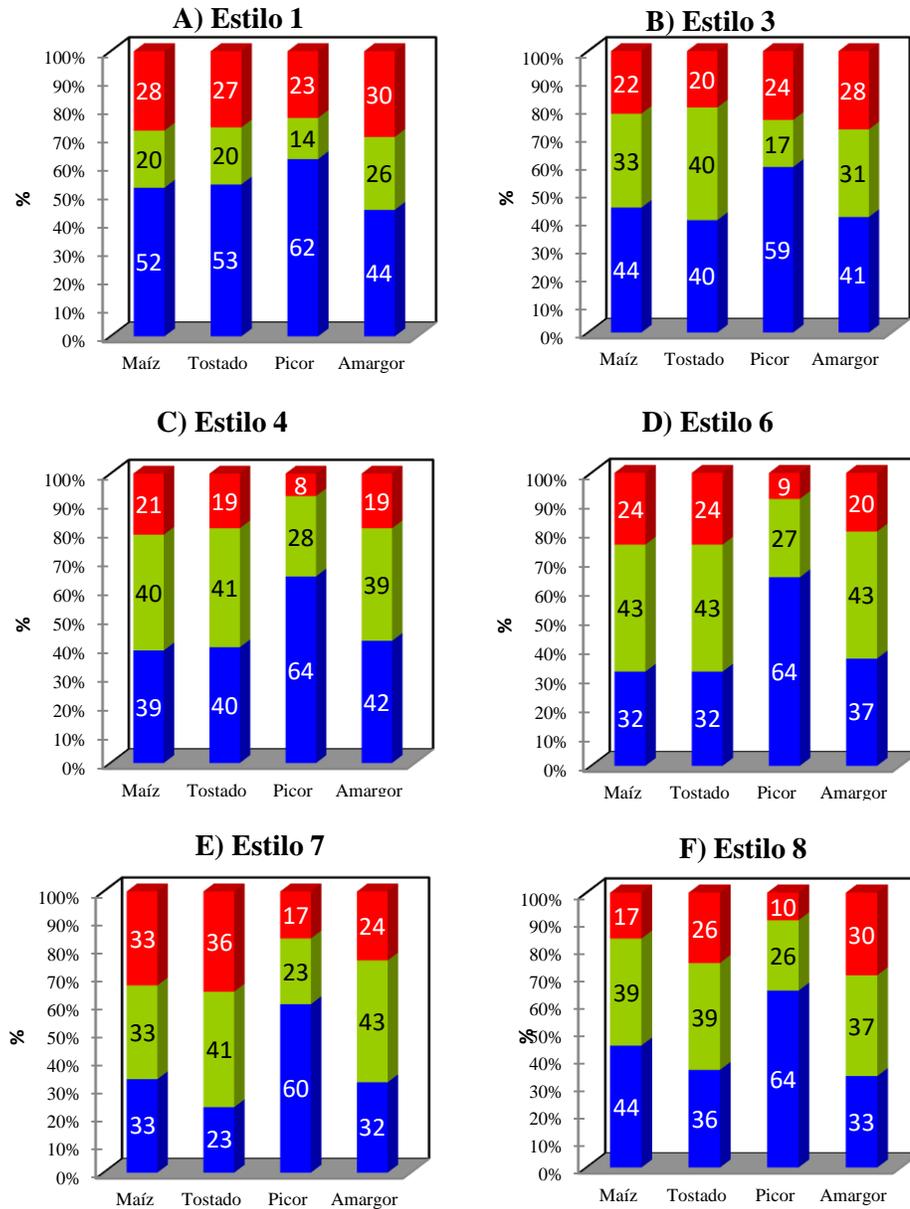
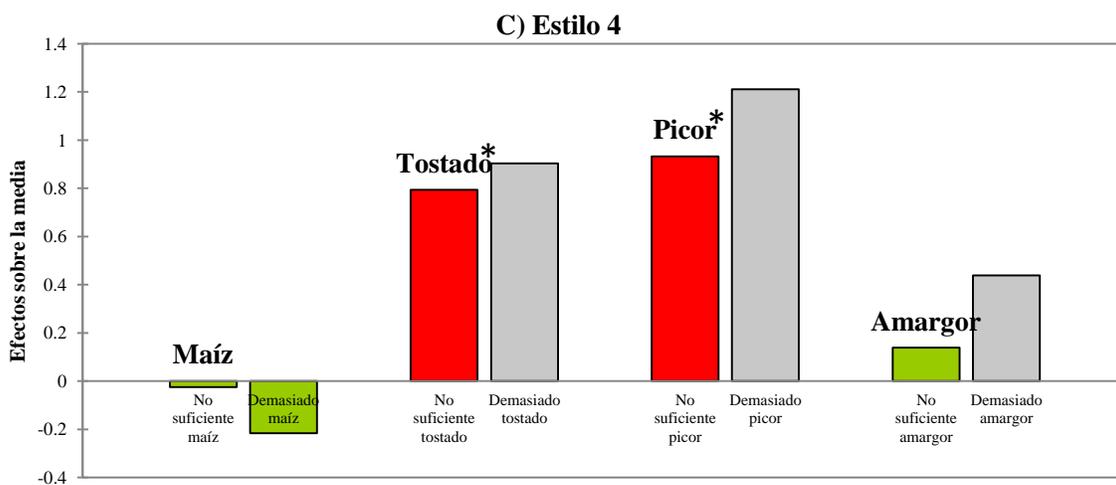
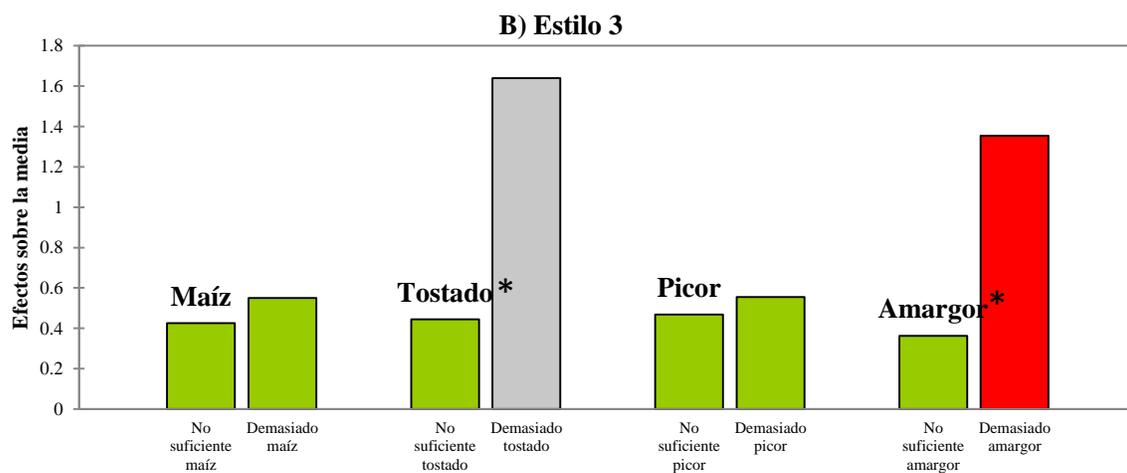
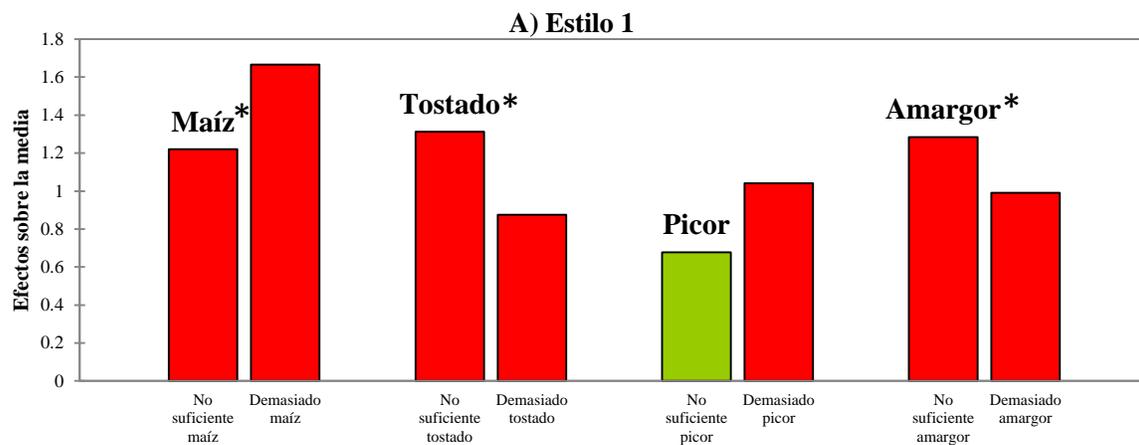
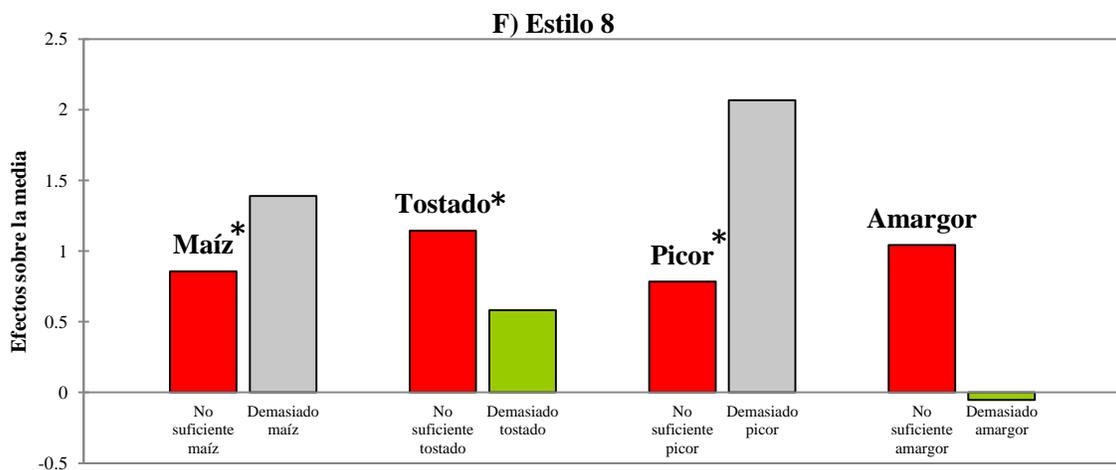
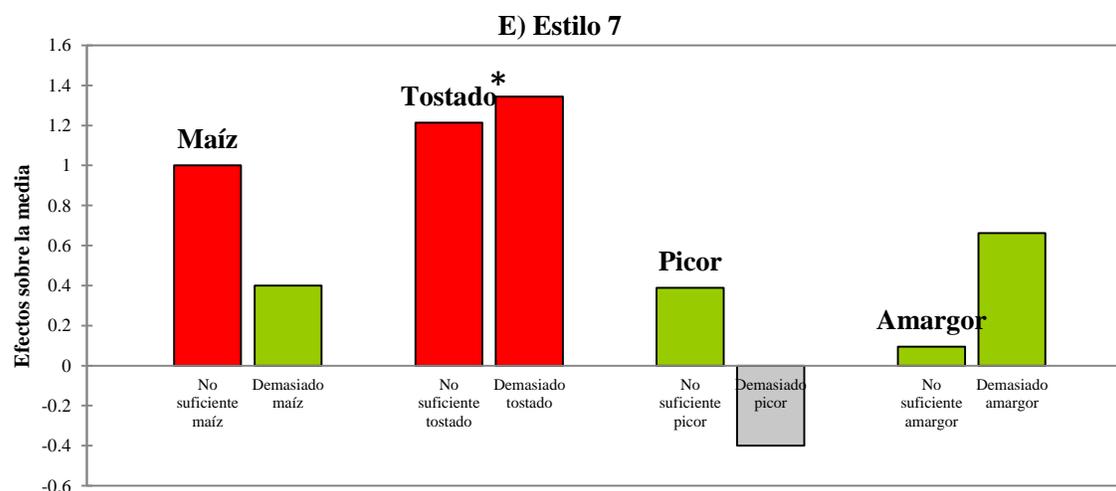
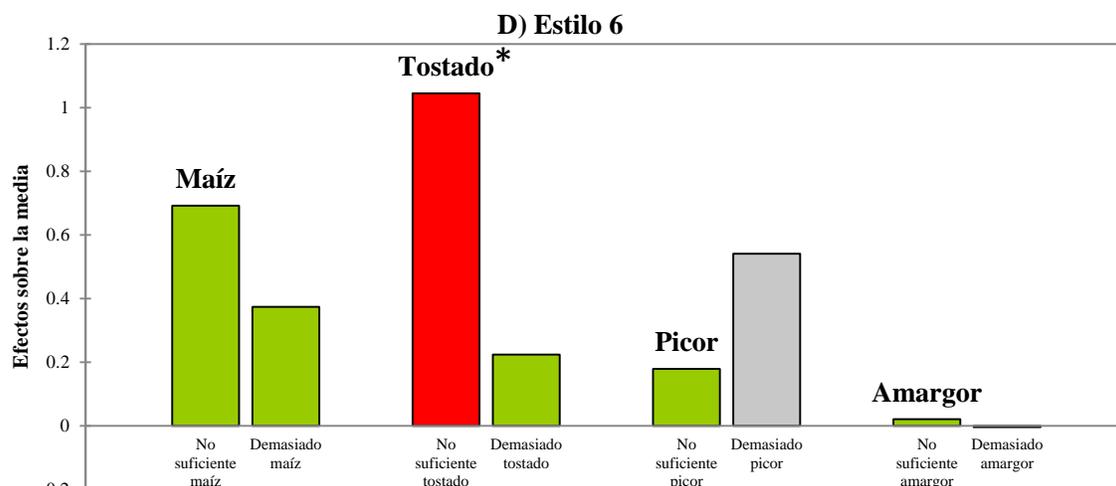


Figura 35. Porcentajes para los niveles de JAR agregados sobre el **nivel de agrado** de los estilos de cerveza de maíz azul elaborados. **Azul:** “insuficiente”, **verde:** JAR, y **rojo:** “demasiado”.

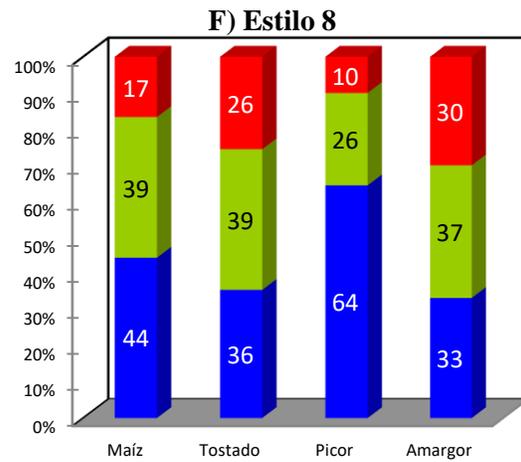
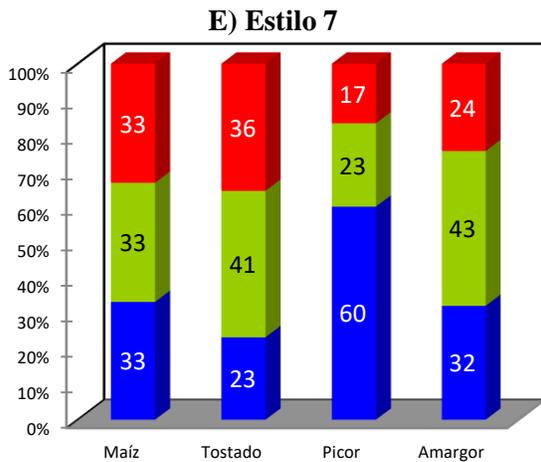
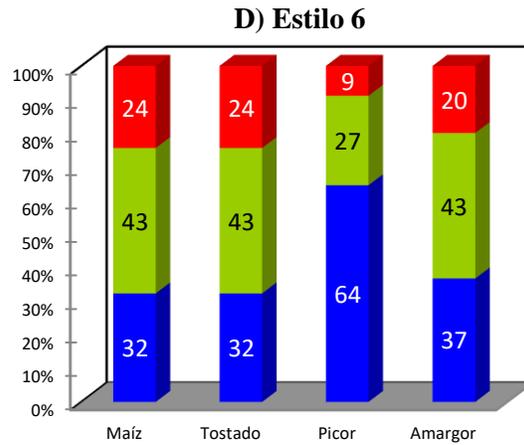
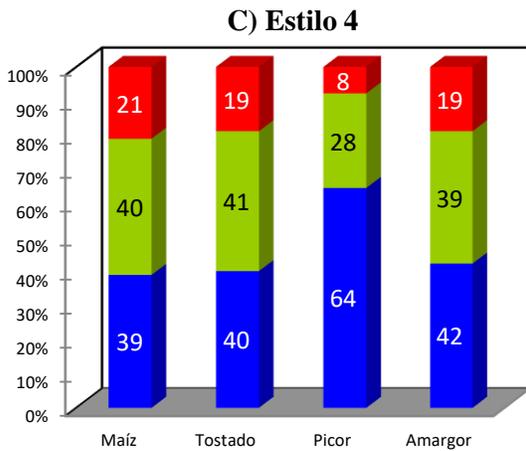
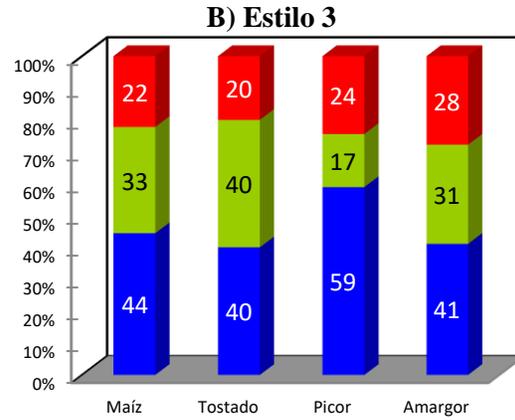
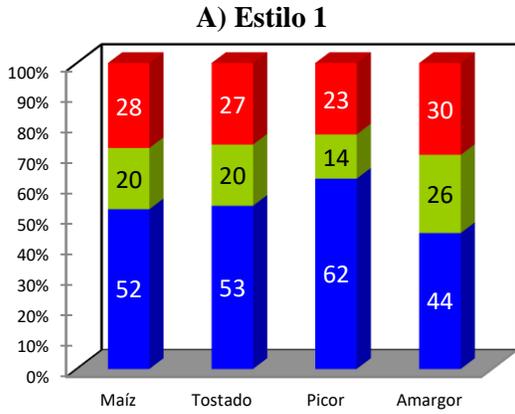
ANEXO IA. Efectos sobre la media del nivel de agrado de los estilos 1, 3 y 4 de cervezas de maíz azul. *: Indica que la prueba general fue significativa.



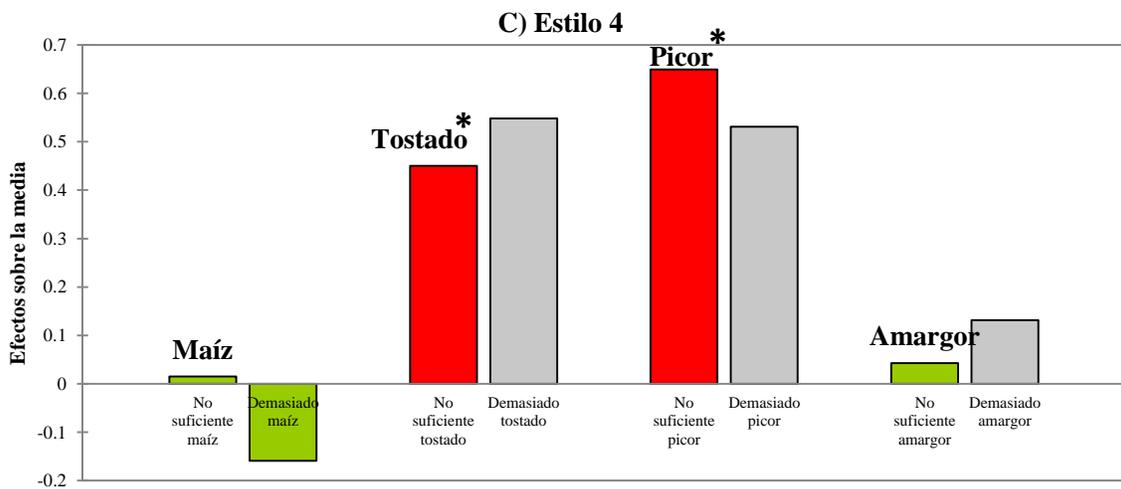
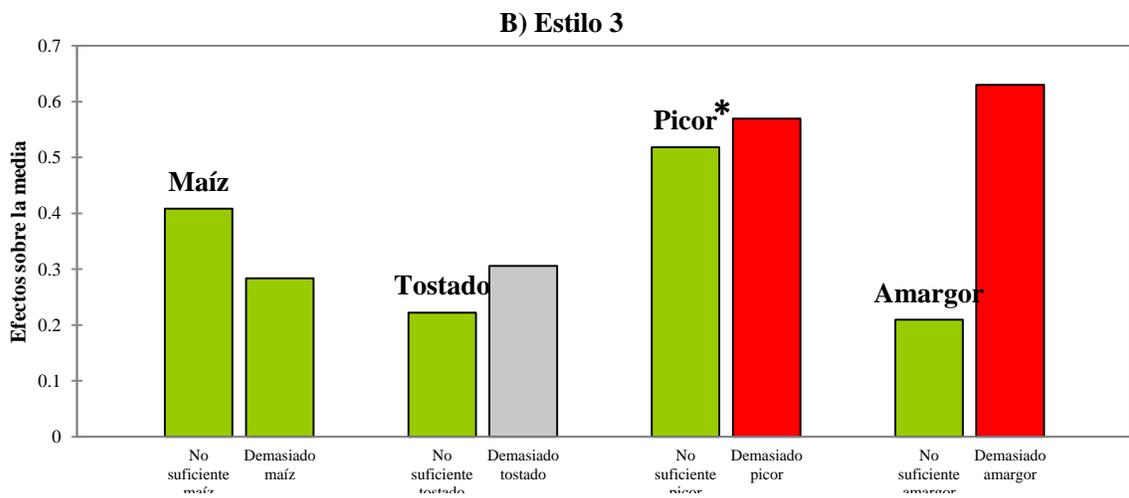
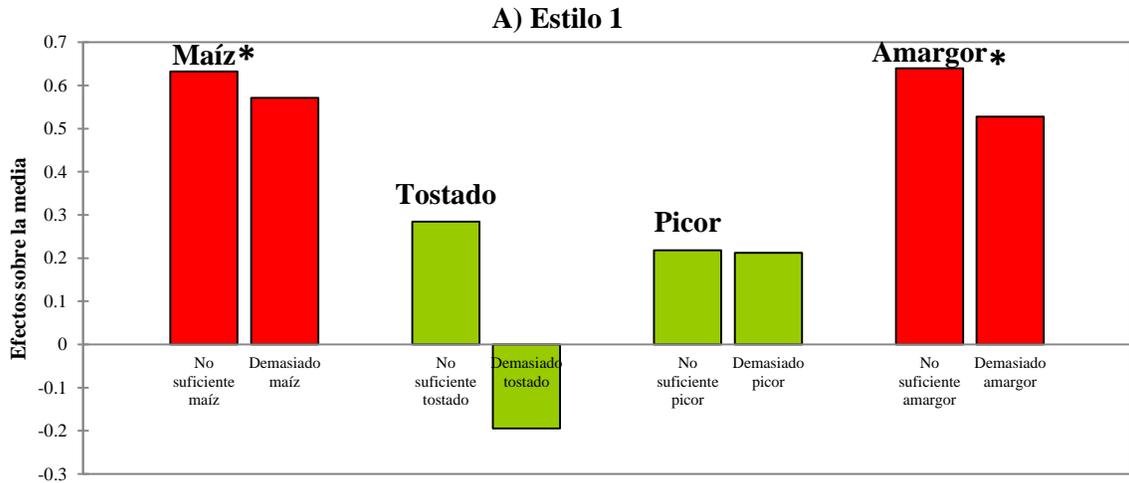
ANEXO IB. Efectos sobre la media del nivel de agrado de los estilos 6, 7 y 8 de cervezas de maíz azul. *: Indica que la prueba general fue significativa.



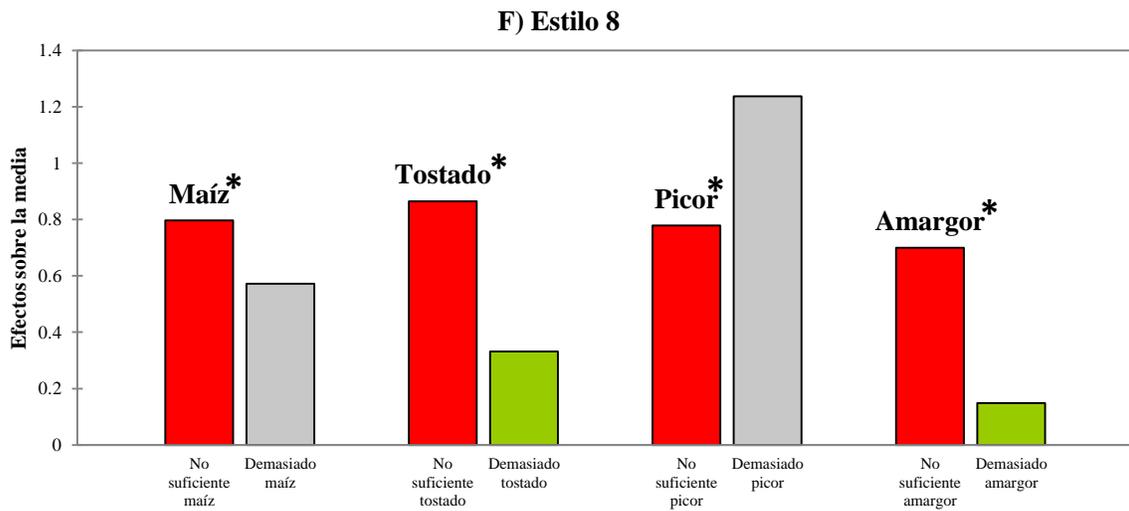
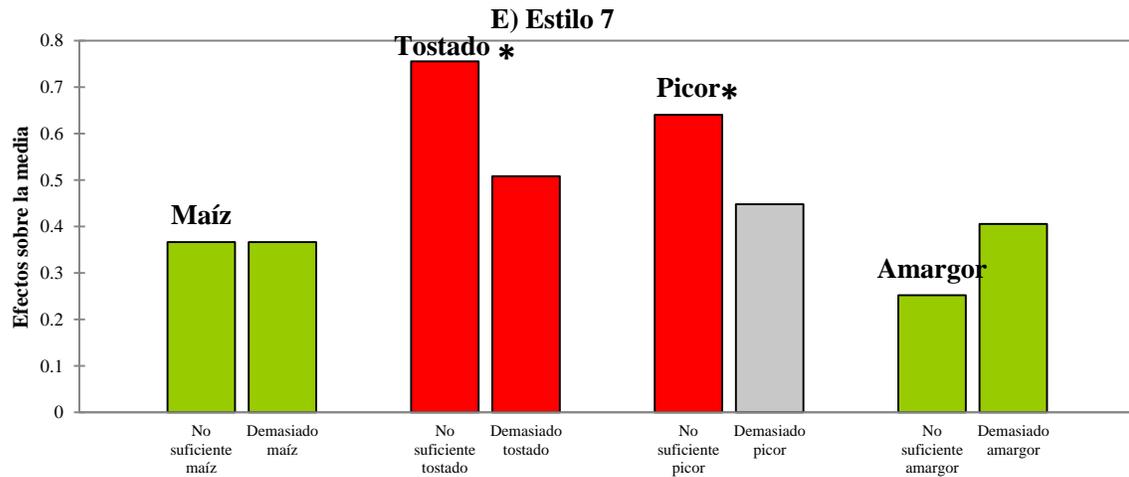
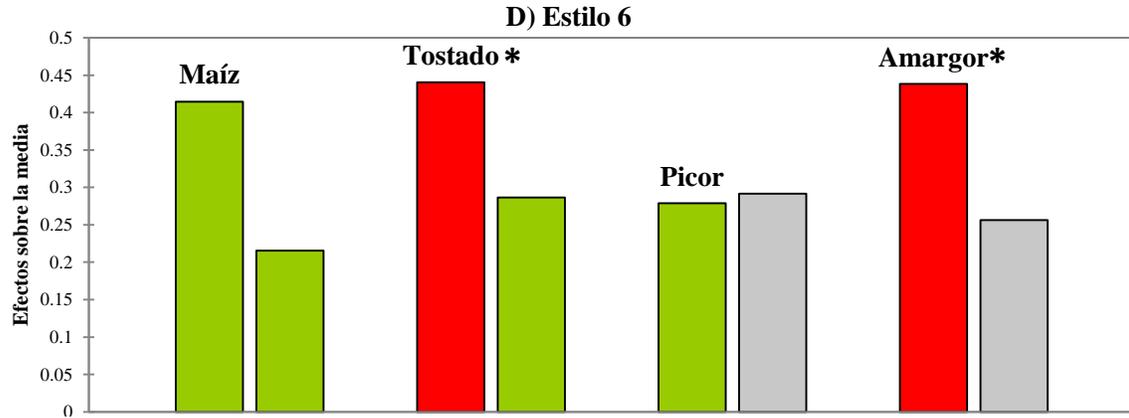
ANEXO J. Porcentajes para los niveles JAR (Just About Right) agregados sobre la intención de compra de seis estilos de cervezas de maíz azul.



ANEXO KA. Efectos sobre la media de intención de compra de los estilos 1, 3 y 4 de cervezas de maíz azul.

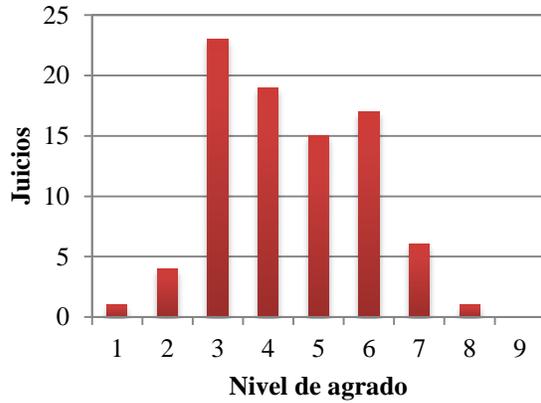


ANEXO KB. Efectos sobre la media de intención de compra de los estilos 6, 7 y 8 de cervezas de maíz azul.

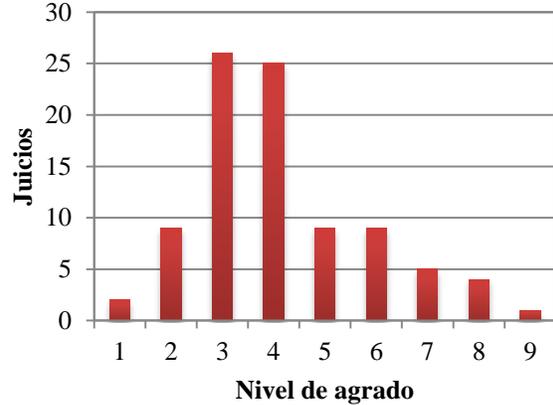


ANEXO L. Frecuencias de nivel de agrado de cada uno de los seis estilos de cervezas de maíz azul.

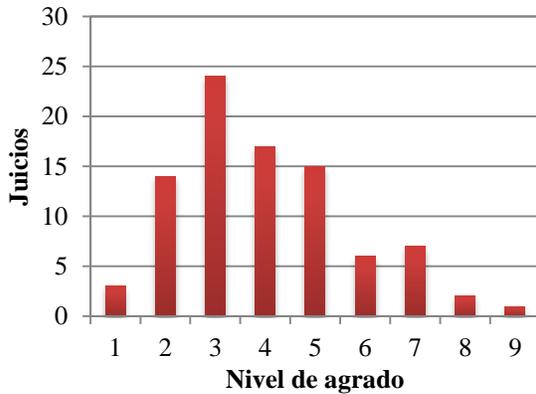
A) Estilo 1



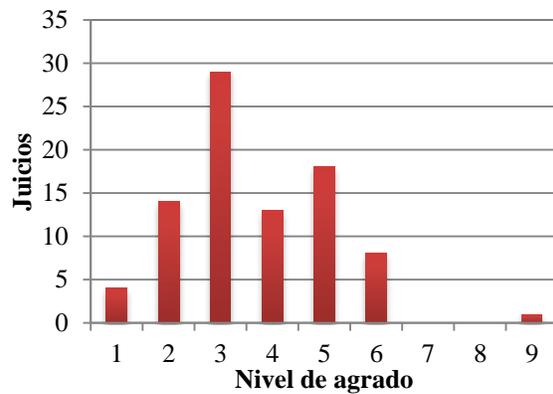
B) Estilo 3



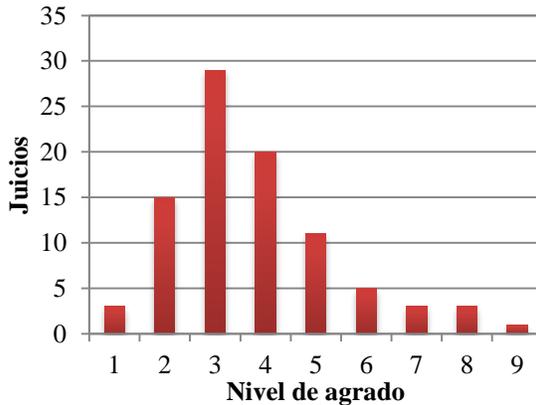
C) Estilo 4



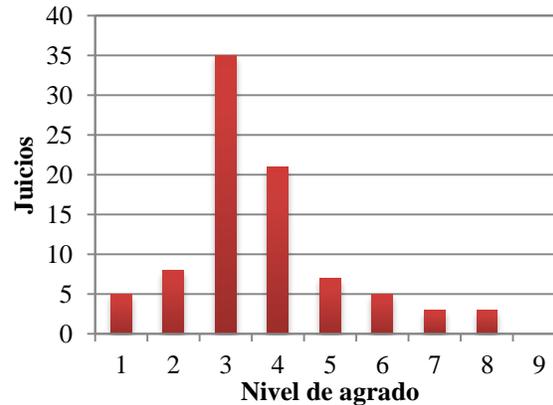
D) Estilo 6



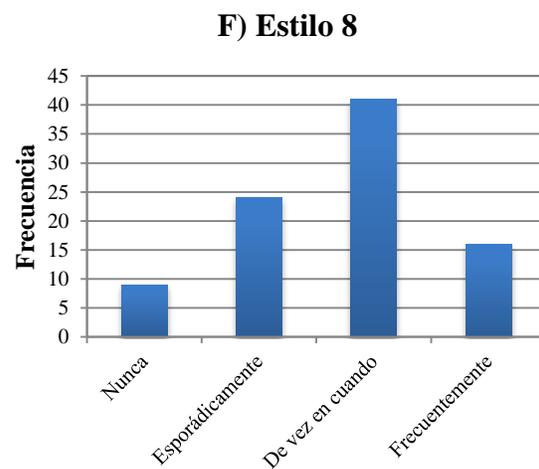
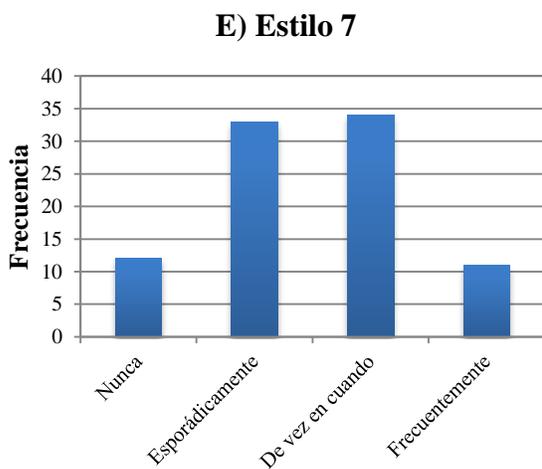
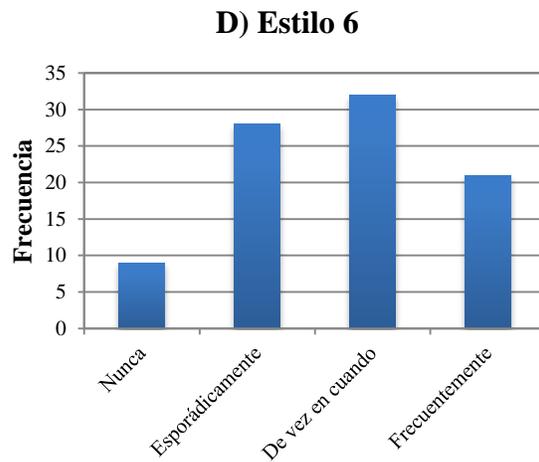
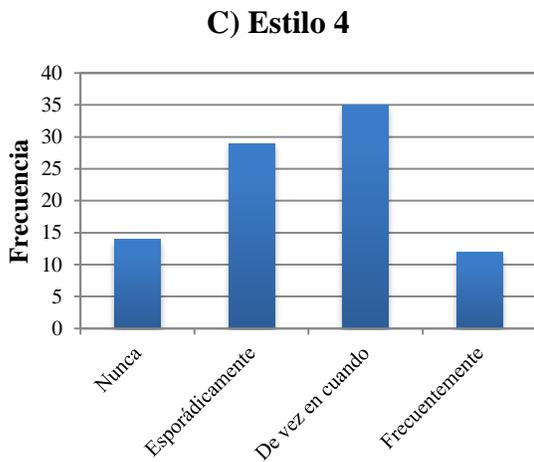
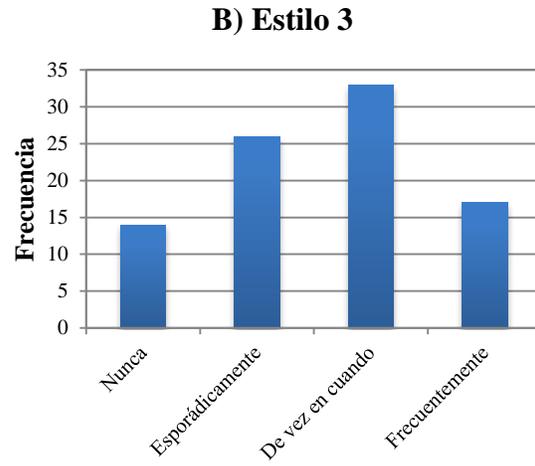
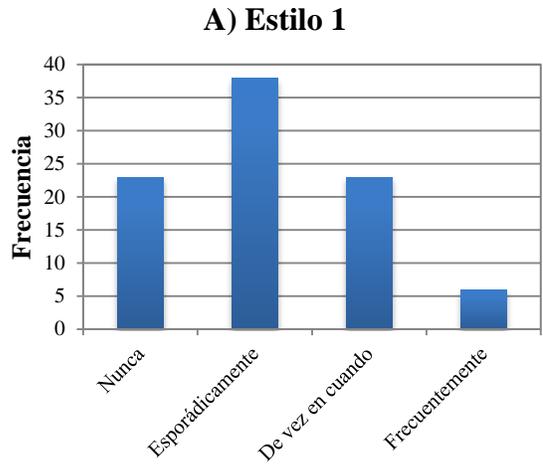
E) Estilo 7



F) Estilo 8



ANEXO M. Frecuencias de intención de compra de cada uno de los seis estilos de cervezas de maíz azul





Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No. 00196

Matrícula: 2133805813

INFLUENCIA DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA CERVEZA ARTESANAL DE MAÍZ AZUL EN LOS COMPUESTOS QUE LE DAN SABOR Y COLOR

En la Ciudad de México, se presentaron a las 11:00 horas del día 23 del mes de febrero del año 2018 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

- DRA. CLARA PELAYO ZALDIVAR
- DR. FRANCISCO RUIZ TERAN
- DR. HECTOR MANUEL LUNA CONTLA
- DR. HECTOR BERNARDO ESCALONA BUENDIA

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretario el último, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

DOCTORA EN BIOTECNOLOGIA

DE: ALEX MARIA DANIELA FLORES CALDERON

y de acuerdo con el artículo 78 fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



ALEX MARIA DANIELA FLORES CALDERON

ALUMNA

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISION DE CBS

DRA. SARA LUCIA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTA

DRA. CLARA PELAYO ZALDIVAR

VOCAL

DR. FRANCISCO RUIZ TERAN

VOCAL

DR. HECTOR MANUEL LUNA CONTLA

SECRETARIO

DR. HECTOR BERNARDO ESCALONA BUENDIA