



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa**

**División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Departamento de Biotecnología**

**ESTUDIO DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL TIEMPO DE
GERMINACIÓN SOBRE EL PODER DIASTÁSICO DE LAS MALTAS DE
MAÍZ AZUL Y ROJO DE LA RAZA CHALQUEÑO, ASÍ COMO DE LA
EVOLUCIÓN DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DURANTE EL
ENVEJECIMIENTO DE CERVEZAS PRODUCIDAS CON ESTAS MALTAS**

T E S I S

DOCTORADO EN BIOTECNOLOGÍA

MIGUEL ÁNGEL HERNÁNDEZ CARAPIA

Director: Dr. José Ramón Verde Calvo

Asesor: Dr. Héctor Bernardo Escalona Buendía

MÉXICO

2021

El Doctorado en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluido en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), con la referencia 001466

Esta tesis se llevó a cabo en el laboratorio de Enología y Alimentos Fermentados y en el de Análisis Sensorial del Departamento de Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

La tesis fue financiada con la beca número 635326/570375 otorgada por el CONACyT a Miguel Ángel Hernández Carapia.

Ciudad de México, a 1 de diciembre del 2021

El Honorable Jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa **aprobó** la tesis:

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL TIEMPO DE GERMINACIÓN SOBRE EL PODER DIASTÁSICO DE LAS MALTAS DE MAÍZ AZUL Y ROJO DE LA RAZA CHALQUEÑO, ASÍ COMO DE LA EVOLUCIÓN DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DURANTE EL ENVEJECIMIENTO DE CERVEZAS PRODUCIDAS CON ESTAS MALTAS

Que presentó Miguel Ángel Hernández Carapia

Con el comité tutorial:

Dr. José Ramón Verde Calvo

Director, UAM –Iztapalapa

Dr. Héctor Bernardo Escalona Buendía

Asesor, UAM –Iztapalapa

Jurado:

Presidente



Dr. Héctor Bernardo Escalona Buendía

Secretario



Dr. Fernando Díaz de León Sánchez

Vocal



Dra. Josefa Espitia López

Vocal



Dra. Alex María Daniela Flores Calderón

ÍNDICE

1. RESUMEN	11
2. SUMMARY	14
3. INTRODUCCIÓN	17
3.1. El maíz	17
3.1.1. Estructura y composición del grano	17
3.1.2. Clasificación del maíz	20
3.1.2.1. El maíz de la raza Chalqueño	20
3.1.3. Usos del maíz	21
3.2. La cerveza	23
3.2.1. Clasificación de las cervezas	23
3.2.1.1. Cervezas lager	23
3.2.1.2. Cervezas ale	24
3.2.2. La cerveza de maíz	25
3.2.3. El maíz en la industria cervecera	26
3.3. Proceso de elaboración de la cerveza	27
3.3.1. Malteado	27
3.3.1.1. La germinación	28
3.3.1.1.1. Actividad enzimática durante la germinación	29
3.3.1.2. La calidad de las maltas y el poder diastásico	30
3.3.1.2.1. La problemática con las maltas de maíz	30
3.3.1.2.2. Incremento de las enzimas β-amilasa ante agentes estresantes	31
3.3.2. Maceración	31
3.3.3. Cocción	33
3.3.4. Fermentación	33
3.3.5. Maduración	34
3.3.5.1. “Warm conditioning” o descanso de diacetilo	35
3.3.5.2. Lagering	35
3.3.6. Envasado y acondicionamiento en botella	35
3.4. Envejecimiento de la cerveza	36
4. JUSTIFICACIÓN	39
5. OBJETIVO GENERAL	39
6. OBJETIVOS PARTICULARES	39

7. HIPÓTESIS	40
8. METODOLOGÍA	41
8.1. Experimento del malteado	41
8.1.1. Adquisición y preparación de la muestra	41
8.1.2. Análisis bromatológico del maíz	42
8.1.3. Peso de 1000 granos	42
8.1.4. Germinación	42
8.1.4.1. Determinación del porcentaje de germinación	44
8.1.4.2. Determinación de la longitud de las acróspiras (LA)	45
8.1.5. Rendimiento del malteado	45
8.1.6. Correlación entre la longitud de la acróspira y la pérdida en el malteado	45
8.1.7. Poder diastásico	46
8.1.7.1. Método de Henry	46
8.1.7.1.1. Reactivos	46
8.1.7.1.2. Extracción de enzimas	46
8.1.7.1.3. Diastasis	46
8.1.7.1.4. Preparación de la solución blanco	46
8.1.7.1.5. Determinación de azúcares reductores	46
8.1.7.1.6. Calibración lineal para la determinación del poder diastásico	47
8.1.7.2. Método del IoB	47
8.1.7.2.1. Reactivos	47
8.1.7.2.2. Extracción de enzimas	47
8.1.7.2.3. Digestión de la solución de almidón	48
8.1.7.2.4. Titulación de la solución de Fehling	48
8.1.7.2.5. Corrección del blanco	48
8.1.7.2.6. Cálculo del poder diastásico	48
8.1.7.3. Determinación del poder diastásico de las maltas experimentales de maíz	49
8.1.7.4. Análisis de datos	49
8.2. Experimento piloto de germinación con agentes estresantes	50
8.2.1. Germinación y aplicación de agentes estresantes	50
8.2.2. Determinación del poder diastásico	51
8.2.3. Análisis de datos	51
8.3. Producción de las cervezas de maíz azul y rojo para el estudio del envejecimiento	51
8.3.1. Elección de las condiciones de maceración	51
8.3.1.1. Determinación de °Brix	54
8.3.1.2. Determinación de GE	54
8.3.1.3. Determinación de ARD	54
8.3.1.3.1. Valoración del reactivo de Fehling	55
8.3.1.3.2. Determinación de azúcares reductores en el mosto	55
8.3.2. Producción de las cervezas de maíz azul y rojo para el estudio de envejecimiento	56
8.3.2.1. Formulación de las cervezas	56
8.3.2.2. Molienda y maceración	56
8.3.2.3. Cocción	57
8.3.2.4. Fermentación	58

8.3.2.5.	Descanso de diacetilo	59
8.3.2.6.	Lagering	59
8.3.2.7.	Envasado y acondicionamiento en botella	60
8.3.2.8.	Almacenamiento	60
8.4.	Producción de seis diferentes estilos de cervezas ale de maíz	61
8.4.1.	Parámetros fisicoquímicos medidos en las cervezas	63
8.4.1.1.	Etanol	63
8.4.1.2.	Determinación de pH	63
8.4.1.3.	Determinación de ARD	64
8.4.1.4.	Determinación de °Brix	64
8.4.1.5.	Gravedad específica	64
8.4.1.6.	Acidez total	64
8.4.1.7.	Antocianinas libres totales (ALT)	65
8.5.	Evaluación sensorial de las cervezas de maíz	66
8.5.1.	Caracterización sensorial	66
8.5.2.	Prueba con consumidores	67
8.6.	Estudio de la evolución de los compuestos volátiles durante el envejecimiento de las cervezas de maíz.	68
8.6.1.	Diseño experimental	68
8.6.2.	Identificación de compuestos volátiles	68
8.6.2.1.	Extracción	68
8.6.2.2.	Análisis cromatográfico	68
8.6.2.3.	Identificación de los compuestos volátiles	69
9.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	71
9.1.	Experimento del malteado	71
9.1.1.	Análisis bromatológico del maíz	71
a)	Adeniyyi y Ariwoola (2019); b) Peña-Betancourt et al. (2017); Sánchez-Madrigal et al. (2014)	71
9.1.2.	Peso de 1000 granos	71
9.1.3.	Germinación	72
9.1.3.1.	Análisis de los datos obtenidos del experimento de germinación	72
9.1.3.2.	Determinación del porcentaje de germinación	73
9.1.3.3.	Determinación de la longitud de las acróspiras	74
9.1.4.	Rendimiento del malteado	76
9.1.5.	Correlación entre la longitud de la acróspira y la pérdida en el rendimiento del malteado	79
9.1.6.	Poder diastásico	80
9.1.6.1.	Poder diastásico de las maltas experimentales	81
9.2.	Experimento piloto de germinación con agentes estresantes	85
9.3.	Producción de las cervezas de maíz azul y rojo para el estudio de envejecimiento	87
9.3.1.	Elección de las condiciones de maceración	87
9.4.	Producción de seis diferentes estilos de cervezas ale de maíz	89

9.5.	Evaluación sensorial de las cervezas de maíz	92
9.5.1.	Caracterización fisicoquímica	92
9.5.2.	Caracterización sensorial	93
9.5.3.	Prueba con consumidores	103
9.5.3.1.	Análisis de penalización	108
9.6.	Análisis de los compuestos volátiles durante el envejecimiento de la cerveza	117
9.6.1.	Identificación de los compuestos volátiles en las muestras	117
10.	CONCLUSIONES	128
11.	REFERENCIAS	130
12.	ANEXOS	153
12.1.	Formato empleado para la prueba hedónica de las cervezas.	153
12.2.	Formato empleado para la prueba Rate All That Apply (RATA).	155
13.	GLOSARIO	158

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Maíz azul de la raza Chalqueño	41
Figura 2. Maíz rojo de la raza Chalqueño	41
Figura 3. Cámara ambiental con las UE correspondientes a un mismo nivel del factor TG	44
Figura 4. Incubación a 20 °C para la extracción de enzimas de las maltas destinadas a la construcción de la curva de calibración	48
Figura 5. Cocción del mosto de maíz azul	58
Figura 6. Cocedor usado en la ebullición de los mostos	58
Figura 7. Fermentador empleado para la producción de cervezas de maíz	59
Figura 8. Cerveza lager de maíz rojo embotellada	60
Figura 9. Embalaje de las cervezas de maíz para su almacenamiento	61
Figura 10. Escala de colores Standard Reference Method (SRM) empleada para la asignación del atributo color en las muestras de cerveza evaluadas	67
Figura 11. Efecto de la temperatura y el tiempo de germinación sobre la longitud de la acróspira de las maltas de maíz azul y rojo	74
Figura 12. Efecto de la temperatura y el tiempo de germinación sobre el rendimiento del malteado en maltas de maíz rojo de la raza Chalqueño	77
Figura 13. Efecto de la temperatura y el tiempo de germinación sobre el rendimiento del malteado en maltas de maíz azul de la raza Chalqueño	77
Figura 14. Regresión lineal de la pérdida en el rendimiento del malteado como función de la longitud de la acróspira	79
Figura 15. Curva de calibración de los métodos de Henry y del IoB	80
Figura 16. Efecto de la temperatura y el tiempo de germinación sobre el poder diastásico de las maltas de maíz azul y rojo de la raza Chalqueño	83
Figura 17. Poder diastásico de las maltas de maíz azul y rojo germinadas por 7 días a 25 °C	84
Figura 18. Poder diastásico de las maltas de maíz rojo obtenidas mediante la aplicación de diferentes agentes estresantes	86
Figura 19. Cervezas de maíz de diferentes estilos	90
Figura 20. Perfil sensorial de los atributos no significativos de las cervezas del bloque “Pilsner”	94
Figura 21. Perfil sensorial de los atributos no significativos de las cervezas del bloque “Vienna”	95
Figura 22. Perfil sensorial de los atributos significativos de las cervezas del bloque “Pilsner”	96
Figura 23. Cerveza “BA de MR”	97
Figura 24. Perfil sensorial de los atributos significativos de las cervezas del bloque “Vienna”	100
Figura 25. Mapa consenso de los atributos visuales y olfativos del Análisis Procrusteano Generalizado	101
Figura 26. Mapa consenso de los atributos gustativos y de sensación en boca del Análisis Procrusteano Generalizado	102

Figura 27. Frecuencias de agrado visual de las cervezas correspondientes al bloque “Pilsner”	104
Figura 28. Frecuencias de agrado general de las cervezas correspondientes al bloque “Pilsner”	104
Figura 29. Frecuencias de agrado visual de las cervezas correspondientes al bloque “Vienna”	105
Figura 30. Frecuencias de agrado general de las cervezas correspondientes al bloque “Vienna”	106
Figura 31. Cerveza “IRA de MR”	107
Figura 32. Frecuencias de agrado visual de las cervezas correspondientes al bloque “Maíz”	107
Figura 33. Frecuencias de agrado general de las cervezas correspondientes al bloque “Maíz”	108
Figura 34. Etiquetado de la cerveza Corona® (vendida en España) y de la cerveza Heineken®	109
Figura 35. Porcentajes de las frecuencias para los niveles JAR de los atributos evaluados en la cerveza “PA de MA 1”	110
Figura 36. Efectos sobre la media de los atributos evaluados en la cerveza “PA de MA 1”	111
Figura 37. Porcentajes de las frecuencias para los niveles JAR de los atributos evaluados en la cerveza “BA de MR 1”	112
Figura 38. Efectos sobre la media de los atributos evaluados en la cerveza “BA de MR 1”	113
Figura 39. Porcentajes de las frecuencias para los niveles JAR de los atributos evaluados en la cerveza “IRAP de MR”	114
Figura 40. Porcentajes de las frecuencias para los niveles JAR de los atributos evaluados en la cerveza “IRA de MR”	115
Figura 41. Efectos sobre la media de los atributos evaluados en la cerveza “IRA de MR”	115
Figura 42. Porcentajes de las frecuencias para los niveles JAR de los atributos evaluados en la cerveza “S de MA”	116
Figura 43. Efectos sobre la media de los atributos evaluados en la cerveza “S de MA”	117
Figura 44. Cromatograma de la cerveza lager de maíz azul con dos meses de almacenamiento a temperatura ambiente	118

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Países con mayor consumo anual per cápita de maíz	23
Tabla 2. Métodos usados para la realización del análisis bromatológico del maíz	42
Tabla 3. Formulación de los diferentes estilos de cerveza de maíz	62
Tabla 4. Concentraciones y tiempos de retención de los estándares empleados para la identificación de los compuestos volátiles en las cervezas de maíz	70
Tabla 5. Perfil bromatológico del maíz azul y rojo de la raza Chalqueño	71
Tabla 6. Resultados del ANOVA del experimento de germinación	72
Tabla 7. Resultados del ANOVA del experimento de germinación	74
Tabla 8. Poder diastásico de algunas maltas experimentales	81
Tabla 9. Programa de tiempos y temperaturas de los diferentes tratamientos y variables respuesta obtenidas en los mostos	88
Tabla 10. Perfil fisicoquímico de los estilos de cervezas de maíz producidos	89
Tabla 11. Parámetros fisicoquímicos de las cervezas de experimentales de maíz y de las cervezas comerciales	93
Tabla 12. Valores de las medias y medianas correspondientes al agrado visual y general de las cervezas evaluadas	103
Tabla 13. Compuestos identificados en las muestras de cerveza de maíz del estudio de envejecimiento	119

NOTA ACLARATORIA

En esta tesis se emplea un lenguaje cervecero, por lo que algunos términos pueden diferir del lenguaje empleado en fisiología vegetal. Una de las principales diferencias es el uso del término germinación, que si bien fisiológicamente hablando ésta termina cuando emerge la radícula, para efectos del malteado la elongación de la plántula se considera parte de la germinación.

1. RESUMEN

El endospermo del maíz está constituido por aproximadamente 70 % de almidón, lo que lo hace una excelente fuente de carbohidratos para la producción de cerveza. Sin embargo, debido a su bajo poder diastásico, únicamente se le usa como adjunto en la industria cervecera. Por tal motivo se decidió abordar un estudio para evaluar tanto el efecto de la temperatura como del tiempo de germinación sobre el poder diastásico y el rendimiento del malteado del maíz azul y rojo de la raza Chalqueño, así como la producción y análisis de cervezas obtenidas con estas maltas, además del desarrollo de diferentes estilos. Para la primera parte se diseñó un experimento completamente al azar de tres factores que fueron el color del maíz (azul y rojo), la temperatura de germinación (15, 20 y 25 °C) y el tiempo de germinación (3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9 días). Los resultados de este experimento mostraron que tanto la temperatura como el tiempo de germinación estimularon el crecimiento de la acróspira en el maíz, lo cual tuvo un efecto negativo en el rendimiento del malteado. También se encontró que el poder diastásico mantuvo un incremento hasta el séptimo día de germinación (a las tres temperaturas evaluadas), en el cual alcanzó su máximo para después decrecer. De manera similar, se encontró que a medida que se incrementó la temperatura de germinación, el poder diastásico también aumentó. Los poderes diastásicos máximos para el maíz azul y rojo fueron de 39 y 42 °Lintner (°L), respectivamente, los cuales correspondieron a las maltas germinadas a 25 °C durante 7 días. Posteriormente se llevó a cabo un experimento piloto para evaluar el efecto de la aplicación de algunos agentes estresantes (soluciones de etanol, NaCl, sacarosa y ácido cítrico, así como temperaturas de “refrigeración” y “congelación”), durante la germinación, sobre el poder diastásico de las maltas de maíz rojo. Los resultados mostraron que los tratamientos que tuvieron el efecto más favorable sobre la media del poder diastásico de la malta de maíz rojo fueron el de “congelación” y “refrigeración”, con los cuales se

obtuvieron maltas con medias de poder diastásico de 43 y 47 °L, respectivamente, pero las cuales no tuvieron una diferencia significativa con la malta control que tuvo 40 °L. A este par de experimentos prosiguió un estudio en el que se evaluaron ocho tratamientos distintos para la etapa de maceración en el proceso de producción de la cerveza de maíz. En este estudio las variables respuesta medidas fueron los °Brix, la gravedad específica y los azúcares reductores directos (ARD). Este estudio mostró que la infusión escalonada de 10 min a 40 °C, 10 min a 50 °C, 30 min a 64 °C y 30 min a 70 °C fue la que produjo el mosto con la mayor cantidad de azúcares reductores, y por lo tanto la que se empleó para la producción de las cervezas de maíz del presente trabajo. Con estas condiciones de maceración se realizó la producción de seis diferentes estilos de cervezas de maíz (“PA de MA 1”, “BA de MR 1”, “IRAP de MR”, “IRA de MR”, “S de MA” y “P de MR”), además de una variante de dos de ellos (“PA de MA 2” y “BA de MR 2”). A estas cervezas, así como a cuatro cervezas comerciales: “Corona[®]”, “Heineken[®]”, “Victoria[®]” y una de estilo Vienna de la marca “Minerva[®]”, se les determinó el contenido de etanol, pH, ARD, ° Bx, gravedad específica, acidez total y antocianinas libres totales. Posteriormente, a los estilos “PA de MA 1”, “BA de MR 1” y a las cuatro cervezas comerciales se les realizó una evaluación sensorial con un panel de 11 jueces entrenados, los cuales por medio de una prueba “Rate All That Apply” evaluaron 50 atributos (visuales, olfativos, gustativos y de sensación en boca) en estas cervezas. De igual forma, estas cervezas, además de los estilos “IRAP de MR”, “IRA de MR” y “S de MA”, fueron sometidas a una evaluación con consumidores, para la que se usó una prueba “Just-About-Right” en la que los consumidores calificaron siete atributos (ocho para el caso de la cerveza “IRAP de MR”), además del agrado visual y general de las cervezas. Cabe mencionar que las cervezas se presentaron a los consumidores en bloques de tres (Bloque “Pilsner”: “Corona[®]”, “Heineken[®]” y “PA de MA 1”; Bloque “Vienna”: “Victoria[®]”, “Minerva[®]” y “BA de MR 1”; Bloque “Maíz”: “IRAP de MR”, “IRA de MR” y “S de MA”). Los resultados de estos estudios mostraron que el contenido alcohólico de los estilos producidos estuvo entre 3.86 y 7.21 % ABV, pH de 3.9-4.25, ARD de 2.08-2.81 g/100 mL y acidez total entre 0.17-0.19 g/100mL. Respecto al análisis sensorial de las cervezas de maíz y las cervezas comerciales, entre los atributos que fueron significativamente diferentes, es decir que distinguieron a las cervezas, estuvieron el “brillo”, la “turbidez”, “el color”, el “cuerpo” así como notas olfativas y/o gustativas de “café”, “caramelo”, “chocolate” y

“maíz”. En la prueba con consumidores las cervezas del bloque “Vienna” agradaron más que las cervezas del bloque “Pilsner” y que las del bloque “Maíz”. Dentro del bloque “Pilsner” no hubo diferencia significativa entre las cervezas, mientras que en el bloque Vienna la cerveza “BA de MR 1” fue la que más agrado tuvo entre los consumidores; en el bloque “Maíz”, y en general entre todas las muestras evaluadas, la cerveza “IRAP de MR” fue la que menos agradó. Finalmente, se produjeron cuatro diferentes cervezas: lager de maíz azul, lager de maíz rojo, ale de maíz azul y ale de maíz rojo, todas ellas producidas 100 % con malta base de maíz. La mitad de cada lote producido se almacenó a temperatura ambiente (14-26 °C) y la otra mitad a temperatura de refrigeración (4 °C). A estas cervezas se les analizó la evolución de los volátiles tras 0, 1, 2 y 3 meses de envejecimiento. Los resultados de este último estudio mostraron que los mayores cambios observados fueron por efecto del tiempo de almacenamiento que se vio reflejado en la disminución de algunos ésteres que le dan un carácter afrutado a las cervezas frescas, tales como el hexanoato de etilo y el acetato de isoamilo, así como en el incremento de otros compuestos reportados como marcadores del envejecimiento, como es caso del isobutirato de etilo o el hexanal. Por otra parte, la temperatura de almacenamiento también mostró, aunque en menor medida, un efecto significativo sobre la evolución de algunos compuestos, entre los que sobresale la γ -nonalactona, reportada como un indicador de temperatura en el envejecimiento de la cerveza. Tras los estudios realizados, se puede concluir que mediante las condiciones óptimas de malteado obtenidas en el presente trabajo de investigación se pueden obtener maltas de maíz de la raza Chalqueño, tanto azul como rojo, que son aptas para la producción de cervezas con una graduación alcohólica por encima de 4 % ABV, con un buen perfil sensorial y que tienen buena aceptación entre los consumidores. De igual manera se puede concluir la importancia que tienen el tiempo y las condiciones de almacenamiento para que estas cervezas conserven los ésteres que le aportan las notas afrutadas y para que se evite el incremento de compuestos que les da un carácter de deterioro o de envejecido.

2. SUMMARY

Maize endosperm consists of about 70 % starch, which makes it an excellent substrate for fermentation. However, due to its low diastatic power, it is generally used in brewing industry as an adjunct. For this reason, it was decided to carry out a study to evaluate the effect of temperature and germination time on both diastatic power and malting yield of blue and red Chalqueño-race maize, the production and analysis of beers obtained from these malts, and the developing of different beer styles. For the first part of the study, a completely randomized three-factor experimental design was made, in which the involved factors were color of maize (blue and red), germination temperature (15, 20, and 25 °C), and germination time (3, 4, 5, 6, 7, 8, and 9 days). Results showed that both temperature and germination time encouraged the acrospire length, which had a negative effect on malting yield. Regarding to diastatic power, it maintained an increase from third to seventh day of germination (at the three tested temperatures), in which the maximum was reached, and then decreased. In a similar way, as the germination temperature increased, diastatic power also increased. The highest diastatic power for blue and red maize malts were 39 and 42 °L, respectively, and it was reached when these malts were germinated for 7 days at 25 °C. After this experiment, a pilot study to evaluate the effect of the application of some stress agents (ethanol, NaCl, sucrose, and citric acid solutions, as well as “refrigeration” and “freezing” temperatures) during germination on diastatic power of red maize malts was carried out. Results of this study showed that the “refrigeration” and “freezing” treatments had the most favorable effect on the diastatic power means of the red maize malts, which were of 43 and 47 °L, respectively, but, in spite of that, there was no significant difference comparing them to the control malt, which had a diastatic power value of 40 °L. This pair of experiments were followed by a study in which eight different mashing treatments for maize beer production were evaluated, where the response variables were °Brix, specific gravity, and direct reducing sugars (DRS). Results indicated that the step infusion program consisting of 10 min at 40 °C, 10 min at 50 °C, 30 min at 64 °C, and 30 min at 70 °C was the one that produced the must with the highest reducing sugar content, and therefore it was used to brew the maize beers of the present work. After that, six different maize beer styles (“PA de MA 1”, “BA de MR 1”, “IRAP de MR”, “IRA de MR”, “S de MA” y “P de MR”), plus a variant of two of them (“PA de MA 2” y “BA de MR 2”), were produced. Then, pH, °Bx, specific gravity, total acidity, DRS, total free anthocyanins,

and ethanol content were determined in these beers as well as in four commercial beers, which were “Corona®”, “Heineken®”, “Victoria®” and a “Vienna” style of the “Minerva®” brand. After that, the beers “PA de MA 1” and “BA de MR 1”, as well as the four commercial beers were sensory evaluated by 11 trained judges, who rated 50 attributes (visual, olfactory, gustatory, and mouthfeel) by means a “Rate-All-That-Apply” test. In addition, these beers plus the styles “IRAP de MR”, “IRA de MR” y “S de MA” were hedonically evaluated by using a “Just-About-Right” test, in which consumers scored seven attributes (eight in the case of the “IRAP de MR” style) as well as visual and general liking. Is important to mention that consumers evaluated the beers in groups of three (Group “Pilsner”: “Corona®”, “Heineken®”, and “PA de MA 1”; Group “Vienna”: “Victoria®”, “Minerva®”, and “BA de MR 1”; Group “Maíz”: “IRAP de MR”, “IRA de MR”, and “S de MA”). Results of these studies showed that the physicochemical profiles of the developed beer styles were: alcoholic content between 3.86-7.21 % ABV, pH between 3.9-4.25, DRS between 2.08-2.81 %, and total acidity between 0.17-0.19 %. Respecting sensory evaluation of the maize beers and commercial beers, attributes like “bright”, “turbidity”, “color”, and “body” as well as olfactory and/or gustatory notes of “coffee”, “caramel”, “chocolate”, and “maize” resulted significant, and thus differentiate the beers. In the consumers test, the “Vienna” beers set liked more than both the “Pilsner” and the “Maize” beers set. Inside the “Pilsner” set there was no significant difference, meanwhile inside the “Vienna” set, the beer “BA de MR 1” liked the most among consumers. Inside the “Maize” set, and in general, the beer “IRAP de MR” liked the least. Finally, four different beers from 100 % base maize malt (lager blue maize, lager red maize, ale blue maize, and ale red maize) were brewed. A half of each produced batch was stored at room temperature (14-26 °C) and the remaining half at fridge temperature (4 °C). The volatiles compounds of these beers were analyzed after 0, 1, 2, and 3 months of aged. Results indicated that the greatest changes were due to the effect of storage time, which brought about both the decrease of some esters, like ethyl hexanoate and isoamyl acetate, that give the fresh beers their fruity character, and the increase of some compounds reported as aging markers like ethyl isobutyrate and hexanal. In addition, the storage temperature also had, although to a lesser extent, significant effect on the evolution of some compounds, among which γ -nonalactone, that is reported as temperature indicator in beer aging, stands out. From the performed studies, it can be concluded that through the optimum

malting conditions obtained in the present work it is possible to obtain malts of both blue and red Chalqueño-race maize, which would be suitable for production of beers having an alcohol content more than 4 % ABV, with good sensory profile, and well accepted by consumers. In the same way, it could be concluded that both time and storage conditions are crucial for these beers to preserve the esters that give them fruity notes and to avoid the increase of compounds that give them a deteriorated or aged character.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. El maíz

El origen del término maíz se remonta a mediados del siglo XVI y proviene del vocablo taíno *mahiz* (Oxford Learner's Dictionary, 2021), que significa “pan de vida” o “grano de los dioses” (Preet, 2001). El maíz (*Zea mays*) es el cereal de los pueblos y culturas del continente americano, pues las más antiguas civilizaciones de América, desde los Olmecas y Teotihuacanos en Mesoamérica hasta los Incas y Quechuas en la región andina en Sudamérica, estuvieron acompañadas en su desarrollo por esta especie (Serratos, 2009). Todo apunta a que México es el lugar de origen del maíz, ya que la teoría más aceptada sobre este tema es aquella que apunta a que el teocintle o teosinte es el ancestro de esta especie, y la evidencia arqueológica más antigua que se tiene de este cereal se encontró en el Valle de Tehuacán, Puebla (Györi, 2017). En la actualidad es uno de los cereales más importantes en el mundo (Györi, 2017) y constituye la base de la alimentación tanto para nuestra cultura como para otras (Bello-Pérez et al., 2016).

3.1.1. Estructura y composición del grano

El *Zea mays* (nombre científico) es una planta gramínea alta, perteneciente a las Poaceae, la familia de las gramíneas (Sandhu, 2014), anual, con vainas foliares que se superponen, y láminas anchas alternadas; posee espigas (inflorescencias femeninas encerradas por “chalas”) de 7 a 40 cm de largo y flores estaminadas que, en conjunto, forman grandes panojas terminales o inflorescencias masculinas. Se propaga por semillas producidas mayormente por fecundación cruzada (alógama) y depende del movimiento del polen por el viento (Gear, 2006). Su cultivo es muy versátil, ya que su rango de zonas agroclimáticas va desde los 58° N hasta 40° S de latitud, desde el nivel del mar hasta los 3000 m de altitud, y en áreas con precipitaciones pluviales que van de los 250 mm hasta más de 5000 mm (Sandhu, 2014).

El grano de maíz está compuesto por el endospermo (82-83%), germen o embrión (10-11%), pericarpio (5-6%) y el pedicelo (0.8-1%). El pericarpio es la capa más externa que está caracterizada por un alto contenido de fibra cruda, que consiste principalmente de hemicelulosa, celulosa y lignina, y es la primera de ellas la que se encuentra en más alta concentración en la fibra cruda. El grosor del pericarpio varía en los diferentes tipos de maíz y se extiende hasta la base del grano en donde se une con el pedicelo. Este último, junto con

el pericarpio, constituye una pequeña parte del total de los lípidos del grano. Por otra parte, el endospermo está compuesto por un gran número de células muertas, cada una empacada con gránulos de almidón incrustados en una matriz continua de proteína, y cuyas paredes celulares consisten en polisacáridos distintos al almidón (β -glucanos y arabinosilanos), proteínas y ácidos fenólicos. Los granos de maíz pueden tener dos tipos de endospermo: córneo y harinoso (Singh et al., 2014). El endospermo córneo se ubica hacia la periferia del grano (Singh et al., 2014), está constituido por gránulos de almidón de estructura poligonal que están fuertemente empaquetados por una matriz proteica (Robutti et al., 1973) y sin espacio entre los gránulos (Mu-Forster y Wasseman, 1998), además posee una mayor concentración de amilosa que el endospermo harinoso (Caballero-Rothar et al., 2018). Por su parte, el endospermo harinoso se ubica en la parte central del grano (Singh et al., 2014) y está formado por gránulos grandes de almidón de forma redondeada, que están débilmente empaquetados y asociados con capas delgadas de proteínas y muchos espacios de aire entre los gránulos (Mu-Forster y Wasseman, 1998). Respecto a las proteínas de almacenamiento del endospermo, éstas están localizadas dentro de los cuerpos subcelulares, simplemente conocidos como cuerpos proteicos y comprenden la matriz proteica. Los cuerpos proteicos, a su vez, están conformados casi en su totalidad por una fracción de proteínas rica en prolamina, conocida como zeína, la cual es extremadamente baja en lisina. El grano entero de maíz tiene un contenido de proteínas, almidón y grasa de entre el 8-11.5%, 68-74% y 4-5.5%, respectivamente. Individualmente, el endospermo está compuesto por alrededor de un 85% de almidón (Singh et al., 2014), el cual a su vez está compuesto por amilosa y amilopectina (alrededor de 25 y 75 %, respectivamente) (Tester et al., 2004), 8.5% de proteína y una proporción muy reducida de grasa (aproximadamente el 1%). De ésta última, la mayor proporción de lípidos corresponde a ácidos grasos saturados. La porción del germen está caracterizada por un elevado contenido de lípidos (\approx 33%), de los cuales la mayor parte corresponde a ácidos grasos poliinsaturados, proteínas (\approx 18%), y un bajo contenido de almidón (\approx 8%). Asimismo, el aceite del germen es relativamente estable debido a la presencia de altos niveles de antioxidantes naturales y es considerado bueno para la salud debido a su composición de ácidos grasos, principalmente oleico y linoleico (Singht N, et al, 2014), a los cuales se les han atribuido efectos cardioprotectores (Lopez et al, 2010; Stark et al., 2008).

El maíz también posee diversos constituyentes bioactivos (los cuales varían de acuerdo con el tipo y color) tales como carotenoides, antocianinas y compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes que promueven la salud y previenen enfermedades. Este cereal tiene una capacidad antioxidante mayor que la del trigo, avena y arroz (Adom et al., 2005). Hablando de los carotenoides en específico, los principales en el maíz son la luteína y zeaxantina, mientras que la α y β -criptoxantina, así como los α y β -carotenos están presentes en menor grado (Singh et al., 2011). En cuanto a contenido de estos compuestos, en general, las variedades amarillas tienen mayores cantidades que las blancas. De manera más específica, el maíz blanco y el azul son bajos en contenido de luteína y zeaxantina, mientras que el amarillo y el maíz “rico en carotenoides” tienen un elevado contenido de estos dos compuestos (Serna-Saldívar, 2011). Por otra parte, la bioactividad de los maíces azul y rojo está asociada con la presencia de antocianinas, las cuales, junto con los fenoles totales, varían de acuerdo con el color. Así, el maíz azul posee derivados de la cianidina, la pelargonidina y la peonidina, pero existe una predominancia de las primeras, y todas estas se encuentran concentradas en la capa de la aleurona. El maíz rojo posee un perfil similar de estos pigmentos, pero con la diferencia de que presenta una concentración hasta 10 veces mayor que el azul (Salinas-Moreno et al., 2013). Por ejemplo, Zhao et al., (2008) reportaron un contenido de antocianinas para maíz rojo carmesí de 1493 mg/kg, mientras que Abdel-Aal et al. (2006) reportaron un contenido de 197.7 mg/kg para maíz azul. Otra diferencia de las variedades rojas respecto de las azules es que, aunque también predominan en ellas los derivados de la cianidina, las variedades rojas presentan hasta 11 derivados de la misma, los cuales se concentran tanto en el pericarpio como en la capa de la aleurona (Salinas-Moreno et al., 2013). En general, los genotipos altos en carotenoides tienen el mejor perfil fitoquímico, seguido de los amarillos, azules y rojos. En contraparte, los genotipos blancos tienen una menor actividad antioxidante debido a sus bajos niveles de antocianinas y carotenoides (Adom y Liu 2002).

Además de las antocianinas y carotenoides, el maíz también contiene un amplio rango de ácidos fenólicos, principalmente el ferúlico, que es un importante fitoquímico en este cereal, y su concentración, así como los demás componentes bioactivos ya mencionados, también varía en los diferentes tipos de maíz. Las variedades altas en carotenoides (como la Carolight®) tienen también niveles mayores de ácido ferúlico comparado con los blancos,

amarillos, rojos y azules. La mayoría de este compuesto fenólico en el maíz está presente en su forma ligada a otras moléculas (Adom y Liu 2002), como a ligninas o arabinosilanos.

3.1.2. Clasificación del maíz

Existe una amplia diversidad genética en toda la región que ha sido centro de origen del maíz. Solamente en México existen más de 40 variedades, y unas 250 en el resto de América (Gear, 2006). Esta gran diversidad puede ser notada a simple vista desde la forma del grano que puede ser redonda, indentada, puntiaguda o corrugada (Perales, 2009). Y con base en las características tales como el color, forma o dureza del grano, el maíz puede clasificarse en diferentes categorías generales (Györi, 2017). Tomando en cuenta las características del endospermo, el maíz puede ser clasificado en seis tipos: a) Harinoso (*Z. mays* var. *amylacea*), también conocido como maíz suave, el cual tiene granos principalmente blancos y cuya testa puede ser redondeada o plana; b) Duro (*Z. mays* var. *indurata*), también conocido como maíz indio (de la India), de centro suave, pero rodeado por una cubierta dura, con un rango de colores que van desde el blanco hasta el rojo; c) Dentado (*Z. mays* var. *indentata*), con granos de color blanco o amarillo y que presentan una depresión en la testa; d) Dulce (*Z. mays* var. *saccharata* y *Z. mays* var. *rugosa*), de granos con un mayor contenido de azúcares que otros tipos de maíz; e) Palomero (*Z. mays* var. *evarta*), de granos que presentan una mayor densidad de almidón en el endospermo, lo cual les confiere la propiedad de reventar y producir palomitas; f) Ceroso (*Z. mays* var. *ceratina*), con granos cuyo endospermo está compuesto por amilopectina casi en su totalidad (Singht et al., 2011). En cuanto al color de los granos de maíz, estos pueden ser desde los más comunes y conocidos como el blanco o el amarillo, pasando por tonalidades como el anaranjado, el rojo o el café, y hasta colores más intensos como el azul, el púrpura, el café o el negro (Vancetovic et al., 2014).

3.1.2.1. El maíz de la raza Chalqueño

Se emplea el término raza para agrupar individuos o poblaciones de plantas que comparten características en común, de orden morfológico, ecológico, genético, y de historia de cultivo (Harlan y Wet, 1971). En el caso del maíz, las razas se definen a partir de distintas características fenotípicas, tipo de grano, por el nombre con que son conocidos por los grupos indígenas o mestizos que las cultivan y por el lugar o región donde inicialmente se recolectó o es relevante (CONABIO, 2021). En México existe una gran diversidad de razas de maíz, de las cuales al menos 59 han sido descritas (Vielle-Calzada y Padilla, 2009), entre estas se

encuentra la raza Chalqueño que, con base en el último criterio de los mencionados previamente, toma esta denominación, ya que deriva del vocablo Chalco, una localidad del Valle de México (Wellhausen et al., 1951) en donde alcanzó una gran popularidad (Arellano-Vázquez et al., 2014). Las plantas de esta raza son altas, producen mazorcas grandes y cónicas, con elevado número de hileras (CONABIO, 2020), de granos grandes y anchos (Rocandio-Rodríguez et al., 2014). Las semillas presentan un elevado vigor germinativo y emergencia, son de ciclo largo y con una gran resistencia a la sequía durante las etapas medias de crecimiento. Su cultivo predomina en las partes altas, por encima de los 1,800 msnm, en suelos volcánicos con buena retención de humedad de las precipitaciones invernales y en terrenos con riego en donde no hay maíces mejorados que se adecúen a los Valles Altos de la meseta central. También es una raza de gran importancia para suelos húmedos en lugares altos de los estados de Durango, Zacatecas y en la Mixteca Oaxaqueña (CONABIO, 2020).

3.1.3. Usos del maíz

En los primeros años del presente siglo el maíz ha sido la especie vegetal con mayor producción en el mundo y se ha convertido en la planta alimenticia más importante no solamente de México, sino a nivel mundial (Perales, 2009). Además, esta especie vegetal es considerada la más versátil de entre los diferentes cereales existentes, pues su uso no se limita únicamente al consumo humano y animal, sino que se le emplea como materia prima en diferentes industrias para la obtención de múltiples productos (Sánchez-Rodríguez, 2016), entre éstas se encuentran la industria del almidón, alimenticia, de la fermentación, así como la industria química, mientras que sus subproductos son empleados en las industrias de la celulosa, energética y química (Ranum *et al.*, 2014).

Para su aprovechamiento en la industria los granos son sometidos a una molienda húmeda con el fin de separar sus distintos componentes tales como el almidón, aceite, proteína y fibra, los cuales son después procesados en una múltiple variedad de alimentos y productos industriales incluyendo al almidón, edulcorantes, aceites de maíz, bebidas, alcoholes industriales, alcoholes combustibles, entre otros productos. Recientemente, nuevos bio-productos tales como aminoácidos, antibióticos y plásticos degradables son sintetizados, cada vez con mayor frecuencia, empleando maíz como materia prima. Por otro lado, el almidón de maíz es el principal ingrediente en muchos productos alimenticios industrializados, ya que este puede ser tratado enzimáticamente para producir jarabes,

particularmente el jarabe de maíz de alta fructosa, el cual se emplea como un edulcorante. De manera alternativa, el almidón de maíz puede ser hidrolizado y después fermentado para producir alcohol de granos, un ejemplo de esto es el whiskey Bourbon. Además de productos alimenticios, el almidón puede ser convertido en plásticos, telas, pegamentos y muchos otros productos químicos (Sangwan S, et al., 2014).

En cuanto a su uso como alimento, este cereal se utiliza para hacer pan mezclándolo con harina de trigo. En un uso más simple y menos procesado, las mazorcas inmaduras, principalmente las de maíz dulce, se consumen hervidas, mientras que las mazorcas más maduras se consumen asadas, y el almidón es uno de los ingredientes principales en las cocinas domésticas (Sangwan S, et al., 2014). En lo que a nuestro país respecta, sería impensable la gastronomía sin este cereal, pues una gran cantidad de platillos, bebidas y botanas utilizan como base a este cereal para su preparación.

Con referencia a su consumo directo y doméstico, como un producto vegetal, el maíz constituye un alimento básico de la nutrición humana, principalmente en países del África subsahariana y de América Latina, pero también en algunos países del continente asiático y europeo. Como se puede observar en la tabla 1, de acuerdo con datos de la FAO (FAOSTAT, 2021), en el 2018 el país con un mayor consumo per cápita de maíz en el mundo fue Lesoto, con poco más de 133 Kg/año. Por su parte, México ocupó el primer lugar en este rubro dentro del continente americano y el cuarto a nivel mundial con un consumo de poco más de 117 Kg/año, únicamente después de los países africanos de Lesoto, Zambia y Malawi. Para la mayoría de las naciones pertenecientes al continente europeo el maíz no constituye un alimento base en la alimentación, salvo para Moldova, el cual es el mayor consumidor de maíz en este continente, y algunos países balcánicos tales como Bosnia-Herzegovina y, en menor medida, Rumania, Eslovenia y Bulgaria.

Tabla 1. Países con mayor consumo anual per cápita de maíz

América		Asia		África		Europa		Oceanía	
País	kg per cápita/año	País	kg per cápita/año	País	kg per cápita/año	País	kg per cápita/año	País	kg per cápita/año
México	117.38	Timor Oriental	89.17	Lesoto	133.44	Moldova	88.34	Nueva Zelanda	5.01
Guatemala	90.63	Nepal	43.84	Zambia	125.31	Bosnia-Herzegovina	74.73	Australia	4.13
Honduras	78.51	Arabia Saudita	28.15	Malawi	122.85	Rumania	33.7	Papúa Nueva Guinea	1.91
El Salvador	74.5	Kirguistán	27.98	Sudáfrica	95.11	Eslovenia	33.26	Samoa	1.35
Paraguay	71.02	Indonesia	27.12	Zimbabwe	92.89	Bulgaria	29.98	Fiji	0.63

(Fuente: FAOSTAT, 2021)

3.2. La cerveza

La cerveza se define como una bebida alcohólica fermentada elaborada, originalmente, a partir de cereales malteados, lúpulo, agua y levadura; sin embargo, en la actualidad en muchos países se permite el uso de algunos productos diferentes, tales como jarabes o algunos cereales sin maltear, que se emplean para sustituir una parte de la malta con el objetivo de reducir los costos de producción (Harrison y Albanese Jr, 2017). Por su parte, la Norma Oficial Mexicana NOM-199-SCFI-2017, “Bebidas alcohólicas-Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba”, define a la cerveza como “bebida alcohólica fermentada elaborada con malta, lúpulo, levadura y agua potable, que puede adicionarse con infusiones de cualquier semilla farinácea procedente de gramíneas o leguminosas, raíces o materia prima vegetal feculenta y/o carbohidratos de origen vegetal susceptibles de ser hidrolizados o, en su caso, azúcares que son adjuntos de la malta, con adición de lúpulos o sucedáneos en éstos. Su contenido alcohólico es de 2% a 20% Alc. Vol.” Esta misma norma permite el uso de algunos aditivos tales como jarabes de maltosa, miel, fruta, hierbas, especias, por mencionar algunos.

3.2.1. Clasificación de las cervezas

3.2.1.1. Cervezas lager

Este tipo de cervezas surgió, probablemente, entre los años 1500 y 1600 en Alemania. Se caracteriza por el uso de levaduras de fermentación baja (*Saccharomyces pastorianus*) las cuales requieren de temperaturas entre 7 y 15 °C (Tenge, 2009), tanto en la etapa de fermentación como en la etapa de maduración o acondicionamiento de la cerveza. Como consecuencia de estas condiciones, la levadura convierte lentamente los azúcares en el mosto.

Además, se producen muy pocos sabores desagradables (Mosher y Trantham, 2017) debido, entre otras cosas, a que estas cepas no son capaces de descarboxilar el ácido ferúlico presente en el mosto que, junto con el ácido p-cumárico, constituye uno de los precursores de los off-flavors fenólicos (Diderich et al., 2018). Por lo tanto, las cervezas lager, en general tienen un sabor fresco y limpio (Mosher y Trantham, 2017), aunque también se caracterizan por tener una mayor concentración de compuestos azufrados (Dufour et al., 2003), tales como el metil-mercaptano, tioacetato de metilo y sulfuro de hidrógeno (Walker y Simpson, 1993).

Metabólicamente hablando, las levaduras lager, además de metabolizar sacarosa, glucosa, fructosa, maltosa y maltotriosa, también son capaces de aprovechar la melibiosa y la rafinosa (trisacárido compuesto por fructosa, glucosa y galactosa), además fermentan de mejor manera a la maltotriosa que las ale (Stewart, 2016).

3.2.1.2. Cervezas ale

En este tipo de cervezas se emplean levaduras de fermentación alta (*Saccharomyces cerevisiae*), las cuales trabajan a mayores temperaturas que las lager. El empleo de temperaturas de fermentación más altas, entre 18 y 25 °C (Tenge, 2009), genera compuestos químicos que aportan mucho sabor, por lo que las cervezas de este tipo no suelen ser tan limpias ni frescas como las lager, por el contrario, contienen algunos sabores que dan una mayor sensación de permanencia en la boca (Mosher y Trantham, 2017). Asimismo, estas cervezas se caracterizan por tener una alta cantidad de ésteres, que le confieren un carácter afrutado a la cerveza (Dufour et al., 2003), pero a la vez también algunas cepas producen compuestos desagradables como el 4-vinilguayacol debido a que tienen la capacidad de descarboxilar a los ácidos fenólicos (Diderich et al., 2018).

En cuanto al metabolismo de las levaduras de fermentación ale, también son capaces de metabolizar sacarosa, glucosa, fructosa, maltosa y maltotriosa, pero, a diferencia de las lager, las levaduras de fermentación ale sólo pueden aprovechar de manera parcial la rafinosa (Stewart, 2016), ya que, al carecer de la enzima α -galactosidasa (melibiasa), no pueden romper el enlace entre la glucosa y la galactosa (melibiosa), por lo que únicamente fermentan la fructosa de este trisacárido (Tenge, 2009).

3.2.2. La cerveza de maíz

Desde hace mucho tiempo, y aún en la actualidad, el maíz se emplea como materia prima para la elaboración de algunas bebidas alcohólicas fermentadas tanto en Latinoamérica como en África, y aunque la mayoría de los actuales consumidores de cerveza probablemente no reconocerían a estas bebidas como tal, por el hecho de ser elaboradas con un cereal es posible referirse a ellas como cervezas de maíz (Kling, 2012). Los métodos para procesar y fermentar el maíz varían dependiendo del lugar, la cultura y las tradiciones, con lo cual es posible obtener una gran variedad de productos (Chávez-López et al., 2020). Estas bebidas generalmente son altas en sólidos, así como más espesas y opacas que las cervezas comerciales, y con frecuencia se les consume en diferentes etapas de la fermentación aún activa, por lo que difícilmente son aptas para su almacenamiento. Las cervezas tradicionales de maíz, además de calorías, aportan proteínas, vitaminas del complejo B y algunos otros nutrimentos (Kling, 2012).

Las variedades que se usan para elaborar la cerveza de maíz son específicas (dependiendo de la ubicación geográfica y costumbres), y con frecuencia se les añaden algunos otros productos, tales como especias, con la finalidad de aportar color, sabor e, incluso la consistencia deseada, todo esto dependiendo de las preferencias locales. Respecto a la fermentación de estas cervezas de maíz tradicionales, los toneles que se emplean para elaborarlas son los que generalmente sirven como fuente natural de levaduras y bacterias, aunque también se utilizan inóculos o iniciadores provenientes de lotes previos, y algunas de estas bebidas conllevan una fermentación ácido-láctica que se emplea para agriar la malta o la masa previo a la fermentación alcohólica. El contenido alcohólico de estas cervezas es muy variable, pero generalmente se ubica entre el 2 y 3%. Un ejemplo de estas bebidas es la “chicha”, que es un nombre común para la bebida indígena que se produce en los Andes y a menores altitudes en Ecuador, Brasil, Perú, Bolivia, Colombia y Argentina, aunque también este término puede hacer referencia a bebidas que se elaboran con otras especies vegetales, así como algunas bebidas no alcohólicas. Tradicionalmente, para la elaboración de esta bebida el maíz era masticado por mujeres, con lo cual el almidón del maíz era convertido en maltosa y dextrinas gracias a la acción de la enzima ptialina (un tipo de amilasa) que está presente en la saliva. En la actualidad se germina el maíz con el objetivo de producir las enzimas requeridas para la conversión del almidón en azúcares, necesarios para la producción

de chicha. Estas maltas de maíz proveen una cantidad suficiente de α -amilasa, pero, a diferencia de las de cebada, es baja en β -amilasa, así como en otras enzimas diastásicas. Otros ejemplos de bebidas indígenas de maíz en Latinoamérica son el “tesgüino”, de México, y el “cauim”, de Brasil. Además de los países latinoamericanos, el maíz también se usa en muchos países africanos para fabricar bebidas fermentadas, para lo cual a menudo mezclan la harina y la malta del maíz con sorgo y mijo, en diferentes proporciones, dependiendo de su costo, disponibilidad y tradiciones locales. Estas bebidas por lo regular son turbias, agrias y, generalmente, se sirven calientes (Kling, 2012).

Cabe señalar que, en el 2012, en el laboratorio de Enología y Alimentos Fermentados, así como en el de Análisis Sensorial, de la UAM Iztapalapa, de manera conjunta se inició un proyecto de investigación para desarrollar una cerveza de maíz tomando como base al sendechó, una bebida tradicional elaborada en comunidades otomíes y mazahuas del centro de México. De estas investigaciones se desarrolló la patente 365910 (Verde-Calvo et al., 2019). Además, se han publicado algunos artículos sobre maltas y sobre cerveza de maíz azul y rojo, como los de Romero-Medina et al. (2020), Romero-Medina et al. (2021) y Flores-Calderón et al. (2017).

3.2.3. El maíz en la industria cervecera

El uso del maíz, además de otros cereales, en combinación con la malta de cebada para la fabricación de cerveza tal y como la conocemos actualmente (o muy similar a esta) se remonta a los inicios de las colonias inglesas, en el actual territorio de los Estados Unidos de América, y surgió como una necesidad para suplir parte de la malta de cebada, la cual comenzó a escasear debido a la falta de adaptación de las especies inglesas de cebada a las condiciones climáticas de algunas zonas, principalmente a lo largo de la costa. Tres siglos después, surgió otra vez la necesidad de incluir sustitutos de la malta de cebada para la fabricación de cerveza, ya que después de la derogación de la Ley Seca en los Estados Unidos (en 1933) se activó de tal manera la producción de cerveza que la demanda de malta de cebada fue superior a la oferta, por lo que cereales como el maíz y el arroz se incluyeron nuevamente en las formulaciones. Asimismo, durante los años 40, debido a la Segunda Guerra Mundial, hubo racionamiento de distintos productos, entre ellos la malta de cebada, lo cual empujó nuevamente a los productores de cerveza a incluir sustitutos como el maíz en sus productos, principalmente en el estilo American Lager. De tal manera que, al tomar

durante mucho tiempo estas cervezas, los consumidores terminaron por acostumbrarse y apreciar su sabor (Mosher y Trantham, 2017).

En la actualidad, la industria cervecera utiliza ampliamente el maíz para conferirle el perfil sensorial característico a estilos como el American Lager (Mosher y Trantham, 2017), pero la principal razón de su uso es la reducción en los costos de producción, pues se ha probado que el uso de 30 % de maíz como adjunto puede reducir hasta en un 8% los costos, dependiendo de los precios que se manejan en los mercados locales (Poreda et al., 2014). Para su uso como fuente de carbohidratos, el maíz puede emplearse en diferentes formas, tales como sémola, hojuelas, harina o jarabe (Dabija et al., 2021).

En cuanto al uso de maltas de maíz a nivel industrial, este es prácticamente nulo debido a diversos factores, principalmente a su bajo poder diastásico (Meußdoerffer y Zarnkow, 2009). Sin embargo, el crecimiento de la cervecería artesanal y la diversificación de este tipo de cervezas ha permitido la inclusión de una gran cantidad de ingredientes, entre ellos las maltas de maíz. De tal manera que hoy en día es posible encontrar algunas cervezas artesanales en las que se emplea malta de maíz, aunque esta generalmente va en combinación con maltas de cebada.

3.3. Proceso de elaboración de la cerveza

3.3.1. Malteado

El malteado es el proceso mediante el cual se obtiene la malta, una de las materias primas empleadas en la producción de cerveza, y consiste en una germinación controlada de los cereales en un ambiente húmedo. Todo el proceso puede ser dividido en tres etapas: 1) remojo de los granos, con lo cual el grano absorbe agua e hidrata el embrión y el endospermo; 2) germinación, cuya finalidad es la síntesis de enzimas, así como su activación y movilización de nutrientes hacia el embrión, con lo cual este comienza su desarrollo; 3) secado, que tiene como finalidad detener la germinación mediante un tratamiento con calor, con lo cual los granos alcanzan una humedad baja y constante para su almacenamiento. Los objetivos del malteado son, entre otros, la conversión o modificación de la estructura física del grano, así como la síntesis o activación de toda una serie de enzimas (MacLeod y Evans, 2016).

3.3.1.1. *La germinación*

La germinación es una etapa en el ciclo de vida de las plantas y es el proceso mediante el cual una planta activa con fotosíntesis crece a partir de un embrión inactivo (Yao et al., 2020).

Este proceso puede dividirse en tres etapas:

1. En la primera etapa ocurre la imbibición, que es la absorción inicial de agua para hidratar a la semilla, lo cual da paso a la activación del metabolismo, y esto se ve reflejado con un incremento tanto en la respiración como en la síntesis de proteínas (Bareke, 2018). Esta imbibición o remojo de los granos, como primera etapa del malteado, consiste en la alternancia de periodos en los que los granos permanecen sumergidos en el agua y periodos en los que están fuera de ella (conocidos como periodos “air-rest”), lo cual es requerido para promover y mantener la eficiencia de la germinación (Guido y Moreira, 2014). Los periodos de inmersión permiten al embrión absorber agua, mientras que los periodos “air-rest” permiten que el agua se distribuya en el endospermo (Bareke, 2018). Asimismo, durante el primer periodo de inmersión los granos absorben rápidamente el oxígeno disuelto en el agua y liberan dióxido de carbono, lo cual, debido a la microflora ambiental y aquella propia de los granos, podría inducir a la fermentación del líquido de remojo, así como a la interrupción de la germinación y, por ende, de la producción de enzimas hidrolíticas (Guido y Moreira, 2014). Durante el tiempo que dura el periodo de remojo el embrión absorbe agua rápidamente, mientras que el endospermo es hidratado de manera más lenta. En esta etapa la humedad del grano se incrementa desde un 10-12 % inicial hasta un 40 o 42 % final (Bareke, 2018).
2. En la segunda etapa se presenta la hidrólisis de las moléculas de reserva, así como la movilización de los nutrientes hacia el embrión (Bareke, 2018). El ácido giberélico, una fitohormona secretada por el embrión, induce la producción de diferentes enzimas hidrolíticas, entre ellas las α -amilasas, que se sintetizan en el escutelo y en la capa de la aleurona, y que con ayuda de otras enzimas hidrolíticas tales como las lipasas, proteasas o fitasas se movilizan hasta el endospermo para realizar la hidrólisis del almidón. De tal forma que las reservas almacenadas en el grano son convertidas por las diferentes enzimas hidrolíticas en moléculas fácilmente transportables hasta los sitios crecientes de la planta (Bewley et al., 2013).

3. Finalmente, en la tercera etapa se da la división celular y el crecimiento del eje embrionario (Bareke, 2018). El primer signo del fin de la germinación suele ser la aparición de la radícula a través de las estructuras circundantes, seguido de un aumento de su longitud y peso. Sin embargo, la mayor movilización de reservas se presenta al término de la germinación para proveer de nutrientes a la plántula hasta que ésta sea autosuficiente (Bewley et al., 2013).

3.3.1.1.1. Actividad enzimática durante la germinación

En los cereales, en general, la movilización de las reservas del endospermo durante la germinación comienza con la síntesis y secreción de un amplio rango de enzimas hidrolíticas en la capa de la aleurona y en el escutelo. La función de estas enzimas es degradar las reservas almacenadas en moléculas de gran tamaño y elevado peso molecular, que pueden ser el almidón y las proteínas presentes en el endospermo, proteínas y grasas contenidos en las células de la capa de la aleurona, así como polisacáridos (arabinosilanos y β -glucanos) que conforman las paredes celulares tanto de la capa de la aleurona como del escutelo. Para lograr tal fin, diferentes enzimas trabajan en conjunto: α y β -amilasas, α -glucosidasas, dextrinasas límite, exo- y endo-peptidasas, nucleasas, fosfatasas, β -glucanasas, xilanasas y otras enzimas, dependiendo del cereal, son liberadas en el endospermo durante la germinación (Ellis, 2007). Las β -glucanasas y xilanasas son de las primeras enzimas en actuar durante la movilización de las reservas en la semilla, ya que al ser enzimas degradadoras de las paredes celulares de las células muertas del endospermo su acción facilita la actividad de otras enzimas (Bewley et al., 2013). Una vez degradadas las paredes celulares, entran en actividad las α -amilasas secretadas desde el escutelo, que comienzan con la digestión del almidón presente en el endospermo. Posteriormente, estas enzimas también son sintetizadas y liberadas desde la capa de la aleurona, y en cereales como la cebada, el trigo, el centeno o la avena son éstas las que llevan a cabo la mayor parte de la hidrólisis durante las etapas más tardías en la movilización del almidón; sin embargo, en el maíz la mayor fuente de α -amilasas es el escutelo (Bewley et al., 2013). Junto con las α -amilasas, otras enzimas como las β -amilasas, dextrinasas límite y α -glucosidasas participan también en la hidrólisis del almidón del endospermo. Por su parte, las endo- y exo-peptidasas hidrolizan a las proteínas de almacenamiento para producir péptidos y aminoácidos, mientras que las nucleasas digieren tanto el ADN como el ARN y producen oligonucleótidos y nucleótidos (Ellis, 2007).

Algunos estudios realizados, como el de Franco et al. (2002) sugieren que las α -amilasas son las responsables del 90% de la actividad amilolítica durante la germinación del maíz, enzimas cuyo gen presentó baja expresión en las semillas secas de maíz, lo cual indica que la gran mayoría se sintetiza *de novo* en la capa de la aleurona tras el remojo de los granos durante la germinación (Evangelista-Oliveira et al., 2013).

3.3.1.2. La calidad de las maltas y el poder diastásico

Existen diversos parámetros para evaluar la calidad de las maltas, pero entre los más importantes están el “extracto”, que mide la cantidad de azúcares solubles que se extraen desde la malta hacia el mosto, y el “poder diastásico” (Trainor, 2017), que se puede definir como la actividad combinada de las enzimas α -amilasa, β -amilasa, dextrinasa límite y α -glucosidasa, las cuales hidrolizan el almidón en azúcares fermentables durante la etapa del malteado (Ribeiro Jr et al., 2016). En otras palabras, el poder diastásico es una medida de qué tan efectiva es la malta para convertir el almidón en azúcares (Farber y Barth, 2019) y es un importante parámetro de calidad de las maltas que se emplean en la producción de cerveza y en destilería (Looseley et al., 2017).

Se dispone de diferentes métodos para medir el poder diastásico, entre ellos el método rápido de Henry (Henry, 1984), el cual se caracteriza tanto por emplear pequeñas cantidades de muestra como por sus tiempos cortos de análisis, comparado con otros métodos como el de la American Society of Brewing Chemists (ASBC) o el del Institute of Brewing (IoB). Sin embargo, dado que el poder diastásico de las maltas comerciales se reporta principalmente en grados Lintner ($^{\circ}$ L) o grados Windisch-Kolbach ($^{\circ}$ WK), aunado a que el valor mínimo de poder diastásico para que una malta convierta su propio almidón está reportado en $^{\circ}$ L, cuando se emplea el método de Henry es necesario convertir las unidades de concentración, obtenidas mediante este método, en $^{\circ}$ L o $^{\circ}$ WK para saber si las maltas analizadas son aptas para la producción de cerveza.

3.3.1.2.1. La problemática con las maltas de maíz

Debido a su elevado contenido de almidón, el maíz representa una excelente fuente de carbohidratos para la industria cervecera. Sin embargo, existen diversas problemáticas que condicionan la producción y el uso de maltas de este cereal para la elaboración de cerveza. Entre estas limitaciones se encuentran la carencia de una cascarilla que proteja al brote durante la germinación, lo cual se traduce en un mayor riesgo de rompimiento para este, que

detendría la germinación (Chaudhary , et al., 2014); temperaturas más elevadas y periodos más largos de germinación, en comparación con la cebada, lo cual provoca mayores pérdidas en el rendimiento de las maltas e incrementa el riesgo de contaminación por hongos; y, principalmente, la baja capacidad de sus maltas para convertir el almidón en azúcares fermentables (Meußdoerffer y Zarnkow, 2009). A pesar de estos obstáculos, diversos investigadores han enfocado sus esfuerzos en encontrar las condiciones óptimas para producir maltas que sean aptas para la producción de cerveza.

3.3.1.2.2. Incremento de las enzimas β -amilasa ante agentes estresantes

Aunque el poder diastásico de las maltas determina la actividad combinada de diferentes enzimas amilolíticas, se ha demostrado que esta propiedad está correlacionada principalmente con las β -amilasas (Evans, 2008), enzimas en las que las maltas de maíz son deficientes, en comparación con las maltas de cebada o de otros cereales tales como el arroz, el sorgo o el mijo que han sido producidas en condiciones óptimas de germinación (Dziedzoave et al, 2010). No obstante, existen diferentes reportes que demuestran una respuesta positiva en la producción de β -amilasas en algunas especies vegetales que han sido sometidas a diferentes situaciones de estrés. Por ejemplo, Datta et al. (1999) reportaron un incremento en la actividad de esta enzima en brotes de maíz y mijo perla, crecidos en presencia de luz y que fueron sometidos a estrés causado por solución una salina y por exceso de agua. Por su parte, Kaplan et al. (2006) también reportaron un incremento en la producción de esta enzima en estudios sobre ejemplares de *Arabidopsis* y papa como un mecanismo de protección ante el estrés causado por temperatura. Por lo que, la aplicación de condiciones estresantes durante la germinación del maíz podría ser una buena opción para intentar incrementar el poder diastásico en las maltas de este cereal.

3.3.2. Maceración

La maceración es el proceso mediante el cual se obtiene el mosto con los azúcares necesarios para la etapa de fermentación. Este proceso consiste en mezclar el producto de la molienda (mezcla de maltas con o sin materiales adjuntos), y algunas otras sustancias como sales o, incluso, enzimas con una cantidad determinada de agua, a una temperatura o programa de temperaturas controladas y por un periodo de tiempo, también controlado (Briggs et al., 2004). Durante la maceración ocurre la gelatinización del almidón contenido en los granos y hay una activación de las enzimas diastásicas contenidas en las maltas, las cuales hidrolizan

el almidón para producir azúcares fermentables y dextrinas (Miller, 2019). De tal forma que el principal objetivo de esta etapa es la sacarificación, que consiste en la hidrólisis del almidón en azúcares fermentables (Palmer, 2006), aunque también se da la extracción de otros compuestos importantes desde la malta hacia el mosto, por ejemplo, algunos otros carbohidratos como las dextrinas, algunas proteínas, lípidos, compuestos fenólicos, minerales y algunos compuestos que aportan color a la cerveza (Holbrook, 2019).

Existen tres tipos clásicos de macerado: **a) Decocción.** Es un método empleado principalmente por cerveceros alemanes, en la que una parte del macerado (granos y líquido) es sometido por separado a ebullición y posteriormente devuelto al macerador principal. Este método emplea un programa controlado de temperaturas, las cuales tienen como finalidad la acción de las diferentes enzimas involucradas, tales como proteasas, β -glucanasas y amilasas. Este tipo de maceración es adecuado para maltas pobremente modificadas (Lewis y Young, 2001), ya que favorece la degradación enzimática mediante la descomposición físico-térmica del almidón (Krottenthaler et al., 2012). Sin embargo, hoy en día es algo poco común que se produzcan maltas pobremente modificadas, por lo que en la actualidad esta práctica se hace meramente por tradición (Lewis y Young, 2001). **b) Infusión.** Es un método británico para la elaboración de cerveza, en el cual se emplea una sola temperatura, llamada temperatura de conversión. Para esto se requieren maltas muy bien modificadas, las que a menudo suelen ser bajas en enzimas, por lo que el método no es adecuado cuando se emplean adjuntos que requieren gelatinización (Lewis y Young, 2001). Una variante de la infusión es la **infusión escalonada** la cual simula la permanencia del macerado a diferentes temperaturas que se emplea en la decocción, pero sin el tratamiento de ebullición que se da a parte del macerado, y en el que la temperatura se incrementa con una fuente externa de calor o con la adición de agua en ebullición (BJCP, 2012). **c) Doble maceración.** También conocido como sistema americano de maceración doble, ya que es una práctica común en los cerveceros estadounidenses. Consiste en tratar de manera separada la materia prima poco modificada, que generalmente son materiales adjuntos como la sémola de maíz o arroz, para después añadirlo al macerador principal que contiene las maltas. Este método puede verse como una variante de la decocción tradicional, pero, a diferencia de esta, la doble maceración sólo involucra un incremento de temperatura, que es la de conversión (Lewis y Young, 2001).

Al término de la maceración, sin importar el método empleado, se separan los granos desgastados del líquido y se obtiene lo que se conoce como mosto dulce (Miller, 2019).

3.3.3. Cocción

Una vez terminada la maceración se separa el mosto dulce de los granos desgastados y se hace una serie de lavados para recuperar la mayor cantidad de azúcares que hayan quedado en los granos. Este mosto es después calentado hasta ebullición por un periodo de entre 30 y 90 minutos, lo cual va a depender de cada maestro cervecero (Mosher y Trantham, 2017). Los principales objetivos de esta etapa son: a) La esterilización del mosto, con lo cual se reduce de manera considerable la carga microbiana que puede causar deterioro en la cerveza, tales como los del género *Lactobacillus*. b) La desnaturalización o inactivación de las enzimas que aún pudieran estar activas, de tal manera que se garantice la composición deseada del mosto, así como la desnaturalización de otras proteínas que serán importantes en la formación y estabilización de la espuma en la cerveza. c) La isomerización de los α -ácidos del lúpulo a su forma más soluble, los iso- α -ácidos, los cuales le confieren a la cerveza, entre otras cosas, un amargor característico. d) La concentración de los diferentes compuestos debido a la evaporación de agua, lo cual se ve reflejado en la gravedad específica del mosto. e) La eliminación de algunos compuestos indeseados, tales como el dimetil sulfuro (DMS), que es percibido en la cerveza como notas de vegetales cocidos, maíz enlatado o pasta de tomate. f) La desnaturalización y precipitación de proteínas de elevado peso molecular (como las prolaminas) y de complejos proteínas-polifenoles que no son solubles en el mosto (Holbrook, 2019). El producto obtenido de esta etapa se conoce como mosto amargo, debido al gusto que le confiere el lúpulo infundido.

3.3.4. Fermentación

En esta etapa es donde el mosto amargo se convierte en cerveza verde por la acción de las levaduras, las cuales van a consumir los azúcares, así como otros nutrimentos producidos o extraídos durante la maceración, y van a excretar etanol y dióxido de carbono, principalmente, como metabolitos de desecho, en cantidades similares (Boulton, 2019). Para comenzar con esta etapa, terminada la cocción el mosto amargo debe enfriarse rápidamente para evitar su contaminación, y una vez frío debe airearse e inocularse con la levadura para iniciar la fermentación (Boulton, 2019). La cepa de levadura empleada y la temperatura van a depender del estilo de cerveza que se vaya a fabricar (Harrison y Alabanese Jr, 2017). El

tiempo de fermentación varía dependiendo, entre otras cosas, de las características del mosto, del tipo de cerveza y de la cepa de levadura a utilizar. En el caso de las cervezas ale la fermentación puede durar de 2-14 días, mientras que en las cervezas lager este proceso puede durar incluso varios meses. Terminada la fermentación, las levaduras inactivas se separan de la cerveza mediante floculación, lo cual requiere la presencia de iones calcio en la cerveza para que pueda ser efectivo. En este proceso los aglomerados formados por las levaduras resultan demasiado pesados como para permanecer disueltos en la cerveza. Diferentes cepas de levaduras tienen diferentes propensiones para formar estos aglomerados y con frecuencia se les clasifica por su capacidad para hacerlos. Por ejemplo, las levaduras de floculación alta tienden a agruparse muy fácilmente después de la fermentación y algunas veces pueden necesitar ser resuspendidas en la cerveza para completar la fermentación. Por otro lado, las levaduras de floculación baja tienden a permanecer en suspensión, este es el motivo de la turbidez de algunos estilos de cervezas belgas. En medio de estas dos están las levaduras de floculación media las cuales tienden a producir una cerveza más limpia debido a que permanecen activas el suficiente tiempo como para reabsorber el diacetilo y otros subproductos. Su fermentación generalmente dura el mismo tiempo, pero eventualmente tienden a precipitar al fondo del fermentador lo cual facilita su separación de la cerveza (Mosher y Trantham, 2017). Una vez que termina el proceso de fermentación el producto que se obtiene se conoce como “cerveza verde” (Lewis y Young, 2001).

3.3.5. Maduración

El proceso de maduración involucra el decremento de la temperatura de la cerveza verde, la cual se mantiene durante un tiempo determinado para que las levaduras y algunas partículas causantes de turbidez sedimenten. A menudo se hace referencia a esta práctica como lagering (lager=almacenamiento) y, tradicionalmente, tiene una duración de alrededor de tres meses (Lewis y Young, 2001). Durante la maduración las levaduras agotan los nutrientes aún disueltos en la cerveza verde y el CO₂ formado ayuda a eliminar algunas sustancias indeseables tales como aldehídos o compuestos azufrados. El principal parámetro que determina el estado de la maduración es la remoción del diacetilo formado durante la primera fermentación. Y aunque este proceso puede tardar varias semanas, actualmente suelen emplearse algunas estrategias como el incremento de la temperatura para acelerar la

eliminación de este compuesto. Una vez que se reducen los niveles de diacetilo, se baja la temperatura para clarificar y estabilizar a la cerveza (Pires y Brányik, 2015).

3.3.5.1. “Warm conditioning” o descanso de diacetilo

Además de etanol y dióxido de carbono, durante la fermentación las levaduras producen una gran diversidad de metabolitos secundarios, incluyendo algunos que pueden crear aromas y sabores desagradables en la cerveza, como es el caso del diacetilo, que aporta notas de mantequilla, así como el acetaldehído y algunos compuestos sulfurados que le proporcionan el característico sabor a “verde” a la cerveza (Zarnkow, 2014). Por tal motivo, al final de la primera fermentación, en las fermentaciones lager, se suele incrementar la temperatura en alrededor de 5 °C por un periodo de 24 a 48 h con la finalidad de acelerar el metabolismo de las levaduras, las cuales consumen los azúcares fermentables que aún quedan en el medio y cuando éstos se agotan, metabolizan otros compuestos que les pueden aportar energía, como es el caso del diacetilo (Mosher y Trantham, 2017), y el dióxido de carbono formado por el incremento en el metabolismo de las levaduras arrastra y elimina los compuestos sulfurados como el DMS (Zarnkow, 2014).

3.3.5.2. Lagering

Terminada la fermentación, la cerveza verde es trasvasada a otro tanque para su almacenamiento a temperaturas de 5 °C o menos, por alrededor de 6 semanas (Zarnkow, 2014) o hasta 3 meses (Lewis y Young, 2001). Las bajas temperaturas provocan tanto la ralentización de la fermentación por parte de las levaduras que quedan en suspensión en la cerveza verde, como la precipitación de materiales sólidos insolubles, incluyendo a las mismas levaduras, con lo cual se obtiene, al final del proceso, una cerveza clara (Mosher y Trantham, 2017). Pero debido a que esta es una etapa costosa en la producción de cerveza, en términos de uso de energía y tiempos prolongados, algunos cerveceros suelen acelerar el proceso previniendo la formación de complejos que forman la turbidez en la cerveza, esto mediante la adición de enzimas proteolíticas como la papaína, o con agentes adsorbentes que provocan su precipitación, o bien, removiendo la turbidez con agentes clarificantes, filtración o centrifugación (Lewis y Young, 2001).

3.3.6. Envasado y acondicionamiento en botella

El acondicionamiento en botella y la refermentación de la cerveza es una práctica común de muchas microcervecerías en diferentes partes del mundo (Dekonick et al., 2013). Como su

nombre lo indica, consiste en llevar a cabo una fermentación directamente en la botella mediante la adición de levaduras y carbohidratos fermentables con la finalidad de ajustar la carbonatación de la cerveza (Daenen et al., 2009), lo cual le confiere un gusto refrescante a la cerveza, a la vez que ayuda a la formación de la espuma (Vanderhaegen et al., 2002). Esta tecnología de carbonatación directa en la botella está basada en el método “champenoise”, utilizado para la producción del champagne y otros vinos espumosos (Liger-Belair et al., 2016). La refermentación se lleva a cabo por al menos dos semanas (Dekonick et al., 2013), tiempo durante el cual las levaduras consumen no sólo los azúcares añadidos para esta operación, sino también otros nutrientes presentes en la cerveza, como es el caso de algunos aminoácidos residuales (Vanderhaegen et al., 2002). La fermentación en la botella provoca, además de la carbonatación de la cerveza, un ligero incremento en la concentración de alcohol y de algunos otros productos del metabolismo de las levaduras tales como alcoholes superiores, ésteres, aldehídos, dicetonas vecinales y compuestos sulfurados, los cuales pueden generar cambios tanto en el aroma como en el sabor de la cerveza (Pires et al., 2014). Los envases más comúnmente empleados en la cervecería artesanal son las botellas de vidrio de diferentes formas, tamaño o color (Mosher y Trantham, 2017).

3.4. Envejecimiento de la cerveza

La cerveza es una bebida inestable, de tal manera que sus propiedades pueden cambiar ya sea en un periodo corto de tiempo, como cuando se toma un vaso de ésta (colapso de la corona de espuma o aparición de un carácter azorrillado debido a la exposición a la luz, por citar un par de ejemplos), o en un periodo prolongado, como puede ocurrir durante su almacenamiento (por ejemplo, el desarrollo de turbidez o el deterioro del sabor). Estos cambios pueden ser físicos, como es el caso de la formación de la turbidez; químicos, como los cambios en los compuestos responsables del aroma y el sabor debido a reacciones de oxidación; o biológicos, como aquéllos atribuidos a la presencia de microorganismos en el producto ya envasado (Bamforth, 2011). Estos últimos son limitados en las cervezas que han pasado por una operación unitaria para la remoción de las levaduras, así como de un tratamiento térmico para la inactivación de enzimas exógenas residuales, pero en las cervezas que no han sido sometidas a estos procesos, como es el caso de muchas de las cervezas artesanales, estos factores contribuirán de manera considerable a los cambios que experimenta el producto durante su almacenamiento (De Schutter et al., 2009).

Además de etanol y dióxido de carbono, la cerveza contiene varios cientos de diferentes compuestos, de los cuales la gran mayoría no se encuentra en equilibrio químico, por lo que diversos procesos de formación y degradación tendrán lugar durante el almacenamiento. Por tal motivo, el proceso de envejecimiento y deterioro de la cerveza está ligado a diversas reacciones, pero principalmente a la oxidación de diversos componentes entre los que se encuentran alcoholes superiores, melanoidinas, aminoácidos, ácidos grasos o compuestos de los aceites esenciales de los lúpulos, por mencionar algunos (De Schutter et al., 2009).

Aunque no todos los sabores y aromas que se forman durante el envejecimiento de la cerveza son considerados desagradables, e incluso algunas notas llegan a ser del agrado de muchos, cuando algún producto no cumple con las expectativas de los consumidores o en éste hay notas presentes diferentes a las que habitualmente encontrarían (por ejemplo, que se encuentren sabores de envejecimiento en una cerveza que debería ser fresca o viceversa), a menudo es rechazado (Baert et al., 2012). Pero el deterioro de la cerveza no está asociado únicamente con el incremento o la generación de compuestos indeseables, sino también con la disminución de atributos positivos y deseables tales como los aromas florales o frutales (Hill, 2003).

Además de los factores intrínsecos que afectan a la cerveza, si se considera que la cerveza envasada no es un sistema perfectamente cerrado, existen diversos factores externos que condicionan la estabilidad de esta bebida, por lo que el control de estos resultará crucial para la extensión de vida de anaquel de la misma (Hill, 2003). Uno de estos factores es la temperatura de almacenamiento, ya que el incremento de esta afecta a la velocidad de las reacciones químicas involucradas en el envejecimiento de la cerveza. Sin embargo, un almacenamiento a diferentes temperaturas no generará un aumento proporcional en los diferentes compuestos de envejecimiento, pues el incremento en las velocidades de reacción va a depender de la energía de activación de cada una de las diferentes reacciones (Vanderhaegen et al., 2007), así como de la concentración inicial de los sustratos (De Schutter et al., 2009). Otro factor crucial en el envejecimiento de la cerveza es el contenido de oxígeno después del envasado, por lo que una introducción de oxígeno durante el llenado provocará una reducción en el contenido de antioxidantes y un incremento en los procesos de

envejecimiento, lo cual se verá reflejado en la estabilidad del perfil sensorial de la cerveza, principalmente en el sabor y aroma (Gresser, 2009).

De acuerdo con Jaskula-Goiris et al. (2018), un factor poco considerado, pero que también puede afectar, es la vibración a la que es sometida la cerveza durante su transporte, ya sea por vía terrestre o marítima, pues en un estudio realizado por estos investigadores se reportó un decremento en los niveles de oxígeno en el espacio de cabeza cuando las cervezas envasadas fueron sometidas a vibración. Y este consumo de oxígeno estaría provocando un incremento en las concentraciones de diversos aldehídos, la aparición de turbidez en la cerveza, así como la disminución de compuestos como la *trans*-isocohumulona y *trans*-isohumulona, especialmente cuando se combinaba la presencia de vibración con un almacenamiento a altas temperaturas.

Por lo tanto, tomando en cuenta tanto los factores intrínsecos como los factores externos que intervienen, cada cerveza envejecerá y decaerá de una forma específica, lo cual estará determinado por la materia prima, los parámetros de producción, las técnicas de envasado y las condiciones de almacenamiento (De Schutter et al., 2009).

4. JUSTIFICACIÓN

Existen diversos estudios que abordan el proceso del malteado y la fabricación de cerveza de maíz, tanto en nuestro país como en otras partes del mundo, y una constante en varios de ellos es la problemática a la que se enfrentan los investigadores con el malteado de este cereal por diversas limitaciones que éste tiene en comparación con las maltas obtenidas de otros cereales, como de trigo o de cebada, principalmente en el poder diastásico. Como consecuencia de esto, las maltas obtenidas dificultan la producción de cerveza, por lo que, muchas de las cervezas producidas 100 % con maltas de maíz tienen un contenido alcohólico bajo (alrededor de 2-3 %), y para incrementarlo a menudo es necesario combinarlas con maltas de cebada con la finalidad de producir los azúcares fermentables necesarios para tal fin. Esta misma limitación para producir mostos ricos en azúcares fermentables a partir de maltas de maíz restringe, de cierta forma, la posibilidad de producir distintos estilos de cerveza, los cuales no sólo varían en el perfil aportado por la combinación de maltas base y especiales, sino también en el contenido alcohólico y en los aromas y sabores que se desarrollan durante una fermentación vigorosa para lo cual son muy importantes esos azúcares, además de otros compuestos provenientes de las maltas. Por otro lado, hay algunos estudios en los que se han identificado diversos compuestos volátiles en cervezas de maíz colorido, pero, hasta el término de la escritura de este trabajo, no se encontró información sobre cómo evolucionan éstos durante el envejecimiento de dichas cervezas. Esta problemática es la que sirvió como fundamento para estudiar las mejores condiciones de malteado del maíz, así como para la producción de diferentes estilos de cerveza, su análisis sensorial y de la evolución de compuestos volátiles durante su envejecimiento.

5. OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto de la temperatura y el tiempo de germinación sobre el poder diastásico y el rendimiento en la obtención de maltas de maíz azul y rojo, así como la evolución de los compuestos volátiles durante el envejecimiento de cervezas producidas con las maltas base obtenidas.

6. OBJETIVOS PARTICULARES

- a. Obtener maltas de maíz azul y rojo con el suficiente poder diastásico para la producción de cervezas artesanales de maíz con un contenido alcohólico superior a 4 % ABV.

- b. Realizar un experimento piloto para evaluar el efecto de algunos agentes estresantes sobre el poder diastásico de las maltas y valorar la factibilidad de un diseño mejor enfocado.
- c. Evaluar diferentes programas de maceración y obtener las condiciones con las que se produzcan mostos con una mayor cantidad de azúcares.
- d. Producir diferentes estilos de cerveza de maíz, obtener su perfil sensorial y evaluar su aceptación entre los consumidores de cerveza.
- e. Estudiar la evolución de los compuestos volátiles de cervezas elaboradas con maltas base de maíz azul y rojo durante su almacenamiento a temperatura ambiente y a temperatura de refrigeración.

7. HIPÓTESIS

- f. El incremento del tiempo y la temperatura de germinación tendrá un efecto positivo en el poder diastásico de las maltas de maíz azul y rojo, y un efecto negativo en el rendimiento del malteado.
- g. El tiempo y la temperatura de almacenamiento tendrán un efecto directo en la concentración de compuestos volátiles generados por reacciones de oxidación en las cervezas de maíz durante su envejecimiento.

8. METODOLOGÍA

8.1. Experimento del malteado

8.1.1. Adquisición y preparación de la muestra

Para este experimento se empleó maíz azul y rojo de la raza Chalqueño (figuras 1 y 2), el cual fue adquirido en la alcaldía de Milpa Alta, en la Ciudad de México. La preparación de la muestra consistió en una selección de los granos de maíz, con la finalidad de eliminar aquéllos que tuvieran algún tipo de daño mecánico o microbiológico aparente.



Figura 1. Maíz azul de la raza Chalqueño



Figura 2. Maíz rojo de la raza Chalqueño

8.1.2. Análisis bromatológico del maíz

En la tabla 2 se mencionan los parámetros bromatológicos analizados, así como los métodos que se emplearon para ello.

Tabla 2. Métodos usados para la realización del análisis bromatológico del maíz

PARÁMETRO	MÉTODO
Humedad (%)	NOM-116-SSA1-1994
Fibra cruda (%)	NMX-F-613-NORMEX-2017
Proteína cruda (%)	NMX-F-608-NORMEX-2011
Grasa cruda (%)	NOM-086-SSA1-1994
Cenizas (%)	NMX-F-607-NORMEX-2013
Carbohidratos totales (%)	Calculado por diferencia (Ramdath et al., 2020)
Azúcares reductores (%)	NOM-086-SSA1-1994

8.1.3. Peso de 1000 granos

De forma manual y aleatoria, se seleccionaron 1000 granos de maíz de cada color y fueron pesados en una balanza analítica (Explorer Ohaus, Suiza), como está reportado por Deivasigamani y Swaminathan (2018). Este proceso se realizó por triplicado para cada color de maíz.

8.1.4. Germinación

Para el experimento de germinación se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado de tres factores. Los factores involucrados fueron el color del maíz (CM), el cual constó de dos niveles: maíz rojo y maíz azul; la temperatura de germinación (TG), que constó de tres niveles: 15, 20 y 25 °C; y el tiempo de germinación (tG) (que comenzó en el momento en que el maíz se introdujo en la cámara de germinación) tuvo siete niveles: 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9 días. Cada tratamiento se hizo por triplicado, con lo que se tuvo un total de 126 unidades experimentales (UE). Para llevar a cabo el experimento, todo el maíz correspondiente al mismo nivel del factor CM se remojó junto, en agua potable a una razón de 2 L de agua por cada kg de maíz. El tiempo total de remojo fue de 42 horas (Iwouno y Ojukwu, 2012), en el que por cada 12 horas de inmersión se intercalaron periodos “secos” de 3 horas que consistieron en drenar el agua y dejar el maíz fuera de esta por el lapso mencionado, esto se hizo para permitir la oxigenación de los granos, y tras lo cual los granos volvieron a ser sumergidos en agua nueva. El remojo se realizó a temperatura ambiente, la cual osciló entre

18 y 25 °C. Terminada esta etapa, el maíz remojado se distribuyó en las diferentes UE, las cuales consistieron, cada una de ellas, en 150 g de maíz remojado colocado dentro de un contenedor de plástico transparente con tapa, cuya base y techo interior fueron previamente acondicionados con una capa de papel humedecido con agua potable. Todas las UE pertenecientes al mismo nivel del factor TG se colocaron dentro de una cámara ambiental (Scorpion Scientific, Mod. 50620-IL) a la temperatura correspondiente, a una humedad relativa del 80%, en ausencia de luz, en donde permanecieron hasta que se cumplió el tiempo de germinación correspondiente a su nivel (figura 3). A lo largo de la germinación, el maíz se asperjó con agua potable cada 12 horas para mantener la humedad en los granos. Asimismo, los granos de maíz fueron aireados cada 8 horas, esto con la finalidad de remover el calor desprendido por el mismo metabolismo del maíz. Una vez terminado el tiempo de germinación, en cada una de las UE se determinó tanto el porcentaje de germinación como la longitud de las acróspiras. Hecho esto, las radículas y acróspiras fueron removidas manualmente de los granos de maíz, con la finalidad de que estas estructuras vegetativas no interfirieran con el proceso de secado, para lo cual se colocaron los granos de maíz de cada UE en un horno a 55 °C por un lapso de 24 h (Iwouno y Ojukwu, 2012). Al cabo de este tiempo, los granos de maíz se retiraron del horno, se dejaron enfriar y se pesaron en una balanza analítica (Explorer Ohaus, Suiza). El peso de las maltas obtenidas de cada UE se registró para posteriormente calcular el rendimiento del malteado.



Figura 3. Cámara ambiental con las UE correspondientes a un mismo nivel del factor TG

8.1.4.1. Determinación del porcentaje de germinación

Una vez cumplido el tiempo de germinación, las UE fueron retiradas de la cámara de germinación y en cada una de ellas se contaron tanto los granos de maíz germinados como los no germinados, con lo cual se calculó el porcentaje de germinación, de acuerdo con lo reportado por Saba et al. (2014), usando la siguiente fórmula:

$$GP = \frac{S}{T} \times 100$$

Donde:

GP= Porcentaje de granos germinados

S= Número de granos germinados

T = Número total de granos de maíz

8.1.4.2. Determinación de la longitud de las acróspiras (LA)

La LA se realizó de acuerdo con lo reportado por Dahiya et al. (2018). En cada UE, se seleccionaron al azar 12 granos de maíz germinados y, con ayuda de un hilo de algodón que se colocó desde la base hasta la punta de la estructura en cuestión, se tomó la medida de sus acróspiras. Posteriormente, la porción del hilo correspondiente a la longitud de la acróspira se midió con ayuda de un flexómetro, y el promedio de las longitudes de los 12 granos seleccionados fue el valor que se dio a la UE.

8.1.5. Rendimiento del malteado

Para calcular el rendimiento del malteado, se realizó una curva de calibración para conocer a cuántos gramos de maíz seco equivalían los 150 g de maíz remojado empleados en cada una de las UE para el experimento de germinación. La curva se construyó empleando 90, 100, 110, 120 y 130 g de maíz seco, el cual se remojó de forma separada y bajo las mismas condiciones descritas en el experimento de germinación. Esto se hizo por duplicado. El peso en gramos del maíz seco se graficó en el eje de las abscisas (x) y el peso de los granos remojados, en el eje de las ordenadas (y). La ecuación obtenida se usó para obtener el peso equivalente de maíz seco a los 150 g de maíz remojado empleado en cada UE, mientras que el rendimiento del malteado se calculó empleando la fórmula reportada por Odo et al. (2016).

$$\%My = \frac{Mw}{mw} \times 100$$

Donde:

$\%My$ = Porcentaje de rendimiento de malteado

Mw = Peso de la malta seca (en gramos)

mw = Peso del maíz seco (en gramos)

8.1.6. Correlación entre la longitud de la acróspira y la pérdida en el malteado

Se construyó una curva de calibración lineal para calcular la relación existente entre estos dos parámetros, en donde se consideró a la pérdida en el malteado como la variable dependiente (y) y a la longitud de la acróspira como la variable independiente (x). La curva

se construyó empleando los datos correspondientes a las variables mencionadas de cada una de las UE, y la correlación se realizó mediante la correlación de Pearson.

8.1.7. Poder diastásico

8.1.7.1. Método de Henry

Para calcular el poder diastásico de las maltas de maíz se empleó el método de Henry (Henry, 1984), con algunas modificaciones, el cual se describe a continuación:

8.1.7.1.1. Reactivos

Las soluciones de almidón, de hidróxido de sodio 0.5 M, de p-hidroxibenzohidrazida (PAHBAH) y de hidróxido de amonio 6 mM se prepararon tal y como está reportado por Henry (1984).

8.1.7.1.2. Extracción de enzimas

Se molieron 10 g de malta de maíz en un molino manual de discos estriados, de tal forma que la molienda pasara a través de un tamiz del no. 20 (0.84 mm). Una vez tamizada, se pesaron 0.250 g de esta malta directamente en un tubo de plástico para centrífuga, se añadieron 5 mL de hidróxido de amonio 6 mM y se agitó suavemente de forma manual. Esta mezcla se incubó por 10 min en un baño de agua a 25 °C y posteriormente se centrifugó por 3 min a 2500 g (Solbat, Mexico).

8.1.7.1.3. Diastasis

Se tomaron 0.2 mL del extracto de enzimas y se añadió a un tubo de vidrio de 30 mL que contenía 20 mL de solución de almidón soluble al 2% p/v, la cual fue tamponada a un pH de 4.6. Se incubó por un periodo de 10 min en un baño de agua a 20 °C para que se llevara a cabo la digestión del almidón, la cual se detuvo tras este periodo de tiempo mediante la adición de 1.2 mL de hidróxido de sodio 0.5 M.

8.1.7.1.4. Preparación de la solución blanco

Para la preparación de la solución blanco, se añadieron 1.2 mL de hidróxido de sodio 0.5 M a un tubo de vidrio que contenía 0.2 mL del extracto de enzimas, se agitó ligeramente, y después se añadieron los 20 mL de la solución de almidón soluble. Esta solución blanco fue tratada de la misma forma que se describió para los demás tubos en la sección 8.1.7.1.3.

8.1.7.1.5. Determinación de azúcares reductores

En un tubo de vidrio Pirex de 20 mL que contenía 5 mL de solución PAHBAH al 0.5%, se añadieron 0.2 mL de la solución digerida de almidón, se mezcló con ayuda de un vórtex e

inmediatamente se introdujo en un baño de agua hirviendo por un tiempo de 4 minutos. Al cabo de este lapso, el tubo fue retirado de la fuente de calor e inmediatamente fue introducido en un baño de agua a 20 °C en donde permaneció por un periodo de 10 min. Posteriormente, se añadieron 10 mL de agua destilada, y se mezcló con ayuda de un vórtex. La solución blanco fue tratada de la misma forma. Finalmente, se midió la absorbancia a 415 nm en un espectrofotómetro (Thermo Spectronic, Mod. BioMate3, USA), y se calculó la cantidad de azúcares reductores para lo cual se empleó una curva de calibración de dextrosa. El poder diastásico obtenido mediante este método fue reportado como mg de dextrosa/L.

8.1.7.1.6. Calibración lineal para la determinación del poder diastásico

Análogamente a la recomendación del American Society of Brewing Chemists (ASBC, 2004a), se hizo una curva de calibración para convertir las unidades obtenidas mediante el método de Henry en grados Lintner (°L), en lugar de °ASBC. Para hacer esto, se determinó el poder diastásico de siete diferentes maltas (2 de maíz, 1 de trigo, 1 de centeno y 3 de cebada). Esto se hizo por duplicado tanto por el método de Henry (tal y como se describió para las maltas de maíz), como por el método del Institute of Brewing (IoB) (Anon, 1982), con algunas modificaciones.

8.1.7.2. Método del IoB

8.1.7.2.1. Reactivos

Las soluciones de almidón al 2% p/v, de hidróxido de sodio 0.5 N y de hidróxido de amonio 6 mM, así como los reactivos A y B de Fehling se prepararon de la forma en que está reportado por el IoB (Anon, 1982).

8.1.7.2.2. Extracción de enzimas

Por separado, en un molino de discos estriados se molieron 11 g de cada una de las maltas destinadas a la construcción de la curva de calibración. El producto de la molienda se homogeneizó, y de éste se pesaron 10 g en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Se añadieron 200 mL de hidróxido de amonio 6 mM y se agitó suavemente de forma manual. Esta mezcla se incubó por 2.5 h en un baño de agua a 20 °C (figura 4), con agitación cada media hora. Al cabo de este tiempo, se tomó una porción de este extracto (el suficiente para llevar a cabo la digestión de la solución de almidón) y se dejó que se asentaran los granos por un periodo de 30 min.



Figura 4. Incubación a 20 °C para la extracción de enzimas de las maltas destinadas a la construcción de la curva de calibración

8.1.7.2.3. Digestión de la solución de almidón

En un matraz Erlenmeyer que contenía 100 mL de solución tamponada de almidón soluble al 2% p/v se añadió un volumen necesario del extracto de enzimas para que, una vez digerida la solución, el volumen necesario de esta para reducir 5 mL de licor de Fehling estuviera entre 15 y 30 mL. Una vez añadido el extracto de enzimas, se agitó el matraz y se incubó a 20 °C por 1 h. Tras este tiempo, la digestión del almidón se detuvo mediante la adición de 6 mL de hidróxido de sodio 0.5 N y se llevó hasta un aforo de 200 mL, con agua destilada a la misma temperatura.

8.1.7.2.4. Titulación de la solución de Fehling

En un matraz Erlenmeyer de 150 mL se añadieron 5 mL de la solución mezclada de Fehling, así como una cantidad casi suficiente de la solución digerida de almidón para reducir el licor de Fehling, se agitó el contenido del matraz y se llevó a ebullición moderada sobre una parrilla eléctrica, la cual se mantuvo por 2 min. Enseguida, se añadieron 3 gotas de azul de metileno y se completó la titulación dentro de un lapso no mayor a un minuto, manteniendo la ebullición moderada en todo momento.

8.1.7.2.5. Corrección del blanco

Tal y como se describió en la sección 8.1.7.2.4, se titularon 2 mL de la solución mezclada de Fehling con la solución no digerida de almidón soluble.

8.1.7.2.6. Cálculo del poder diastásico

El poder diastásico de las maltas se calculó empleando la siguiente fórmula:

$$D.P.=2000/xy-200/xs$$

D. P.= Poder diástasico, expresado en grados IoB ($^{\circ}$ IoB)

x= Número de mL del extracto de malta empleados para la digestión del almidón

y= Número de mL de la solución de almidón digerida que se requirieron para la reducción de los 5 mL de licor de Fehling

s= Título de la solución blanco

Los $^{\circ}$ IoB obtenidos fueron convertidos en $^{\circ}$ L empleando la fórmula reportada por la European Brewery Convention (Home y Sharpe, 2007):

$$^{\circ}\text{L} = (^{\circ}\text{IoB}) * 1.1$$

Los resultados se expresaron como $^{\circ}$ L redondeados al número entero más cercano.

Con los poderes diastásicos de las siete maltas se construyó una curva de calibración mediante una regresión lineal, para lo cual las unidades de poder diastásico obtenidas con el método de Henry (g dextrosa/L) fueron la variable independiente (x) y las obtenidas mediante el método del IoB ($^{\circ}$ L), la variable dependiente (y). La ecuación obtenida se empleó para determinar el poder diastásico de las maltas experimentales de maíz en $^{\circ}$ L (ASBC, 2004a).

8.1.7.3. Determinación del poder diastásico de las maltas experimentales de maíz

Como se mencionó previamente en la sección 8.1.7.1, el poder diastásico de las maltas experimentales se determinó mediante el método de Henry y, posteriormente las unidades de concentración obtenidas con este fueron convertidas en $^{\circ}$ L usando la ecuación de la curva de calibración.

8.1.7.4. Análisis de datos

Los datos obtenidos del peso de 1000 granos se analizaron mediante una prueba de ANOVA de un factor, en donde el color del maíz fue el único factor involucrado. Por otro lado, los datos obtenidos del experimento del malteado (porcentaje de germinación, longitud de la acróspira, rendimiento del malteado y poder diastásico) fueron analizados tanto con una prueba de ANOVA de tres factores, como con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Para estos análisis se empleó el software estadístico NCSS 2020 Version 20.0.3 (NCSS 2020 Statistical Software, 2020).

8.2. Experimento piloto de germinación con agentes estresantes

Dado que se ha reportado la influencia que tiene el estrés causado por diferentes factores ambientales, tales como la presión osmótica (Datta et al., 1999), las bajas temperaturas (Sung, 2001), o las altas temperaturas (Dreier et al., 1995) sobre la expresión de enzimas β -amilasas en diferentes especies vegetales, y debido a la problemática antes mencionada sobre los bajos valores de poder diastásico de las maltas de maíz reportados en diferentes estudios, se planteó un experimento piloto el cual consistió en la aplicación de diferentes sustancias, así como de bajas temperaturas durante las últimas horas del tiempo establecido para la germinación del maíz, con la finalidad de causar un estrés a los granos en germinación y evaluar si éste causaba una respuesta en el poder diastásico de las maltas obtenidas. Cabe mencionar que, debido a que las maltas son aplicadas en un producto consumido por el ser humano, como es el caso de la cerveza, la elección de las sustancias estresantes se hizo de tal forma que, de obtener resultados satisfactorios, la producción de malta de maíz pudiera reproducirse empleando sustancias inocuas y seguras para el consumo humano.

8.2.1. Germinación y aplicación de agentes estresantes

Para este estudio se planteó un diseño completamente aleatorizado de 1 factor (el agente estresante) y, dado que fue una prueba piloto, para este experimento se empleó únicamente maíz rojo (ya que obtuvo una media más alta de poder diastásico que el maíz azul) el cual fue germinado durante 7 días a 25°C (las condiciones con las que se obtuvo el mayor poder diastásico durante el experimento del malteado) y se realizó de la misma forma que se describe en la sección 8.1.4 del experimento del malteado. Los niveles del factor, es decir los tratamientos (agentes estresantes) aplicados, fueron los siguientes:

1. Solución de etanol en agua (6 % v/v)
2. Solución de NaCl en agua (2 % v/v)
3. Solución de sacarosa (2 % v/v)
4. Solución de ácido cítrico (2 % v/v)
5. Refrigeración (4 °C)
6. Congelación (- 4 °C)

La aplicación se hizo de la siguiente manera:

Los tratamientos con agentes químicos, es decir los cuatro primeros mencionados en la lista, se aplicaron asperjados sobre el maíz cuatro horas antes de culminar los 7 días programados para su germinación. Mientras que para la aplicación de los dos tratamientos correspondientes a estrés por temperatura (los dos últimos de la lista), cuatro horas antes de cumplir su tiempo de germinación las unidades experimentales se sometieron a las temperaturas mencionadas hasta cumplir el tiempo total programado de la germinación. El control consistió en germinar el maíz tal y como se describió previamente en el experimento de germinación, esto es, sin la aplicación de ningún agente estresante. La variable respuesta a medir fue el poder diastásico. Cada uno de los tratamientos se hizo por duplicado, incluyendo al control.

8.2.2. Determinación del poder diastásico

La determinación del poder diastásico se realizó de la misma manera que para las maltas obtenidas en el experimento de germinación, es decir, mediante el método de Henry (Henry, 1984) y el uso de la curva de calibración para transformar las unidades de concentración en grados Lintner.

8.2.3. Análisis de datos

Los resultados obtenidos se sometieron a una prueba de Análisis de varianza de un factor, para lo cual se empleó el software estadístico NCSS 2020 Version 20.0.3 (NCSS 2020 Statistical Software, 2020).

8.3. Producción de las cervezas de maíz azul y rojo para el estudio del envejecimiento

8.3.1. Elección de las condiciones de maceración

Previo a la producción de las cervezas de maíz se probaron 8 diferentes programas de maceración, lo cual tuvo como finalidad encontrar aquel programa con el que se produjera el mosto con la mayor cantidad de azúcares fermentables. Cada tratamiento se hizo por triplicado y se realizaron de la manera en que se describe a continuación:

Tratamiento 1 (T1). Dentro de un matraz Erlenmeyer de 2 L, se colocaron 200 g de malta de maíz azul molida toscamente, a la cual se le añadieron 800 mL de agua potable a 42 °C (proporción 1:4 de malta: agua), de tal manera que la mezcla resultante tuviera una temperatura de 40 °C. Este matraz se colocó sobre una parrilla de calentamiento, la cual se usó para mantener constante la temperatura establecida a lo largo del lapso correspondiente.

La mezcla de agua con malta se mantuvo a 40 °C durante un periodo de 10 minutos y posteriormente se aplicó calor para incrementar la temperatura hasta 50 °C, en la cual se mantuvo por 10 minutos. Al cabo de este tiempo, se volvió a aplicar calor a la mezcla hasta alcanzar una temperatura de 64 °C, temperatura que se mantuvo por 30 minutos. Cumplido este lapso, la temperatura se incrementó hasta 70 °C, en donde se mantuvo por 30 minutos más. Finalmente, la temperatura se incrementó hasta los 78 °C y se mantuvo por 1 min (mash-out). Es importante señalar que para incrementar la temperatura de la mezcla se aplicó agitación manual durante todo el tiempo en que se suministró calor a la misma, esto con el fin de homogeneizar la temperatura en la mezcla, así como de evitar que la parte más cercana a la fuente de calor incrementara considerablemente la temperatura y evitar un daño térmico en las enzimas de la malta.

Los tratamientos 2, 3, 4, 6, 7, 8 y 9 (T9) se hicieron de manera similar al tratamiento 1, pero con las temperaturas y tiempos que se detallan a continuación:

Tratamiento 2 (T2).

- a) 64 °C durante 40 minutos
- b) 70 °C durante 40 minutos
- c) 78 °C durante 1 minuto

Tratamiento 3 (T3).

- a) 67 °C durante 80 minutos
- b) 78 °C durante 1 minuto

Tratamiento 4 (T4).

- a) 64 °C durante 60 minutos
- b) 70 °C durante 20 minutos
- c) 78 °C durante 1 minuto

Tratamiento 6 (T6).

- a) 64 °C durante 20 minutos

- b) 70 °C durante 60 minutos
- c) 78 °C durante 1 minuto

Tratamiento 7 (T7).

- a) 64 °C durante 60 minutos
- b) 70 °C durante 20 minutos
- c) 78 °C durante 1 minuto

Variante: proporción 1:5 de grano: agua

Tratamiento 8 (T8).

- a) 64 °C durante 60 minutos
- b) 70 °C durante 20 minutos
- c) 78 °C durante 1 minuto

Variante: Malta molida sin retirar acróspiras y radículas

Tratamiento 5. El tratamiento 5 consistió en una maceración por decocción, para lo cual se colocaron 200 g de malta de maíz azul molida toscamente dentro de un matraz Erlenmeyer de 2 L, se añadieron 800 mL de agua a 42 °C, de tal manera que la mezcla resultante tuviera una temperatura de 40 °C. Este matraz se colocó sobre una parrilla de calentamiento, la cual se usó para mantener constante la temperatura establecida a lo largo del lapso correspondiente. La mezcla de agua con malta se mantuvo a 40 °C durante un periodo de 10 minutos. Al cabo de este tiempo, se retiraron aproximadamente 167 g de la mezcla, la cual se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se llevó a ebullición sobre una parrilla de agitación. Una vez que alcanzó el punto de ebullición, esta mezcla se devolvió al matraz de 2 L que contenía el resto de la mezcla, de tal forma que tras la adición la temperatura del macerado principal llegó a 50 °C, temperatura que se mantuvo por 10 minutos. Pasado este lapso, se retiraron alrededor de 280 g de la mezcla y se llevaron a ebullición dentro de un matraz Erlenmeyer de 500 mL. Alcanzado este punto, la mezcla se regresó al matraz que contenía el macerado principal, de tal forma que se llegó a una temperatura de 64 °C, la cual se mantuvo por un periodo de 30 minutos. Finalmente, y al término del último lapso mencionado, se retiraron 167 g de la mezcla para llevarlos a ebullición y posteriormente regresarlos junto con el macerado principal. De esta manera se alcanzó una temperatura de

70 °C, la cual se mantuvo por un tiempo de 30 minutos. El cálculo de la cantidad de mosto a retirar para llevar a ebullición y realizar las decocciones se calculó mediante la fórmula reportada por Mosher y Trantham (2017):

$$CM = \frac{TO - TA}{TE - TA} \times 100$$

En donde:

CM = Porcentaje de mosto para la decocción

TO = Temperatura que se quiere alcanzar en el macerado principal

TA = Temperatura inicial del mosto previo a la decocción

TE = Temperatura de ebullición

Las variables respuesta medidas en los mostos fueron los sólidos solubles totales (°Brix), gravedad específica (GE) y azúcares reductores directos (ARD).

8.3.1.1. Determinación de °Brix

Una vez obtenido el mosto, este se enfrió inmediatamente hasta 20 °C, se colocó una gota en la celda del refractómetro (Modelo BTX-1, Vee Gee, IL, USA) y se registró la medición que arrojó.

8.3.1.2. Determinación de GE

Para realizar este análisis, se enfrió el mosto hasta 15 °C, se colocaron 85 mL dentro de una probeta de 100 mL, se introdujo un hidrómetro (Modelo 0900FC060/20-qp, Alla France, Anjou, Francia) y se registró la lectura de la gravedad específica.

8.3.1.3. Determinación de ARD

Para determinar los ARD se empleó el método de Fehling con la modificación de Causse-Bonnans empleado por Cobos (2017) para la determinación de ARD en vinos. El método consistió en los siguiente:

Composición del reactivo de Fehling Causse-Bonnans:

- 130 g de tartrato de sodio y potasio
- 110 g de hidróxido de sodio

- 24 g de sulfato de cobre pentahidratado
- 16.8 g de ferrocianuro de potasio

8.3.1.3.1. Valoración del reactivo de Fehling

Se colocaron 5 mL de reactivo de Fehling y 10 mL de agua destilada en un matraz Erlenmeyer de 125 mL. En el matraz se agregaron tres perlas de ebullición y después fue colocado sobre una parrilla de calentamiento. Una vez en ebullición constante, se realizó la titulación con una solución de maltosa en agua a una concentración de 0.5 % p/v. El factor de Fehling se calculó mediante el uso de la siguiente fórmula:

$$F = (Malt)(V_T)$$

Donde:

F = Factor de Fehling

$Malt$ = g de maltosa/100

V_T = Volumen de la solución de maltosa gastados en la titulación

8.3.1.3.2. Determinación de azúcares reductores en el mosto

Una vez obtenido el mosto, éste se llevó a una dilución con agua 1:60. Posteriormente, a esta solución diluida se añadió subacetato de plomo y después se sometió a filtración con papel filtro Whatman del número 4. Una vez filtrada, esta solución se empleó para la titulación del reactivo de Fehling de manera análoga a como se realizó con la solución de maltosa. El porcentaje de azúcares reductores directos se calculó con el uso de la siguiente fórmula:

$$\%ARD = \frac{(f)(F)(100)}{(V_T)}$$

Donde:

$\%ARD$ = % de azúcares reductores directos

f = Factor de dilución de la muestra

F = Factor de Fehling

V_T = Volumen empleado de la solución de mosto para la titulación del reactivo de Fehling

8.3.2. Producción de las cervezas de maíz azul y rojo para el estudio de envejecimiento

Se elaboraron cuatro cervezas diferentes: ale de maíz azul, ale de maíz rojo, lager de maíz azul y lager de maíz rojo, las cuales tuvieron prácticamente la misma formulación, con las diferencias únicamente en el color de la malta de maíz y la levadura empleada, dependiendo si eran ale o lager. Esta producción se realizó en dos lotes para cada una de las cervezas, de los cuales el primer lote se destinó para las cervezas de los tiempos de envejecimiento 0 y 1 y el segundo lote se destinó para las cervezas correspondientes a los tiempos 2 y 3.

8.3.2.1. Formulación de las cervezas

4 kg de malta base de maíz (azul o rojo)

16 L de agua para maceración

8 L de agua para lavados

30 g de lúpulo Magnum

30 g de lúpulo Centennial

2 g de clarificante Whirlfloc

17 g de levadura Saflager W-34/70 para las cervezas lager u 11 g de levadura Safale S-04 para las cervezas ale.

8.3.2.2. Molienda y maceración

Se molieron aproximadamente 4.5 kg de malta de maíz, del color correspondiente, en un molino de discos de piedra estriados. La malta molida se homogeneizó y se pesaron 4 kg. Esta malta se colocó en un tanque de maceración de acero inoxidable de 30 L de capacidad que contenía 16 L de agua a 42 °C, se mezcló con ayuda de una pala de plástico, tras lo cual la mezcla alcanzó una temperatura de 40 °C. Esta temperatura se mantuvo por un lapso de 10 min, al término del cual se aplicó calor mediante un quemador de gas hasta que el macerado alcanzó los 50 °C. Durante el tiempo que se suministró calor se realizó un mezclado suave y constante de la mezcla. Alcanzados los 50 °C, el macerado permaneció a esa temperatura por un periodo de 10 min, y al cabo de este se incrementó nuevamente la temperatura hasta los 64 °C, de la misma manera en que se describió previamente. Esta temperatura se mantuvo constante por 30 min y posteriormente se incrementó hasta los 70 °C en donde permaneció por 30 min más. Finalmente, la temperatura se incrementó hasta los

78 °C para detener toda actividad enzimática (mash-out), este tiempo se mantuvo por 1 min, tras lo cual se drenó el líquido del macerador y se decantó sobre el grano desgastado (operación conocida como “vorlauf”) con el fin de clarificar el mosto, esta operación se repitió tres veces. Después de retirado el mosto, al grano desgastado se le agregaron 8 l de agua a 78 °C para realizar los lavados de los granos. Esta mezcla se agitó continuamente durante 5 minutos, con la finalidad de extraer la mayor cantidad de azúcares que aún quedaran en los granos. Pasados los 5 min, se interrumpió la agitación y se dejó que los granos sedimentaran por 5 min (esta operación es conocida como “batch sparging”) (Mosher y Trantham, 2017). Finalmente, el líquido se drenó y se mezcló con el mosto obtenido previamente.

8.3.2.3. Cocción

El mosto mezclado con el agua de los lavados se colocó en un cocedor de acero inoxidable de 30 L de capacidad y se llevó a ebullición con ayuda de un quemador de gas (figura 6). Alcanzado el punto de ebullición, se redujo la intensidad de la flama al punto de tener una ebullición del mosto mínima pero constante (figura 5). Tras 60 min de ebullición se añadió el lúpulo Magnum, el cual se introdujo previamente en una bolsa de muselina. Pasados 20 min, se añadió el clarificante, previamente hidratado en agua fría. Transcurridos 5 min más, se añadió el lúpulo Centennial, también introducido previamente en una bolsa de muselina, se dejó ebullicir 5 min y se apagó el fuego. Inmediatamente después, con ayuda de una bomba de 1/32 HP de potencia, este mosto amargo se pasó por un serpentín de acero inoxidable, el cual se encontraba sumergido en un baño de agua helada, se recolectó en un garrafón de vidrio de 20 L de capacidad que contenía la levadura previamente suspendida en 100 mL de agua hervida, y se colocó un “air-lock” en la boca del garrafón para que aislara al mosto del exterior y evitar así contaminaciones (figura 7), a la vez que se permitía la salida del dióxido de carbono producido durante la fermentación.



Figura 5. Cocción del mosto de maíz azul



Figura 6. Cocedor usado en la ebullición de los mostos

8.3.2.4. Fermentación

El garrafón se envolvió con plástico negro para evitar el paso de la luz y se introdujo en una cámara ambiental (Scorpion Scientific, Mod. 50620-IL) a la temperatura correspondiente, dependiendo el tipo de cerveza (18 °C para las cervezas ale y 12 °C para las cervezas lager). El garrafón permaneció 7 días en la cámara en el caso de las cervezas ale y 14 días en el caso

de las cervezas lager. Transcurrido este tiempo, el garrafón fue retirado de la cámara ambiental.



Figura 7. Fermentador empleado para la producción de cervezas de maíz

8.3.2.5. Descanso de diacetilo

Esta operación se realizó sólo con las cervezas lager y únicamente consistió en incrementar, durante los últimos 2 días de fermentación, la temperatura de la cámara ambiental de 12 a 18 °C, esto con la finalidad de promover el consumo del diacetilo, presente en la cerveza verde, por parte de las levaduras y evitar así el gusto a mantequilla que este metabolito aporta a la cerveza.

8.3.2.6. Lagering

Con ayuda de un sifón la cerveza verde se trasvasó a otro garrafón para separar el sedimento, se colocó un air-lock en el garrafón y se introdujo en una cámara de refrigeración a 4°C, en donde permaneció por 7 días.

8.3.2.7. Envasado y acondicionamiento en botella

Terminado el tiempo de lagering, la cerveza se trasegó a una cubeta de llenado, se agregó sacarosa (previamente diluida en cerveza verde y llevada a ebullición para su esterilización) a razón de 7 g/ L de cerveza, se mezcló suavemente, procurando introducir la menor cantidad de aire posible, y se envasó la cerveza en botellas de vidrio ámbar de 355 mL de capacidad (figura 8). Estas botellas se colocaron en cajas de cartón (figura 9) y se dejaron 14 días a temperatura ambiente para llevar a cabo la gasificación mediante una segunda fermentación. Cumplido este tiempo, las cervezas destinadas a envejecimiento en refrigeración se introdujeron en una cámara a 4 °C y el resto permaneció a temperatura ambiente hasta el momento de su análisis.



Figura 8. Cerveza lager de maíz rojo embotellada

8.3.2.8. Almacenamiento

El almacenamiento de cada una de las cuatro cervezas elaboradas se realizó a dos temperaturas diferentes: refrigeración (4 °C) y ambiente (14-26 °C), para lo cual se destinó un igual número de botellas de cada una de las cervezas producidas. Asimismo, se destinó igual número de botellas para los diferentes tiempos a evaluar, de los cuales el primero fue cuando las cervezas cumplieron los 14 días destinados a la gasificación, esto correspondió al tiempo 0 (t₀), posteriormente se hicieron análisis cumplidos 1, 2 y 3 meses, que correspondieron a los tiempos 1 (t₁), 2 (t₂) y 3 (t₃), respectivamente.



Figura 9. Embalaje de las cervezas de maíz para su almacenamiento

8.4. Producción de seis diferentes estilos de cervezas ale de maíz

Tomando como base los estudios previos descritos en el presente escrito, se llevó a cabo la producción de seis diferentes estilos de cervezas de maíz, más una variante en dos de ellos, de los cuales dos fueron de maltas de maíz azul (más la variante en el estilo “PA de MA 1”, que consistió en emplear malta base con tres días de germinación en lugar de la de siete días de germinación), tres de maltas de maíz rojo (más la variante en el estilo “BA de MR 1” que consistió en emplear 0.3 kg más de malta base) y uno con una combinación de ambas. Las formulaciones de estos estilos están descritas en la tabla 3.

Tabla 3. Formulación de los diferentes estilos de cerveza de maíz

Ingrediente	Estilo de cerveza							
	PA de MA	PA de MA	BA de MR	BA de MR	IRAP de	IRA de	S de MA	P de MR
	1	2	1	2	MR	MR		
Malta base de maíz azul 3 días de germinación (kg)	4	-	-	-	-	-	-	-
Malta base de maíz azul (kg)	-	4	-	-	-	-	4	-
Malta base de maíz rojo (kg)	-	-	3.6	3.9	3.8	3.6	-	4
Malta caramelo de maíz rojo (kg)	-	-	0.1	0.1	0.2	0.4	-	0.2
Malta caramelo 2 de maíz rojo (kg)	-	-	0.3	0.3	-	-	-	0.2
Malta caramelo de maíz azul (kg)	0.2	0.2	-	-	-	-	0.2	-
Malta black de maíz azul (kg)	-	-	-	-	-	-	0.4	0.4
Hojuelas de avena (kg)	-	-	-	-	-	-	0.4	-
Agua para maceración (l)	16	16	16	16	16	16	16	16
Agua para lavados (l)	8	8	8	8	8	8	8	8
Lúpulo Magnum (g)	25	25	25	25	20	20	35	35
Lúpulo Cascade (g)	30	30	-	-	30	30	-	-
Lúpulo Saaz (g)	-	-	30	30	-	-	35	30
Clarificante (g)	2	2	2	2	2	2	2	2
Levadura Safale S-04 (g)	11	11	-	-	-	11	-	-
Levadura Safale S-33 (g)	-	-	-	-	11	-	-	-
Levadura Windsor (Lallemand)	-	-	11	11	-	-	11	11
Chile de árbol (g)	-	-	-	-	10	-	-	-

Simbología: PA=Pale ale, BA=Brown ale, IRA=Irish red ale, IRAP= Irish red ale picante, S=Stout, P=Porter, MA=Maíz azul, MR=Maíz rojo

Para la elaboración de estos estilos se empleó el mismo programa de maceración que el descrito en la sección 8.3.2.2. Las variantes que no se mencionan en el proceso señalado son:

- Maltas diferentes a las maltas base. Tuvieron un tratamiento similar a las maltas base mencionadas en la sección 8.3.2, por lo que se añadieron junto con estas.
- Hojuelas de avena. Estas se emplearon como elemento adjunto para la producción de la cerveza “S de MA”, y fueron sometidas a un proceso de cocción previo a la maceración. Para realizar esta operación, en un matraz Erlenmeyer de 2 L se colocaron los 0.4 kg de hojuelas de avena, se añadió 1 L del agua destinada a la maceración y, con ayuda de una parrilla eléctrica, esta mezcla se llevó a ebullición, la cual se mantuvo por espacio de 20 min (Mosher y Trantham, 2017). Tras este tiempo la mezcla se añadió al macerado principal.

- c) Chiles de árbol. Estos elementos se asaron, se molieron con 100 mL de agua en una licuadora, la mezcla se introdujo en una bolsa de muselina y se añadieron al mosto en ebullición 10 min antes de terminar el proceso de cocción.
- d) Lúpulos Cascade y Saaz. Su uso sustituyó al lúpulo Centennial mencionado en la sección 8.3.2.3.

8.4.1. Parámetros fisicoquímicos medidos en las cervezas

8.4.1.1. Etanol

El porcentaje de etanol se determinó de acuerdo con lo descrito en el método Beer 4-A (ASBC, 2004b). En un matraz de destilación se colocaron 100 mL de cerveza desgasificada a 20 °C, 50 mL de agua destilada y tres perlas de ebullición. Esta solución fue sometida a destilación a una velocidad uniforme. En un matraz aforado de 100 mL colocado en un baño de hielo, se colectaron directamente alrededor de 96 mL del destilado. Una vez colectado, este se mezcló bien, se ajustó la temperatura a 20 °C y se llevó al aforo con agua destilada. Posteriormente, con el uso de un picnómetro se calculó la gravedad específica de esta solución hidroalcohólica y con ésta se determinó su contenido alcohólico mediante el uso de tablas. La gravedad específica se calculó con la siguiente fórmula:

$$G_{esp} = \frac{P_D - P_V}{P_A - P_V}$$

Donde:

P_D = Peso del picnómetro con el destilado

P_A = Peso del picnómetro con agua

P_V = Peso del picnómetro vacío

G_{esp} = Gravedad específica

8.4.1.2. Determinación de pH

Esta determinación se realizó de acuerdo con lo descrito en el método Beer 9 (ASBC, 2004c). Se calibró el potenciómetro (Conductronic PC45) con los buffers de pH 7.0 y de 4.0. Se pipetearon 50 mL de cerveza desgasificada a 20°C en un vaso de precipitados de 100 mL, se introdujo el electrodo y se registró la medición.

8.4.1.3. Determinación de ARD

Se hizo una dilución 1:10 de la cerveza en agua destilada y los ARD se determinaron de acuerdo con lo descrito en la sección 8.3.1.3.

8.4.1.4. Determinación de °Brix

La determinación de °Brix se realizó de la manera descrita en la sección 8.3.1.1.

8.4.1.5. Gravedad específica

La determinación de la gravedad específica se realizó de la manera descrita en la sección 8.3.1.2.

8.4.1.6. Acidez total

La acidez total de las cervezas se determinó de acuerdo con lo descrito en el método Beer 8-A (ASBC, 2004d), para lo cual primero se calibró el potenciómetro (Conductronic PC45) con los buffers de pH 7.0 y de 4.0. Hecho esto, se pipetearon 50 mL de cerveza desgasificada en un matraz Erlenmeyer de 125 mL que contenía un agitador magnético, se colocó sobre una parrilla de agitación, se introdujo el electrodo del potenciómetro y se activó la agitación. Inmediatamente después se inició con la titulación añadiendo porciones de alrededor de 1.5 mL de una solución de hidróxido de sodio 0.1 N contenida en una bureta hasta alcanzar un pH de 7.6. Alcanzado este punto, se prosiguió con la titulación añadiendo pequeñas cantidades de la solución titulante hasta alcanzar un pH de 8.2, con lo cual se dio por terminada la titulación. El contenido de acidez total en las muestras se calculó mediante el uso de la siguiente fórmula:

$$AT = \frac{(V_{NaOH})(10)(Meq_{Ac.Lac})}{(V_{cerv})(Sp\ gr\ cerv)}$$

En donde:

AT = Acidez total expresada en % de ácido láctico

V_{NaOH} = Volumen de NaOH 0.1 N gastados en la titulación

$Meq_{Ac.Lac}$ = Miliequivalentes del ácido láctico

V_{cerv} = Volumen de cerveza empleada como muestra

$Sp\ gr\ cerv$ = Gravedad específica de la cerveza analizada

8.4.1.7. Antocianinas libres totales (ALT)

Para este análisis se empleó el método de diferencial de pH (Giusti y Wrolstad, 2001).

Reactivos:

- Buffer de cloruro de potasio 0.025 M, pH 1.0

Preparación:

En un matraz Erlenmeyer, se mezclaron 1.86 g de KCl y 980 mL de agua destilada, se midió el pH de esta solución y se ajustó a 1.0 empleando HCl concentrado. Una vez ajustado el pH, se transfirió la mezcla a un matraz aforado de 1 l y se llevó hasta el aforo con agua destilada.

- Buffer de acetato de sodio 0.4 M, pH 4.5

Preparación:

En un matraz Erlenmeyer, se mezclaron 54.43 g de $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}\cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ con 960 mL de agua destilada, se midió el pH y se ajustó a 4.5 empleando HCl concentrado. Ajustado el pH, se transfirió la solución a un matraz aforado de 1 l y se llevó hasta el aforo con agua destilada.

Determinación de ALT

Se tomaron dos alícuotas de 5 mL de cerveza y cada una fue agregada en un matraz aforado de 25 mL. Uno de los matraces se aforó con buffer de pH= 1.0 y el otro con buffer de pH=4.5. Estos se dejaron 20 min después de agregado el buffer para que alcanzaran el equilibrio y posteriormente se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro (Thermo Spectronic, Modelo BioMate 3) a una longitud de onda de 510 nm, así como a 700 nm para corregir el efecto de la turbidez de la muestra; se empleó agua destilada como blanco para realizar las lecturas. El valor de la absorbancia real de cada solución fue determinado con la siguiente fórmula:

$$A = (A_{510 \text{ nm pH} 1.0} - A_{700 \text{ nm pH} 1.0}) - (A_{510 \text{ nm pH} 4.5} - A_{700 \text{ nm pH} 4.5})$$

Y el cálculo de la concentración de antocianinas se realizó con la siguiente fórmula:

$$C = \frac{(A)(PM)(1000)(F)}{(\epsilon)(1)}$$

En donde:

C= Concentración de antocianinas, expresada en mg/L

A = Absorbancia

ϵ = Coeficiente de extinción molar de la cianidina-3 glucósido

PM = Peso molecular de la cianidina-3 glucósido

F = Factor de dilución de la muestra

Los valores del peso molecular y coeficiente de extinción molar de la cianidina-3-glucósido para buffer de solución acuosa pH=1, según lo reportado por Jurd y Asen (1966), fueron:

$PM_{\text{cian-3-glc}} = 449.2 \text{ g/mol}$

$\epsilon_{\text{cian-3-glc}} = 26,900 \text{ L}^* \text{mol/cm}$

8.5. Evaluación sensorial de las cervezas de maíz

8.5.1. Caracterización sensorial

De los 6 estilos desarrollados, el “BA de MR 1” y el “PA de MA 1” fueron sometidos a un análisis sensorial, para lo cual se empleó un panel de 11 jueces entrenados. La prueba aplicada fue una “Rate-All-That-Apply (RATA)”, en la cual se les pidió a los jueces marcar en una escala de 15 cm (en donde 0 significaba ausencia total del atributo y 15, la máxima intensidad del mismo) cada uno de los atributos contenidos en una lista (incluida en la sección de anexos), previamente desarrollada por ellos mismos, los aspectos visual, olfativo y gustativo de los dos estilos de cervezas de maíz, así como de cuatro cervezas comerciales: dos de estilo Pilsner (Heineken[®] y Corona[®]) y dos de estilo Vienna (Victoria[®] y Minerva[®]). Para el descriptor “color” se empleó la escala Standard Reference Method (SRM) (figura 10), que se proporcionó impresa en papel fotografía a cada uno de los jueces y contra la cual comparaban el color de la muestra de cerveza para asignarle el valor de este atributo. La prueba sensorial se hizo por duplicado y los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) de un factor, así como a un Análisis Procrusteano Generalizado (APG).



Figura 10. Escala de colores Standard Reference Method (SRM) empleada para la asignación del atributo color en las muestras de cerveza evaluadas

8.5.2. Prueba con consumidores

Las seis cervezas caracterizadas sensorialmente (las dos de maíz y las cuatro comerciales), así como los estilos “IRAP de MR”, “IRA de MR” y “S de MA” fueron evaluadas hedónicamente por 42 consumidores en el festival de cerveza artesanal “Cervefest 2019”. Para esta evaluación se usó la prueba Just-About-Right (JAR), con la cual se evaluaron siete atributos (que no necesariamente estaban todos presentes en las nueve cervezas evaluadas) que fueron: espuma, sabor a tostado, sabor a malta, amargor, carbonatación, sabor a cerveza, cuerpo y picor (pungencia). Adicionalmente, al final de la prueba se evaluó el agrado visual y el agrado general, para lo cual se usó una escala hedónica de nueve puntos (la prueba aplicada se incluye en la sección de anexos). Esta prueba se hizo a ciegas, es decir, los consumidores no sabían qué muestras estaban evaluando. Para su aplicación las cervezas se dividieron en tres bloques que se presentaron a los consumidores en el orden que se enlista a continuación:

1. “Pilsner”: Heineken[®], Corona[®] y “PA de MA 1”
2. “Vienna”: Victoria[®], Minerva[®] y “BA de MR 1”
3. “Maíz”: “IRAP de MR”, “IRA de MR” y “S de MA”

Los datos correspondientes al agrado visual y agrado general obtenidos se analizaron mediante una prueba de ANOVA, así como una prueba de Friedman. Con lo que respecta a la prueba JAR, los datos se examinaron mediante un análisis de penalización.

8.6. Estudio de la evolución de los compuestos volátiles durante el envejecimiento de las cervezas de maíz.

8.6.1. Diseño experimental

Para este estudio se utilizaron las cervezas cuya producción se describe en la sección 8.3.2 y se empleó un diseño aleatorizado completamente al azar de cuatro factores. Los factores involucrados fueron el color del maíz (azul y rojo), el tipo de fermentación (lager y ale), la temperatura de almacenamiento (ambiente y refrigeración) y el tiempo de envejecimiento (0, 1, 2 y 3 meses). Cada tratamiento se hizo por duplicado.

8.6.2. Identificación de compuestos volátiles

8.6.2.1. Extracción

Para realizar la extracción de los compuestos volátiles se colocaron 10 mL de cerveza desgasificada, 3 g de cloruro de sodio y una barra magnética dentro de un vial de 20 mL para head-space, de vidrio ámbar (Sigma-Aldrich, Saint Louis Missouri, USA). Este fue tapado con cinta teflón y con una tapa metálica roscada provista con un septo PTFE azul y silicona blanco (Sigma-Aldrich, Saint Louis Missouri, USA). Una vez tapado, el vial fue introducido en un baño de agua a 30 °C, se aplicó agitación a 1000 rpm y se dejó un tiempo de equilibrio de 10 minutos. Una vez cumplido el tiempo de equilibrio, se introdujo una fibra de Polidimetilsiloxano/Divinilbenceno/Carboxen (PDMS/DVB/CARBOXEN), la cual fue previamente acondicionada de acuerdo con lo indicado por el fabricante (Supleco, Bellafonte, Pennsylvania, USA). El tiempo de extracción fue de 60 minutos, tras lo cual se retrajo la fibra dentro de la aguja de perforación del holder e inmediatamente fue desorbida durante 10 minutos en el inyector del cromatógrafo de gases.

8.6.2.2. Análisis cromatográfico

Para el análisis se empleó un cromatógrafo de gases modelo HP 6890, equipado con una columna no polar HP-5 (30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 µm de espesor

de la fase estacionaria). La desorción de los compuestos volátiles se realizó en el modo splitless, con una temperatura del puerto de inyección de 250 °C, y temperatura del detector también de 250 °C. Para la separación de los compuestos se empleó una rampa de temperatura que inició a 40 °C, mantenida durante un minuto, para posteriormente subir hasta 220 °C a una razón de 5°C/min, temperatura que se mantuvo por 3 min, para un tiempo total de corrida de 40 min. Se empleó nitrógeno como gas acarreador a un flujo constante de 1 mL/min.

8.6.2.3. Identificación de los compuestos volátiles

La identificación de los compuestos de las muestras se realizó mediante la inyección de estándares, de grado reactivo, adquiridos con Sigma-Aldrich (Saint Louis Missouri, USA). Los estándares usados fueron: acetaldehído, dimetil sulfuro (DMS), 2,3-butanodiona (diacetilo), 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-butanol, 4-metil-2-pentanol, hexanal, isobutirato de etilo, butirato de etilo, lactato de etilo, 4-metil-1-pentanol, 2-metilbutirato de etilo, acetato de isoamilo, 2-heptanona, 5-metilfurfural, dimetil trisulfuro, mirceno, hexanoato de etilo, octanal, 1-Octanol, guayacol, linalool, nonanal, 2-feniletanol, octanoato de etilo, diclorofenol, geraniol, linalil acetato, nonanoato de etilo, γ -nonanolactona y cinamato de etilo. Las concentraciones a las cuales se inyectaron, así como los tiempos de retención para su identificación en las muestras de cerveza se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Concentraciones y tiempos de retención de los estándares empleados para la identificación de los compuestos volátiles en las cervezas de maíz

Estándar	Concentración (mg/L)	Tiempo de retención
Acetaldehído	85.50	2.83
DMS	3.52	3.21
Diacetilo	93.40	3.57
3-metil-1-butanol	17.88	5.39
2-metil-1-butanol	18.02	5.45
4-metil-2-pentanol	10.96	5.82
Hexanal	5.25	6.73
Isobutirato de etilo	5.79	5.86
Butirato de etilo	0.61	6.78
Lactato de etilo	192.60	7.21
4-metil-1-pentanol	10.90	7.71
2-metilbutirato de etilo	0.60	8.00
Acetato de isoamilo	0.58	8.68
2-heptanona	0.43	9.17
5-metilfurfural	3.08	11.23
Dimetil trisulfuro	0.30	11.41
Mirceno	0.022	11.96
Hexanoato de etilo	0.52	12.20
Octanal	0.027	12.32
1-Octanol	3.28	14.29
Guayacol	97.10	14.93
Linalool	2.69	15.17
Nonanal	0.093	15.29
2-Feniletanol	57.00	15.61
Octanoato de etilo	0.61	17.93
Diclorofenol	0.62	18.13
Geraniol	0.54	19.49
Linalil acetato	0.03	19.60
Nonanoato de etilo	0.032	20.58
γ -nonalactona	3.01	22.39
Cinamato de etilo	0.18	25.01

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1. Experimento del malteado

9.1.1. Análisis bromatológico del maíz

Como se puede observar en la tabla 5, la composición proximal del maíz analizado es similar para ambos colores y sus valores están dentro de los reportados para otras variedades mexicanas de maíz. Por ejemplo, Peña-Betancourt et al. (2017) y Sánchez-Madrigal et al. (2014) reportaron valores de 7.09 % - 10.16 % de proteína, 4.44 % - 5.81% de grasa y 1.28 % - 1.39 % de cenizas para variedades azules. De igual manera, Sánchez-Madrigal et al. (2014) reportaron valores de 9.60 % de humedad, 75.23 % de carbohidratos y 2.26 % de fibra cruda. Con respecto a variedades rojas, no se encontraron reportes de composición proximal para variedades mexicanas, pero Adeniyi y Ariwoola (2019) reportaron valores de 1.29 % y 2.24 % de grasa, 0.51 % y 1.0 % de cenizas, 12.82 % y 9.32 % de proteína, 0.86 % y 1.55 % de fibra cruda, así como 71.48 % y 74.40 % de carbohidratos para dos variedades nigerianas.

Tabla 5. Perfil bromatológico del maíz azul y rojo de la raza Chalqueño

PARÁMETRO	MAÍZ ROJO	VALORES DE REFERENCIA	MAÍZ AZUL	VALORES DE REFERENCIA
Humedad (%)	11.92	n.r	11.32	9.60 ^c
Fibra cruda (%)	1.50	0.86 y 1.55 ^a	1.59	2.26 ^c
Proteína cruda (%)	8.52	9.32 y 12.82 ^a	8.69	7.09-10.16 ^{b, c}
Grasa cruda (%)	5.08	1.29 y 2.24 ^a	4.93	4.44-5.81 ^{b, c}
Cenizas (%)	1.25	0.51 y 1.0 ^a	1.29	1.28-1.39 ^{b, c}
Carbohidratos totales (%)	71.73	71.48 y 74.40 ^a	72.18	75.23 ^c
Azúcares reductores (%)	2.97	n.r.	3.05	n.r.

a) Adeniyi y Ariwoola (2019); b) Peña-Betancourt et al. (2017); Sánchez-Madrigal et al. (2014)

n. r. = No reportado

9.1.2. Peso de 1000 granos

Los resultados de este análisis mostraron que el peso de 1000 granos del maíz azul fue de 548.6 g, mientras que el del maíz rojo fue de 520.9 g, lo que significa alrededor de un 5.4% más por parte del maíz azul (p -value = 0.001). Este dato indica un mayor tamaño de los granos de maíz azul que los de maíz rojo. Con referencia a esto Sulewska et al. (2014) reportaron el peso de 1000 granos de tres diferentes fracciones (pequeña, mediana y grande) de maíz de la variedad “Boruta”, y el peso declarado para la fracción grande fue de 410 g.

Por otro lado, Agama-Acevedo et al. (2011) reportaron el peso de 1000 granos para diferentes muestras de maíz azul de la raza Chalqueño, cuyos valores estuvieron entre 367.6 y 509.8 g. Estos valores podrían indicar que esta raza de maíz posee granos de mayor tamaño en comparación con otras variedades, tal como lo reportaron Rocandio-Rodríguez et al. (2014), quienes declararon que esta raza de maíz se caracteriza por tener granos grandes y anchos. Por ejemplo, Hortelano-Santa Rosa et al. (2012) reportaron una longitud del grano de 13.59 mm y un ancho de 7.32 mm para granos de maíz Chalqueño, medidas que contrastan contra los 11.97 mm de longitud de grano y 6.64 mm de ancho de grano para granos de maíz de raza “Cónico”, o los 11.06 mm y 7.37 mm para las mismas características de grano en maíz “Cónico norteño”.

9.1.3. Germinación

9.1.3.1. Análisis de los datos obtenidos del experimento de germinación

La tabla 6 muestra los resultados del ANOVA de cada una de las variables respuesta para los tres factores que estuvieron involucrados en este experimento, así como las interacciones entre estos. Como se puede observar, únicamente la interacción del factor ‘Color del maíz’ (Maíz) con el factor ‘Tiempo de germinación’ no fue significativa tanto para el porcentaje de germinación como para la longitud de la acróspira.

Tabla 6. Resultados del ANOVA del experimento de germinación

Factor o interacción de factores	Variables respuesta							
	Porcentaje de germinación		Longitud de la acróspira		Poder diastásico		Rendimiento del malteado	
	F-Ratio	P-value	F-Ratio	P-value	F-Ratio	P-value	F-Ratio	P-value
Color del maíz (CM)	63.59	<0.001	38.98	<0.001	23.89	<0.001	385.09	<0.001
Temperatura de germinación (TG)	32.13	<0.001	4297.12	<0.001	377.38	<0.001	8599.32	<0.001
Tiempo de germinación (tG)	5.31	<0.001	1089.16	<0.001	342.21	<0.001	3068.08	<0.001
CM*tG	16.77	<0.001	5.90	<0.001	4.81	0.0106	47.41	<0.001
CM*tG	0.78	0.59	1.23	0.30	9.23	<0.001	8.48	<0.001
TG*tG	4.15	<0.001	141.03	<0.001	6.19	<0.001	166.04	<0.001
CM*tG*tG	2.73	0.004	2.46	0.008	4.23	<0.001	3.76	<0.001

- a) Los números de color azul señalan a aquellos factores y/o interacciones que resultaron significativos para las variables respuesta.

9.1.3.2. Determinación del porcentaje de germinación

Los resultados mostraron que el porcentaje de germinación del maíz azul fue alrededor de dos puntos porcentuales mayor que el del maíz rojo (91.4% y 89.3%, respectivamente). No obstante estos valores, el análisis de varianza (tabla 6) mostró diferencia significativa entre estos ($p\text{-value} < 0.001$). Con referencia a la temperatura de germinación, como se puede ver en la tabla 7, los mayores valores de germinación se observaron cuando se germinó a 20 °C, mientras que los menores valores se obtuvieron con la germinación a 15 °C ($p\text{-value} < 0.001$). Con respecto a esto, Silva-Neta et al. (2015) probaron cuatro temperaturas de germinación (10, 15, 20 y 25 °C) y sus resultados mostraron que para algunas de las variedades estudiadas a medida que se incrementó la temperatura de germinación, lo hizo también el porcentaje de germinación; sin embargo, en algunas otras de las variedades involucradas se observó un decremento en el porcentaje de esta variable cuando se germinó a 20 °C en comparación con la germinación que se hizo a 15 °C. Por lo que, el decremento en el porcentaje de germinación del maíz usado en el presente trabajo cuando se germinó a 25 °C respecto a la germinación a 20 °C podría estar asociado a la raza Chalqueño en sí.

Retomando la investigación mencionada, Silva-Neta et al. (2015) obtuvieron porcentajes de germinación entre 86 y 100 % cuando la germinación se hizo a 20 y 25 °C. Asimismo, Zakeyeldinn et al. (2018) reportaron porcentajes de germinación entre 90.5 y 98.0 % en cinco diferentes variedades híbridas de maíz. Por tanto, los menores valores de germinación obtenidos en la presente investigación para el maíz de la raza Chalqueño podrían estar relacionados con un almacenamiento prolongado de los granos, así como con condiciones inadecuadas, ya que está reportado que a medida que se incrementa el tiempo de almacenamiento de las semillas, decrecen tanto la velocidad como el índice de germinación (Garoma et al., 2017). De igual manera está reportado que condiciones inapropiadas de almacenamiento pueden conducir a un deterioro de las semillas y a disminuciones en el porcentaje de germinación (Nasreen et al., 2000).

Tabla 7. Resultados del ANOVA del experimento de germinación

Temperatura (°C)				
Color del maíz	15	20	25	p-value
Rojo	87.03 ^{Bb}	90.89 ^{Ba}	89.98 ^{Aa}	< 0.001
Azul	91.29 ^{Ab}	92.77 ^{Aa}	90.39 ^{Ab}	< 0.001
Media	89.16 ^c	91.83 ^a	90.19 ^b	< 0.001

- (a) Las letras mayúsculas indican subgrupos para las temperaturas (columnas), y las letras minúsculas indican subgrupos para el color del maíz (filas).
- (b) La "Media" de ambos colores de maíz considera únicamente el efecto del factor "Temperatura".

9.1.3.3. Determinación de la longitud de las acróspiras

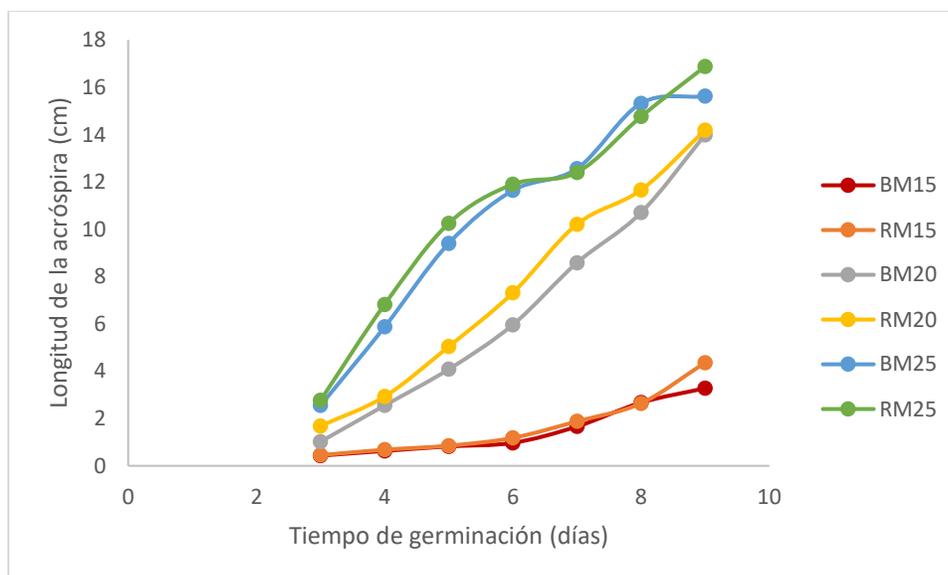


Figura 11. Efecto de la temperatura y el tiempo de germinación sobre la longitud de la acróspira de las maltas de maíz azul y rojo

NOTA: Las letras BM y RM se refieren al maíz azul y maíz rojo, respectivamente, y los números 15, 20 y 25 indican la temperatura de germinación

Como se tenía previsto, la longitud de la acróspira se incrementó a medida que aumentó el tiempo de germinación (figura 11), por lo que las maltas que se germinaron durante 9 días fueron las que presentaron las acróspiras más largas y, en contraparte, las maltas germinadas por 3 días tuvieron las acróspiras de menor longitud ($p\text{-value} < 0.001$). Con referencia a esto, en un estudio hecho con diferentes cereales, Evans et al. (2009) reportaron una relación significativa entre el tiempo de germinación y el vigor de la acróspira, en la que se observó un incremento significativo en el crecimiento de ésta a medida que aumentaba el tiempo. En lo que respecta a la temperatura de germinación, los resultados de la presente investigación mostraron un incremento de la longitud de la acróspira conforme se aumentó este factor mencionado. De tal forma que las maltas germinadas a 25 °C fueron las que presentaron las acróspiras de mayor longitud, seguidas de aquéllas germinadas a 20 °C, y finalmente las que se germinaron a 15 °C, que fueron las maltas con las acróspiras de menor longitud ($p\text{-value} < 0.001$). En cuanto al color del maíz, las maltas de maíz rojo tuvieron acróspiras de mayor tamaño que las maltas de maíz azul ($p\text{-value} < 0.001$), con una longitud media de 6.71 y 6.21 cm, respectivamente. Estos resultados concuerdan con aquéllos de Akinnuoye y Modi (2015), quienes reportaron acróspiras de mayor longitud cuando la temperatura de germinación del maíz se incrementó de 20 a 30 °C. De manera similar, Ennen y Jeschke (2020) reportaron mayores velocidades de crecimiento de las acróspiras en maíz a medida que se incrementó la temperatura de germinación. Por ejemplo, se reportó una velocidad de crecimiento de 0.3 mm/h cuando el maíz se germinó a 15 °C, mientras que la velocidad reportada para una germinación realizada a 30 °C fue de 1.4 mm/h, esto es más de cuatro veces mayor. Este efecto de incremento de las acróspiras como respuesta al incremento de la temperatura de germinación puede deberse a que la velocidad de crecimiento de la planta depende de la temperatura ambiental en que se desarrolla (Hatfield y Prueger, 2015), ya que todos los procesos biológicos responden a esta (Pietruszka y Haduch-Sendecka, 2016). Asimismo, se ha reportado que la velocidad de germinación es impulsada por la temperatura acumulada o, dicho de otra forma, por los grados-día (GRDC, 2016). También algunos estudios han mostrado que las plantas ajustan su crecimiento y desarrollo como una respuesta a variaciones en la temperatura, incluso si estas variaciones son mínimas. El conjunto de cambios morfológicos inducidos por altas temperaturas ambientales, por debajo del estrés por calor, es colectivamente llamado termomorfogénesis (Quint et al., 2016).

9.1.4. Rendimiento del malteado

Como se puede observar en las figuras 12 y 13, el rendimiento del malteado decreció en las maltas de ambos colores de maíz a medida que se incrementó el tiempo de germinación, por lo que las maltas obtenidas con una germinación de 3 días fueron las que presentaron un mayor rendimiento. Por el contrario, las maltas obtenidas mediante una germinación de 9 días fueron las que tuvieron un menor rendimiento ($p\text{-value} < 0.001$). Respecto a esto, Ndife et al. (2019) reportaron pérdidas en el malteado de 10.6 % y 19.52 % en maltas de maíz obtenidas mediante una germinación de 3 y 5 días, respectivamente. Existen algunos otros estudios sobre maltas de diferentes cereales en los cuales se reporta también un decremento del rendimiento del malteado conforme se incrementa el tiempo de germinación. Por ejemplo, Lekjing y Venkatachalam (2020) reportaron un decremento de alrededor del 9 % en el rendimiento para maltas de arroz cuando se incrementó de 3 a 5 días el tiempo de germinación, con una temperatura de secado de 50 °C. De manera similar, Olugbile et al. (2015) reportaron un rendimiento de 77.86 % en maltas de arroz germinadas por 3 días, y un rendimiento de 45.46 % para maltas germinadas durante 12 días, lo cual mostró claramente un decremento del rendimiento del malteado a medida que se incrementó el tiempo de germinación. Por otro lado, Farzaneh et al. (2017) reportaron un rendimiento de 86 % para maltas de cebada germinadas por 3 días, y este valor cayó hasta un 78 % en maltas que se obtuvieron con un tiempo de germinación de 7 días. En un estudio sobre maltas de sorgo blanco y rojo, Eburuche et al. (2019) reportaron pérdidas en el malteado entre 2 y 23 %, las cuales se incrementaron con el tiempo de germinación.

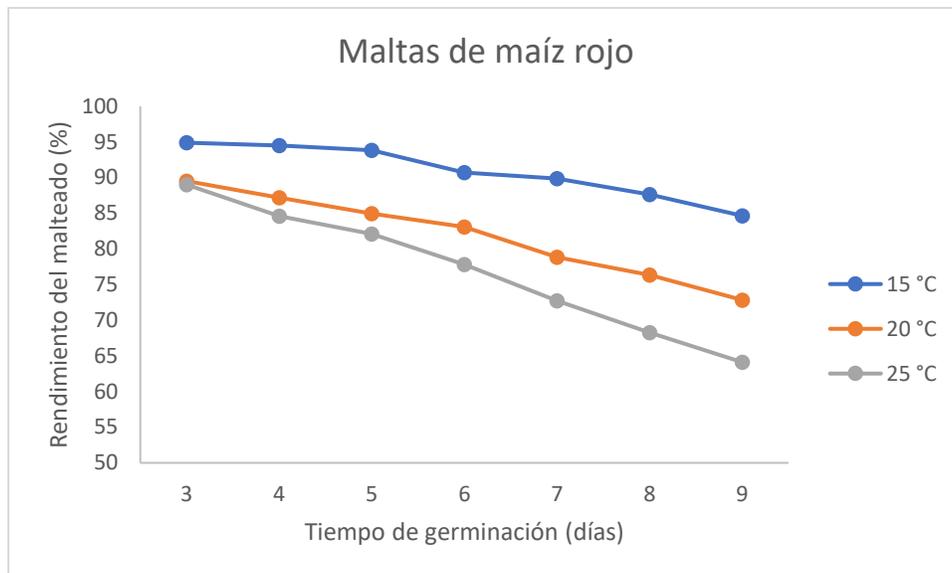


Figura 12. Efecto de la temperatura y el tiempo de germinación sobre el rendimiento del malteado en maltas de maíz rojo de la raza Chalqueño

NOTA: Los números 15, 20 y 25 indican la temperatura de germinación

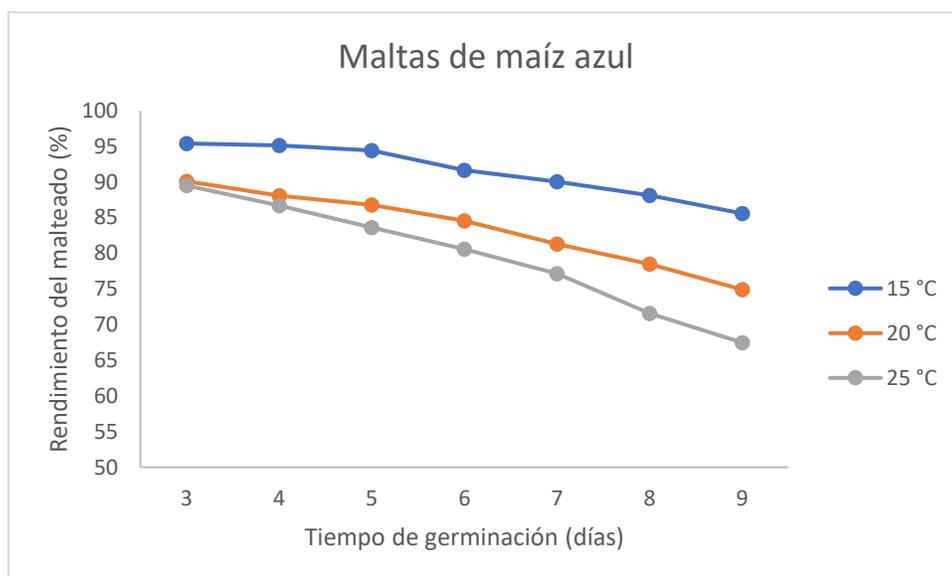


Figura 13. Efecto de la temperatura y el tiempo de germinación sobre el rendimiento del malteado en maltas de maíz azul de la raza Chalqueño

NOTA: Los números 15, 20 y 25 indican la temperatura de germinación

En relación con la temperatura de germinación, el rendimiento del malteado decreció a medida que este factor se incrementó. De esta manera, como se muestra en las figuras 12 y 13, los porcentajes de rendimiento de las maltas germinadas a 15 °C fueron significativamente mayores que los de aquéllas germinadas a 20 y 25 °C, siendo estas últimas las que tuvieron los porcentajes de rendimiento más bajos ($p\text{-value} < 0.001$). Un resultado similar, realizado con maltas de sorgo, fue reportado por Claver et al. (2010), quienes propusieron un modelo matemático en el cual se mostró que, además del tiempo de germinación, cualquier incremento en la temperatura se traduciría en un incremento significativo en la pérdida de rendimiento.

Las caídas en el rendimiento del malteado son causadas, principalmente, por la actividad metabólica que tiene presencia durante el proceso de germinación de la semilla y de elongación de la acróspira ya que, al ser el almidón la principal fuente de reserva energética en el grano de cereal, la degradación de este es esencial para el crecimiento heterotrófico de la plántula (Vinje et al., 2015), por lo que una gran parte de la materia seca se pierde en forma de dióxido de carbono, agua y en la construcción de las radículas y plántula (Guido y Moreira, 2014). Asimismo, está reportado que durante el crecimiento postgerminativo las reservas son las que soportan el crecimiento de la plántula hasta que ésta llega a ser fotosintéticamente activa y, por lo tanto, autosuficiente. De esta forma, las reservas de alto peso molecular, como el almidón, contenidas dentro de los órganos de almacenamiento de la semilla son convertidas en metabolitos de bajo peso molecular, fácilmente transportables, los cuales son movilizados a las regiones de la semilla que se encuentran en crecimiento, para sostener los eventos sintéticos y de producción de energía en las mismas (Derek, 2001).

En cuanto al color del maíz, las maltas de maíz azul tuvieron mayores porcentajes de rendimiento que las de maíz rojo ($p\text{-value} < 0.001$), cuyos valores fueron de 84.8 % y 83.2%, respectivamente. Esta diferencia podría estar relacionada con las mayores longitudes de las acróspiras de algunos tratamientos (combinación de temperatura y tiempo de germinación) en las maltas de maíz rojo, tal y como se muestra en la figura 11.

9.1.5. Correlación entre la longitud de la acróspira y la pérdida en el rendimiento del malteado

Como se muestra en la figura 14, la correlación de Pearson tuvo un coeficiente de correlación (r) de 0.96, lo cual indica que la pérdida de rendimiento en el malteado estuvo fuertemente relacionada con la longitud de la acróspira, y a medida que los valores de esta última se incrementaron, las pérdidas de rendimiento también lo hicieron.

La ecuación obtenida de la regresión lineal indicó que, bajo las condiciones descritas en este experimento, la tasa de pérdida de rendimiento en el malteado fue de 1.47 % por cada cm de crecimiento de la acróspira. Además, la ordenada al origen indica la pérdida en el rendimiento que podría atribuirse a la disminución de humedad en la malta después del secado de esta ($\approx 5\%$) en comparación con la humedad inicial del maíz seco (11-12 %).

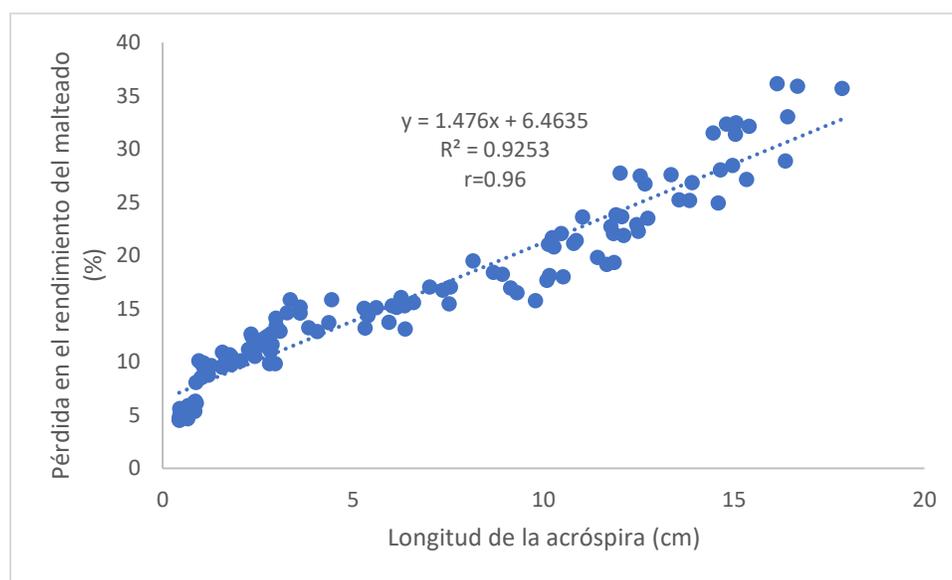


Figura 14. Regresión lineal de la pérdida en el rendimiento del malteado como función de la longitud de la acróspira

9.1.6. Poder diastásico

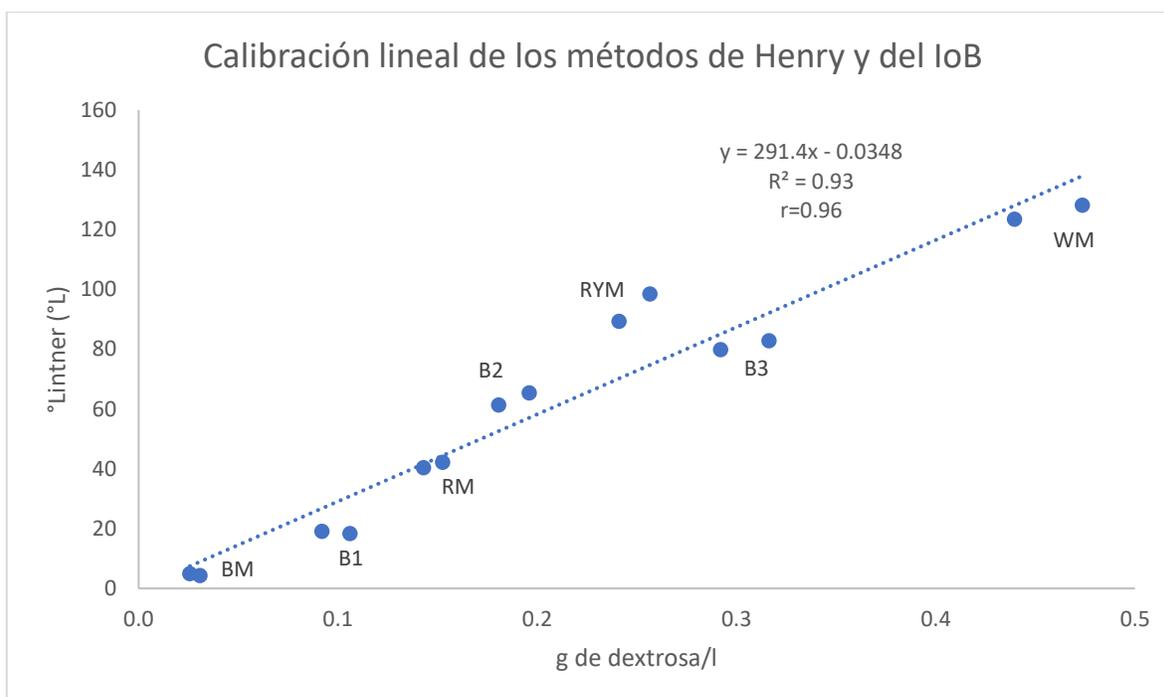


Figura 15. Curva de calibración de los métodos de Henry y del IoB

BM=Malta de maíz azul, B1=Malta caramelo de cebada, RM=Malta de maíz rojo, B2=Malta Vienna, B3= Malta pale ale, RYM=Malta de centeno, WM=Malta de trigo

Los resultados del poder diastásico de las diferentes maltas que se usaron para construir la curva de calibración se muestran en la figura 15. Como se puede observar, se encontraron algunas variaciones en las repeticiones mediante ambos métodos, lo cual podría estar atribuido al error mismo que implica cada método o bien, a errores en la aplicación de éstos. Sin embargo, se observó una linealidad entre estos y la curva obtenida mostró un coeficiente de correlación de 0.96. Este valor es más alto que el reportado por Henry (1984), y está dentro del rango de los coeficientes de correlación obtenidos por un grupo de 12 colaboradores, los cuales, de manera independiente, llevaron a cabo una calibración lineal del método de Henry y el método de la ASBC, y los valores que reportaron estuvieron entre 0.91 y 0.99 (ASBC, 1990). Es importante mencionar que en la presente investigación el rango abarcó valores de poder diastásico menores que en los citados estudios, de tal forma que los valores de las maltas de maíz experimentales estuvieran dentro de dicho rango. Por lo tanto, la ecuación obtenida, mostrada debajo, pudo emplearse para convertir las unidades obtenidas mediante

el método de Henry en grados Lintner. En la tabla 8 se muestra el poder diastásico de algunas maltas experimentales de maíz calculado mediante la ecuación obtenida.

$$^{\circ}L = \left[291.4 * \left(\frac{g \text{ dextrosa}}{l} \right) \right] - 0.0348$$

Tabla 8. Poder diastásico de algunas maltas experimentales

Malta	g de dextrosa/l	PD (°L)
15°RM-6D	0.088	26
15°RM-7D	0.105	30
15°BM-6D	0.071	21
15°BM-7D	0.088	26
20°RM-6D	0.103	30
20°RM-7D	0.127	37
20°BM-6D	0.091	26
20°BM-7D	0.119	35
25°RM-6D	0.122	35
25°RM-7D	0.143	42
25°BM-6D	0.105	31
25°BM-7D	0.135	39

NOTAS:

- (a) Los valores están expresados en g de dextrosa/l, así como en °L (este valor fue redondeado al número entero más cercano), calculado por medio de la fórmula obtenida.
- (b) Los números 15°, 20° y 25° hacen referencia a la temperatura de germinación en grados Celsius (°C).
- (c) Las letras BM y RM se refieren al maíz azul y maíz rojo, respectivamente.
- (d) 6D y 7D indican 6 y 7 días de germinación, respectivamente.

9.1.6.1. Poder diastásico de las maltas experimentales

Los resultados mostraron que el poder diastásico de las maltas de maíz mantuvo un incremento del tercero al séptimo día de germinación (a las tres temperaturas estudiadas), después del cual hubo un decremento en estos valores (figura 16). Consecuentemente, los valores más altos para todas las maltas experimentales se observaron en el día siete de germinación, independientemente de la temperatura (*p-value* < 0.001). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Singh y Bains (1984), quienes estudiaron el efecto de un

pretratamiento alcalino de los granos sobre algunos parámetros de calidad en maltas de dos distintas variedades de maíz y encontraron que los mayores valores de poder diastásico de las maltas fueron obtenidos cuando el maíz era germinado por siete días. De igual manera, en un estudio realizado con maltas de cebada, Farzaneh et al. (2017) reportaron que tanto la actividad enzimática como el poder diastásico de estas se alcanzaba en el séptimo día de germinación. Por otro lado, los resultados del presente trabajo difieren de lo reportado por Iwouno y Ojukwu (2012) para maltas de diferentes variedades nigerianas de maíz amarillo, cuyos valores más altos se alcanzaron en el quinto día de germinación y mostraron valores de alrededor de 30 °L. Asimismo, los datos obtenidos de la presente investigación difieren de lo reportado por Eneje et al. (2004), para maltas de variedades nigerianas de maíz blanco y amarillo, cuyos valores más altos de poder diastásico se obtuvieron tras seis días de germinación. No obstante, debido a que la germinación en los dos últimos trabajos de investigación citados se mantuvo únicamente durante cinco y seis días, respectivamente, las discrepancias existentes respecto a los resultados del presente estudio podrían deberse, bien a diferencias en las propiedades metabólicas entre las variedades de maíz, bien a las diferencias en las condiciones de malteado. En otra investigación acerca de enzimas amilolíticas, Helland et al. (2002) reportaron que la máxima actividad de α -amilasas se presentó en maíces germinados durante siete días, mientras que, en otro estudio realizado con variedades nigerianas de maíz, la actividad más alta de estas mismas enzimas fue en el tercer día de germinación y la de las β -amilasas, en el quinto día (Awoyinka y Adebawo, 2008).

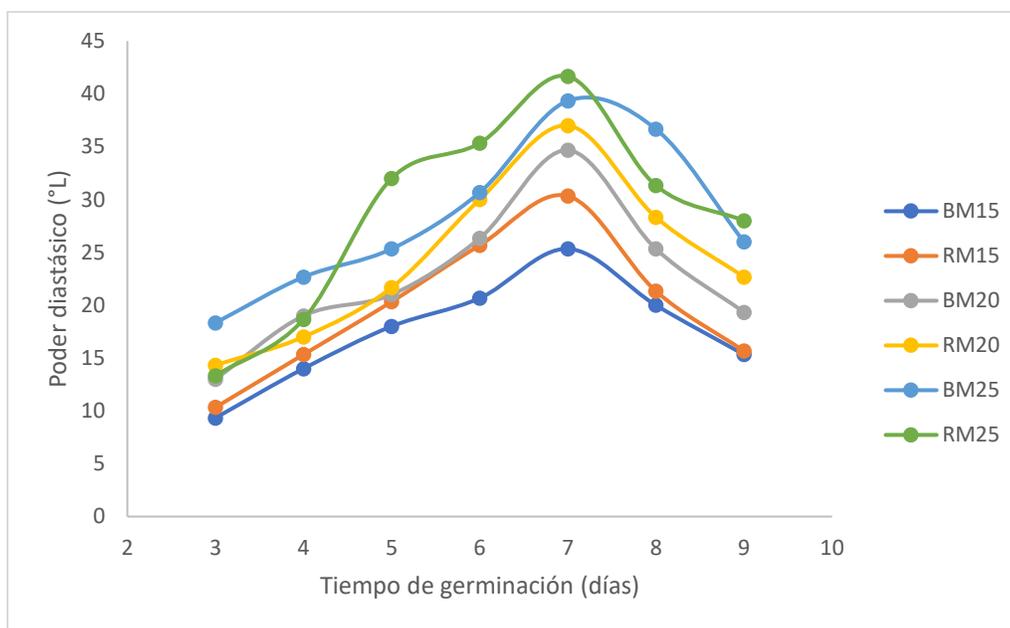


Figura 16. Efecto de la temperatura y el tiempo de germinación sobre el poder diastásico de las maltas de maíz azul y rojo de la raza Chalqueño

NOTA: Las letras BM y RM hacen referencia al maíz azul y maíz rojo, respectivamente; los números 15, 20 y 25 indican la temperatura de germinación en grados Celsius

Con respecto a la temperatura de germinación, se observó un incremento en los valores de poder diastásico a medida que se incrementó este factor (figura 16). De tal forma que los mayores valores se obtuvieron cuando el maíz se germinó a 25 °C, esto en ambos colores (p -value < 0.001). Este valor está dentro del rango de temperatura óptima reportado para el maíz, el cual es de 24 a 28 °C (Hatfield y Prueger, 2015). Por su parte, Aniche y Okafor (1989) reportaron un efecto similar en el poder diastásico en maltas de arroz, cuyos valores tuvieron un rápido crecimiento cuando la temperatura de germinación se incrementó de 22 a 28 °C. En contraparte, los valores más bajos de poder diastásico, en la presente investigación, se obtuvieron cuando el maíz se germinó a 15 °C. En relación con esto, está reportado que las temperaturas bajas tienden a ralentizar la síntesis de enzimas, así como la difusión de éstas a través del endospermo y su acción sobre éste (Lewis y Young, 2001).

Con referencia al color, las maltas de maíz rojo alcanzaron valores más elevados de poder diastásico que las maltas de maíz azul cuando se germinó a 15 y 20 °C (p -value < 0.001), pero no hubo diferencia significativa a 25 °C (figura 16). Respecto a maltas de maíz

azul, Meußdoerffer y Zarnkow (2009) reportaron un poder diastásico de 72 °WK (alrededor de 25 °L) para maltas obtenidas mediante una germinación de seis días a 15 °C. En el caso de maltas de maíz rojo, no se encontró ningún reporte de poder diastásico ni de ninguna otra característica de éstas.

Considerando los tres factores involucrados en esta investigación, las maltas que tuvieron los máximos valores de poder diastásico fueron tanto la de maíz rojo como la de maíz azul germinadas durante siete días a 25 °C, cuyos valores fueron 42 y 39 °L, respectivamente, y entre las cuales no hubo diferencia significativa (figura 17). Esto significa que ambas maltas tienen el mínimo poder diastásico para convertir su propio almidón, el cual es de 40 °L (Farber y Barth, 2019). En contraparte, las maltas con los valores de poder diastásico más bajos fueron las de ambos colores de maíz germinadas por tres días a 15 °C, cuyos valores fueron de 9 °L para la malta de maíz azul y de 10 °L para la de maíz rojo.

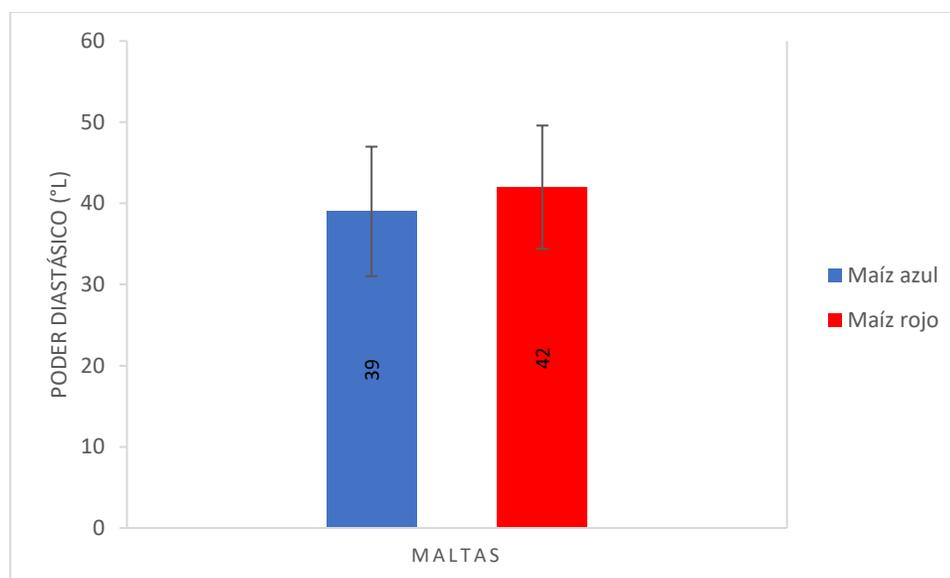


Figura 17. Poder diastásico de las maltas de maíz azul y rojo germinadas por 7 días a 25 °C

Los mayores valores de poder diastásico de las maltas de maíz de la raza Chalqueño, comparado con las de otras variedades podría estar relacionado, además de las condiciones de malteado descritas, con el mayor tamaño de grano de esta raza ya que, en una investigación realizada con maltas de cebada, Agu et al. (2007) encontraron una correlación positiva entre

la proporción de granos de tamaño grande contenidos en una malta y el poder diastásico de esta.

Está reportado que el maíz tiene una adecuada actividad de α -amilasas (Dziedzoave et al., 2010), y que éstas son responsables de la mayor parte de la actividad amilolítica en los granos de maíz. También está reportado que las maltas de maíz tienen una actividad de β -amilasas relativamente baja (Dziedzoave et al., 2010; Evangelista-Oliveira et al, 2013), las cuales son consideradas como las enzimas más importantes para el poder diastásico en las maltas (Arends et al., 1995). Pero, por otro lado, Awoyinka y Adebawo (2008) reportaron que, en un estudio realizado, algunas variedades de maíz resultaron altas en actividad alfa amilolítica, mientras que algunas otras lo fueron en actividad beta amilolítica. Por lo que, con base en esta investigación, se podría especular que tanto el maíz azul como el maíz rojo pertenecientes a la raza Chalqueño podrían tener una actividad beta amilolítica mayor que otras variedades, lo cual sería responsable de su mayor poder diastásico en comparación con las maltas obtenidas de otras variedades de maíz. No obstante, se requiere de una investigación para confirmar esto.

9.2. Experimento piloto de germinación con agentes estresantes

Los resultados mostraron que los poderes diastásicos de las maltas obtenidas mediante la aplicación de solución de NaCl, así como aquéllas asperjadas con la solución de ácido cítrico fueron significativamente menores que las obtenidas mediante el resto de los tratamientos, incluyendo al control, ya que, como se muestra en la figura 18, ambas obtuvieron medias de 36 °L, cuatro grados menos que las maltas control. Tomando en cuenta que las enzimas β -amilasas son las que más poder diastásico aportan a las maltas, este resultado difiere de lo reportado por Datta et al. (1999), quienes reportaron que el tratamiento de brotes de maíz, en proceso de crecimiento, con una solución de cloruro de sodio estimuló considerablemente la expresión de estas enzimas. No obstante, las condiciones de germinación y crecimiento de la investigación mencionada no fueron las mismas que se aplicaron en el presente experimento, ya que si bien la temperatura empleada fue la misma (25 °C), en la presente investigación la germinación se realizó en ausencia de luz, y en la investigación referenciada el incremento en la expresión de β -amilasas en los brotes de maíz que se sometieron a la aplicación de la solución salina fue dependiente de la luz, es decir, los brotes que mostraron el incremento en las enzimas mencionadas crecieron en condiciones de iluminación con luz blanca. Aunado a

esto, en la misma investigación se reporta que los brotes de maíz fueron irrigados con la solución salina durante cuatro días, mientras que en el presente experimento se realizó una sola aspersión, y cuatro horas después los granos de maíz fueron sometidos a un proceso de secado para detener la germinación.

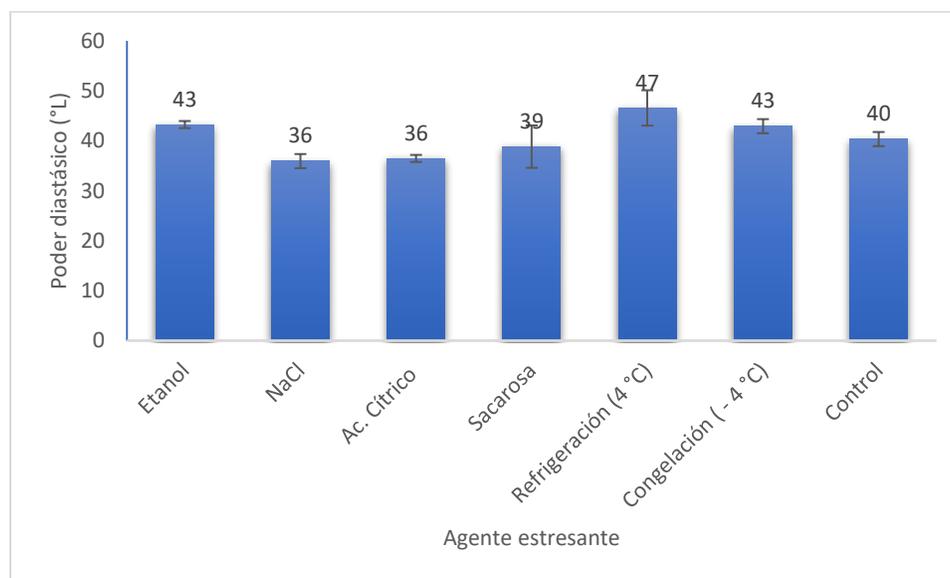


Figura 18. Poder diastásico de las maltas de maíz rojo obtenidas mediante la aplicación de diferentes agentes estresantes

Contrario al efecto mostrado en las maltas tratadas con las soluciones de ácido cítrico y de NaCl, las maltas a las cuales se les aplicó el tratamiento con etanol, así como las que fueron sometidas a congelación y a refrigeración cuatro horas previo a su secado mostraron medias mayores que las maltas control, siendo este último tratamiento el que produjo maltas con los mayores poderes diastásicos, los cuales fueron, en promedio, 7 °L mayores que las maltas control. Sin embargo, a pesar de estas diferencias en las medias, los resultados de la prueba de ANOVA no arrojaron ninguna diferencia significativa entre estos tres tratamientos ni con el control. Respecto a los resultados obtenidos con los tratamientos de estrés por bajas temperaturas, Kaplan et al. (2006) reportaron el incremento en la transcripción de un gen que codifica la síntesis de β -amilasas en hojas de la especie *Arabidopsis thaliana* (var. Columbia) cuando estos ejemplares fueron sometidos a estrés por frío.

Dado los resultados obtenidos y considerando lo limitado de este estudio, se puede decir que es necesario un estudio más extenso, cuyo diseño involucre una mayor cantidad de repeticiones por tratamiento, ya que el hecho de que no haya habido diferencia significativa entre los últimos tratamientos discutidos respecto del control podría deberse a que únicamente se emplearon dos repeticiones, por lo que el error estadístico resulta mayor. Asimismo, se podrían considerar algunos otros factores como la luz durante la germinación, la inclusión de diferentes concentraciones en los agentes estresantes aplicados, o el tiempo de contacto de los granos de maíz con el agente estresante.

9.3. Producción de las cervezas de maíz azul y rojo para el estudio de envejecimiento

9.3.1. Elección de las condiciones de maceración

En la tabla 9 se muestran las condiciones de los diferentes tratamientos evaluados para la maceración, así como las variables respuesta medidas para cada uno de ellos. Como puede observarse, los mostos obtenidos mediante los tratamientos 1, 5 y 6 fueron los que tuvieron los valores más altos tanto de °Brix como de gravedad específica ($p\text{-value} < 0.001$), y entre los cuales no hubo una diferencia significativa. Por el contrario, los mostos con los valores más bajos en estas dos variables medidas fueron los obtenidos mediante el tratamiento 7. Respecto al contenido de ARD, fueron también los mostos obtenidos con el tratamiento 7 los que reportaron los menores valores ($p\text{-value} < 0.001$). El hecho de que con este tratamiento se produjeran los mostos con los menores valores en las tres variables medidas podría deberse directamente a que para estos se usó una mayor proporción de agua respecto de la malta (1:5), en comparación con el resto de los tratamientos (1:4), ya que al obtener los valores proporcionales de °Bx y de ARD para los mostos obtenidos con el tratamiento 4, que tuvieron el mismo programa de temperaturas que los del tratamiento 7, los valores fueron similares que los de estos últimos (°Bx=11.25, ARD= 9.37). Contrario a lo sucedido con el tratamiento 7, los mostos que se obtuvieron mediante el tratamiento 1 fueron los que presentaron la mayor concentración de ARD ($p\text{-value} < 0.001$), incluso fueron significativamente mayores que los obtenidos con los tratamientos 5 y 6, con los cuales el tratamiento 1 no mostró diferencia significativa en los °Bx y en la gravedad específica, lo cual pudo deberse a que los sólidos solubles determinados mediante refractometría incluyen no sólo a los azúcares reductores, sino también a los no reductores y a otras moléculas

disueltas, tales como ácidos orgánicos, pectinas solubles, antocianinas y otros compuestos fenólicos (Kader, 2008). Con la gravedad específica ocurre algo similar, ya que dada la complejidad del mosto y la poca viabilidad de realizar un análisis de rutina de cada uno de sus componentes, al analizarlo con el uso de un hidrómetro, la densidad del mosto es calculada como si fuera una solución únicamente compuesta por sacarosa (por su similitud con la maltosa, principal azúcar en el mosto) y agua (Anger et al., 2009). Por lo que las diferencias previamente mencionadas entre los mostos obtenidos mediante los tratamientos 5 y 6 respecto de aquéllos obtenidos con el tratamiento 1, podrían deberse a que los primeros tratamientos produjeran mostos con una mayor cantidad de dextrinas y una menor cantidad de azúcares reductores, lo cual estaría justificado en el caso del tratamiento 6 si se considera que en el programa de temperaturas el mosto permaneció durante 40 minutos a 70 °C, temperatura dentro del rango en el cual las β -amilasas se habrían desnaturalizado y las α -amilasas, cuyo principal producto son las dextrinas, estarían en el rango de mayor actividad (Mosher y Trantham, 2017).

Con base en los resultados obtenidos, y en vista de que la finalidad de este experimento era obtener las condiciones de maceración con las que se produjeran los mostos con la mayor cantidad de azúcares, se eligieron las condiciones del tratamiento 1 (tabla 9) para la producción de la cerveza de maíz azul y rojo.

Tabla 9. Programa de tiempos y temperaturas de los diferentes tratamientos y variables respuesta obtenidas en los mostos

Trat	Método	RyA	A:M	Temperatura					Variables respuesta		
				40 °C	50 °C	64 °C	67 °C	70 °C	° Bx	ARD (g maltosa/100mL)	Grav Esp
1	I. E.	No	1:4	10 min	10 min	30 min	-	30 min	15.60 ^{ab}	13.94 ^a	1.064 ^{ab}
2	I. E.	No	1:4	-	-	40 min	-	40 min	13.73 ^{bcde}	11.75 ^{bcd}	1.055 ^{cd}
3	Infusión	No	1:4	-	-	-	80 min	-	13.53 ^{cde}	11.45 ^{cd}	1.055 ^{cd}
4	I. E.	No	1:4	-	-	60 min	-	20 min	14.07 ^{bcde}	11.71 ^{bcd}	1.057 ^{bcd}
5	Decocción	No	1:4	10 min	10 min	30 min	-	30 min	15.33 ^{ab}	12.31 ^{bc}	1.062 ^{ab}
6	I. E.	No	1:4	-	-	20 min	-	60 min	14.80 ^{abcd}	11.97 ^{bcd}	1.060 ^{abc}
7	I. E.	No	1:5	-	-	60 min	-	20 min	11.47 ^f	9.87 ^e	1.049 ^e
8	I. E.	Sí	1:4	-	-	60 min	-	20 min	13.80 ^{bcde}	11.34 ^{cd}	1.055 ^{bcd}

Simbología: I. E.= Infusión escalonada, Trat= Tratamiento, RyP=Malta con radículas y acróspiras, A:M=Relación agua:malta para la maceración.

9.4. Producción de seis diferentes estilos de cervezas ale de maíz

En la tabla 10 se pueden observar los parámetros fisicoquímicos determinados en los diferentes estilos de cerveza de maíz producidos. En éstos, los contenidos de etanol, acidez total y pH de los seis estilos, más la variante de dos de ellos, están dentro de los parámetros establecidos en la norma NOM-199-SCFI-2017, que son de 2-20 % v/v para etanol, hasta 10 g/l para la acidez total y 2.5-5 para pH. Con lo que respecta al resto de los parámetros fisicoquímicos determinados en este estudio, estos no están contemplados en dicha norma.

Tabla 10. Perfil fisicoquímico de los estilos de cervezas de maíz producidos

Parámetro fisicoquímico	Estilo de cerveza							
	PA de MA 1	PA de MA 2	BA de MR 1	BA de MR 2	IRAP de MR	IRA de MR	S de MA	P de MR
% Etanol (v/v)	3.86 ^d	6.34 ^b	5.02 ^c	6 ^b	5.21 ^c	4.82 ^c	7.21 ^a	6.14 ^b
pH	3.95 ^b	4.05 ^{ab}	4.05 ^{ab}	3.95 ^b	4.25 ^{ab}	3.95 ^b	3.9 ^b	4.05 ^{ab}
ARD (g maltosa/100 mL)	2.29 ^d	2.43 ^c	2.72 ^b	2.81 ^a	2.49 ^c	2.46 ^c	2.08 ^e	2.33 ^d
°Brix	7.25 ^c	7 ^d	7.2 ^c	7.45 ^b	7.2 ^c	7.45 ^b	8 ^a	7.85 ^a
Gravedad específica	1.01 ^{bc}	1.009 ^c	1.012 ^{abc}	1.01 ^{bc}	1.012 ^{ab}	1.011 ^{abc}	1.014 ^a	1.012 ^{ab}
Acidez total (% ác. láctico)	0.181 ^{bc}	0.17 ^d	0.169 ^d	0.178 ^c	0.188 ^{ab}	0.18 ^c	0.19 ^a	0.19 ^a
Antocianinas libres (mg de cianidina-3-glucósido)	11.14 ^a	11.81 ^a	5.88 ^b	6.38 ^b	5.96 ^b	5.34 ^b	n.d	n.d

Simbología: PA=Pale ale, BA=Brown ale, IRA=Irish red ale, IRAP= Irish red ale picante, S=Stout, P= Porter, MA=Maíz azul, MR=Maíz rojo

Dado que el proceso de elaboración fue el mismo para todos los estilos de cerveza, las diferencias existentes en los parámetros medidos podrían ser atribuidos a la diferencia en las formulaciones de las distintas cervezas. En el caso del contenido de etanol, podría estar íntimamente ligado con la cantidad de malta base utilizada en la formulación, así como con los elementos adjuntos usados (en el caso del estilo “S de MA”), a partir de los cuales se van a producir los azúcares fermentables que requieren las levaduras durante la etapa de fermentación, pues la cantidad de alcohol producido va a depender de los azúcares disponibles en el mosto, así como de la cepa de levadura empleada (s.a., 2019). En el caso específico de los estilos “PA de MA 1” y “PA de MA 2”, en los que la formulación fue la misma, la diferencia de casi 2.5 % ABV puede atribuirse a la diferencia en el poder diastásico de la maltas utilizadas, ya que para el estilo “PA de MA 1” se emplearon maltas germinadas durante tres días, las cuales tenían un poder diastásico de 18 °L, mientras que para la variante

“PA de MA 2” se emplearon maltas con siete días de germinación, cuyo poder diastásico era de 39 °L, situación que tuvo un impacto en la producción de azúcares fermentables durante la etapa de maceración y, por ende, en la producción de alcohol en la etapa de fermentación.



Figura 19. Cervezas de maíz de diferentes estilos

De izquierda a derecha: primera y segunda copa con estilos no incluidos en este trabajo de investigación, “S de MA” (tercera copa) y “P de MR” (cuarta copa)

En cuanto al pH y la acidez total, hubo algunas diferencias entre los distintos estilos que pudieron deberse al empleo de maltas con un tostado más intenso, como es el caso del estilo “S de MA” (figura 19) el cual, como se observa en la tabla 10, reportó el valor más bajo de pH y más alto de acidez total (junto con el estilo “P de MR”), pues está reportado que el pH del mosto decrece, a la vez que aumenta la acidez, conforme se incrementa la intensidad del color de las maltas (Vanderhaegen et al., 2004). Otra probable causa de las variaciones en el pH es el uso de diferentes levaduras, pues como se reporta en la tabla 3, los estilos “IRA de MR”, “PA de MA 1” y su variante “PA de MA 2” fueron fermentadas con la misma levadura (Safale S-04), y no hubo diferencia significativa entre ellas en los valores de pH. Asimismo, los estilos “S de MA”, “P de MR”, “BA de MR 1” y su variante “BA de MR 2” fueron fermentadas con la levadura Windsor, y tampoco hubo diferencia significativa entre estas.

Por otra parte, las diferencias existentes en el contenido de azúcares reductores directos entre los estilos elaborados pueden ser debidas a la diferencia en la gravedad inicial (original gravity) de los mostos (Lang, 2020), que es un indicador de la cantidad de azúcares que se encuentran en el líquido (Mosher y Trantham, 2017), así como a la levadura empleada en la fermentación (Lang, 2020), ya que dependiendo de la cepa será el grado de atenuación, es decir, de la cantidad de azúcares que se conviertan en alcohol, y es que algunas cepas se inactivan cuando baja la concentración de azúcares en el mosto (Mosher y Trantham, 2017). De esta manera algunos azúcares que no han sido consumidos por la levadura permanecen en la cerveza, entre ellos maltosa y maltotriosa (Vidgren, 2009) y algunas dextrinas (Capece, 2018). En relación con las diferencias en los grados brix y en los valores de la gravedad específica, éstas están relacionadas con lo que se discutió sobre el contenido de azúcares reductores directos, aunque, como se mencionó previamente los °Bx incluye a otros sólidos solubles, además de los azúcares reductores (Kader, 2008).

En el caso de las antocianinas libres totales, como se puede observar en la tabla 10, los estilos de cerveza de maíz azul “PA de MA 1” y “PA de MA 2” tuvieron un contenido de casi el doble que los estilos de maíz rojo “BA de MR 1”, “BA de MR 2”, “IRAP de MR” e “IRA de MR”, lo cual podría deberse a que durante la etapa de remojo se percibió una mayor pérdida de antocianinas en los granos de maíz rojo que en los de azul (tomando en cuenta la coloración del agua de remojo), esto debido a que estos pigmentos en el maíz azul se encuentran en la capa de la aleurona, mientras que en el maíz rojo se concentran tanto en esta capa como en el pericarpio (Salinas-Moreno et al.,2013), siendo los de ésta última capa externa los que estarían solubilizándose y perdiéndose en el agua de remojo.

Comparando estas cervezas de maíz con otras reportadas, se tiene que el estilo “PA de MA 1” tuvo un contenido alcohólico similar que una cerveza de maíz azul elaborada por Romero-Medina et al. (2020), quienes reportaron un contenido de 3.71 % ABV. En el caso de las siete cervezas restantes su contenido alcohólico fue superior al de ésta, así como al de otras dos cervezas de maíz reportadas en la investigación previamente referenciada, los cuales fueron de 2.98 % ABV para una cerveza elaborada 100 % con maltas de maíz rojo y de 1.98 % ABV para una cerveza hecha con una combinación de maltas de maíz azul y rojo. En otra investigación, realizada por Flores-Calderón et al. (2017), se reportan contenidos de

alcohol entre 1.4 y 1.7 % ABV para diferentes estilos de cerveza que se elaboraron con maltas base y maltas caramelo de maíz azul. Por su parte, Ore et al., (2018) reportaron un contenido alcohólico de 4.7 % ABV para una cerveza experimental de maíz, aunque no se precisa ni el color ni la variedad empleada.

Con respecto al pH, todos los estilos de cerveza desarrollados en el presente trabajo tuvieron valores menores que aquéllos reportados tanto por Flores-Calderón et al. (2017), quienes reportaron valores de entre 4.5 y 4.8 para los diferentes estilos desarrollados, como por Ore et al., (2018), que reportaron un valor de 4.7 para la cerveza que elaboraron. En el caso de la acidez total, seis de las cervezas reportadas por Flores-Calderón et al. (2017) tuvieron valores de entre 0.21 y 0.26 % los cuales fueron mayores a los estilos reportados en el presente trabajo (tabla 10).

Finalmente, en el contenido de antocianinas libres totales las cervezas elaboradas en la presente investigación tuvieron valores menores que los reportados tanto por Romero-Medina et al. (2020) (14.45 mg/l para cerveza de maíz azul, 8.84 mg/l para cerveza de maíz rojo y 14.6 mg/l para cerveza de maíz azul y rojo), como por aquéllos reportados por Flores-Calderón et al. (2017) (valores entre 13 y 19 mg/l para distintos estilos de cerveza de maíz azul).

Dado que en las dos investigaciones referenciadas se empleó maíz rojo y/o azul de la raza Chalqueño, la misma que la utilizada en este trabajo, las diferencias mencionadas pueden deberse, principalmente, a diferencias en el proceso de elaboración, que podrían ir desde la etapa del malteado hasta la maduración y almacenamiento de la cerveza.

9.5. Evaluación sensorial de las cervezas de maíz

9.5.1. Caracterización fisicoquímica

En la tabla 11 se muestran las características fisicoquímicas de las dos cervezas de maíz, así como de las cuatro cervezas comerciales que fueron caracterizadas sensorialmente y sometidas a una prueba hedónica. Como se puede observar, la “PA de MA 1” fue la cerveza con menor graduación alcohólica con 3.8 % ABV, mientras que la “Heineken®”, la “BA de MR 1” y la “Minerva®” fueron las de mayor contenido alcohólico con 5 % ABV. Respecto a los valores de pH y los valores de acidez total, éstos estuvieron entre 3.9-4.2 y 0.17-0.19

%, respectivamente. De igual forma, no hubo grandes diferencias en los valores correspondientes a los ARD y gravedad específica.

Tabla 11. Parámetros fisicoquímicos de las cervezas de experimentales de maíz y de las cervezas comerciales

Parámetro Fisicoquímico	Cerveza					
	PA DE MA 1	CORONA®	HEINEKEN®	BA de MR 1	VICTORIA®	MINERVA®
% Etanol (v/v)	3.86	4.5	5.0	5.02	4.0	5.0
pH	3.95	4.0	4.1	4.05	3.9	4.2
ARD (g de maltosa/100 mL)	2.29	2.16	2.12	2.7	2.4	2.8
Acidez total (% ácido láctico)	0.181	0.175	0.190	0.169	0.179	0.190
Gravedad específica	1.010	1.006	1.006	1.012	1.008	1.010
Antocianinas libres (mg de cianidina-3 glucósido/L)	11.14	-	-	5.88	-	-

9.5.2. Caracterización sensorial

Los resultados del ANOVA mostraron que no hubo diferencia significativa entre las tres cervezas pertenecientes al bloque “Pilsner” para 38 de los 50 atributos evaluados por los jueces (2 visuales, 15 olfativos, 18 gustativos y 3 de sensación en boca), y en 39 de los 50 atributos para las cervezas del bloque “Vienna” (1 visual, 17 olfativos, 17 gustativos y 4 de sensación en boca), por lo que las cervezas tienen un perfil sensorial similar para estos atributos, como se muestra en la figuras 20 y 21.

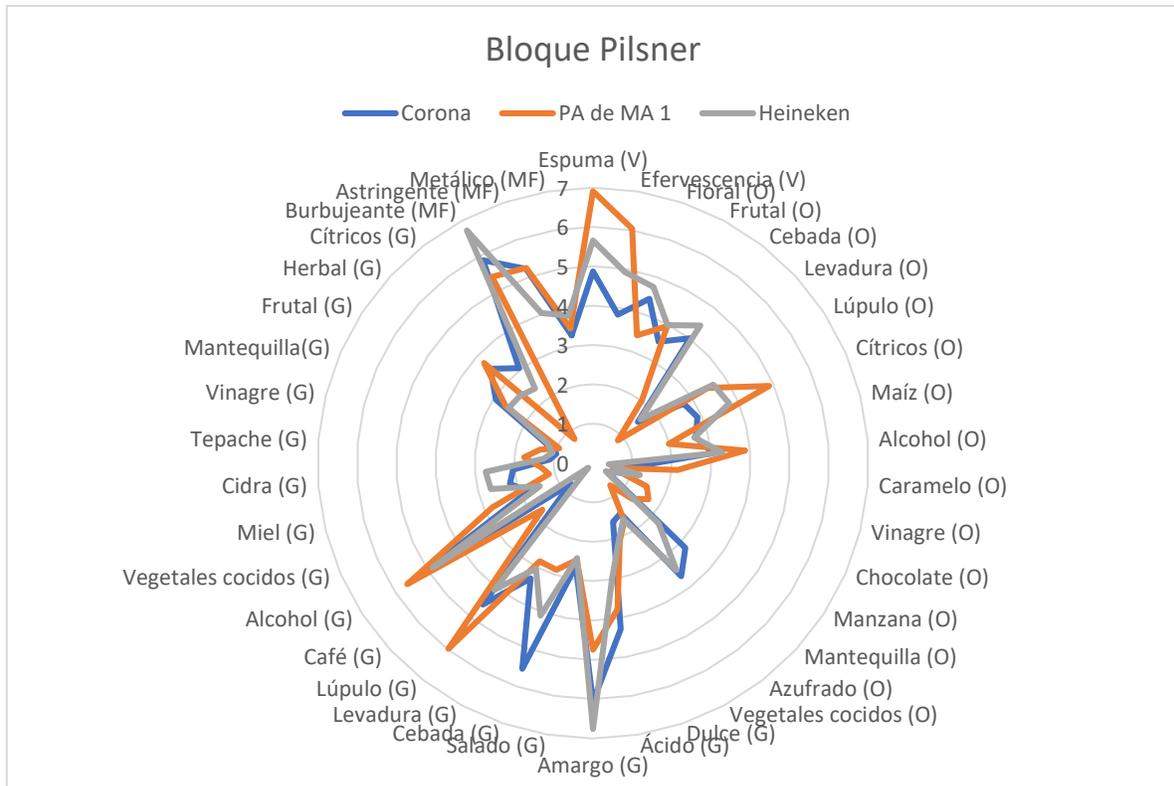


Figura 20. Perfil sensorial de los atributos no significativos de las cervezas del bloque "Pilsner"

Simbología de los atributos: (O)=Olfativo, (V)=Visual, (G)=Sabor, (MF)=Sensación en boca

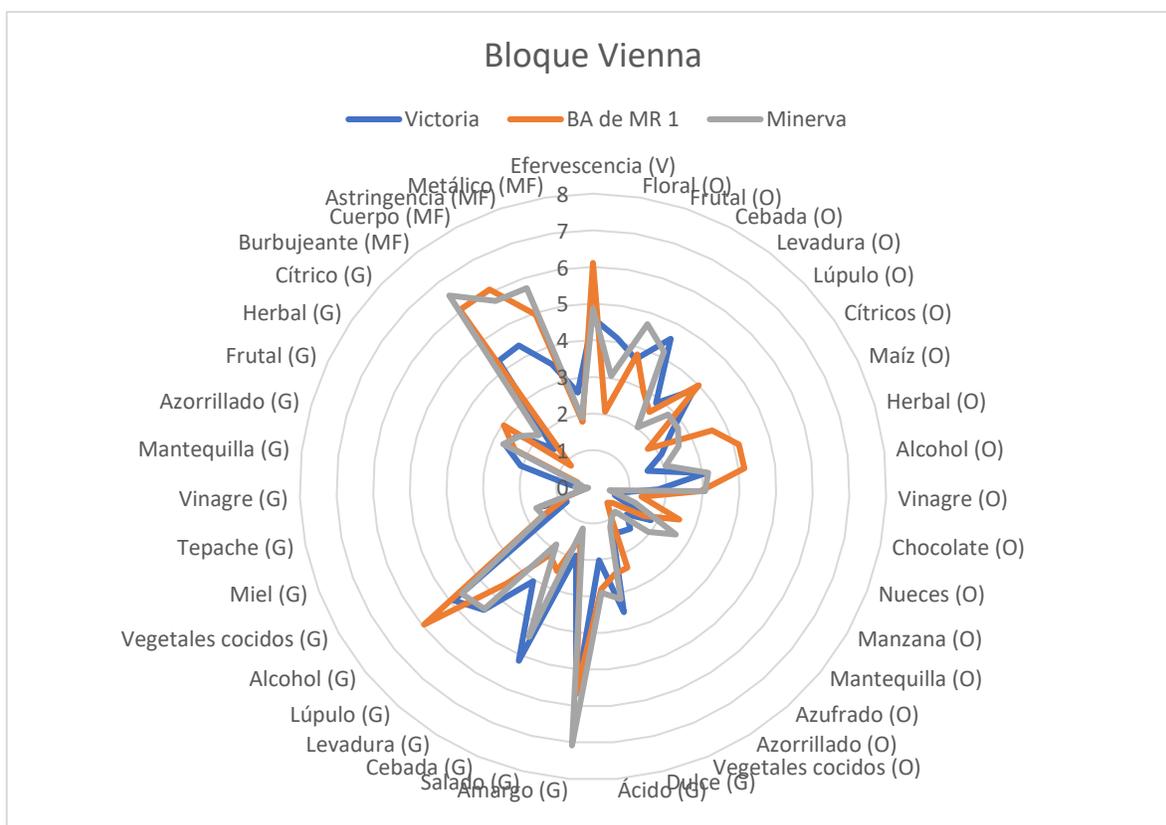


Figura 21. Perfil sensorial de los atributos no significativos de las cervezas del bloque “Vienna”

Simbología de los atributos: (O)=Olfativo, (V)=Visual, (G)=Sabor, (MF)=Sensación en boca

No obstante la similitud señalada en la mayoría de los descriptores, hubo algunos que marcaron diferencia en los perfiles de las cervezas, principalmente en las experimentales de maíz. Por ejemplo, como se muestra en las figuras 22 y 24, tanto la cerveza “PA de MA 1” como la “BA de MR 1” fueron significativamente mayores que las dos cervezas comerciales en la intensidad del descriptor “turbidez”, lo cual es debido a partículas que se encuentran en suspensión en la cerveza y que dispersan la luz al pasar a través de esta (Pahl, 2015), entre las que podrían estar algunas proteínas, polifenoles (en combinación con proteínas) y, en menor medida, carbohidratos (Steiner et al., 2010). Esta percepción de turbidez en ambas cervezas de maíz puede deberse a la falta de filtración y estabilización química de las mismas (Mastanjević et al., 2018), a diferencia de las cervezas comerciales de ambos bloques que sí pasan por este proceso durante su fabricación. Aunque el descriptor de turbidez con frecuencia es percibido como un defecto por parte de los consumidores, en muchas cervezas

artesanales esta característica incluso llega a ser deseable, ya que las operaciones de estabilización química y filtración se suelen asociar más con las cervezas industriales que con las artesanales (Mastanjević et al., 2018). Aunado a este descriptor, las dos cervezas experimentales de maíz también fueron catalogadas como menos brillantes que las cervezas comerciales pertenecientes a sus respectivos bloques (p -value = 0.016 y 0.003 para “Pilsner” y “Vienna”, respectivamente), lo cual no es de extrañar ya que el brillo está íntimamente ligado con la turbidez, pues una cerveza es considerada clara y brillante cuando carece de sólidos en suspensión (Mastanjević et al., 2018).

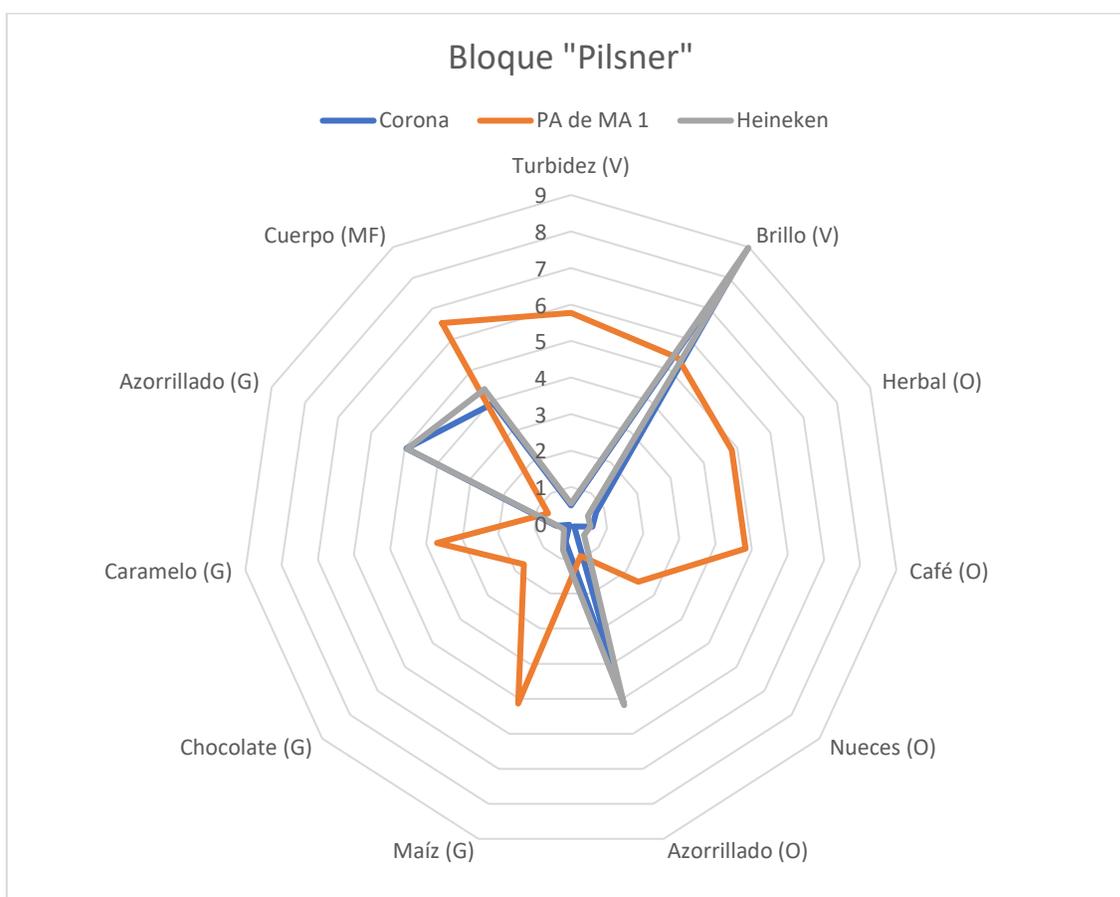


Figura 22. Perfil sensorial de los atributos significativos de las cervezas del bloque “Pilsner”

Simbología de los atributos: (O)=Olfativo, (V)=Visual, (G)=Sabor, (MF)=Sensación en boca

Otra diferencia significativa se presentó en el color de la cerveza “PA de MA 1” (p -value < 0.001), cuya media fue de 16.68 (≈ 17) en la escala SRM, con respecto a las cervezas “Corona[®]” y “Heineken[®]”, que tuvieron medias de 2.8 (≈ 3) y 4, respectivamente, y entre las cuales no hubo diferencia significativa. La presencia de esta diferencia en el color a pesar de que en la cerveza “PA de MA 1” se empleó únicamente malta base para su producción puede deberse al contenido de antocianinas del maíz con el cual se produjo la malta, ya que está reportado que las sustancias coloreadas que contienen las maltas son las principales responsables del color en la cerveza, además de aquéllas que se forman durante la cocción del mosto y las que son producto de reacciones de oxidación de polifenoles contenidos en las maltas y en los lúpulos utilizados (Shellhammer y Bamforth, 2008). En relación con esto, Romero-Medina et al. (2020) reportaron valores de 15 SRM para el color de una cerveza producida 100% con malta base de maíz azul y cuya evaluación sensorial fue también realizada por un panel de jueces entrenados. En el caso del bloque “Vienna”, la cerveza “BA de MR 1” (figura 23) presentó un color más intenso (p -value < 0.001) (SRM ≈ 21) que la cerveza “Minerva[®]” (SRM ≈ 16), en la cual, a su vez, fue más intenso que el atribuido a la cerveza “Victoria[®]” (SRM ≈ 9). En el atributo “espuma”, tanto la cerveza de maíz perteneciente a este bloque como la cerveza “Minerva[®]”, entre las cuales no hubo una diferencia significativa, tuvieron una mayor intensidad que la cerveza “Victoria[®]” (p -value < 0.001), lo cual podría ser debido al posible uso de adjuntos en esta última ya que está reportado que el uso de éstos impacta negativamente a la espuma y el cuerpo de la cerveza debido a la disminución de proteínas (D’avila et al., 2012).



Figura 23. Cerveza “BA de MR”

En el aspecto olfativo, dentro del bloque “Pilsner”, la cerveza “PA de MA 1” fue descrita con una mayor intensidad en el atributo “herbal”, lo cual puede deberse a un nivel de lupulado mayor o a la diferencia en las variedades de lúpulo usados, en comparación con las cervezas industriales evaluadas, ya que el mirceno es el compuesto principal en el aceite esencial de los lúpulos (Połec et al., 2020) y es este compuesto el que determina, en mayor medida, los aromas herbáceos, resinosos, verdes, balsámicos o frescos en la cerveza (Surendran et al., 2021). De igual manera, la cerveza “PA de MA 1” tuvo una mayor intensidad en el descriptor de “café”, con una media de 4.8 en la escala de intensidad usada, contra una media de alrededor de 0.5-0.6 de las cervezas industriales. Esto segundo era de esperarse, ya que la nota de café no es uno de los descriptores que caracterice a las cervezas Pilsner, debido a que en su elaboración no se emplean maltas torrefactas, que suelen ser las principales responsables de este tipo de notas en la cerveza. En el caso de la intensidad de este aroma en la cerveza “PA de MA 1” puede deberse a la presencia de algunos compuestos como el 5-metilfurfural, que aporta notas tostadas y a caramelo, o el guayacol, que aporta notas ahumadas, y que fueron identificados en las cervezas de maíz, tanto de rojo como de azul, destinadas al estudio del envejecimiento del presente trabajo. Por su parte, en el boque “Vienna”, la cerveza “BA de MR 1” también mostró una mayor intensidad que las cervezas comerciales pertenecientes a su bloque (entre las cuales no hubo diferencia significativa) en los atributos olfativos tanto de “café” como de “caramelo” ($p\text{-value} = 0.003$ y < 0.001 , respectivamente), y dado que para la elaboración de estas cerveza se emplean maltas tostadas, la mayor intensidad de la cerveza de maíz en los descriptores mencionados podría atribuirse a la diferencia en las cantidades usadas de estas maltas especiales y/o al nivel de tostado de las mismas. Otra nota olfatoria que es característica en algunos estilos de cerveza en los que se emplean maltas tostadas para su producción es la de “nueces”, pero en la cual sólo la cerveza de maíz perteneciente al bloque “Pilsner” resultó significativamente más intensa que las cervezas comerciales, lo cual podría estar relacionado también a las notas tostadas o ahumadas que aportan el 5-metilfurfural y el guayacol, o bien a algún compuesto no identificado en las cervezas de maíz estudiadas.

Hablando de notas consideradas como defecto en la cerveza, la cerveza “PA de MA 1” fue significativamente menor en los descriptores olfativo y visual de “azorrillado” ($p\text{-value} = 0.009$ y 0.004 , respectivamente). La menor percepción de estas notas, tanto gustativas

como olfativas, pueden ser debido al color ámbar de las botellas en las que fueron envasadas las cervezas “PA de MA 1”, que ofrecen una mayor protección (en comparación con las botellas transparentes o verdes en las que se envasan la cerveza “Corona®” y “Heineken®”, respectivamente) contra los daños ocasionados por la luz y previenen, por lo tanto, la fotoisomerización de los iso-alfa ácidos presentes en la cerveza, cuya formación da origen a las notas azorrilladas (De Keukeleire et al., 2008).

Continuando con las notas gustativas, tanto la cerveza “PA de MA 1” como la “BA de MR 1” fueron significativamente mayores que las cervezas industriales, pertenecientes a sus respectivos bloques, en los descriptores de “maíz” ($p\text{-value} < 0.001$ y $= 0.004$, respectivamente), “chocolate” ($p\text{-value} = 0.016$ y 0.001 , respectivamente) y “caramelo” ($p\text{-value} = 0.001$ y 0.006 , respectivamente), además la “BA de MR 1” también tuvo una mayor intensidad en el atributo gustativo de “café” ($p\text{-value} < 0.001$). El atributo “maíz” podría resultar como una nota esperada en estas cervezas si se considera que están fabricadas 100% con malta de este cereal, y podría ser atribuido a compuestos como el dimetil sulfuro (DMS), que está considerado como un compuesto que aporta notas de maíz cocido a la cerveza (Bamforth, 2014), y el cual está reportado en un estudio como el volátil más abundante en algunas muestras de maíz estudiadas (Flora y Wiley, 1978). También está reportado que suelen ser comunes notas a “maíz cocido” y a “palomitas de maíz” en cervezas en las que se ha usado maíz como adjunto para su fabricación, esto debido a la presencia de compuestos como el 6-acetiltetrahidropiridina, el 2-acetil-1-pirrolina y el 2-propionil-1-pirrolina (Taylor et al., 2013). En el caso de las notas de “chocolate”, “caramelo” y “café”, de igual manera que en las notas olfativas, podrían estar relacionadas con la presencia del 5-metilfurfural y el guayacol, así como con las cantidades de maltas especiales usadas para la formulación de las cervezas, en el caso del bloque “Vienna”. En este mismo bloque, la cerveza “BA de MR 1” presentó una menor intensidad que las cervezas comerciales en el descriptor de “sidra”, un atributo que a menudo se relaciona con el uso excesivo de adjuntos como la caña de azúcar (Cicerone, s.f.).

Finalmente, en los descriptores de sensación en boca, dentro del bloque “Pilsner”, la “PA de MA 1” fue calificada como una cerveza con más cuerpo que la “Corona®” ($p\text{-value} = 0.039$), la cual no presentó diferencia significativa con la “Heineken®”. La diferencia en

este atributo puede estar relacionada al uso de adjuntos en la fabricación de la cerveza “Corona®”, como por ejemplo cereales sin maltear (figura 32), ya que está reportado que el uso de estos produce cervezas con menos cuerpo (Steiner et al., 2012).

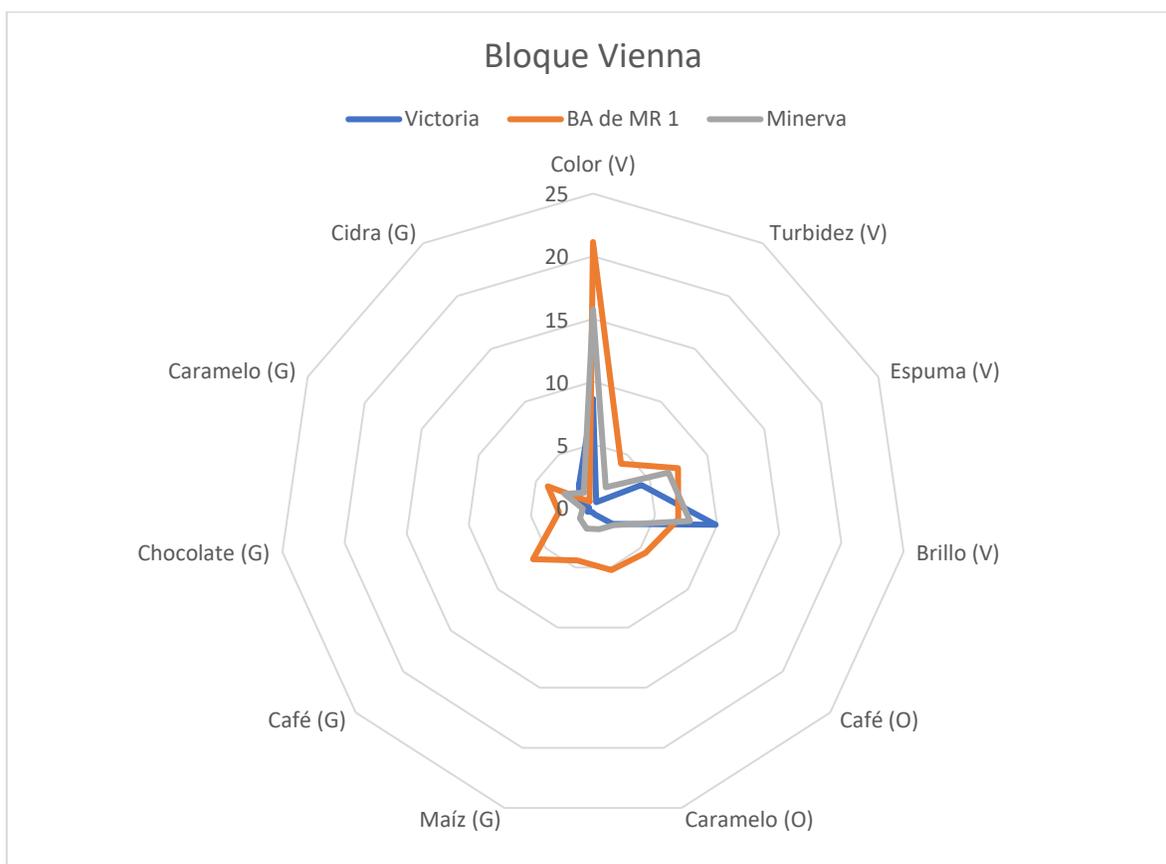


Figura 24. Perfil sensorial de los atributos significativos de las cervezas del bloque “Vienna”

Simbología de los atributos: (O)=Olfativo; (V)=Visual; (G)=Sabor

Con respecto al Análisis Procrusteano Generalizado (AGP), como se muestra en la figura 25, correspondiente al mapa consenso de atributos visuales y olfativos, las cervezas “Corona®” y “Heineken®” estuvieron asociadas con los atributos olfativos de “mantequilla”, “azufrado”, “floral”, “azorrillado”, “vegetales cocidos” y “cebada”, así como con el atributo visual “brillo”. Separada de estas, la cerveza “Minerva®” estuvo más relacionada con los descriptores olfativos de “levadura”, “vinagre”, “alcohol”, “manzana”, “maíz”, “frutal”,

“lúpulo” y “chocolate”. No lejos de esta en el mapa, la cerveza “BA de MR 1” fue asociada con los descriptores olfativos de “manzana”, “frutal”, “nueces”, “caramelo”, y “café”, así como con los visuales “color” y “efervescencia”. Separada de esta por la F2, pero poco por la F1, la cerveza “PA de MA 1” fue relacionada con los descriptores visuales “turbidez” y espuma, así como con los olfativos “herbal” y “café”. Finalmente, la cerveza “Victoria®” estuvo mayormente asociada con el descriptor visual “brillo” así como con los descriptores olfativos “cebada” y “maíz”.

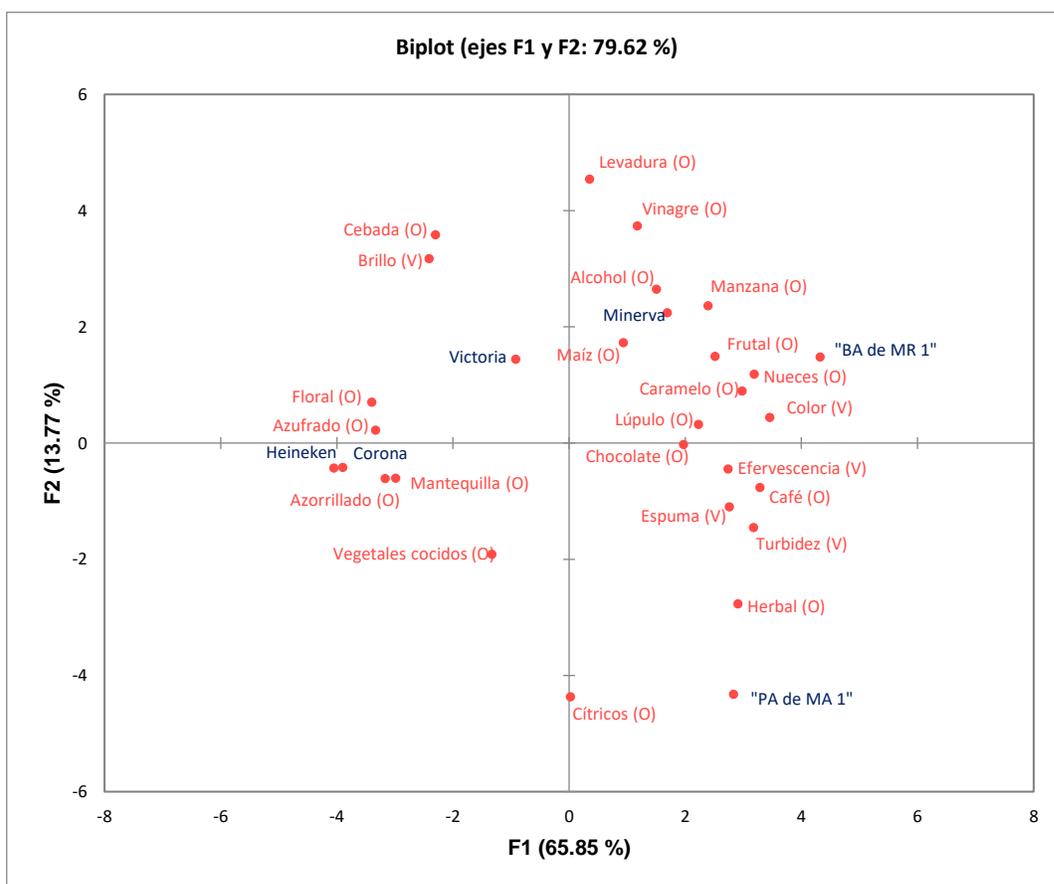


Figura 25. Mapa consenso de los atributos visuales y olfativos del Análisis Procrusteano Generalizado

En relación con los descriptores gustativos y de sensación en boca, en la figura 26 se muestra que la cerveza “BA de MR 1” estuvo asociada con los atributos gustativos “café”, “chocolate”, “alcohol” y “caramelo”, además del atributo de sensación en boca “cuerpo”. En el mismo cuadrante del mapa se encuentra la cerveza “Minerva®” que se vinculó con los atributos gustativos “vegetales cocidos”, “herbal”, “dulce” y “alcohol”, así como con el de

sensación en boca “burbujeante”. En la misma porción media izquierda, pero en diferente cuadrante, se ubicó a la cerveza “PA de MA 1” que se relacionó con los descriptores gustativos “maíz”, “lúpulo”, “ácido”, y con el de sensación en boca “astringente”. En el cuadrante inferior derecho del mapa se ubicaron las cervezas “Corona[®]” y “Victoria[®]” en el cual ambas fueron asociadas con los atributos gustativos “miel”, “levadura”, “tepache”, “frutal” y “salado”, y la segunda de ellas fue asociada también con los atributos “cebada”, “azorrillado” y “mantequilla”. Por último, la cerveza “Heineken[®]” se relacionó con los atributos gustativos “amargo”, “cítricos”, “vinagre” y “sidra”, además con el de sensación en boca “metálico”.

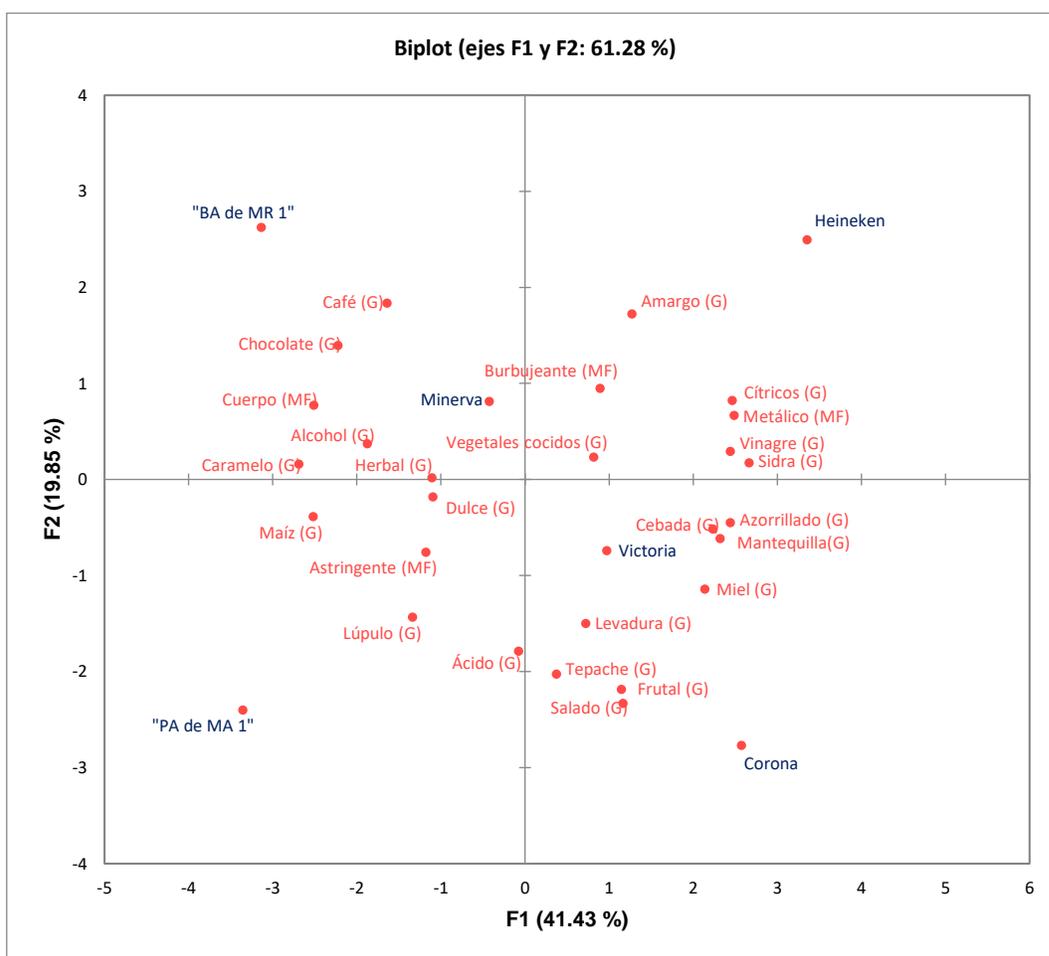


Figura 26. Mapa consenso de los atributos gustativos y de sensación en boca del Análisis Procrusteano Generalizado

9.5.3. Prueba con consumidores

Los resultados del ANOVA mostraron que las cervezas pertenecientes al bloque “Vienna” tuvieron un mayor agrado ($p\text{-value} < 0.001$), tanto visual como general (con medias de 7.32 y 6.83, respectivamente) que las cervezas pertenecientes a los bloques “Pilsner” y “Maíz”, entre los cuales no hubo diferencia significativa.

Tabla 12. Valores de las medias y medianas correspondientes al agrado visual y general de las cervezas evaluadas

BLOQUE	CERVEZA	AGRADO VISUAL		AGRADO GENERAL	
		MEDIA	MEDIANA	MEDIA	MEDIANA
Pilsner	Corona®	6.54 ^a	7 ^a	5.69 ^a	6 ^a
	PA de MA 1	6.45 ^a	7 ^a	6.02 ^a	6 ^a
	Heineken®	6.83 ^a	7 ^a	5.83 ^a	6 ^a
Vienna	Victoria®	7.16 ^a	7 ^a	6.31 ^b	6.5 ^b
	BA de MR 1	7.66 ^a	8 ^a	7.59 ^a	7 ^a
	Minerva®	7.14 ^a	7 ^a	6.59 ^b	7 ^b
Maíz	IRAP de MR	5.5 ^b	5.5 ^b	5.04 ^b	5 ^b
	IRA de MR	6.88 ^a	7 ^a	6.35 ^a	7 ^a
	S de MA	7.04 ^a	7.5 ^a	6.21 ^a	7 ^a

Dentro del bloque “Pilsner”, los resultados de las pruebas con consumidores mostraron que, a pesar de la diferencia en sus perfiles sensoriales, no hubo diferencia significativa en la prueba de ANOVA ni tampoco en la prueba de Friedman para el agrado visual ni para el agrado general entre las tres muestras. Y, como puede observarse en la tabla 12, el valor de la mediana de los dos aspectos mencionados fue de 7 y 6, respectivamente, el cual corresponde, en ese orden, al nivel de agrado “me gusta moderadamente” y “me gusta ligeramente”. Esto significa que al menos al 50 % de los consumidores evaluados les agradaron, desde moderadamente hasta extremadamente, en el aspecto visual (figura 27), y desde ligeramente hasta extremadamente, en el agrado general (figura 28), las tres cervezas del bloque “Pilsner” incluyendo a la cerveza de maíz “PA de MA 1”.

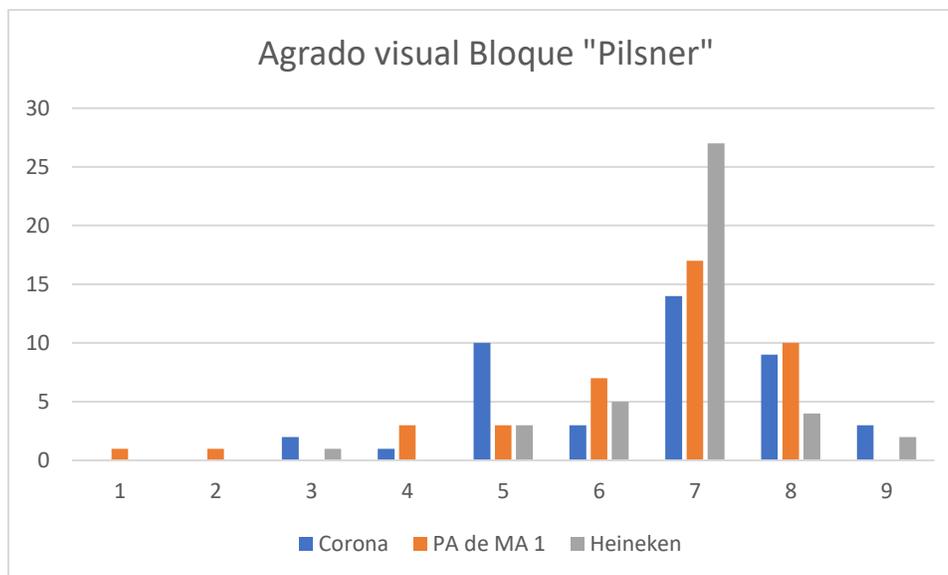


Figura 27. Frecuencias de agrado visual de las cervezas correspondientes al bloque "Pilsner"

Niveles de agrado: 1=Me disgusta extremadamente, 2=Me disgusta mucho, 3=Me disgusta moderadamente, 4=Me disgusta ligeramente, 5=Ni me gusta ni me disgusta, 6= Me gusta ligeramente, 7=Me gusta moderadamente, 8=Me gusta mucho, 9=Me gusta extremadamente.

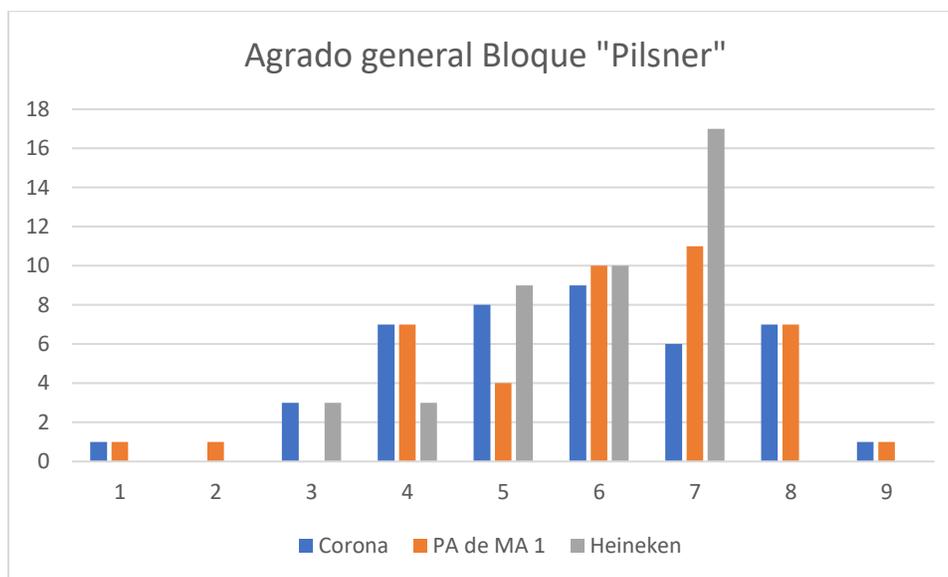


Figura 28. Frecuencias de agrado general de las cervezas correspondientes al bloque "Pilsner"

Niveles de agrado: 1=Me disgusta extremadamente, 2=Me disgusta mucho, 3=Me disgusta moderadamente, 4=Me disgusta ligeramente, 5=Ni me gusta ni me disgusta, 6= Me gusta ligeramente, 7=Me gusta moderadamente, 8=Me gusta mucho, 9=Me gusta extremadamente.

Dentro del bloque “Vienna”, a pesar de la diferencia en las medianas tampoco hubo diferencia significativa para el aspecto visual, pero sí en el caso del agrado general, tanto por ANOVA ($p\text{-value} < 0.001$) como por la prueba de Friedman ($p\text{-value} < 0.001$), y en el cual la cerveza “BA de MR 1” tuvo una mayor calificación. Respecto a las medianas, en el agrado visual la mayor correspondió a la cerveza “BA de MR 1”, cuyo valor fue 8 (tabla 12), lo cual significa que al menos al 50 % de los consumidores evaluados les agradó este aspecto de la cerveza, desde mucho hasta extremadamente (figura 29). En el agrado general, las mayores medianas correspondieron a las cervezas “BA de MR 1” y “Minerva®”, con un valor de 7 (tabla 12), que indica que al menos al 50 % de los consumidores les gustaron estas dos cervezas, desde moderadamente hasta extremadamente, en este aspecto (figura 30).

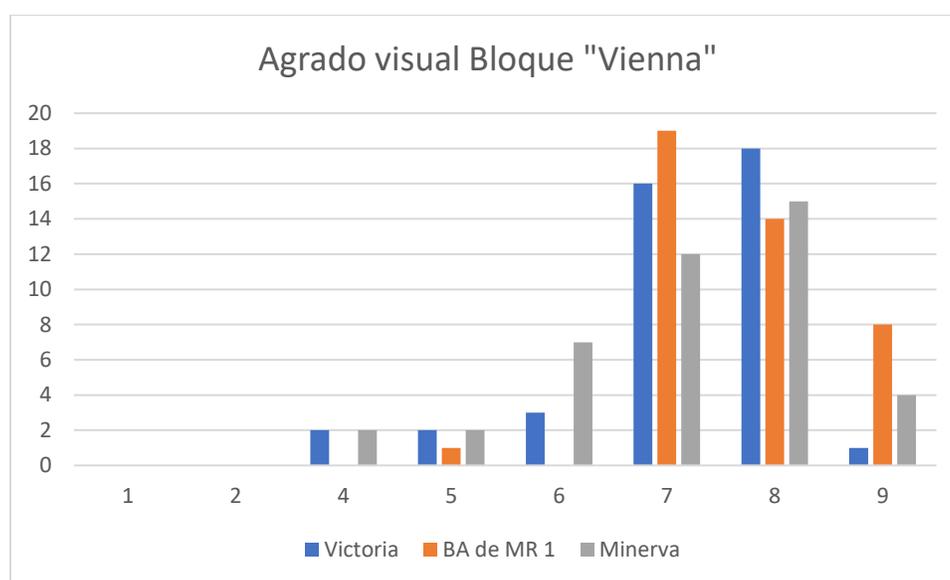


Figura 29. Frecuencias de agrado visual de las cervezas correspondientes al bloque “Vienna”

Niveles de agrado: 1=Me disgusta extremadamente, 2=Me disgusta mucho, 3=Me disgusta moderadamente, 4=Me disgusta ligeramente, 5=Ni me gusta ni me disgusta, 6= Me gusta ligeramente, 7=Me gusta moderadamente, 8=Me gusta mucho, 9=Me gusta extremadamente.

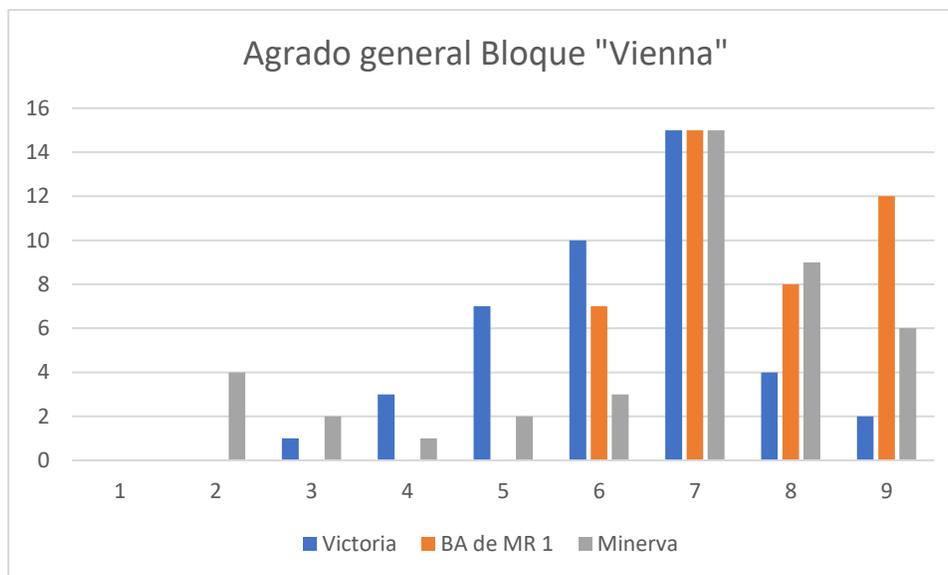


Figura 30. Frecuencias de agrado general de las cervezas correspondientes al bloque "Vienna"

Niveles de agrado: 1=Me disgusta extremadamente, 2=Me disgusta mucho, 3=Me disgusta moderadamente, 4=Me disgusta ligeramente, 5=Ni me gusta ni me disgusta, 6= Me gusta ligeramente, 7=Me gusta moderadamente, 8=Me gusta mucho, 9=Me gusta extremadamente.

Con respecto al bloque "Maíz", tanto la cerveza "IRA de MR" (figura 31) como la "S de MA" fueron significativamente mayores que la cerveza "IRAP de MR" en los dos aspectos evaluados y en ambas pruebas estadísticas realizadas ($p\text{-value} < 0.001$), con medias y medianas de agrado visual en torno al 7 para las dos primeras y de 5 y 5.5, respectivamente para la tercera mencionada (tabla 12). En las cervezas "IRA de MR" y "S de MA" las medias muestran que al menos el 50 % de los consumidores están del lado del agrado en ambos aspectos evaluados. Caso contrario ocurre en la cerveza "IRAP de MR" para la cual al menos la mitad de los consumidores se encuentran desde la evaluación indiferente de "ni me agrada ni me desagrada" hasta el desagrado extremo (figuras 32 y 33).



Figura 31. Cerveza "IRA de MR"

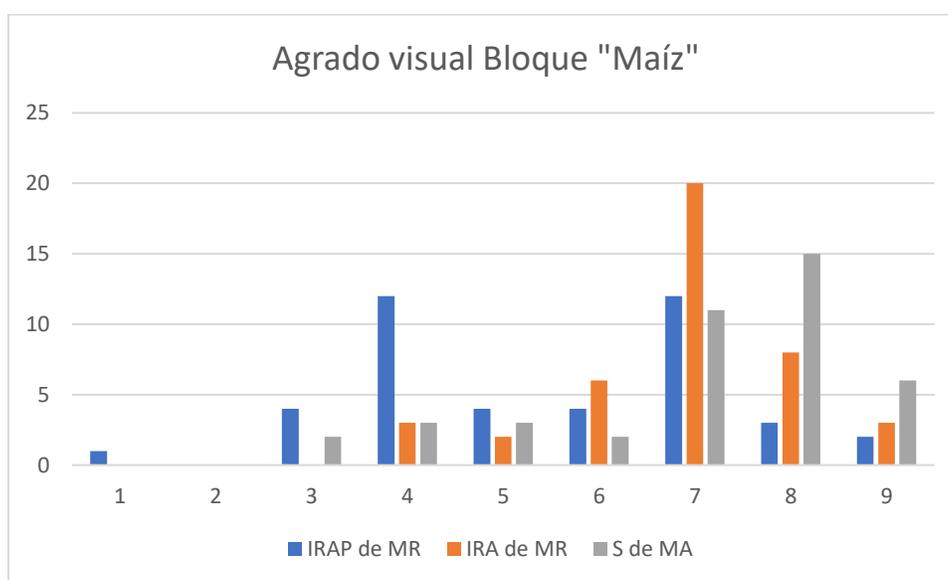


Figura 32. Frecuencias de agrado visual de las cervezas correspondientes al bloque "Maíz"

Niveles de agrado: 1=Me disgusta extremadamente, 2=Me disgusta mucho, 3=Me disgusta moderadamente, 4=Me disgusta ligeramente, 5=Ni me gusta ni me disgusta, 6= Me gusta ligeramente, 7=Me gusta moderadamente, 8=Me gusta mucho, 9=Me gusta extremadamente.

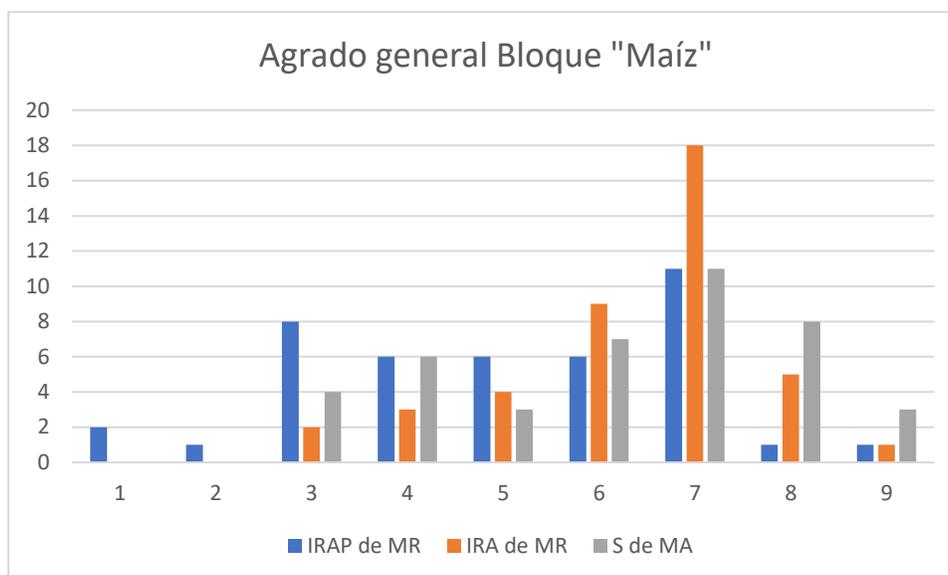


Figura 33. Frecuencias de agrado general de las cervezas correspondientes al bloque "Maíz"

Niveles de agrado: 1=Me disgusta extremadamente, 2=Me disgusta mucho, 3=Me disgusta moderadamente, 4=Me disgusta ligeramente, 5=Ni me gusta ni me disgusta, 6= Me gusta ligeramente, 7=Me gusta moderadamente, 8=Me gusta mucho, 9=Me gusta extremadamente.

Por otro lado, la prueba de ANOVA también arrojó que no hubo diferencias en las evaluaciones para el factor género, es decir, las mujeres y los hombres evaluados calificaron de manera similar, tanto entre los bloques como dentro de estos. Lo cual significa que no hubo alguna cerveza dentro de un bloque que gustara más a hombres que a mujeres, ni tampoco hubo algún bloque de cerveza que gustara más a un género que a otro.

9.5.3.1. Análisis de penalización

Los resultados de este análisis mostraron que dentro del bloque "Pilsner" tanto para la cerveza "Corona[®]" como para la "Heineken[®]" resultaron significativos los niveles inferiores de intensidad a lo que los consumidores esperaban (niveles debajo del JAR) para las variables "sabor a tostado", "sabor a cerveza" y "cuerpo", además de "sabor a malta", en el caso de la cerveza "Corona[®]". Ya que el sabor a tostado no es una característica en las cervezas de este estilo, y si se considera la mayor aceptación que tuvieron las cervezas del bloque "Vienna" en comparación con las del bloque "Pilsner", este resultado podría deberse a una probable inclinación del gusto del sector evaluado por cervezas de estilos más tostados. Respecto a las tres variables siguientes, en el caso de la "Corona[®]", podrían estar relacionadas con el uso de

adjuntos en su formulación, tal y como está declarado en envases de sus cervezas que están a la venta en algunos países que exigen la declaración de estos (figura 34). Sin embargo, dado que en el envase de la cerveza “Heineken®” se declara que esta está hecha con pura malta, estos resultados también podrían atribuirse al gusto de los consumidores por estilos de cerveza más robustos y maltosos.



Figura 34. Etiquetado de la cerveza Corona® (vendida en España) y de la cerveza Heineken®

En el caso de la cerveza de maíz “PA de MA 1”, como se puede observar en la figura 35, el 33 % de los consumidores consideraron que el nivel del atributo “cuerpo” estaba por debajo de lo esperado, mientras que el 43 % consideró lo mismo para el atributo “sabor a cerveza”, lo cual impactó negativamente en el agrado general de la cerveza, es decir, los consumidores penalizaron el agrado general cuando consideraron que esta cerveza no tenía suficiente “cuerpo” o suficiente “sabor a cerveza”, dos de las variables que también resultaron significativas para el agrado de las dos cervezas comerciales pertenecientes al bloque “Pilsner”. La deficiencia percibida en este último atributo podría deberse a que, al ser una cerveza fabricada 100 % con malta de maíz, los jueces percibieron en ella un sabor diferente a lo que están acostumbrados, por lo que les pareció que el “sabor a cerveza” era

menor al que ellos esperaban. Otra posible razón es que para la producción de esta cerveza se emplearon maltas con tres días de germinación a diferencia de las demás cervezas, en las que se emplearon maltas con siete días de germinación (tabla 3), de tal manera que sería necesario incrementar la cantidad de la malta con tres días de germinación que se usó y/o someter también a evaluación la cerveza “PA de MA 2” (la cual se produjo con maltas germinadas siete días) y realizar un comparativo entre ambas.

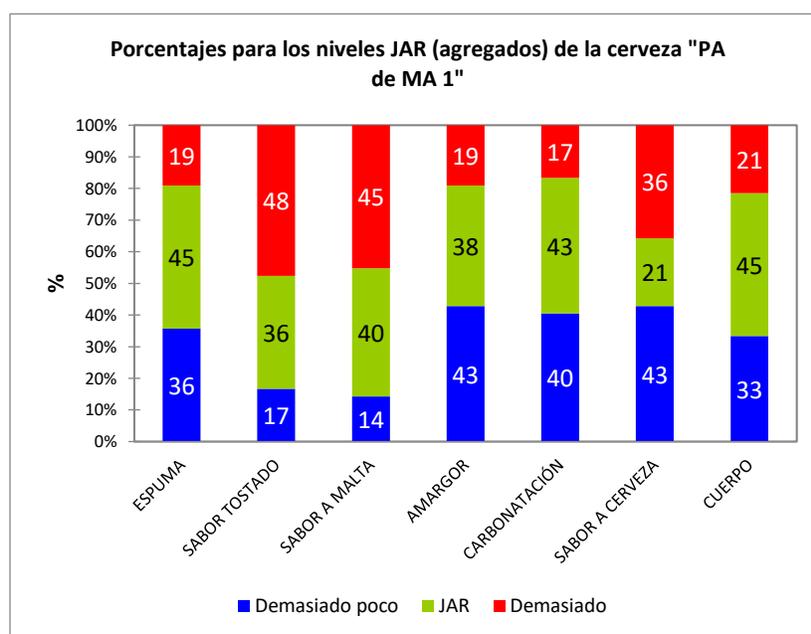


Figura 35. Porcentajes de las frecuencias para los niveles JAR de los atributos evaluados en la cerveza “PA de MA 1”

Por otro lado, hubo algunos otros atributos que los consumidores consideraron fuera de los niveles JAR, pero cuyo efecto sobre la media del agrado general no resultó significativo (figura 36). Ejemplo de estos son el “sabor a malta” y el “sabor tostado”, los cuales fueron considerados por encima de los niveles esperados, pero que no causaron penalización en el agrado por parte de los consumidores. La percepción de este último atributo mencionado coincide con la descripción realizada por el panel entrenado, pues podría relacionarse con los atributos de “caramelo” o “chocolate”, los cuales resultaron significativos en el perfil sensorial de esta cerveza de maíz (figura 22).

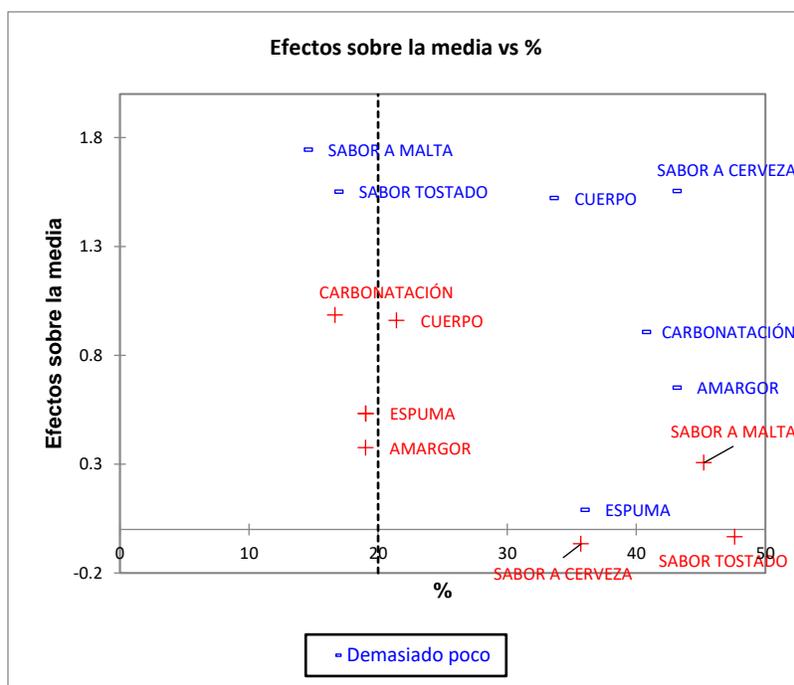


Figura 36. Efectos sobre la media de los atributos evaluados en la cerveza “PA de MA 1”

En el bloque “Vienna”, la cerveza “Minerva®” fue la más penalizada por los consumidores, ya que resultaron significativos los niveles por debajo del JAR para los atributos “espuma”, “sabor a tostado” y “cuerpo”, así como el nivel por encima del JAR para el atributo “amargor”, lo cual impactó negativamente en el agrado general de esta cerveza. En el caso de la cerveza “Victoria®”, resulta interesante que a pesar de no haber diferencias en el agrado general con la cerveza “Minerva®”, esta fue penalizada únicamente cuando los jueces consideraron que el “sabor a malta” estaba por debajo de lo esperado, lo cual probablemente se deba al uso de adjuntos en la formulación de esta cerveza.

Con respecto a la cerveza “BA de MR 1”, como se muestra en la figura 37, cinco de los siete atributos evaluados fueron considerados en el nivel esperado (JAR) por más del 45 % de los consumidores, pero fue precisamente uno de estos atributos, “la carbonatación”, el que resultó significativo, pues los jueces penalizaron al agrado general de la cerveza cuando consideraron que esta no tenía el nivel esperado para este atributo. Por tanto, se esperaría que incrementando el nivel de carbonatación en esta cerveza se incrementara también el agrado general de la misma entre los consumidores.

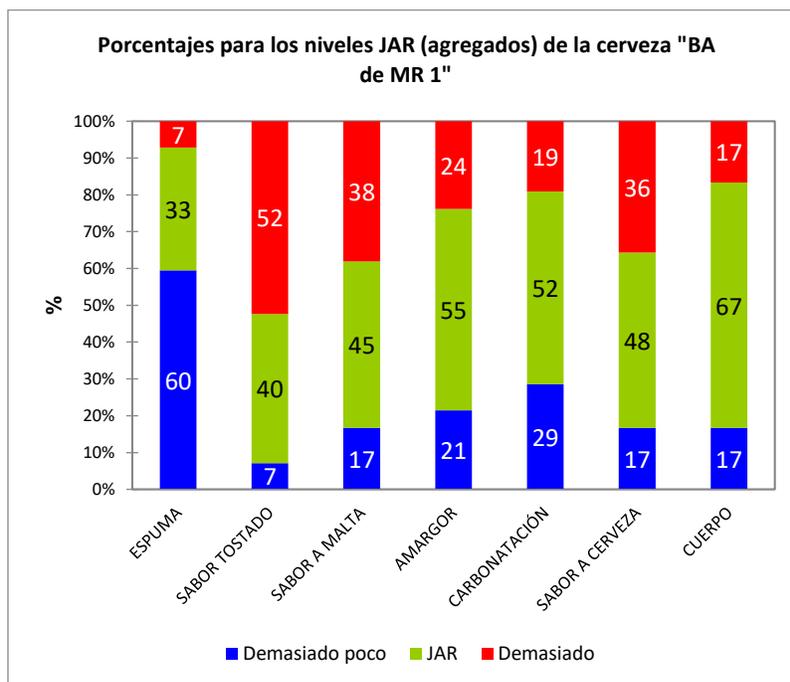


Figura 37. Porcentajes de las frecuencias para los niveles JAR de los atributos evaluados en la cerveza "BA de MR 1"

Resultó interesante que a pesar de que un 60 % de los consumidores consideraron que la cerveza no tenía suficiente espuma, esto no tuvo un efecto significativo sobre la media de agrado general. De igual forma, el 52 % de los consumidores consideró que la cerveza tenía un "sabor tostado" más intenso del que esperaban, sin embargo, esto no sólo no tuvo un impacto negativo en el agrado general, sino que la media de este se incrementó, como puede observarse en la figura 38. Este resultado podría indicar, como se comentó anteriormente, una inclinación del gusto de los consumidores por cervezas de carácter más tostado.

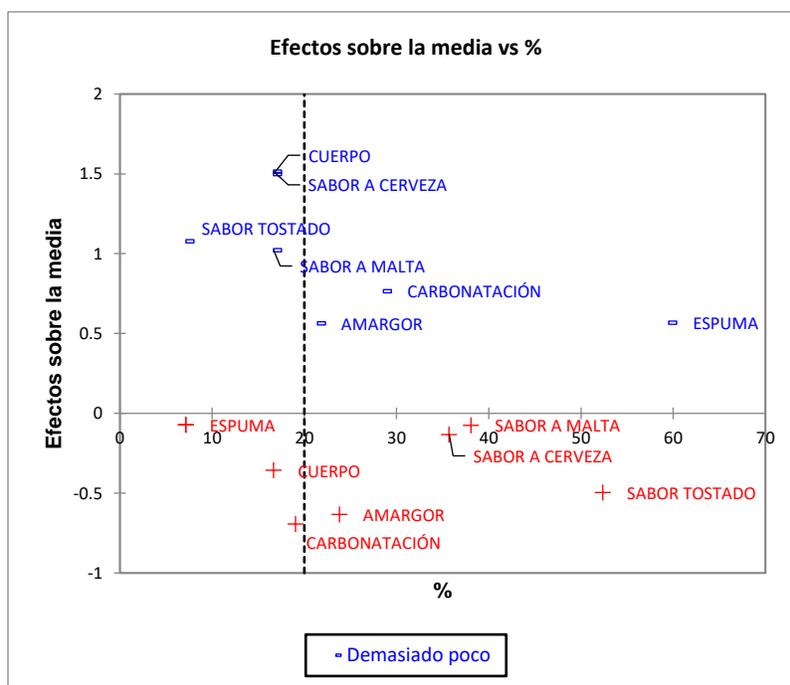


Figura 38. Efectos sobre la media de los atributos evaluados en la cerveza "BA de MR 1"

Dentro del bloque "Maíz", y también considerando las cervezas de los otros dos bloques, la cerveza "IRAP de MR" fue la que los consumidores consideraron con más atributos fuera de los niveles esperados (figura 39), pues más del 48 % de los consumidores consideró que esta cerveza tenía niveles por debajo de lo esperado en seis de los ocho atributos evaluados, y el 86 % consideró que era excesivo el atributo "picante". Por tanto, interpretando los resultados de los consumidores, los jueces consideraron a la "IRAP de MR" como una cerveza con poca espuma, poco sabor a tostado, poco sabor a malta, baja carbonatación, poco sabor a cerveza, poco cuerpo y una excesiva sensación picante.

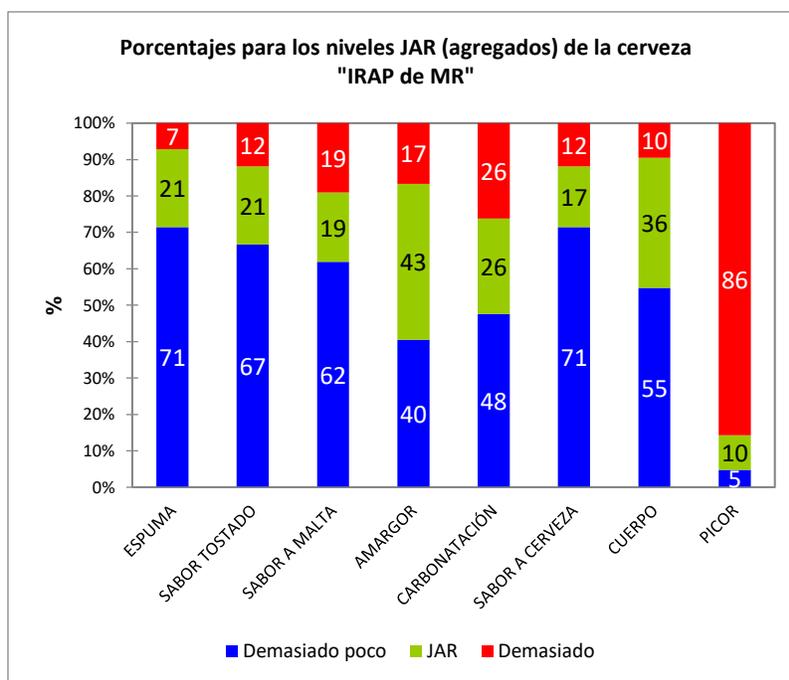


Figura 39. Porcentajes de las frecuencias para los niveles JAR de los atributos evaluados en la cerveza "IRAP de MR"

No obstante los resultados mencionados, de acuerdo al análisis realizado, únicamente el "sabor a malta" y la "carbonatación" impactaron significativamente a la media de agrado general, pero esto se debió muy probablemente a que las frecuencias obtenidas en los otros niveles de JAR fueron inferiores al 20 % del total, por lo que no pudo determinarse una significancia de estos. Por tal motivo se considera que sería necesario realizar un incremento en los niveles de los siete atributos mencionados, pues fue precisamente esta cerveza la que tuvo tanto el agrado visual como el agrado general más bajo entre los consumidores, con una media de 5.5 y 5, respectivamente.

Con referencia a la cerveza "IRA de MR", los atributos "espuma" y "amargor" fueron los que tuvieron un menor porcentaje de frecuencias en el nivel JAR (figura 40), pero dado que estos no impactaron en el agrado general, realmente no sería necesario modificarlos en la cerveza. Caso contrario a lo que ocurrió con los atributos "sabor a tostado", "sabor a malta" y "sabor a cerveza", los cuales tuvieron porcentajes de frecuencias en el nivel JAR cercanas o superiores al 50 %, pero los consumidores que los consideraron por debajo del nivel JAR penalizaron de manera significativa el agrado general (figura 41), por lo que sería necesario

incrementar estos atributos en la cerveza “IRA de MR” para incrementar también su aceptación entre los consumidores.

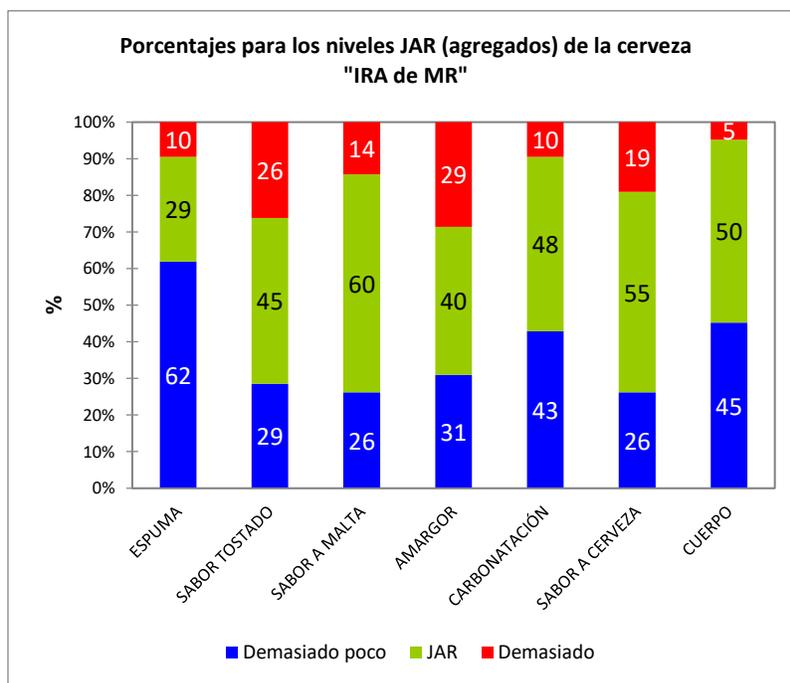


Figura 40. Porcentajes de las frecuencias para los niveles JAR de los atributos evaluados en la cerveza “IRA de MR”

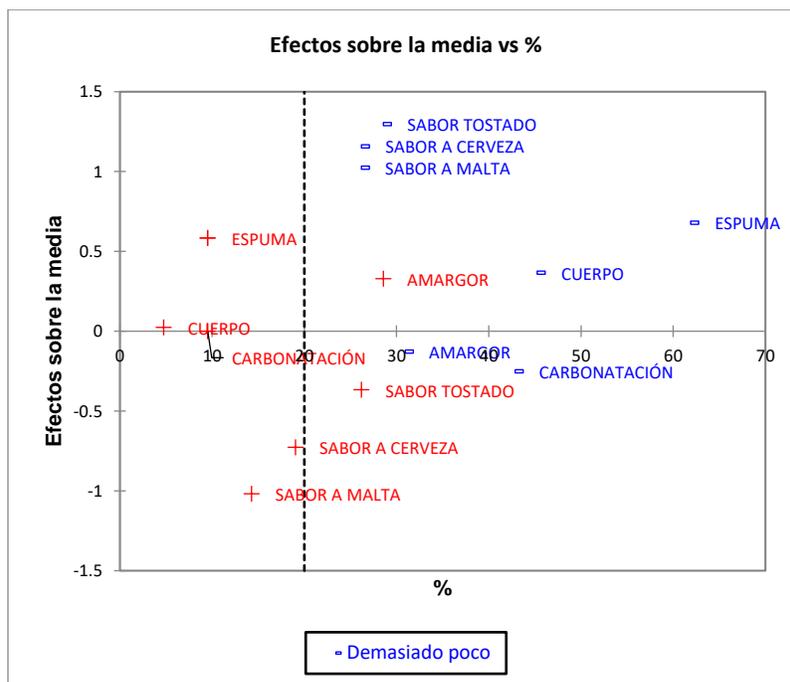


Figura 41. Efectos sobre la media de los atributos evaluados en la cerveza “IRA de MR”

Finalmente, la cerveza “S de MA” tuvo porcentajes cercanos o superiores al 50 % de las frecuencias en el nivel JAR en cinco de los siete atributos evaluados (figura 42), pero fueron precisamente tres de estos (la “espuma”, el “sabor a malta” y “cuerpo”, además de “sabor a cerveza”) los que los consumidores consideraron como más importantes al momento de evaluar el agrado general, pues los consumidores penalizaron la aceptación de manera significativa cuando consideraron que estos atributos de la cerveza no eran lo suficientemente intensos en la cerveza “S de MA” (figura 43). Por lo tanto, sería necesario ajustar la formulación de esta cerveza para incrementar estos atributos y de esta manera incrementar también su aceptación.

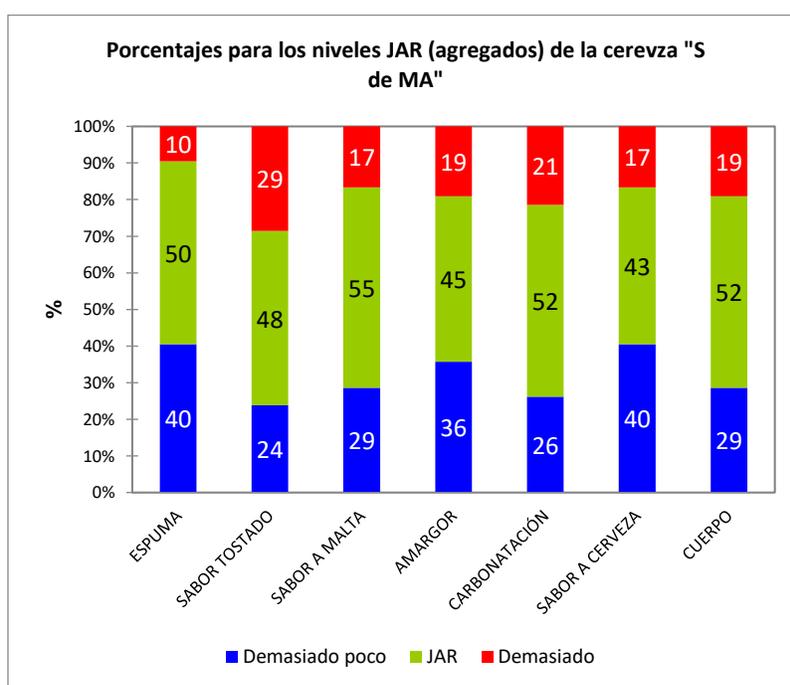


Figura 42. Porcentajes de las frecuencias para los niveles JAR de los atributos evaluados en la cerveza “S de MA”

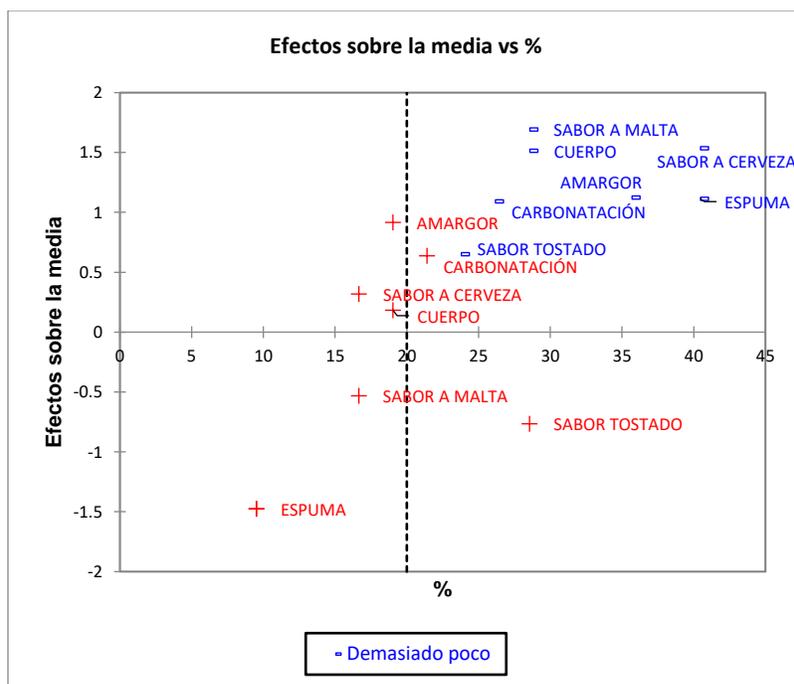


Figura 43. Efectos sobre la media de los atributos evaluados en la cerveza “S de MA”

9.6. Análisis de los compuestos volátiles durante el envejecimiento de la cerveza

9.6.1. Identificación de los compuestos volátiles en las muestras

Como se muestra en la figura 44, en las cervezas de maíz analizadas pudieron ser identificados un total de 31 compuestos (además del etanol), de los cuales 10 fueron ésteres, 8 alcoholes, 5 aldehídos, 3 cetonas, 3 terpenos, 2 compuestos azufrados, y cuyos nombres, tiempos de retención, así como áreas de pico se muestran en la tabla 13. Tomando en cuenta el tipo de fermentación, las cervezas ale mostraron áreas de pico significativamente mayores que las cervezas lager (lo cual se traduciría en mayores concentraciones) en distintos compuestos, principalmente en alcoholes y ésteres. De éstos, los que mostraron unas de las áreas más grandes, y en los que la diferencia de las cervezas ale respecto de las lager fue también significativa, fueron el 2-feniletanol y el acetato de isoamilo. El primero de ellos es un alcohol con aromas a miel y a rosas que se produce durante la fermentación, y que puede ser resultado del catabolismo de la L-fenilalanina presente en el mosto, puede ser sintetizado vía la producción *de novo* de este mismo aminoácido, o bien, puede ser producido como un metabolito intermediario en la ruta del Shikimato (Holt et al., 2018).

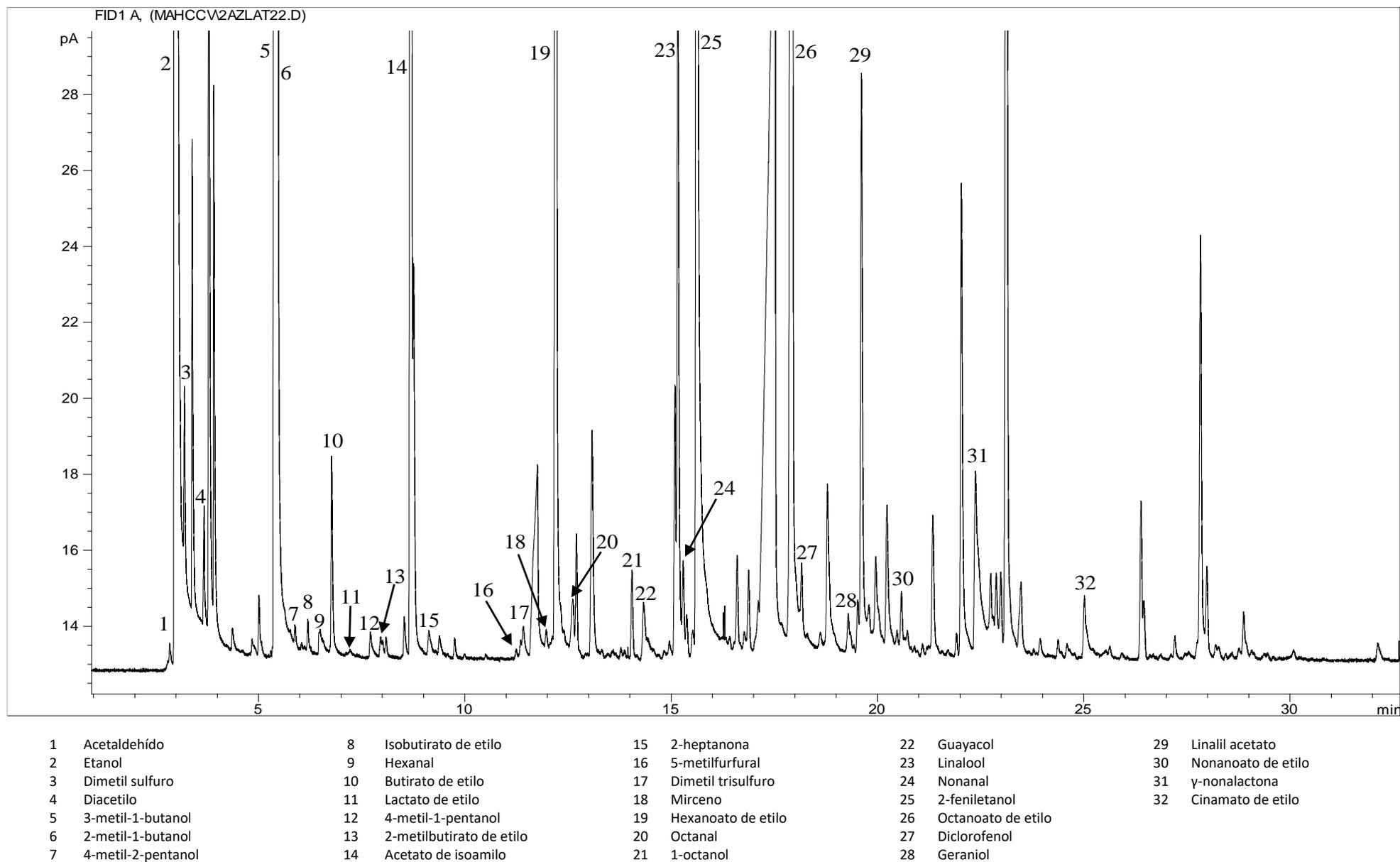


Figura 44. Cromatograma de la cerveza lager de maíz azul con dos meses de almacenamiento a temperatura ambiente

Tabla 13. Compuestos identificados en las muestras de cerveza de maíz del estudio de envejecimiento

t _R (min)	Compuesto	Tiempo de almacenamiento					Tipo de fermentación			Color de maíz			Temperatura de almacenamiento		
		0	1	2	3	p-value	Lager	Ale	p-value	Azul	Rojo	p-value	Amb (4 °C)	Ref (14-26 °C)	p-value
2.83	Acetaldehído	3.025	3.36	3.25	3	-	3.3	3.01	-	3.03	3.28	-	3.2	3.1	-
3.21	DMS	1.23 ^c	0.9 ^c	3.62 ^a	2.68 ^b	<0.001	2.85 ^a	1.36 ^b	<0.001	2.7 ^a	1.52 ^b	<0.001	2.75 ^a	1.47 ^b	<0.001
3.57	Diacetilo	0 ^b	0.22 ^b	1.22 ^a	0.22 ^b	<0.001	0.67 ^a	0.15 ^b	<0.001	0.54 ^a	0.28 ^b	0.025	0.72 ^a	0.11 ^b	<0.001
5.39	3-metil-1-butanol	1088.4	1114.11	1083.63	1064.27	-	994.66 ^b	1180.55 ^a	<0.001	1062.1 ^b	1113.11 ^a	<0.001	1083.38	1091.83	-
5.45	2-metil-1-butanol	229.52 ^b	233.98 ^b	253.1 ^a	247.02 ^a	<0.001	216.5 ^b	265.3 ^a	<0.001	251.92 ^a	229.88 ^b	<0.001	240.39	241.42	-
5.82	4-metil-2-pentanol	2.95	3.75	2.64	3.72	-	1.71 ^b	4.82 ^a	<0.001	3.21	3.32	-	3.31	3.22	-
6.73	Hexanal	1.57 ^c	1.76 ^{bc}	2.09 ^{bc}	2.13 ^{ab}	0.025	2.48 ^a	1.29 ^b	<0.001	2.08 ^a	1.7 ^b	0.02	1.87	1.91	-
5.86	Isobutirato de etilo	1.66 ^b	1.57 ^b	1.76 ^b	2.2 ^a	<0.001	1.11 ^b	2.48 ^a	<0.001	1.74	1.85	-	2.0 ^a	1.59 ^b	<0.001
6.78	Butirato de etilo	9.66 ^b	10.2 ^b	11.5 ^a	12.06 ^a	<0.001	12.21 ^a	9.5 ^b	<0.001	11.12 ^a	10.59 ^b	0.015	10.85	10.87	-
7.21	Lactato de etilo	0.83 ^c	1.43 ^{ab}	1.19 ^b	1.51 ^a	<0.001	1.09 ^b	1.4 ^a	<0.001	1.14 ^b	1.35 ^a	0.012	1.28	1.2	-
7.71	4-metil-1-pentanol	6.26 ^{bc}	7.25 ^a	5.55 ^c	6.89 ^{ab}	<0.001	3.66 ^b	9.31 ^a	<0.001	6.36	6.61	-	6.7	6.27	-
8.00	2-metilbutirato de etilo	1.7 ^c	2.45 ^b	2.5 ^{ab}	2.83 ^a	<0.001	1.6 ^b	3.1 ^a	<0.001	2.35	2.39	-	2.66 ^a	2.08 ^b	<0.001
8.68	Acetato de isoamilo	789.45 ^a	779.66 ^a	703.18 ^b	724.68 ^b	<0.001	480.48 ^b	1018 ^a	<0.001	754.17	744.31	-	722.12 ^b	776.36 ^a	<0.001
9.17	2-heptanona	93.23 ^a	88.27 ^a	61.41 ^b	65.81 ^b	<0.001	2.57	151.78	<0.001	77.71	76.64	-	74.65	79.7	-
11.23	5-metilfurfural	1.3	1.41	1.22	1.21	-	1.34	1.23	-	1.29	1.27	-	1.48	1.09	-
11.41	Dimetil trisulfuro	3.8	4.38	4.43	4.06	-	3.6 ^b	4.7	<0.001	4.29	4.04	-	4.22	4.11	-
11.96	Mirceno	6.6 ^a	5.48 ^b	4.35 ^c	4.12 ^c	<0.001	5.8 ^a	4.47 ^b	<0.001	5.15	5.12	-	4.94	5.33	-
12.20	Hexanoato de etilo	268.27 ^a	224.54 ^b	228.59 ^b	233.15 ^b	<0.001	264.65 ^a	212.64 ^b	<0.001	264.47 ^a	212.81 ^b	<0.001	236.95	240.34	-
12.32	Octanal	4.68	6.36	6.32	4.65	-	5.09	5.91	-	5.81 ^a	5.19 ^b	-	5.01 ^b	5.99 ^a	0.043
14.29	1-Octanol	6.93	7.7	7.81	7.66	-	7.1 ^b	7.95 ^a	0.003	7.75	7.31	-	7.65	7.4	-
14.93	Guayacol	5.06 ^c	5.25 ^c	5.55 ^b	6 ^a	-	4.18 ^b	6.75 ^a	<0.001	5 ^b	5.93 ^a	<0.001	5.71	5.23	-
15.17	Linalool	53.9	57.39	61.58	61.88	-	58.1	59.27	-	60.57	56.8	-	59.17	58.2	-
15.29	Nonanal	11.03	11.81	12.26	11.09	-	10.84	12.26	-	12.24	10.86	-	11.77	11.33	-
15.61	2-Feniletanol	754.68 ^c	806.4 ^b	867.61 ^a	871.72 ^a	<0.001	204.85 ^b	1445.35 ^a	<0.001	836.76	813.45	-	827.75	822.46	-
17.93	Octanoato de etilo	449.95 ^b	433.5 ^b	507.46 ^a	548.95 ^a	<0.001	667.08 ^a	302.85 ^b	<0.001	517.96 ^a	451.96 ^b	<0.001	501.53 ^a	468.4 ^b	0.012
18.13	Diclorofenol	7.46	9.57	8.06	9.8	-	8.62	8.83	-	9.14	8.31	-	9.19	8.25	-
19.49	Geraniol	5.52	6.03	5.42	5.18	-	6.61 ^a	4.47 ^b	<0.001	5.56	5.52	-	5.7	5.38	-
19.60	Linalil acetato	149.27 ^b	158.95 ^b	187.15 ^a	204.15 ^a	<0.001	48.95 ^b	300.81 ^a	<0.001	194.4 ^a	155.35 ^b	<0.001	169.05 ^b	180.7	-
20.58	Nonanoato de etilo	9.52	8.16	8.62	8.2	-	8.58	8.67	-	8.38	8.87	-	9.02	8.23	-
22.39	γ-nonalactona	7.66 ^b	6.2 ^b	8.82 ^{ab}	13.67 ^a	0.001	13.2 ^a	4.97 ^b	<0.001	11.46 ^a	6.71 ^b	<0.001	12.23 ^a	5.94 ^b	<0.001
25.01	Cinamato de etilo	5.31	6.2	6.16	6.47	-	7.0 ^a	5.07 ^b	0.002	5.85	6.21	-	6.82	5.25	-

El 2-feniletanol estuvo entre los compuestos que tuvieron las mayores áreas, que fue alrededor de siete veces mayor en las cervezas de fermentación ale que en las de fermentación lager, esto probablemente debido a que la síntesis de este metabolito es extremadamente sensible a los cambios en la temperatura de fermentación (Saerens et al., 2008), por lo que un aumento de ésta causa el incremento en la producción de éste y de otros alcoholes superiores (Valero et al., 2002). Kumar (2019) reportó al 2-feniletanol como uno de los alcoholes superiores comunes en la cerveza. De igual forma, en un estudio realizado con cervezas lager, Martins et al. (2020) reportaron a este compuesto como uno de los alcoholes superiores que mostraron las mayores áreas de picos cromatográficos. Por su parte, Romero-Medina et al. (2020) reportaron la presencia de este volátil en cervezas de maíz, tanto azul como rojo, en cervezas de cebada y en cervezas elaboradas con este último cereal en combinación, de manera independiente, con maíz de los dos colores mencionados, todas ellas de fermentación ale. En el caso del acetato de isoamilo, un compuesto que le imparte a la cerveza notas frutales, en especial a plátano (Pires et al., 2014), al igual que otros ésteres, se forma por una reacción de deshidratación entre un ácido carboxílico y un alcohol (Riemenschneider y Bolt, 2000). Sin embargo, su formación en la cerveza no se debe simplemente a una esterificación espontánea, sino que involucra la actividad enzimática de la levadura (Holt et al., 2018), y hay estudios que señalan la dependencia de la temperatura de fermentación y de la cepa de levadura en la producción de este metabolito. Por ejemplo, Kucharczyk et al. (2020) reportaron un incremento en la producción de este compuesto al aumentar la temperatura de fermentación. En otros estudios, Hiralal et al. (2014) reportaron un incremento del 22.8 % en la concentración de acetato de isoamilo cuando se incrementó la temperatura de fermentación de 18 a 22.5 °C en cervezas ale, mientras que Saerens et al. (2008) reportaron un efecto similar cuando se incrementó la temperatura de fermentación en cervezas lager. Con respecto a la diferencia entre cepas, Saerens et al. (2008) reportaron que la fermentación con levaduras ale produjo en la cerveza aproximadamente siete veces más acetato de isoamilo que la fermentación realizada con levaduras de fermentación lager. En otro estudio, Urbina et al. (2020) reportaron que la levadura *S. pastorianus* (a la cual pertenece la cepa SafLager W-34/70, Fermentis, Francia, empleada en la fermentación de las cervezas lager del presente trabajo de investigación) produce cervezas de perfil sensorial caracterizado por la presencia sutil de algunos ésteres, entre ellos el acetato de isoamilo. Por

otra parte, Hiralal et al. (2014) y Tokpohozin et al. (2019) reportaron que la levadura Safale S-04, cepa de *S. cerevisiae* (empleada en la producción de las cervezas ale destinadas al estudio de envejecimiento), produce una gran cantidad de ésteres entre los que se encuentra el acetato de isoamilo. Por lo que, en el presente trabajo, el mayor contenido de acetato de isoamilo, así como el de otros ésteres como el isobutirato de etilo y el linalil acetato, en las cervezas de maíz fermentadas con levaduras ale, en comparación con aquéllas de fermentación lager, puede ser atribuido a la diferencia metabólica entre cepas, así como a la diferencia en la temperatura de fermentación. Contrario a lo que ocurrió con los ésteres señalados, las cervezas lager de maíz mostraron mayores áreas, que las cervezas ale, para el octanoato y hexanoato de etilo. Respecto a esto, Hiralal et al. (2014) reportaron un decremento en las concentraciones de octanoato y hexanoato de etilo cuando se incrementó la temperatura de fermentación de 18 a 22.5 °C en cervezas ale. Sin embargo, en otro estudio, Kumar (2019) reportó una mayor producción de hexanoato de etilo en cervezas fermentadas con la levadura SafLager W-34/70 que en aquéllas fermentadas con la levadura SafAle US-05. No obstante, este mismo autor reportó concentraciones mayores en cervezas producidas con algunas levaduras ale como la SafAle WB-06, en comparación con aquéllas producidas con la SafLager W-34/70. En el caso del octanoato de etilo, no se reportó diferencia entre las dos primeras levaduras mencionadas, pero nuevamente la SafAle WB-06 tuvo una mayor producción de este compuesto y, además, otra cepa lager, la SafLager S-23, produjo más que la última mencionada. Por lo que se podría considerar que la mayor concentración de estos dos ésteres, así como algunos otros como el cinamato de etilo, el lactato de etilo y el butirato de etilo, en las cervezas lager de maíz del presente trabajo también podría deberse tanto a la temperatura de fermentación como a la diferencia metabólica entre las cepas.

Otros compuestos en los que las cervezas ale de maíz fueron significativamente mayores que las cervezas de fermentación lager son los alcoholes superiores 3-metil-1-butanol (alcohol isoamílico), 2-metil-1-butanol, 4-metil-1-pentanol, 4-metil-2-pentanol y 1-octanol, que son metabolitos que pueden aportar sabores que recuerdan al plátano en el caso de los dos primeros (Holt et al., 2018), notas de almendradas y notas tostadas en el tercero (Ferreira et al., 2000), notas que recuerdan a algo dulce en el cuarto (PubChem, 2021) y aceites de cítricos en el quinto (FAO, 2021). Cabe señalar que el primero de ellos es cuantitativamente uno de los compuestos que tienen un mayor impacto en la cerveza dentro

del grupo de alcoholes superiores, ya que puede llegar a producir un sabor agresivo para el paladar si se encuentra en concentraciones altas, por lo que podría afectar la palatabilidad de la cerveza (*drinkability*) (Kobayashi et al., 2006). La producción de estos compuestos durante la fermentación se da a través de la ruta de Ehrlich, que puede ser a partir de los aminoácidos presentes en el mosto y transportados a través de la membrana celular de la levadura o bien a partir de los aminoácidos producidos de *novo* y sus intermediarios α -cetoácidos. Esta ruta comienza con la desaminación del aminoácido a un α -cetoácido, continúa la descarboxilación y, finalmente, la reducción de aldehído a alcohol (Hazelwood et al., 2008). Y dado que la temperatura estimula el metabolismo y el crecimiento de las levaduras (Gamero et al., 2014), el incremento de esta causa una elevación en el contenido de alcoholes superiores (Landaud et al. 2001), por lo que, de manera similar a como se describió en la producción de acetato de isoamilo, el mayor contenido de alcoholes superiores en las cervezas ale de maíz podría ser debido a la mayor temperatura de fermentación, en comparación con las de fermentación lager. Otra posible explicación, es la cantidad de levadura inoculada para la fermentación (*pitching rate*), pues en un estudio realizado por Erten et al. (2007) se encontró que la cantidad de levadura inoculada provocaba un decremento en los niveles de 2-metil-1-butanol y 3-metil-1-butanol, por lo que la menor concentración de estos dos compuestos en las cervezas lager de maíz podría estar relacionada con la mayor tasa de inoculación, respecto de las cervezas de fermentación ale (sección 2.3.2.1).

Las cervezas ale de maíz también fueron significativamente mayores en el contenido de 2-heptanona que las cervezas lager, y su origen puede deberse a una oxidación del 2-heptanol por parte de la levadura, mientras que su mayor concentración en las cervezas ale, nuevamente puede estar asociado con el metabolismo de la cepa de levadura empleada, pues en un estudio realizado por Cappaert y Larroche (2004) reportan la producción de 2-heptanona en un medio fermentado por levaduras *S.cerevisiae* a través de la oxidación de 2-heptanol. En otro estudio, en el que, entre otras cosas, se evaluó el impacto que tenía la cepa de levadura usada sobre la percepción del sabor de lúpulo en la cerveza, Kumar (2019) reportó un mapa de componentes principales en el cual tanto la levadura SafLager W-34/70 como una levadura ale, la SafAle US-05, resultaron relacionadas con la producción de 2-heptanona, aunque la segunda tuvo una mayor asociación que la primera. Cabe señalar que

en este estudio que se referencia no se analizó a la cepa SafAle S-04, que fue la empleada en el presente estudio.

Con referencia a los compuestos considerados como defecto en la cerveza (salvo algunas excepciones), las cervezas de fermentación lager mostraron, en general, mayores áreas en el dimetil sulfuro (DMS) que las cervezas ale. Lo cual puede ser debido a una mayor reducción en los niveles de dimetil sulfóxido (precursor del DMS) a lo largo de la etapa de fermentación en cervezas fermentadas con *Saccharomyces cerevisiae* que en cervezas fermentadas con *Saccharomyces pastorianus*, o bien a un efecto positivo en la disminución de los niveles de DMS cuando se aumenta la temperatura de fermentación (Baldus et al., 2018).

De igual manera, las cervezas lager de maíz tuvieron mayores áreas en la 2, 3-butanodiona (diacetilo), que está reportado como un subproducto de la biosíntesis de isoleucina y valina en las levaduras (Krogerus y Gibson 2013), y es considerado indeseable, ya que le aporta un gusto a mantequilla a las cervezas (Pires et al. 2015). La mayor concentración de diacetilo en las cervezas lager, nuevamente podrían estar relacionadas con las temperaturas de fermentación de estas cervezas, ya que está reportado que aunque se eleva la producción de este compuesto conforme se aumenta la temperatura de fermentación, también se incrementa la tasa de consumo de este metabolito, por lo que el contenido final en la cerveza puede ser mayor en las cervezas fermentadas a bajas temperaturas que en aquellas fermentadas a altas (García et al., 1994). En este trabajo referenciado se reporta una concentración de diacetilo cinco veces mayor en cervezas que fueron fermentadas a 12 y 16 °C en comparación con cervezas fermentadas a 19 °C.

Otro compuesto que tuvo una mayor área de pico en las cervezas lager de maíz es la γ -nonalactona, un compuesto que puede aportar un aroma a coco en la cerveza (Baert et al. 2012), y cuya formación, así como la de otras lactonas, puede originarse de la malta, del lúpulo y de algunos metabolitos de la levadura a partir de aminoácidos y precursores de ácidos grasos hidroxilados tales como el ácido 4-oxononanoico, que es un producto de degradación del ácido linoleico oxidado que se forma durante la maceración (Holt et al., 2018). Y aunque a menudo se encuentran en concentraciones por debajo de su umbral de percepción, su importancia sensorial radica en la formación de interacciones sinérgicas con

otros compuestos presentes en la cerveza para proveer notas afrutadas (Meilgaard 1982). Y las diferencias en los contenidos de este metabolito puede deberse a una mayor capacidad de la cepa lager utilizada para su producción o a una diferencia en los nutrientes de los mostos, pues está reportado que la formación de las γ -lactonas depende de la cepa de levadura y de la composición del mosto (Loscos et al. 2007), y en especial de la cantidad de ácidos grasos originados tanto de la malta como del lúpulo (Baert et al. 2012).

Acerca de las diferencias entre las cervezas producidas con maíz azul respecto a las producidas con maíz rojo, el análisis de las primeras arrojó mayores áreas en algunos compuestos, de los cuales entre los más significativos se encuentran el hexanoato de etilo, el octanoato de etilo, el 3-metil-1-butanol y el linalil acetato, que podría deberse a la existencia de variaciones en la composición de los mostos de maíz, ya que hay reportes de variación en las concentraciones de ésteres producidos cuando hay diferencias en las composiciones de los mostos. Por ejemplo, Hiralal et al. (2014) reportaron un incremento de 6.57 % y 6.96 % en las concentraciones de octanoato y hexanoato de etilo, respectivamente, cuando el mosto para la producción de cervezas ale fue suplementado con L-leucina. En el caso de los alcoholes superiores, dado que su producción está directamente relacionada con los aminoácidos, la cantidad y la disponibilidad de los mismos en los cereales empleados, y posteriormente en el mosto, serán clave para su producción (Procopio et al., 2011).

En lo concerniente al tiempo de almacenamiento, 14 de los compuestos identificados no presentaron cambios significativos en sus áreas de pico durante los tres meses en que se les dio seguimiento, cuatro presentaron una disminución (2-heptanona, acetato de isoamilo, hexanoato de etilo y mirceno), nueve mostraron incremento (2-metil-1-butanol, 2-feniletanol, octanoato de etilo, linalil acetato, γ -nonalactona, hexanal, isobutirato de etilo, butirato de etilo y 2-metilbutirato de etilo) y, finalmente, en cuatro compuestos que fueron el DMS, el diacetilo, el lactato de etilo y el 4-metil-1-pentanol no se vio una tendencia consistente, es decir, se observaron altas y bajas que probablemente pudieron estar ligadas a su baja concentración en las cervezas (lo cual podría inferirse por sus áreas de pico tan pequeñas en comparación con otros compuestos), de tal forma que incluso los dos primeros compuestos mencionados no pudieron ser identificados en todas las muestras. De estos compuestos, el

DMS y el lactato de etilo son los que mostraron una tendencia creciente en su área de pico conforme incrementó el tiempo de almacenamiento.

Esta reportado que durante el envejecimiento de la cerveza ocurre, entre otros fenómenos, la disminución de algunos ésteres, esto debido a hidrólisis química (Vanderhaegen et al., 2007) o a la presencia de esterazas en cervezas no pasteurizadas (Neven et al., 1997), liberadas tras la lisis celular ocurrida durante la fermentación, maduración y/o acondicionamiento en botella, y cuya actividad depende del pH, temperatura de almacenamiento, así como de las condiciones de fermentación y maduración (De Schutter et al., 2009). Por tal motivo, uno de los ésteres cuya concentración puede decrecer durante el almacenamiento de la cerveza, incluso hasta niveles por debajo de su umbral de percepción, es el acetato de isoamilo (Vanderhaegen et al., 2007; Holt et al., 2018), tal y como se observó en las cervezas de maíz analizadas en el presente trabajo, cuya área de pico de este compuesto decreció para el segundo y tercer mes de almacenamiento. En relación con lo anterior, Vanderhaegen et al., (2007) reportaron una disminución mucho más rápida en los niveles de acetato de isoamilo en una cerveza “especial oscura” que no estaba pasteurizada, en comparación con otra del mismo estilo que sí había pasado por esta operación. Contrario a esto, en un estudio en el que se analizaron los cambios que tuvieron cervezas lager durante su almacenamiento, tanto a temperaturas de refrigeración (4°C) como a temperatura ambiente, De Freitas-Pestrana (2013) reportó que este compuesto se mantuvo sin cambios durante seis meses, pero su concentración se incrementó a partir del séptimo hasta alcanzar una concentración casi tres veces mayor respecto de la inicial para el final del estudio, el cual duró 12 meses en total.

Otro compuesto cuya disminución durante el almacenamiento de las cervezas de maíz pudo deberse a las razones antes mencionadas es el hexanoato de etilo, ya que, como se puede observar en la tabla 13, su área de pico decreció significativamente a partir del mes 1 de envejecimiento. En relación con esto, Silva-Ferreira et al. (2019) reportaron un ligero decremento en las concentraciones de este compuesto, así como del octanoato de etilo, en cervezas ale envejecidas durante 12 meses, a 20 °C y en ausencia de luz. De igual manera, Hiralal et al. (2013) reportaron una disminución en la concentración de estos dos compuestos en cervezas ale y lager almacenadas a 4 °C y a temperatura ambiente (22.5°C).

Dado que los ésteres como el hexanoato de etilo y el acetato de isoamilo le confieren a la cerveza un carácter frutal y generalmente se les considera como un atributo altamente positivo en las cervezas frescas (Vanderhaegen et al., 2007; Holt et al., 2018), su reducción podría generar la disminución o desaparición de esas notas afrutadas, ocasionando así el incremento en la percepción de los aromas y sabores de deterioro o de envejecimiento (Vanderhaegen et al., 2007).

Por lo que concierne al octanoato de etilo (como puede observarse en la tabla 13) y contrario a lo reportado por Silva-Ferreira et al. (2019) y Hiralal et al. (2013), las cervezas de maíz mostraron un incremento en dicho éster para los tiempos 2 y 3, lo que podría estar relacionado con reacciones de esterificación del ácido octanoico y el etanol, o bien podría deberse a que, como se detalló en la metodología, para estos tiempos se empleó un lote diferente que para los tiempos 0 y 1. Esta misma tendencia se observó en el linalil acetato y el 2-feniletanol.

Además de la hidrólisis de ésteres, durante el envejecimiento de la cerveza también pueden ocurrir reacciones de esterificación (Vanderhaegen et al., 2003) con precursores ácidos que se formaron durante la fermentación, como el ácido butírico o el ácido láctico, o que provienen de los lúpulos, como el caso los ácidos isobutírico y 2-metilbutírico, ya que la degradación oxidativa de los α y β -ácidos en la cerveza puede incrementar la concentración de estos precursores (Williams et al., 1979). Esto explicaría el incremento en las áreas de pico de compuestos como el 2-metilbutirato de etilo, el butirato de etilo y el isobutirato de etilo durante el envejecimiento de las cervezas de maíz del presente trabajo. Respecto a esto, en un estudio realizado con cervezas lager comerciales, a las cuales se les ajustó el pH y se almacenaron en ausencia de luz por 6 días a 40 °C, Gijs et al. (2002) reportaron el incremento de butirato de etilo y concluyeron que este y algunos otros compuestos impactaban de manera relevante el perfil sensorial de la cerveza. Por su parte, Vanderhaegen et al. (2003) reportaron un incremento en el contenido de 2-metilbutirato de etilo y de 2-metilpropionato de etilo (isobutirato de etilo) en cervezas pale ale después de haber sido almacenadas a 20 °C durante seis meses, y a cuyo envase se había inyectado aire en el espacio de cabeza; el incremento disminuyó ligeramente en ambos compuestos cuando el llenado del espacio de cabeza del envase se realizó con CO₂ en lugar de aire. En otro estudio, Vanderhaegen et al. (2007)

también reportó el incremento de 2-metilbutirato de etilo, así como de lactato de etilo, en ocho cervezas belgas almacenadas durante un año a 20 °C, lo cual sería el resultado de la esterificación del ácido 2-metilbutírico con el etanol y del ácido láctico con el etanol, respectivamente, y cuya velocidad de reacción estaría determinada por la concentración de los precursores, el pH y la temperatura de almacenamiento (Vanderhaegen et al., 2007). Sensorialmente hablando, la formación del 2-metilbutirato, así como del 3-metilbutirato, se ha ligado a la aparición de notas a vino en la cerveza (Williams y Wagner, 1978).

Entre los compuestos carbonílicos que presentaron un incremento durante el almacenamiento de las cervezas de maíz estuvieron la γ -nonalactona y el hexanal. De estos, el primero está considerado como un importante compuesto en el envejecimiento de la cerveza (Gijs et al., 2002), y más aún cuando se encuentra en sinergia con el trans-2-nonenal, ya que incrementa considerablemente el deterioro del sabor (Suzuki et al., 2006). Respecto al primer compuesto, Tsuji y Mizuno (2010) reportaron el incremento de γ -nonalactona en diferentes muestras de cervezas almacenadas a 30 °C durante 4 semanas. El hexanal, por su parte, está reportado como un producto de la oxidación de lípidos (Malfliet et al., 2008), por lo que podría formarse durante el almacenamiento de la cerveza. Vanderhaegen et al. (2007) reportaron un incremento en las concentraciones de este aldehído en una cerveza lager y dos cervezas “especiales oscuras” que fueron almacenadas por un año, a 20 °C y en condiciones de oscuridad. De igual forma, Malfliet et al. (2008) reportaron un incremento en las concentraciones de hexanal en cervezas lager que fueron almacenadas durante 9 meses a 22 °C y durante 60 días a 30 °C.

En lo que concierne a la temperatura de almacenamiento, seis de los compuestos identificados mostraron una mayor área de pico en las cervezas que fueron almacenadas a temperatura ambiente: el DMS, el diacetilo, el isobutirato de etilo, el 2-metilbutirato de etilo, el octanoato de etilo y la γ -nonalactona. La mayoría de estos compuestos, salvo el octanoato de etilo y el DMS, están considerados como indicadores de envejecimiento de la cerveza (Vanderhaegen et al., 2007) en lo cual la temperatura tiene una influencia importante, ya que se ha reportado un incremento de hasta 30 y 56 veces en la velocidad de envejecimiento de la cerveza cuando estas se almacenaron a 50 y 60 °C, respectivamente, en comparación con cervezas almacenadas a temperatura ambiente, la cual osciló entre 20 y 30 °C Li et al. (2015).

El incremento en los niveles de diacetilo durante el almacenamiento y envejecimiento de la cerveza puede ser el resultado de reacciones de Maillard o por la oxidación de la acetoína y el 2,3-butanediol (Bravo et al., 2002; Vanderhaegen et al., 2003), lo cual se ve favorecido por la temperatura y la presencia de oxígeno disuelto (Saison et al., 2010).

Por otra parte, la γ -nonalactona está reportada como un indicador de temperatura en el envejecimiento de la cerveza, ya que la formación de este compuesto puede ser altamente inducida por el calor (Vanderhaegen et al., 2007). De igual forma, se ha reportado que la temperatura favorece la síntesis de 2-metilbutirato de etilo, así como de isobutirato de etilo, pues en un estudio realizado por Vanderhaegen et al. (2003) se mostró un incremento del 70 y 57 %, en el contenido de 2-metilbutirato de etilo, y del 77 y 96 %, en el contenido de isobutirato de etilo, en cervezas pale ale envasadas con aire y CO₂ en el espacio de cabeza, respectivamente, después de un periodo de seis meses de almacenamiento a 40 °C, en comparación con cervezas almacenadas a 20 °C.

10. CONCLUSIONES

- a. Si bien tanto el tiempo como la temperatura de germinación mostraron un efecto negativo en el rendimiento del malteado del maíz azul y rojo de la raza Chalqueño, tuvieron también un efecto positivo en el poder diastásico de las maltas, las cuales, germinadas mediante las condiciones óptimas obtenidas en el presente trabajo, son aptas para ser usadas como malta base en la producción de diversos estilos de cerveza de maíz.
- b. Los tratamientos de estrés por frío aplicados en la germinación del maíz rojo de la raza Chalqueño, podrían tener un efecto positivo en el poder diastásico de las maltas obtenidas; sin embargo, es necesario el desarrollo de un experimento mayor en el que se incluya una mayor cantidad de repeticiones por tratamiento, así como algunas otras variables como el tiempo de exposición ante el agente estresante y la germinación en presencia de iluminación, con el fin de confirmar o descartar esta posibilidad.
- c. El programa de maceración escalonada seleccionado permitió la producción de mostos de maltas de maíz, tanto azul como rojo, con los azúcares

fermentables suficientes para la producción de cervezas con un contenido alcohólico de hasta 7.2 % ABV.

- d. Todos los estilos de cerveza de maíz desarrollados cumplieron con las características fisicoquímicas establecidas en la NOM-199-SCFI-2017. De estos, los dos estilos evaluados por el panel de jueces tuvieron características sensoriales catalogadas como deseables en una cerveza, y de los cinco estilos evaluados hedónicamente, cuatro de ellos estuvieron dentro del agrado de al menos el 50 % de los consumidores.
- e. Tanto el tiempo como la temperatura de almacenamiento de la cerveza de maíz influyeron en el incremento de compuestos como el hexanal, isobutirato de etilo y γ -nonalactona, considerados como compuestos de envejecimiento. Asimismo, estos factores tuvieron un efecto negativo en compuestos como el isobutirato y hexanoato de etilo, los cuales le dan un carácter frutal a las cervezas frescas.

11. REFERENCIAS

- Abdel-Aal, E., -S. M., Young, J. C., Rabalski, I. (2006). Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(13), 4696–4704. <https://doi.org/10.1021/jf0606609>
- Adeniyi, O. O. y Ariwoola, O. S. (2019). Comparative proximate composition of maize (*Zea mays* L.) varieties grown in south-western Nigeria. *International Annals of Science*, 7(1), 1-5. <https://doi.org/10.21467/ias.7.1.1-5>
- Adom, K. K. y Liu, R. H. (2002). Antioxidant activity of grains. *J Agric Food Chem*, 50(21), 6182-6187. <https://doi.org/10.1021/jf0205099>
- Adom, K. K., Sorrells, M. E. y Liu, R. H. (2005). Phytochemical and antioxidant activity of milled fractions of different wheat varieties. *J Agric Food Chem*, (53), 2297-2306. <https://doi.org/10.1021/jf048456d>
- Agama-Acevedo, E., Salinas-Moreno, Y., Pacheco-Vargas, G. y Bello-Pérez, L. A. (2011). Physical and chemical characteristics of blue corn from two races: starch morphology. *Rev Mex De Cienc Agric*, 2(3), 317-329.
- Agu, R. C., Brosnan, J. M., Bringham, T. A., Palmer, G. H. y Jack, F. R. (2007). Influence of corn size distribution on the diastatic power of malted barley and its impact on other malt quality parameters. *J Agric Food Chem*, (55), 3702-3707. <https://doi.org/10.1021/jf0636059>
- Akinuoye, D. B. y Modi, A. T. (2015). Germination characteristics of SC701 maize hybrid according to size and shape at different temperature regimes. *Plant Prod Sci*, 18 (4), 514-521. <https://doi.org/10.1626/pps.18.514>
- Anger, H., Schildbach, S., Harms, D. y Pankoke, K. (2009). Analysis and quality control. En M. E. Hans (Ed.), *Handbook of Brewing* (p 440). Eßlinger H. Wiley-VCH. <https://doi.org/10.1002/9783527623488>
- Aniche, N. G., y Okafor, N. (1989). Studies on the effect of germination time and temperature on malting of rice. *J Inst Brew*, (95), 165-167. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1989.tb04622.x>

- Anon. (1982). Recommended methods of analysis. *Institute of Brewing*, London
- Arellano-Vázquez, J. L., Rojas-Martínez, I., y Gutiérrez-Hernández, G. F. (2014). Varieties of blue maize Chalqueño, selected for multiple characters and yield stability. *Rev Mexicana Cienc Agric*, 5 (8), 1469-1480. <https://doi.org/10.29312/remexca.v5i8.828>
- Arends, A. M., Fox, G. P., Henry, R. J., Marschke, R. J. y Symons, M. H. (1995). Genetic and environmental variation in the diastatic power of Australian barley. *J Cereal Sci*, 21(1), 63-70. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(95\)80009-3](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(95)80009-3)
- ASBC. (2004a). Malt method 6: Diastatic power. En American Society of Brewing Chemists (St. Paul, MN, U.S.A.), *Methods of analysis*.
- ASBC. (2004b). Beer 4-A: Alcohol. En American Society of Brewing Chemists (St. Paul, MN, U.S.A.), *Methods of analysis*.
- ASBC. (2004c). Beer 9: pH (Hydrogen ion concentration). En American Society of Brewing Chemists (St. Paul, MN, U.S.A.), *Methods of analysis*.
- ASBC. (2004d). Beer 8-A: Total acidity. En American Society of Brewing Chemists (St. Paul, MN, U.S.A.), *Methods of analysis*.
- ASBC. (1990). Diastatic Power (Rapid Method). *J Am Soc Brew Chem*, 48(4), 143-145. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-48-0143>
- Awoyinka, O. A. y Adebawo, O. O. (2008). Influence of malting time on α and β -amylases secretion in Nigerian amyolytic maize cultivars. *Afr J Agric Res*, (3), 007-012. <https://doi.org/10.1094/TQ-44-4-0252>
- Baert, J. J., De Clippeleer, J., Hughes, P. S., De Cooman, L. y Aerts, G. (2012). On the origin of free and bound staling aldehydes in beer. *J Agric Food Chem*, (60), 11449-11472. <https://doi.org/10.1021/jf303670z>
- Baldus, M., Biermann, M., Kreuzschner, P., Hutzler, M. y Methner, F. (2018). On the behaviour of dimethyl sulfoxide in the brewing process and its role as dimethyl sulphide precursor in beer. *Brewing Science*, (71), 1-11. <https://doi.org/10.23763/BrSc18-01baldus>

- Bamforth, C. W. (2011). 125th Anniversary review: The non-biological instability of beer. *J Inst Brew*, 117(4), 488-497. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2011.tb00496.x>
- Bamforth, C. W. (2014). Dimethyl sulfide - Significance, origins, and control. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 72(3), 165-168. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2014-0610-01>
- Bareke, T. (2018). Biology of seed development and germination physiology. *Adv Plants Agric Res*, 8(4), 336-346. <https://doi.org/10.15406/apar.2018.08.00335>
- Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W. M. y Nonogaki, H. (2013). *Seeds: Physiology of development, germination and dormancy*, 3rd Edition. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4_5, Springer Science.
- Bello-Pérez, L. A., Camelo-Mendez, G. A., Agama-Acevedo, E. y Utrilla-Coello, R. G. (2016). Nutraceutical aspects of pigmented maize: digestibility of carbohydrates and anthocyanins. *Agrociencia*, (50), 1041-1063. <https://doi.org/10.31883/pjfn/113272>
- BJCP. (2012). *BJCP Study guide, session 2*. https://beermba.com/pdf/2012_Class_Materials_Session2_Handout.pdf
- Boulton, C. A. (2019). Fermentation. En C. Smart (Ed.), *The craft brewing handbook* (pp.112-114). Elsevier Ltd.
- Bravo, A., Sanchez, B., Scherer, E., Herrera, J. y Rangel-Aldao, R. (2002) α -Dicarbonylic compounds as indicators and precursors of flavor deterioration during beer aging. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, (39), 13-23.
- Briggs, D. E., Boulton, C. A., Brookes, P. A. y Stevens, R. (2004). The science of mashing. En: *Brewing: science and practice*, (p.85). Woodhead Publishing
- Caballero-Rothar, N. N., Borrás, L., Gerde, J. A. (2018). Bases bioquímicas de la dureza del grano de maíz. En L. Borrás (Ed), *Manejo de maíz Flint* (p36). Tecnigráfica. Argentina. https://www.dacsa.com/wp-content/uploads/2019/04/LIBRO-3-Manejo-del-ma%C3%ADz-flint_compressed-comprimido.pdf

Cabrera-Soto, M. L., Salinas-Moreno, Y., Velázquez-Cardelas, G. A., Espinosa-Trujillo, E. (2009). Content of soluble and insoluble phenols in the structures of corn grain and their relationship with physical properties. *Agrociencia*, 43 (8), 827-839. <http://www.colpos.mx/agrocien/agrociencia.htm>

Cappaert, L., Larroche, C. (2004). Oxidation of a mixture of 2-(R) and 2-(S)-heptanol to 2-heptanone by *Saccharomyces cerevisiae* in a biphasic system. *Biocatalysis and Biotransformation*, 22 (4), 291-296. <https://doi.org/10.1080/10242420400011992>

Capece, A., Romaniello, R., Siesto, G., Roman, P. (2018). Conventional and non-conventional yeasts in beer production. *Fermentation*, 4 (38), 1-11. <https://doi.org/10.3390/fermentation4020038>

Chaudhary, D. P., Kumar, D., Verma, R. P. S., Langyan, S., Sangwan, S. (2014). Maize malting: retrospect and prospect. En D.P. Chaudhary, S. Kumar, S. Langyan (Eds), *Maize: Nutrition Dynamics and Novel Uses* (pp. 135-140). Springer Link. New Delhi. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-1623-0>

Chávez-López, C., Rossi, C., Maggio, F., Paparella, A., Serio, A. (2020). Changes occurring in spontaneous maize fermentation: an overview. *Fermentation*, 6 (36), 1-25. <https://doi.org/10.3390/fermentation6010036>

Cicerone. (s.f.). *Off-flavors in beer: Their causes and how to avoid them*. https://www.cicerone.org/sites/default/files/resources/off_flavor.pdf

Claver, I. P., Zhang, H., Li, Q., Zhou, H., Zhu, K. (2010). Optimized conditions of steeping and germination and their effect on sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] composition. *Pak. J. Nutr.*, 9 (7), 686-695. <https://doi.org/10.3923/pjn.2010.686.695>

Cobos, D. (2017). ¿Es posible determinar azúcares reductores en vinos por el método Fehling Causse Bonnans, sin utilizar acetato neutro de plomo? *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 49 (1), 197-204. <https://www.redalyc.org/comocitar.oa?id=382852189018>

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). (24 de abril de 2021). *Razas de maíz de México*. <https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/maices/razas-de-maiz>

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). (2 de octubre de 2020). *Chalqueño*. <http://www.biodiversidad.gob.mx:9999/diversidad/alimentos/maices/razas/grupo-conico/chalqueno>

D'Avila, R. F., Luvielmo, M. M., Mendonça, C. R. B., Jantzen, M. M. (2012). Adjuntos utilizados para produção de cerveja: características e aplicações. *Estudos Tecnológicos Em Engenharia*, 8 (2), 60-68. <http://doi.org/10.4013/ete.2012.82.03>

Dabija, A., Ciocan, M. E., Chetrariu, A., Codina, G. G. (2021). Maize and sorghum as raw materials for brewing, a review. *Appl. Sci.*, 11, 3139. <https://doi.org/10.3390/app11073139>

Daenen, L., Saison, D., De Schutter, D., De Cooman, L., Verstrepen, K., Delvaux, F., Derdelinckx, G., Verachtert, H. (2009). Bioflavoring of beer through fermentation, refermentation and plant parts addition. En V. Preedy (Ed.), *Beer in Health and Disease Prevention* (pp. 33-49), Elsevier: Amsterdam. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373891-2.00047-X>

Dahiya, R., Yadav, R. B., Yadav, B. S., Yadav, R. (2018). Quality characteristics of pearl millet malt as affected by steeping temperature and germination period. *Qual. Assur. Saf. Crop. Foods.*, 10 (1), 41-50. <https://doi.org/10.3920/QAS2016.0930>

Datta, R., Selvi, M. T., Seetharama, N., Sharma, R. (1999). Stress-mediated enhancement of β -amylase activity in pearl millet and maize leaves is dependent on light. *Journal of Plant Physiology*, 154 (5-6), 657-664. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(99\)80241-7](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(99)80241-7)

De Freitas-Pestana, I. C. (2013). Lager beer stability during storage at room temperature. [Tesis de maestría], Universidade da Madeira. <https://digituma.uma.pt/bitstream/10400.13/1581/1/MestradoIolandaPestana.pdf>

De Keukeleire, D., Heyerick, A., Huvaere, K., Skibsted, L. H., Andersen, M. L. (2008). Beer lightstruck flavor: The full story. *Cerevisia* 33, 133-144. https://jglobal.jst.go.jp/en/detail?JGLOBAL_ID=200902227182631287

- Deivasigamani, S., Swaminathan, C. (2018). Evaluation of seed test weight on major field crops. *Int. J. Res. Stud. Agric. Sci.*, 4 (1), 8-11. <http://dx.doi.org/10.20431/2454-6224.0401001>
- Dekonick, T. M. L, Mertens, T., Delvaux, F., Delvaux, F. R. (2013). Influence of beer characteristics on yeast refermentation performance during bottle conditioning of Belgian beers. *J Am Soc Brew Chem*, 71, 23-34. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2013-0118-01>
- Derek, J. (2001). Seed germination and reserve mobilization. En *Encyclopaedia of life sciences* (Nature Publishing Group, pp 1-7). <https://doi.org/10.1002/047001590X>
- De Schutter, D. P., Saison, D., Delvaux, F., Derdelinckx, G., Delvaux, F. R. (2009). The chemistry of aging beer. En V. R. Preedy (Ed.), *Beer in health and disease prevention* (pp. 375-388). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-373891-2.x0001-6>
- Diderich, J. A., Weening, S. M., Van den Broek, M., Pronk, J. T., Daran, J-M. G. (2018). Selection of Pof- *Saccharomyces eubayanus* variants for the construction of *S. cerevisiae* × *S. eubayanus* hybrids with reduced 4-vinyl guaiacol formation. *Front. Microbiol.*, 9, 1640. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01640>
- Dreier, W., Schnarrenberger, C., Börner, T. (1995). Light- and stress-dependent enhancement of amylolytic activities in white and green barley leaves: beta-amylases are stress-induced proteins. *J. Plant Physiol.*, 145, 342-348. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81900-0](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81900-0)
- Dufour, J. et al. (2003). Brewing yeasts. En T. Boekhout and V. Robert (Eds), *Yeasts in Food* (pp. 347-388). Behr' s Verlag.
- Dziedzoave, N. T., A. J. Graffham, A. Westby and G. Komlaga. (2010). Comparative assessment of amylolytic and cellulolytic enzyme activity of malts prepared from tropical cereals. *Food Control*, 21, 1349-1353. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.04.008>
- Eburuche, O. B., Attaugwu, R. N., Ufondu, H. E. (2019). Composition and hardness of malting red and white kaffir sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] dried under the sun. *J Food Sci Technol*, 56 (7), 3513-3523. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03843-1>

- Ellis R. H. (2007). The encyclopedia of seeds: science, technology and uses. *Annals of Botany*, 100 (6), 1379. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm225>
- Eneje, L. O., Ogu, E. O., Aloh, C. U., Odibo, F. J., Agu, R. C., Palmer, G. H. (2004). Effect of steeping and germination time on malting performance of Nigerian white and yellow maize varieties. *Process Biochem*, 39, 1013-1016. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00202-4](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00202-4)
- Ennen, R., Jeschke, M. (2020). Soil temperature and corn emergence. Agronomy Research Summary. *Corteva Agriscience*. 28-32. https://www.pioneer.com/us/agronomy/soil_temp_corn_emergence.html
- Erten, H., Tanguer, H., Cakiroz, H. (2007). The effect of pitching rate on fermentation and flavour compounds in high gravity brewing. *J. Inst. Brew*, 113, 75-79. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2007.tb00259.x>
- Evangelista- Oliveira, G., Garcia-Von Pinho, R., de Andrade, T., de Resende-Von Pinho, E. V., Santos, Donizete-dos Santos, C., Delly-Veiga, A. (2013). Physiological quality and amylase enzyme expression in maize seeds. *Ciência e Agrotecnologia*, 37 (1), 40-48. <https://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542013000100005>
- Evans, D. E. (2008). A more cost- and labor-efficient assay for the combined measurement of the diastatic power enzymes β -amylase, α -amylase, and limit dextrinase. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 66 (4), 215-222. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2008-0909-01>
- Evans, C. E., Monday, O. A. (2009). Predicting α -amylase yield and malt quality of some sprouting cereals using 2nd order polynomial model. *Afr. J. Biochem. Res.*, 3 (8), 288-292. <https://doi.org/10.5897/AJBR.9000190>
- Food Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2021). Online Edition: "*Specifications for Flavourings*". <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/jecfa-flav/details/en/c/268/>
- FAOSTAT. (2021). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 17-02-21. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/FBS>

- Farber, M. Barth, R. (2019). Raw Materials: Malt. En *Mastering Brewing Science: Quality and Production* (p. 146). John Wiley & Sons Inc.
- Farzaneh, V., Ghodsvali, A., Bakhshabadi, H., Zare, Z., Carvalho, I. S. (2017). The impact of germination time on some selected parameters through malting process. *Int. J. Biol. Macromol.* 94, 663-668. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.052>
- Ferreira, V., Lopez, R., Cacho, J. F. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *J Sci Food Agric*, 80 (11), 1659-1667. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20000901\)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20000901)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6)
- Flora, L. F., Wiley, R. C. (1974). Sweet corn aroma, chemical components and relative importance in the overall flavor response. *Journal of Food Science*, 39 (4), 770-773. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1974.tb17976.x>
- Flores-Calderón, A. M., Luna, D., H., Escalona-Buendía, H. B., Verde-Calvo, J. R. (2017). Chemical characterization and antioxidant capacity in blue corn (*Zea mays* L.) malt beers. *J. Inst. Brew.*, 123, 506-518. <https://doi.org/10.1002/jib.444>
- Franco, O. L., Rigden, D. J., Melo, F. R., Grossi-De-Sá, M. F. (2002). Plant α -amylase inhibitors and their interaction with insect α -amylases. *European Journal of Biochemistry*, 269, 397-412. <https://doi.org/10.1046/j.0014-2956.2001.02656.x>
- Gamero, A., Ferreira, V., Pretorius, I. S., Querol, A. (2014). Wine, beer, and cider: unravelling the aroma profile. En J. Piškur y C. Compagno (eds.), *Molecular mechanisms in yeast carbon metabolism* (p. 261). Springer-Verlag Berlin Heidelberg). https://doi.org/10.1007/978-3-642-55013-3_10, 2014
- García, A. I., García, L. A., Díaz, M. (1994). Modelling of diacetyl production during beer fermentation. *J. Inst. Brew.*, 100, 179-183. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1994.tb00819.x>
- Garoma, B., T. Chibsa, T. Keno and Y. Denbi. (2017). Effect of storage period on seed germination of different maize. *J Nat Sci Res*, 7 (4), 2224-3186.
- Gear, J. R. (2006). El cultivo del maíz en la Argentina. En ILSI Argentina (Ed.), *Maíz y nutrición* (Vol. II, p.4). ILSI Argentina.

Gijs, L., Chevance, F., Jerkovic, V., Collin, S. (2002). How low pH can intensify β -damascenone and dimethyl trisulfide production through beer aging. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 5612-5616. <https://doi.org/10.1021/jf020563p>

Giusti, M., Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. En *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* F1.2.1-F1.2.13. John Wiley & Sons, Inc.

Grain Research & Development Corporation (GRDC). (2016). *Wheat: Plant growth and physiology*. p1-9.

Gresser, A. (2009). Stability of beer. En M. E. Hans (Ed), *Handbook of Brewing* (pp. 399-436). Eßlinger H. Wiley-VCH, Germany. <https://doi.org/10.1002/9783527623488>

Guido, L. F., Moreira, M.M. (2014). Malting. En R. de P. Ferreira-Guiné y P. M. dos Reis Correia (Eds), *Engineering Aspects of Cereal and Cereal-Based Products* (pp.52-53) Taylor and Francis Group. <https://doi.org/10.1201/b15246>

Györi, Z. (2017). Corn: grain-quality characteristics and management of quality requirements. En C. Wrigley (Ed.), *Cereal grains* (2a Ed, pp.257-289). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.15406/mojfpt.2017.04.00101>

Harlan, J. R., Wet, M. J. (1971). Toward a rational classification of cultivated plants. *Journal of the International Association for Plant Taxonomy*, 20 (4), 509-517. <https://doi.org/10.2307/1218252>

Harrison, M. A., Albanese Jr, J. B. (2017). Beer/Brewing. En *Encyclopedia of microbiology* (4a Ed, p. 467). Elsevier Inc.

Hatfield, J. L., Prueger, J. H. (2015). Temperature extremes: Effect on plant growth and development. *Weather and Climate Extremes*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wace.2015.08.001>

Hazelwood, L. A., Darán, J. M., van Maris, A. J. (2008). The Ehrlich pathway for fusel alcohol production: a century of research on *Saccharomyces cerevisiae* metabolism. *Appl Environ Microb*, 74, 2259-2266. <https://doi.org/10.1128/AEM.02625-07>

Helland, M. H., Wicklund, T., Narvhus, J. A. (2002). Effect of germination time on alpha-amylase production and viscosity of maize porridge. *Food Res Int*, 35 (2002), 315-321. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00202-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00202-2)

Henry, R. J. (1984). A rapid method for the determination of diastatic power. *J Inst Brew*, 90, 37-39. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1984.tb04230.x>

Hiralal, L., Olaniran, A. O., Pillay, B. (2013). Aroma-active ester profile of ale beer produced under different fermentation and nutritional conditions. *J. Biosci. Bioeng.*, 117, 57-64. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2013.06.002>

Hiralal, L., Pillay, B., Olaniran, A. O. (2014). Stability profile of flavour-active ester compounds in ale and lager beer during storage. *Afr. J. Biotechnol.*, 12 (5), 491-498. <https://doi.org/10.5897/AJB12.1965>

Hill, P. (2003). Keeping the flavour wheel turning-the development of a flavour stability wheel. En *Proceedings of the 29th Congress of the European Brewery Convention* (pp 75, 1-5), Fachverlag Hans Carl: Nürnberg.

Holbrook, C. J. (2019). Brewhouse operations. En: C. Smart (ed.), *The craft brewing handbook* (p.72). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102079-1.00003-5>

Holt, S., Miks, M. H., de Carvalho, B. T., Foulquié-Moreno, M. R., Thevelein, J. M. (2018). The molecular biology of fruity and floral aromas in beer and other alcoholic beverages. *FEMS Microbiology Reviews*, 43, 193-222. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy041>

Home, S., Sharpe, R. (2007). Revision of EBC Method 4.12 for Diastatic Power. *European Brewery Convention*, 113 (3), 337. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2007.tb00294.x>

Hortelano-Santa Rosa, R., Gil-Muñoz, A., Santacruz-Varela, A., López-Sánchez, H., López, P. A., Miranda-Colín, S. (2012). Phenotypic diversity of maize landraces from the central-eastern highland plateau of Puebla state, Mexico. *Rev. Fitotec. Mex.*, 35 (2), 97-109.

Iwouno, J. O., Ojukwu, M. (2012). Effects of experimental variables on the malting quality of Nigerian yellow maize (*Zea mayz*), farz 27 variety. *African Journal of Food Science and Technology*, 3, 252-259.

Jaskula-Goiris, B., De Causmaecker, B., De Rouck, G., Aerts, G., Paternoster, A., Braet, J., De Cooman, L. (2019). Influence of transport and storage conditions on beer quality and flavour stability. *J. Inst. Brew.*, 125, 60-68. <https://doi.org/10.1002/jib.535>

Jurd, L., Asen, S. (1966). The formation of metal and “co-pigment” complexes of cyanidin 3-glucoside. *Phytochemistry*, 5, 1263-1271. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)86122-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86122-1)

Kader, A.A. (2008). Flavor quality of fruits and vegetables. *J. Sci. Food Agric.*, 88, 1863-1868. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3293>

Kaplan, F., Yul Sung, D., Guy, C. L. (2006). Roles of β -amylase and starch breakdown during temperatures stress. *Physiologia Plantarum*, 126, 120-128. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00604.x>

Kling, J. (2012). Maize. En G. Oliver (Ed.), *The Oxford companion to beer* (p.559). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acref/9780195367133.001.0001>

Kobayashi, M., Nagahisa, K., Shimizu, H., Shioya, S. (2006) Simultaneous control of apparent extract and volatile compounds concentrations in low-malt beer fermentation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 73,549-558. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0516-1>

Krogerus, K., Gibson, B. R. (2013). Influence of valine and other amino acids on total diacetyl and 2,3-pentanedione levels during fermentation of brewer's wort. *Appl Microbiol Biotechnol*, 97,6919-30. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4955-1>

Krottenthaler, M., Back, W., Zarnkow, M. (2009). Wort production. En M. E. Hans (Ed.), *Handbook of Brewing* (p 169). Eßlinger H. Wiley-VCH. <https://doi.org/10.1002/9783527623488>

Kucharczyk, K., Żyła, K., Tuszyński, T. (2020). Volatile esters and fusel alcohol concentrations in beer optimized by modulation of main fermentation parameters in an industrial plant. *Processes*, 8, 769. <https://doi.org/10.3390/pr8070769>

Kumar, A. A. (2019). Impact of yeast strain and fermentation on perceived hop flavour in beer [Tesis de maestría]. University of Otago, Dunedin New Zealand.

<https://ourarchive.otago.ac.nz/bitstream/handle/10523/9968/KUMARASHLYAK2019MSc.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Landaud, S., Latrille, E., Corrieu, G. (2001). Top pressure and temperature control the fusel alcohol/ ester ratio through yeast growth in beer fermentation. *J Inst Brew*, 107, 107-117. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2001.tb00083.x>

Lang, A. (4 de marzo de 2020). *How much sugar is in beer?* <https://www.healthline.com/nutrition/how-much-sugar-in-beer>

Lekjing, S., Venkatachalam, K. (2020). Effects of germination time and kilning temperature on the malting characteristics, biochemical and structural properties of HomChaiya rice. *RSC Adv.*, 10, 16254-16265. <https://doi.org/10.1039/d0ra01165g>

Lewis, M. J., Young, T. W. (2001). *Brewing*. Springer Science. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0729-1_1

Li, H., Liu, F., He, X., Cui, Y., Hao, J. (2015). A study on kinetics of beer ageing and development of methods for predicting the time to detection of flavour changes in beer. *J. Inst. Brew.*, 121, 38-43. <https://doi.org/10.1002/jib.194>

Liger-Belair, G. (2016). Wines: Champagne and sparkling wines—production and effervescence. En B. Caballero, P. Finglas, F. Toldra (Eds), *Encyclopedia of Food and Health* (1st ed, pp. 526-533). Elsevier: Amsterdam. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00755-8>

Looseley, M. O., M. Bayer, H. Bull, L. Ramsay, W. Thomas, A. Booth, C. De La Fuente-Canto, J. Morris, P. E. Hedley, J. Russell. (2017). Association mapping of diastatic power in UK winter and spring barley by exome sequencing of phenotypically contrasting variety sets. *Front Plant Sci*, 8, 1566. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01566>

Lopez, S., Bermudez, B., Pacheco, Y. M., Ortega, A., Varela, L. M., Abia, R., Muriana, F. J. G. (2010). *Oleic Acid. Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, 1385-1393. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-374420-3.00154-6>

- Loscos, N., Hernandez-Orte, P., Cacho, J. (2007). Release and formation of varietal aroma compounds during alcoholic fermentation from nonfloral grape odorless flavor precursors fractions. *J Agr Food Chem*, 55, 6674-6684. <https://doi.org/10.1021/jf0702343>
- MacLeod, L., Evans, E. (2016). Malting. En *Food Science* (p1-11). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00153-0>
- Malfliet, S., Van Opstaele, F., De Clippeleer, J., Stryn1, E. (2008). Flavour instability of pale lager beers: Determination of analytical markers in relation to sensory ageing. *J. Inst. Brew.*, 114 (2), 180-192. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2008.tb00324.x>
- Martins, C., Brandão, T., Almeida, A., Rocha, S. M. (2020). Enlarging knowledge on lager beer volatile metabolites using multidimensional gas chromatography. *Foods*, 9, 1276. <https://doi.org/10.3390/foods9091276>
- Mastanjević, K., Krstanović, V., Lukinac, J., Jukić, M., Vulin, Z. (2018). Beer-The importance of colloidal stability (non-biological haze). *Fermentation*, 4 (91). <https://doi.org/10.3390/fermentation4040091>
- Meilgaard, M. C. (1982). Prediction of flavor differences between beers from their chemical composition. *J Agr Food Chem*, 30,1009-1017. <https://doi.org/10.1021/jf00114a002>
- Meußdoerffer, F. and M. Zarnkow. (2009). Starchy raw materials. En M. E. Hans (ed), *Handbook of Brewing* (pp. 43-84). Eßlinger H. Wiley-VCH. <https://doi.org/10.1002/9783527623488>
- Miller, G. H. (2019). *Whisky science*. Springer Nature Switzerland. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-13732-8>
- Mosher, M., Trantham, K. (2017). *Brewing science: a multidisciplinary approach*. Springer International Publishing Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-319-46394-0_1
- Mu-Forster, C., Wasseman, B. P. (1998). Surface localization of zein storage proteins in starch granules from maize endosperm. Proteolytic removal of thermolysin and in vitro cross-linking of granule-associated polypeptides. *Plant Physiol.*, 116,1563-1571. <https://doi.org/10.1104/pp.116.4.1563>

Nasreen, S., Khan, B. R., Mohmad, A. S. (2000). The effect of storage temperature, storage period and seed moisture content on seed viability of soya bean. *Pak J Biol Sci*, 3 (12), 2003-2004. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2000.2003.2004>

NCSS 2020 Statistical Software (2020). NCSS, LLC. Kaysville, Utah, USA, [ncss.com/software/ncss](https://www.ncss.com/software/ncss).

Ndife, J., Nwokedi, C. U., Ugwuona, F. U. (2019). Optimization of malting and saccharification in the production of malt beverage from maize. *Nigerian Journal of Agriculture, Food and Environment*, 15 (1), 134-141.

Neven, H., Delvaux, F., Derdelinckx, G. (1997). Flavor evolution of top fermented beers. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.*, 34, 115-118.

Nievas, W., Villarreal, P., Rosati, A., Rodríguez, A., Lago, J. (2021). El cultivo del lúpulo. Inta Ediciones. 83 pp. https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_el_cultivo_del_lupulo.pdf

Norma Oficial Mexicana NOM-116-SSA1-1994. (1995). Bienes y servicios. Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. Método por arena o gasa. Diario Oficial de la Federación. México.

Norma Oficial Mexicana NMX-F-613-NORMEX-2017. (2018) Alimentos-determinación de fibra cruda en alimentos-método de prueba. Diario Oficial de la Federación. México.

Norma Oficial Mexicana NMX-F-608-NORMEX-2011. (2011). Alimentos-determinación de proteínas en alimentos-método de ensayo. Diario Oficial de la Federación. México.

Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994. (2011). Bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Diario Oficial de la Federación. México.

Norma Oficial Mexicana NMX-F-607-NORMEX-2013. (2013). Alimentos-determinación de cenizas en alimentos-método de prueba. Diario Oficial de la Federación. México.

Norma Oficial Mexicana NOM-199-SCFI-2017. (2017). Bebidas alcohólicas-Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. Diario Oficial de la Federación. México.

- Odo, M., P. Okorie, O. Ikegwu and M. Kalu. (2016). Malting potentials of hybrid and local varieties of rice. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences*, 4 (3), 146-151.
- Olugbile, A. O., Abadina, A. O., Atanda, A. O., Omemu, O. B., Olatope, S. O. A. (2015). Physicochemical changes and diastatic activity associated with germination of 'Boromo', a paddy rice variety from western Nigeria. *J. Food Process. Preserv.*, 39, 116-122. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12211>
- Ore, G., Minrov, M., Shootov, A. (2018). Design and production of maize beer. *MOJ Food Process Technol.*, 6 (1), 78-87. <https://doi.org/10.15406/mojfpt.2018.06.00148>
- Oxford Lexico. (2021). Diccionario de inglés y español, sinónimos y traductor de español a inglés. <https://www.lexico.com/definicion/acrospire>
- Oxford Learner's Dictionary. (2021). Online edition. Oxford University Press. <https://www.oxfordlearnersdictionaries.com/us/definicion/english/maize>
- Pahl, R. (Abril 14-17, 2015). *Beer Turbidity: Reasons, Analytics and Avoidance*. Craftbrewers conference. Portland, Oregon, USA. https://www.craftbrewersconference.com/wpcontent/uploads/2015_presentations/R1320_Roland_Pahl.pdf
- Palmer, J. J. (2006). *How to brew* (3a ed). Brewers Publications.
- Peña-Betancourt, S. D., Gutiérrez-Tolentino, R., Schettino, B. (2017). Proximate composition, fatty acid profile and mycotoxin contamination in several varieties of Mexican maize. *Food Nutr Sci.*, 8, 865-872. <https://doi.org/10.4236/fns.2017.89062>
- Perales, H. R. (2009). Maíz, riqueza de México. *Ciencias*, 93, 46-55. <https://www.redalyc.org/pdf/644/64412119008.pdf>
- Pietruszka, M., Haduch-Sendecka, A. (2016). Effective diffusion rates and cross-correlation analysis of "acid growth" data. *Acta Physiol Plant*, 38, 53. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2068-z>

- Pires, E. J., Teixeira, J. A., Brányik, T., Vicente, A. A. (2014). Yeast: The soul of beer's aroma—A review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 98, 1937-1949. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5470-0>
- Pires, E. J., Teixeira, J. A., Branyik, T. (2015). Continuous beer fermentation- diacetyl as a villain. *J Inst Brew*, 121, 55-61. <https://doi.org/10.1002/jib.205>
- Pires, E. J., Branyik, T. (2015). Biochemistry of beer fermentation. Springer. 80 pp. https://doi.org/10.1007/978-3-319-15189-2_1
- Preet, E. (2001). *Corn truly staff of line in America*. *South Florida SunSentinel*. <https://www.sun-sentinel.com/news/fl-xpm-2001-07-19-0107170244-story.html>
- Procopio, S., Qian, F., Becker, T. (2011). Function and regulation of yeast genes involved in higher alcohol and ester metabolism during beverage fermentation. *Eur. Food Res. Technol.*, 233, 721-729. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1567-9>
- Połeć, K., Broniatowski, M., Wydro, P., Hąc-Wydro, K. (2020). The impact of β -myrcene – the main component of the hop essential oil – on the lipid films. *Journal of Molecular Liquids*, 308, 113028. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113028>
- Poreda, A., Czarnik, A., Zdaniewicz, M., Jakubowski, M., Antkiewicz, P. (2014). Corn grist adjunct - application and influence on the brewing process and beer quality. *J Inst Brew*, 120, 77-81. <https://doi.org/10.1002/jib.115>
- National Center for Biotechnology Information. (2021). PubChem Compound Summary for CID 7910, *4-Methyl-2-pentanol*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Methyl-2-pentanol>.
- Quint, M., Delker, C., Franklin, K. A., Wigge, P. A., Halliday, K. J., van Zanten, M. (2016). Molecular and genetic control of plant thermomorphogenesis. *Nat. Plants*, 2, 15190. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.190>
- Ramdath, D. D., Zhan-HuI, L., Maharaj, P. L., Winberg, J., Brummer, Y., Hawke, A. (2020). Proximate analysis and nutritional evaluation of twenty Canadian lentils by principal component and cluster analyses. *Foods*, 9 (175), 1-16. <https://doi.org/10.3390/foods9020175>

Ranum, P., Pena-Rosas, J. P., Garcia-Casal, M. N. (2014). Global maize production, utilization, and consumption. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1312 (1), 105-112. <https://doi.org/10.1111/nyas.12396>

Ribeiro Jr, G. O., Swift, M. L., McAllister, T. A. (2016). Effect of diastatic power and processing index on the feed value of barley grain for finishing feedlot cattle. *J Anim Sci*, 94 (8), 3370-3381. <https://doi.org/10.2527/jas2015-0068>.

Riemenschneider, W., Bolt, H. M. (2000). *Esters, organic*. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. <https://doi.org/10.1002/14356007>

Robutti, J. L., Hosene, R. C., Deyoe, C. W. (1973). Modified opaque-2 corn endosperms. I. Protein distribution and amino acid composition. *Cereal Science*, 9, 303. https://www.cerealsgrains.org/publications/cc/backissues/1974/Documents/chem51_163.pdf

Rocandio-Rodríguez, M., Santacruz-Varela, A., Córdova-Téllez, L., López-Sánchez, H., Castillo-González, F., Lobato-Ortiz, R., García-Zavala, J. J., Ortega-Paczka, R. (2014). Morphological and agronomic characterization of seven maize races from the highlands of Mexico. *Rev Fitotec Mex*, 37 (4), 351-361.

Romero-Medina, M. A., Estarrón-Espinosa, M., Verde-Calvo, J. R., Lelièvre-Desmas, M., Escalona-Buendía, H. B. (2020). Renewing traditions: A sensory and chemical characterisation of Mexican pigmented corn beers. *Foods*, 9, 886. <https://doi.org/10.3390/foods9070886>

Romero-Medina, M. A., Estarrón-Espinosa, M., Verde-Calvo, J. R., Lelièvre-Desmas, M., Escalona-Buendía, H. B. (2021). Pigmented corn for brewing purpose: From grains to malt, a study of volatile composition. *Journal of Food Processing and Preservation*. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16057>

s.a. (29 de octubre de 2019). *Alcohol percentage in beer: a simple guide*. <https://www.beersofeurope.co.uk/news/guides-and-facts/alcohol-percentage-in-beer-a-simple-guide>

Saba, S. J., Kamal, S. A., Sadegh, M., Avishan, T. T., Alireza, G. (2014). Effects of elevated temperatures on seed germination and seedling growth in three medicinal plants. *Int. J. Agric. Crop Sci.*, 7 (4), 173-177

Saerens, S. M. G., Verbelen, P. J., Vanbeneden, N., Thevelein, J. M., Delvaux, F. R. (2008). Monitoring the influence of high-gravity brewing and fermentation temperature on flavour formation by analysis of gene expression levels in brewing yeast. *Applied microbiology and biotechnology*, 80 (6), 1039-1051. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1645-5>

Saison, D., De Schutter, D., Vanbeneden, N., Daenen, L., Delvaux, F., Delvaux, F. R. (2010). Decrease of aged beer aroma by the reducing activity of brewing yeast. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 3107-3115. <https://doi.org/10.1021/jf9037387>

Salinas-Moreno, Y., García-Salinas, C., Coutiño-Estrada, B., Vidal-Martínez, V. A. (2013). Content and type variability of anthocyanins in blue/purple colored grains of Mexican maize populations. *Rev. Fitotec. Mex.*, 36 (3-A), 285-294.

Sánchez-Madrigal, M. A., Meléndez-Pizarro, C. O., Martínez-Bustos, F., Ruiz-Gutiérrez, M. G., Quintero-Ramos, A., Márquez-Meléndez, R., Lardizábal-Gutiérrez, D., Campos-Venegas, K. (2014). Structural, functional, thermal, and rheological properties of nixtamalised and extruded blue maize (*Zea mays* L.) flour with different calcium sources. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 49, 578-586.

Sánchez-Rodríguez, G. (2016). Historia, usos y futuro del mayor invento mesoamericano: el maíz. *Culinaria*, 12, 22-38. http://web.uaemex.mx/Culinaria/doce_ne/pdf_culinaria_doce/historia_maiz_culinaria_uae_mex.pdf

Sandhu, J. S. (2014). Foreword. En D. P. Chaudhary, S. Kumar, and S. Langyan (Eds.), *Maize: Nutrition dynamics and novel uses* (p. V). Springer India. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-1623-0>.

Sangwan, S., Kumar, S., Goyal, S. (2014). Maize utilisation in food bioprocessing: an overview. En D.P. Chaudhary, S. Kumar, S. Langyan (Eds), *Maize: Nutrition Dynamics and Novel Uses* (pp.66-67). Springer Link. New Delhi. https://doi.org/10.1007/978-81-322-1623-0_10, # Springer India 2014

Serna-Saldívar, S. O., García-Lara, S., Gutiérrez-Urbe, J. A. (2011). Perfil fitoquímico y propiedades nutraceuticas de maíces pigmentados y sus tortillas. En R. E. Preciado-Ortiz, S. Montes-Hernández (Eds), *Amplitud, Mejoramiento, Usos y Riesgos de la Diversidad Genética de Maíz en México* (pp. 75-96). Sociedad Mexicana de Fitogenética AC, Chapingo, Estado de México, México.

Serratos, J. A. (2009). *El origen y la diversidad del maíz en el continente americano*. Universidad Autónoma de la Ciudad de México. <https://wayback.archive-it.org/9650/20200409185646/http://p3raw.greenpeace.org/mexico/Global/mexico/report/2012/9/GPORIGENMAIZ%20final%20web.pdf>

Shellhammer, T. H., Bamforth, C. W. (2008). Assessing color quality of beer. *ACS Symposium Series*, 192–202. <https://sci-hub.se/10.1021/bk-2008-0983.ch015>

Silva-Neta, I. C., Pinho, E. V., Veiga, A. D., Pinho, R. G., Guimarães, R. M., Caixeta, F., Santos, H. O., Marques, T. L. (2015). Expression of genes related to tolerance to low temperature for maize seed germination. *Genetics and Molecular Research*, 14 (1), 2674-2690. <https://doi.org/10.4238/2015.March.30.28>

Silva-Ferreira, C., Bodart, E., Collin, S. (2019). Why craft brewers should be advised to use bottle refermentation to improve late-hopped beer stability. *Beverages*, 5 (2), 39. <https://doi.org/10.3390/beverages5020039>

Singh, T., Bains, G. S. (1984). Malting of corn: effect of variety, germination, gibberellic acid, and alkali pretreatments. *J. Agric. Food Chem.*, 32, 346-348. <https://doi.org/10.1021/jf00122a041>

Singh, N., Singh, S., Shevkani, K. (2011). Maize: composition, bioactive constituents, and unleavened bread. En V. R. Preedy, R. R. Watson, V. B. Patel (Eds.), *Flour and breads and their fortification in health disease prevention* (pp.89-99). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-380886-8.10009-1>

Singh N, Kaur A, Shevkani K. (2014). Maize: Grain structure, Composition, Milling, and Starch characteristics. En D.P. Chaudhary, S. Kumar, S. Langyan (Eds), *Maize: Nutrition Dynamics and Novel Uses* (pp.65-76). Springer Link. New Delhi. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-1623-0>

- Stark, A. H., Crawford, M. A., Reifen, R. (2008). Update on alpha-linolenic acid. *Nutrition Reviews*, 66 (6), 326-332. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2008.00040.x>
- Steiner, E., Becker, T., Gastl, M. (2010). Turbidity and haze formation in beer –Insights and overview. *J Inst Brew*, 116 (4), 360-368. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2010.tb00787.x>
- Steiner, E., Auer, A., Becker, T., Gastl, M. (2012). Comparison of beer quality attributes between beers brewed with 100% barley malt and 100% barley raw material. *J. Sci. Food Agric.*, 92, 803-813. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4651>
- Stewart, G. G. (2016). *Saccharomyces* species in the production of beer. *Beverages*, 2, 34. <https://doi.org/10.3390/beverages2040034>
- Sulewska, H., Śmiatacz, K., Szymańska, G., Panasiewicz, K., Bandurska, H., Głowicka-Wołoszyn, R. (2014). Seed size effect on yield quantity and quality of maize (*Zea mays L.*) cultivated in South East Baltic region. *Zemdirbyste*, 101 (1), 35-40. <https://doi.org/10.13080/z-a.2014.101.005>
- Sung, D. Y. (2001). Characterization of Arabidopsis heat shock protein 70 (Hsp70) gene family and microarray analysis of gene expression in response to temperature extremes. [Ph.D. dissertation]. University of Florida, Gainesville. <http://etd.fcla.edu/UF/UFE0000356/DongyulSung-PhD-dissertation-final-edited.pdf>
- Surendran, S., Qassadi, F., Surendran, G., Lilley, D., Heinrich, M. (2021). Myrcene—What are the potential health benefits of this flavouring and aroma agent? *Front. Nutr.*, 8, 699666. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.699666>
- Suzuki, M., Wanikawa, A., Kono, K., Shibata, K. (2006). *Factors affecting the formation of gamma-nonolactone and its contribution to the flavor and aroma of aging beer*. In Institute of Brewing and Distilling Meeting – Asia Pacific Section. Available from: www.ibdasiapac.com.au/asia-pacific.../Suzuki%20Miho%20Paper.pdf
- Taylor, J.R.N., Dlamini, B.C., Kruger, J. (2013). 125th Anniversary Review: The science of the tropical cereals sorghum, maize and rice in relation to lager beer brewing. *J Inst Brew*, 119, 1-14. <https://doi.org/10.1002/jib.68>

Tenge, C. (2009). Yeast. En M. E. Hans (ed), *Handbook of Brewing* (pp. 117-136). Eßlinger H. Wiley-VCH, Germany. <https://doi.org/10.1002/9783527623488>

Tester, R. F., Karkalas, J., Qi, X. (2004). Starch composition, fine structure, and architecture (Review). *J Cereal Sci*, 39, 151-165. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2003.12.001>

Tokpohozin, S. E., Fischer, S., Becker, T. (2019). Selection of a new *Saccharomyces* yeast to enhance relevant sorghum beer aroma components, higher alcohols and esters. *Food Microbiol.*, 83, 181-186. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.05.014>

Trainor, G. 09-09-21 (10 de enero de 2017). Malt quality parameters for barley. *Department of Primary Industries and Regional Development*. <https://www.agric.wa.gov.au/barley/malt-quality-parameters-malting-barley>

Tsuji, H., Mizuno, A. (2010). Volatile compounds and the changes in their concentration levels during storage in beers containing varying malt concentrations. *Journal of Food Science*, 75 (1), 79-84. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01428.x>

Urbina, K., Villareal, P., Nespolo, R. F., Salazar, R., Santander, R., Cubillos, F. A. (2020). Volatile compound screening using HS-SPME-GC/MS on *Saccharomyces eubayanus* strains under low-temperature pilsner wort fermentation. *Microorganisms*, 8, 755. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050755>

Valero, E., Moyano, L., Millan, M. C., Medina, M., Ortega, J. M. (2002). Higher alcohols and esters production by *Saccharomyces cerevisiae*. Influence of the initial oxygenation of the grape must. *Food Chem*, 78, 57-61. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00361-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00361-2)

Vancetovic, J., Zilic, S., Bozinovic, S., and Ignjatovic-Micic, D. (2014). Simulating of Top-Cross system for enhancement of antioxidants in maize grain. *Span. J. Agric. Res.*, 12 (2), 467-476. <http://doi.org/10.5424/sjar/2014122-5222>

Vanderhaegen, B., Neven, H., Coghe, S., Verstrepen, K. J., Derdelinckx, G., Verachtert, H. (2002). Bioflavoring and beer refermentation. *Appl Microbiol Biotechnol*, 62, 140-150. <http://doi.org/10.1007/s00253-003-1340-5>

Vanderhaegen, B., Neven, H., Coghe, S., Verstrepen, K., Verachtert, H., Derdelinckx, G. (2003). Evolution of chemical and sensory properties during aging of top-fermented beer. *J. Agric. Food Chem.*, *51*, 6782-6790. <https://doi.org/10.1021/jf034631z>

Vanderhaegen, B., Neven, H., Verstrepen, K. J., Delvaux, F. R., Verachtert, H., Derdelinckx, G. (2004). Influence of the brewing process on furfuryl ethyl ether formation during beer aging. *J. Agric. Food Chem.*, *52*, 6755-6764. <https://doi.org/10.1021/jf0490854>

Vanderhaegen, B., Neven, H., Verachtert, H., Derdelinckx, G. (2007). The chemistry of beer aging – a critical review. *Food Chemistry*, *95*, 357-381. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.006>

Verde-Calvo, J. R., Escalona-Buendía, H. B., Cruz-Rodríguez, N. N., Romero-Medina, M. A. (2019). Proceso para la elaboración de cerveza antioxidante a base de maíz malteado azul y rojo. Mexico Patent 365910, 13 June 2019.

Vidgren, V., Huuskonen, A., Virtanen, H., Ruohonen, L., Londesborough, J. (2009). Improved fermentation performance of a lager yeast after repair of its AGT1 maltose and maltotriose transporter genes. *Appl. Environ. Microbiol.*, *75*, 2333-2345. <https://doi.org/10.1128/AEM.01558-08>

Vinje, M. A., Duke, S. H., Henson, C. A. (2015). Comparison of Factors Involved in Starch Degradation in Barley Germination Under Laboratory and Malting Conditions. *J Am Soc Brew Chem*, *73* (2), 195-205. <http://doi.org/10.1094/ASBCJ-2015-0318-01>

Vielle-Calzada, J. P., Padilla, J. (2009). The Mexican landraces: description, classification and diversity. En *Handbook of maize: its biology* (pp. 543-561). Springer. http://doi.org/10.1007/978-0-387-79418-1_27.

Walker, M. D., Simpson, W. J. (1993). Production of volatile sulphur compounds by ale and lager brewing strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *Letters in Applied Microbiology*, *16*, 40-43. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1993.tb01368.x>

Wellhausen, E. J., Roberts, L. M., Hernández, E., Mangelsdorf, P. C. (1951). *Razas de maíz en México, su origen, características y distribución*. Secretaría de Agricultura y Ganadería del Distrito Federal.

https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/50301000/Races_of_Maize/Raza_Mexico_0_Book.pdf

Williams, R. S., Wagner, H. P. (1978). The isolation and identification of new staling related compounds from beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 36, 27-31. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-36-0027>

Williams, R. S., Wagner, H. P. (1979). Contribution of hop bitter substances to beer staling mechanisms. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 37 (1), 13-19. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-37-0013>

Yao, Y., Xin, M., Ni, Z., & Sun, Q. (2020). Importance of small RNA in plant seed germination. *Plant Small RNA*, 117–123. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817112-7.00006-7>

Zakeyeldinn, E. A., Mustafa, M. A., Jinghua, C., Zenda, T. (2018). Germination of corn (*Zea Mays L.*) cultivars seed and its relationship to field performance under semi-arid conditions. *IOSR J Agric Vet Sci*, 11 (6), 32-40. <https://doi.org/10.9790/2380-1106023240>

Zarnkow, M. (2014). Beer. *Encyclopedia of Food Microbiology*, 209-215. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384730-0.00393-1>

Zhao, X., Corrales, M., Zhang, C., Hu, X., Ma, Y., Tauscher, B. (2008). Composition and thermal stability of anthocyanins from Chinese purple corn (*Zea mays L.*). *J. Agric. Food Chem.* 56, 10761-10766. <https://doi.org/10.1021/jf8025056>

12. ANEXOS

12.1. Formato empleado para la prueba hedónica de las cervezas.



Género: Mujer Hombre **Edad:**

¿Qué tipo de cervezas consume normalmente?

- a) Industrial b) Artesanal c) Ambas

INSTRUCCIONES: En la muestra de cerveza que se le presenta, califique su nivel de agrado marcando en la barra la casilla que mejor lo describa.

a) **¿Cómo calificaría su agrado de la muestra en los siguientes aspectos?:**

- Visual (color, limpidez, carbonatación, etc)

Me disgustó muchísimo	Me disgustó mucho	Me disgustó	Me disgustó un poco	Ni me gustó ni me disgustó	Me gustó un poco	Me gustó	Me gustó mucho	Me gustó muchísimo
--------------------------	----------------------	----------------	------------------------	-------------------------------	---------------------	-------------	-------------------	-----------------------

- Sabor en general

Me disgustó muchísimo	Me disgustó mucho	Me disgustó	Me disgustó un poco	Ni me gustó ni me disgustó	Me gustó un poco	Me gustó	Me gustó mucho	Me gustó muchísimo
--------------------------	----------------------	----------------	------------------------	-------------------------------	---------------------	-------------	-------------------	-----------------------

b) **Pruebe nuevamente la muestra y califique en ésta los aspectos que aparecen enumerados, de acuerdo con su criterio, marcando la casilla que mejor describa a cada uno de ellos.**

1. Espuma

Mucho menos de lo que esperaba	Menos de lo que esperaba	Justo como lo esperaba	Más de lo que esperaba	Mucho más de lo que esperaba
--	------------------------------------	----------------------------------	----------------------------------	--

2. Sabor tostado

Mucho menos de lo que esperaba	Menos de lo que esperaba	Justo como lo esperaba	Más de lo que esperaba	Mucho más de lo que esperaba
---------------------------------------	---------------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-------------------------------------

3. Sabor a malta (cereal)

Mucho menos de lo que esperaba	Menos de lo que esperaba	Justo como lo esperaba	Más de lo que esperaba	Mucho más de lo que esperaba
---------------------------------------	---------------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-------------------------------------

4. Amargor

Mucho menos de lo que esperaba	Menos de lo que esperaba	Justo como lo esperaba	Más de lo que esperaba	Mucho más de lo que esperaba
---------------------------------------	---------------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-------------------------------------

5. Carbonatación (sensación de burbujeo en la boca)

Mucho menos de lo que esperaba	Menos de lo que esperaba	Justo como lo esperaba	Más de lo que esperaba	Mucho más de lo que esperaba
---------------------------------------	---------------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-------------------------------------

6. Sabor a cerveza (de acuerdo con lo que usted considere que debe saber una cerveza)

Mucho menos de lo que esperaba	Menos de lo que esperaba	Justo como lo esperaba	Más de lo que esperaba	Mucho más de lo que esperaba
---------------------------------------	---------------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-------------------------------------

7. Cuerpo

Mucho menos de lo que esperaba	Menos de lo que esperaba	Justo como lo esperaba	Más de lo que esperaba	Mucho más de lo que esperaba
---------------------------------------	---------------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-------------------------------------

8. ¿Qué otro aspecto (bueno o malo) resaltarías de la cerveza?

9. De acuerdo con tu experiencia, a qué cerveza o cervezas que hayas consumido se parece más la cerveza que acabas de probar.

12.2. Formato empleado para la prueba Rate All That Apply (RATA).

1. En la línea continua marque la intensidad (de menor a mayor) que considere describe de mejor manera a la muestra evaluada en cada uno de los descriptores que abajo se presentan.

Para el atributo de color, de la paleta que se presenta, seleccione aquél que crea que describe de mejor manera a la muestra presentada. Para ello escriba el número que delante de las siglas SRM.

Apariencia

Turbidez _____

Espuma _____

Efervescencia _____

Brillo _____

Color:



Olor

Floral _____

Frutal _____

Cebada _____

Mantequilla _____

Maíz _____

Levadura _____

Lúpulo _____

Cítrico _____

Herbáceo _____

Alcohol _____

Café _____

Caramelo _____

Vinagre _____

Chocolate _____

Frutos secos _____

(nueces, almendras, avellanas, etc)

Manzana _____

Sulfuro _____

(huevo podrido)

Zorrillo _____

Vegetales cocidos _____

Sabor

Dulce _____

Ácido _____

Amargo _____

Salado _____

Maíz _____

Cebada _____

Levadura _____

Lúpulo _____

Café _____

Chocolate _____

Caramelo _____

Alcohol _____

Vegetales cocidos _____

Miel _____

Sidra _____

Tepache _____

Vinagre _____

Mantequilla _____

Zorrillo (quemado) _____

Frutal _____

Herbal _____

Cítrico _____

Sensación en boca

Carbonatación _____

(burbujeo en boca)

Cuerpo _____

Astringencia _____

Metálico _____

13. GLOSARIO

ABV. Abreviatura de la expresión “Alcohol By Volume”, muy utilizada en el medio cervecero para expresar concentración de etanol en % volumen/volumen.

Acróspira. Plúmula o brote de un grano de cebada o de otro cereal utilizado en el malteado (Oxford Lexico, 2021)

Air-lock. Es un dispositivo que se coloca en algunos recipientes usados como fermentadores y que permite la salida del CO₂ generado por la fermentación, pero evita la entrada de gases y partículas contaminantes desde el exterior.

Clarificante. Preparaciones que se utilizan para precipitar proteínas tanto en mostos como en cervezas y generar productos más claros y estables contra la formación de turbidez (Lewis y Young, 2001).

Granos desgastados. Residuos de los granos de malta que quedan después de la maceración y los lavados de la malta.

Lúpulo. Planta herbácea, perteneciente a la familia de las cannabináceas (Nieves et al., 2021). Las flores hembra se usan para saborizar y aromatizar a la cerveza, así como para asegurar su conservación.

Reacciones de Maillard. Reacciones de oscurecimiento no enzimático ocurridas entre aminoácidos y azúcares reductores que dan como resultado productos que, además de color, aportan sabores y aromas.

Sémola. Granulado que se obtiene de la trituración de granos de cereal, en especial trigo, arroz o maíz, que se utiliza principalmente en la preparación de papillas y como pasta para sopa (Oxford Lexico, 2021)



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No. 00253

Matricula: 2171801033

Estudio del efecto de la temperatura y el tiempo de germinación sobre el poder diastásico de las maltas de maíz azul y rojo de la raza Chalqueño, así como de la evolución de los compuestos volátiles durante el envejecimiento de cervezas producidas con estas maltas.



Con base en la Legislación de la Universidad Autónoma Metropolitana, en la Ciudad de México se presentaron a las 11:00 horas del día 1 del mes de diciembre del año 2021 POR VÍA REMOTA ELECTRÓNICA, los suscritos miembros del jurado designado por la Comisión del Posgrado:

DR. HECTOR BERNARDO ESCALONA BUENDIA
DRA. JOSEFA ESPITIA LOPEZ
DRA. ALEX MARIA DANIELA FLORES CALDERON
DR. FERNANDO DIAZ DE LEON SANCHEZ

Bajo la Presidencia del primero 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:

DOCTOR EN BIOTECNOLOGIA

DE: MIGUEL ANGEL HERNANDEZ CARAPIA

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, el presidente del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

MIGUEL ANGEL HERNANDEZ CARAPIA
ALUMNO

REVISÓ
MTRA. ROSALÍA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. SARA LUCIA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTE

DR. HECTOR BERNARDO ESCALONA
BUENDIA

VOCAL

DRA. JOSEFA ESPITIA LOPEZ

VOCAL

DRA. ALEX MARIA DANIELA FLORES
CALDERON

SECRETARIO

DR. FERNANDO DIAZ DE LEON SANCHEZ

El presente documento cuenta con la firma –autógrafa, escaneada o digital, según corresponda- del funcionario universitario competente, que certifica que las firmas que aparecen en esta acta – Temporal, digital o dictamen- son auténticas y las mismas que usan los c.c. profesores mencionados en ella