



*Sustitución parcial de lúpulo (*humulus lupulus*) por semillas de cañamo (*cannabis sativa ssp. sativa*) en elaboración de cerveza artesanal tipo Brown Ale*

*Partial replacement of hops (*humulus lupulus*) with hemp seeds (*cannabis sativa ssp. sativa*) in the production of craft beer type Brown Ale*

*Substituição parcial de lúpulo (*humulus lupulus*) por sementes de cânhamo (*cannabis sativa ssp. sativa*) na produção de cerveja artesanal tipo Brown Ale*

Renato Agustín Romero Corral ^I
renato.romero2483@utc.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-4599-7778>

Gabriela Stefanía Valladares ^{II}
gabrielavalladares@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-9660-4655>

Gina Margarita Quinatoa Lema ^{III}
ginaquinatoa@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-8402-2677>

Correspondencia: renato.romero2483@utc.edu.ec

Ciencias Técnicas y Aplicadas
Artículo de Investigación

* **Recibido:** 13 de agosto de 2023 * **Aceptado:** 30 de agosto de 2023 * **Publicado:** 21 de septiembre de 2023

- I. Magíster, Ingeniero Agroindustrial, Docente, Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga, Ecuador.
- II. Ingeniera Agroindustrial, Universidad Técnica de Cotopaxi, Ecuador.
- III. Ingeniera Agroindustrial, Universidad Técnica de Cotopaxi, Ecuador

Resumen

El presente proyecto de investigación tiene como objetivo principal evaluar la sustitución parcial de lúpulo (*Humulus lupulus*) por semilla de cáñamo (*cannabis sativa* ssp. *sativa*) en la elaboración de una cerveza artesanal tipo Brown Ale. Se evaluó los parámetros fisicoquímicos de cinco tratamientos en combinación de diferentes concentraciones entre lúpulo y semillas de cáñamo, que incluye un testigo (100% lúpulo). Para la determinación del mejor tratamiento se analizaron las variables fisicoquímicas (pH, acidez, densidad y grado alcohólico) aplicando un diseño experimental de bloques completamente al azar (DBCA) con 3 repeticiones. El mejor tratamiento (25% lúpulo; 75% semillas de cáñamo) no presentó diferencia significativa con respecto al tratamiento testigo en los parámetros fisicoquímicos anteriormente descritos. Posteriormente identificado al mejor tratamiento se realizaron los análisis físico químicos y microbiológicos requeridos por la norma INEN 22 62: 2013 (Bebidas Alcohólicas. Cerveza. Requisitos), en donde presentó los siguientes resultados: contenido alcohólico 3 °GL; acidez total 0,26%; carbonatación 2,6 L CO₂/ L bebida; pH 4,13; hierro <0,25 mg/L; cobre <0,10 mg/L, zinc <0,20 mg/L; arsénico <0,005 mg/L, plomo <0,5 mg/L, y en el análisis microbiológico: el recuento de anaerobios mesófilos <10 UFC/mL; levaduras 8,8 x 10⁴ UFC/mL; mohos <10 UFC/mL, valores que se encuentran dentro de los rangos establecidos en la norma.

Palabras Clave: Cerveza artesanal; Semillas de cáñamo; Lúpulo; Análisis fisicoquímico; Sensorial; Microbiológicos.

Abstract

The main objective of this research project is to evaluate the partial replacement of hops (*Humulus lupulus*) with hemp seed (*cannabis sativa* ssp. *sativa*) in the production of a craft beer type Brown Ale. The physicochemical parameters of five treatments were evaluated in combination of different concentrations between hops and hemp seeds, which includes a control (100% hops). To determine the best treatment, the physicochemical variables (pH, acidity, density and alcoholic strength) were analyzed applying a completely randomized block experimental design (DBCA) with 3 repetitions. The best treatment (25% hops; 75% hemp seeds) did not present a significant difference with respect to the control treatment in the physicochemical parameters described above. Subsequently, the best treatment was identified, the physical, chemical and microbiological analyzes required by the INEN 22 62: 2013 standard (Alcoholic Beverages. Beer. Requirements) were carried out, where

the following results were presented: alcoholic content 3 °GL; total acidity 0.26%; carbonation 2.6 L CO₂/ L drink; pH 4.13; iron <0.25 mg/L; copper <0.10 mg/L, zinc <0.20 mg/L; arsenic <0.005 mg/L, lead <0.5 mg/L, and in the microbiological analysis: the mesophilic anaerobe count <10 CFU/mL; yeasts 8.8 x 10⁴ CFU/mL; molds <10 CFU/mL, values that are within the ranges established in the standard.

Keywords: Craft beer; Hemp seeds; Hop; Physicochemical analysis; Sensory; Microbiological.

Resumo

O objetivo principal deste projeto de pesquisa é avaliar a substituição parcial do lúpulo (*Humulus lupulus*) pela semente de cânhamo (*cannabis sativa* ssp. *sativa*) na produção de uma cerveja artesanal tipo Brown Ale. Os parâmetros físico-químicos de cinco tratamentos foram avaliados em combinação de diferentes concentrações entre lúpulo e sementes de cânhamo, que inclui um controle (100% lúpulo). Para determinar o melhor tratamento, foram analisadas as variáveis físico-químicas (pH, acidez, densidade e teor alcoólico) aplicando-se um delineamento experimental em blocos casualizados (DBCA) com 3 repetições. O melhor tratamento (25% de lúpulo; 75% de sementes de cânhamo) não apresentou diferença significativa em relação ao tratamento controle nos parâmetros físico-químicos descritos acima. Posteriormente, foi identificado o melhor tratamento, foram realizadas as análises físicas, químicas e microbiológicas exigidas pela norma INEN 22 62:2013 (Bebidas Alcoólicas. Cerveja. Requisitos), onde foram apresentados os seguintes resultados: teor alcoólico 3°GL; acidez total 0,26%; carbonatação 2,6 L CO₂/L bebida; pH 4,13; ferro <0,25 mg/L; cobre <0,10 mg/L, zinco <0,20 mg/L; arsênico <0,005 mg/L, chumbo <0,5 mg/L, e na análise microbiológica: contagem de anaeróbios mesófilos <10 UFC/mL; leveduras 8,8 x 10⁴ UFC/mL; moldes <10 UFC/mL, valores que estão dentro das faixas estabelecidas na norma.

Palavras-chave: Cerveja artesanal; Sementes de cânhamo; Saltar; Análise físico-química; Sensorial; Microbiológico.

Introducción

Según (Ferreyra, 2014), el proceso de la elaboración de cerveza en el mundo ha presentado un gran desarrollo puesto que en la preparación del producto se hace uso de diferentes variedades de materias primas como el maíz, cebada y entre otras especies, a su vez existen distintas presentaciones de la misma.

En Ecuador la cerveza desde su introducción ha mantenido una gran acogida, en la actualidad es una bebida tradicional, gracias a su gran popularidad y aceptación, es un producto en evolución. En la última década ha surgido una nueva tendencia de consumir cervezas artesanales, que son de mayor calidad y existen muchas variedades. (Chiquito, C & Hermenejildo, 2018).

Según (Vásconez, 2022) la cerveza artesanal es una actividad en auge en Ecuador, dado que ha desarrollado un crecimiento del 21% en los primeros seis meses de este año 2022 en comparación con el periodo del 2021, datos determinados por la Asociación de Cervecerías Artesanales del Ecuador (Asocerv). Actualmente, el país cuenta con 284 marcas registradas lo que representa que ha incrementado, pues antes de la pandemia eran 232 marcas. El crecimiento del sector se ha visto reflejado por un incremento progresivo de emprendimientos al mercado cervecero artesanal, intentando abrirse espacio en el mercado mediante estrategias de diferenciación, en aspectos como variedad de sabores, sustitución de materias primas e innovación de procesos de producción.

El Ecuador actualmente cuenta con un reglamento que contiene siete tipos de licencias para la producción, comercialización y exportación del cannabis no psicoactivo y cáñamo industrial, con una perspectiva que incentiva a la inversión (Revistalideres.ec., 2020). De acuerdo con (Fernández, 2019), las distintas partes de la planta del cáñamo pueden ser destinadas a la producción industrial alimenticia ya que se obtienen tres materias primas principales como las semillas, fibra y pulpa. Además, entre sus aportes para la salud se destaca que tienen un efecto protector ante enfermedades cardiovasculares ayudan a regular el azúcar en la sangre, contribuye al retraso del envejecimiento celular y mejoran la función del sistema inmunológico, así también las semillas de cáñamo son beneficiosas para combatir el cansancio, regula el tránsito intestinal entre otros.

El impacto que busca lograr con el producto principalmente es aprovechar el valor que brinda nutricionalmente las semillas de cáñamo, y el aporte que genera al realizar la mezcla entre alcohol y cannabinoide (CBD) en el producto característico, su relevancia será obtener una mejor concentración tanto en el sabor como en el olor. Cabe resaltar, que el lúpulo y el cáñamo son parte de la misma familia de plantas conocidas como Cannabaceae, ambas comparten compuestos botánicos similares que originan un perfil de sabor y aroma muy similares. Así pues, se puede hacer

usos de esta materia prima juntas o en sustitución del mismo, es decir, del lúpulo por el cañamo, en el procedimiento de cocción del producto (Greenbear, 2020).

El presente proyecto tiene como objetivo principal realizar la sustitución parcial del lúpulo por semillas de cañamo en la obtención de una cerveza artesanal tipo Brown Ale, para este fin se establecieron tratamientos a diferentes concentraciones de lúpulo y semillas de cañamo, se realizó la evaluación de los parámetros fisicoquímicos (pH, acidez, densidad, concentración de alcohol) e identificar el o los tratamientos que no presenta diferencia estadísticamente significativa en comparación al tratamiento control (100% lúpulo) en los parámetros anteriormente descritos. El o los mejores tratamientos son analizados en parámetros fisicoquímicos y microbiológicos para ser comparados con la normativa INEN 22 62: 2013.

Materiales y métodos

Metodología para la obtención de la cerveza artesanal con semillas de cañamo

Formulación Base

En la Tabla 1. Se describe la formulación base para la obtención de 3 litros de cerveza como volumen objetivo por cada tratamiento.

Tabla 1. *Formulación Base*

MALTA	CANTIDAD	PORCENTAJE
Pale Ale	450 g	80 %
Crystal	30 g	10 %
Black	15 g	5 %
Chocolate	15 g	5 %
Total de MALTA	510 g	100 %
AGUA	4,2 L	
LEVADURA (Ale)	1,8 g	
LUPULOS	9 g	

Formulación de tratamientos

En la Tabla 2. se hace referencia a las de concentraciones de lúpulo y semillas de cañamo, para cada tratamiento.

Tabla 2. Formulación de tratamientos

LÚPULO	TRATAMIENTOS				
	100 %	75	50	25	0
L. Fuggle	6,75 g	5,0625 g	3,375 g	1,6875 g	0 g
L. Northern Brewer	2,25 g	1,6875 g	1,125 g	0,5625 g	0 g
CÁÑAMO	TRATAMIENTOS				
	0 %	25	50	75	100
	0 g	2,25 g	4,5 g	6,75 g	9 g

Tratamiento

Los tratamientos experimentales aplicados dentro del estudio de investigación se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. Tratamientos experimentales

TRATAMIENTOS	CONCENTRACIONES (%m/m)
Testigo T1	100 % Lúpulo + 0% Semillas de cáñamo
T2	75% Lúpulo + 25% Semillas de cáñamo
T3	50% Lúpulo + 50% Semillas de cáñamo
T4	25% Lúpulo + 75% Semillas de cáñamo
T5	0% Lúpulo + 100% Semillas de cáñamo

Las Variables de Estudio

- Variables fisicoquímicas: pH, acidez, densidad y grados alcohólicos.
- Variables sensoriales: Color, turbidez, olor, cuerpo, sabor.

Metodología de los análisis fisicoquímicos realizados.**pH**

Para la determinación del pH de la cerveza se utilizó el método de ensayo establecido por la norma INEN 2 325, 2002.

Acidez total

Para la determinación de la acidez total se utilizó el método de ensayo por **titulación con fenolftaleína** establecido por la normativa (NTE INEN 2 323, 2002).

Densidad

Para la determinación de la densidad se utilizó un refractómetro con escalas duales: °Brix magnitud y la gravedad específica (SG) 0.001 Wort.

Grados alcohólicos

Para el ensayo de este parámetro se basó en la normativa NTE INEN 340 (Determinación del contenido de alcohol etílico) método del alcoholímetro de vidrio.

Diseño Experimental

Se tiene un diseño experimental en el que se aplicó un diseño de bloques completamente al azar (DBCA), con 5 tratamientos que incluye el testigo (100% lúpulo). Cada uno de los tratamientos se realizó por triplicado teniendo un total de quince unidades experimentales. Los análisis físico químicos corresponde a pH, densidad, acidez y grados alcohólicos. Para la determinación del mejor tratamiento se identificó el tratamiento que no presentó diferencia significativa con respecto al tratamiento testigo.

Análisis físico químicos y microbiológicos

Al mejor tratamiento se realizaron los análisis fisicoquímicos y microbiológicos de acuerdo a la normativa (INEN 2262, 2013).

Capacidad antioxidante

La determinación de la actividad antioxidante se basa en retrasar la oxidación de un sustrato oxidable por medio de varios mecanismos como la quelación de radicales libres e interceptación de oxígeno libre. (Rioja, 2018)

Para evaluar la capacidad antioxidante de las muestras analizadas de cervezas se aplicó la técnica de FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Power) el cual consisten en el poder que tiene una sustancia antioxidante para reducir el Fe^{3+} a Fe^{2+} que es menos antioxidante.

Finalmente se realizó el análisis de capacidad antioxidante del mejor tratamiento en comparación con el tratamiento testigo.

Análisis y discusión de los resultados

Análisis físico químicos

Los parámetros fisicoquímicos como el pH, acidez, densidad y grados alcohólicos, son evaluados con el objetivo de verificar que la sustitución realizada de lúpulo por semillas de cáñamo en sus diferentes concentraciones, no alteren o afecten los valores fisicoquímicos de la cerveza ya regidos

por la norma técnica Ecuatoriana (INEN 2262, 2013), y así dar un grado favorable de aceptabilidad a la sustitución experimentada en esta investigación al tratamiento que no presente diferencias significativas con nuestro tratamiento testigo.

pH

Se presentan en la tabla 5 el análisis de varianza de pH.

Tabla 5. Análisis de varianza del pH

F.V.	SC	gl	CM	F	F. crítico	p-valor
Tratamientos	1,5653	4	0,3913	386,1842	3,8379	<0,0001**
Repeticiones	0,0313	2	0,0156	15,4408	4,450	0,0018
Error	0,0081	8	0,0010			
Total	1,6047	14				
CV	0,7925					

Dónde: **F.V.**= Fuente de variación; **SC**= Suma de cuadrados; **gl**= Grados de libertad; **CM**= Media de cuadrados; **F**= Factor calculado; **F. crítico**= Factor crítico; ******= Altamente significativo; **CV**= Coeficiente de variación.

De acuerdo al análisis de varianza realizado indica, que el F calculado es mayor que el F crítico a un nivel de confianza del 95%, es decir que los tratamientos analizados presentan diferencia significativa en la evaluación del pH, por lo que se procede a realizar la prueba de Tukey para identificar los tratamientos que presentan o no diferencia significativa en comparación con el tratamiento testigo. La prueba de Tukey se presenta en la tabla 6.

Tabla 6. Prueba de Tukey de pH

Tratamientos	Medias	n	E.E		
2	4,2667	3	0,0184	A	
3	4,1933	3	0,0184	A	B
1	4,1400	3	0,0184		B C

4	4,1033	3	0,0184	C
5	3,3800	3	0,0184	D

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

De acuerdo con los resultados observados en la Tabla 6 la sustitución realizada en el estudio será aceptable cuando los tratamientos no presentan diferencia significativa, los tratamientos 3 (Cerveza: 50% lúpulo; 50% semillas de cañamo) y 4 (Cerveza: 25% lúpulo; 75% semillas de cañamo), no presentan diferencia significativa en comparación con el tratamiento testigo en el parámetro del pH, es decir aquellos tratamientos no son afectados por la sustitución parcial de semillas de cañamo por lúpulo.

Kunze, 2006 menciona que los valores de pH menores de 4,4 permiten un sabor en la cerveza más refinado y ayudan a mejorar la estabilidad biológica, mientras que los valores que estén con un pH por debajo de 4,1 puede indicar la proliferación de bacterias productoras de ácido. Voguel, 2003 menciona que, el nivel que debe alcanzar de pH una cerveza del tipo de fermentación alta como es la Brown Ale, es de 4,1 a 4,8.

Acidez total

Se presentan en la tabla 7 el análisis de varianza de acidez.

Tabla 7. Análisis de varianza de la acidez.

F.V.	SC	gl	CM	F	F. crítico	p-valor
Tratamientos	0,1459	4	0,0365	55,8265	3,8379	<0,0001**
Repeticiones	0,0332	2	0,0166	25,4388	4,450	0,0003
Error	0,0052	8	0,0007			
Total	0,1844	14				
CV	10,4756					

Dónde: F.V.= Fuente de variación; SC= Suma de cuadrados; gl= Grados de libertad; CM= Media de cuadrados; F= Factor calculado; F. crítico= Factor crítico; **= Altamente significativo; CV= Coeficiente de variación.

De acuerdo al análisis de varianza realizado indica, que el F calculado es mayor que el F crítico a un nivel de confianza del 95%, es decir que los tratamientos analizados presentan diferencia

significativa en la evaluación de acidez, por lo que se realiza la prueba de Tukey para identificar los tratamientos que presentan o no diferencia significativa en comparación con el tratamiento testigo. La prueba de Tukey se presenta en la tabla 8.

Tabla 8. Prueba de Tukey al 0,05 para los tratamientos de la variable de acidez

Tratamientos	Medias	n	E.E			
5	0,4333	3	0,0148	A		
4	0,2167	3	0,0148		B	
1	0,2167	3	0,0148	B		
2	0,2100	3	0,0148		B	C
3	0,1433	3	0,0148	C		
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p>0,05$)						

De acuerdo con los resultados observados en la Tabla 8 se evidencia que el tratamiento 2 y el tratamiento 4, no presentan diferencia significativa en comparación con el tratamiento testigo por lo que se encuentran en el mismo grupo de homogeneidad (B), es decir que las sustituciones de las semillas de cáñamo por el lúpulo no alteran la acidez en estos tratamientos de acuerdo a sus concentraciones utilizadas.

Valores similares fueron reportados de la investigación de Bandonill y Sanchez (2012) presentando valores finales de 0,22 y 0,24 (% m/m) en la elaboración de cerveza artesanal, valores diferentes reportan Torres y Bohórquez, (2017) que oscilan entre 0,1513-0,1739 % g ácido láctico /100 g de muestra. Los valores reportados están dentro del rango de aceptación mencionado por la normativa (INEN 2262, 2013), estos valores no exceden el máximo permitido que es del 0,3 % (m/m) expresado como ácido láctico de la acidez en cervezas.

Densidad

Se presentan en la tabla 9 el análisis de varianza de densidad.

F.V.	SC	gl	CM	F	F. crítico	p-valor
Tratamientos	0,0001	4	2,8E-05	1,9624	3,8379	0,1935 ns
Repeticiones	4,70E-05	2	2,6E-05	1,6404	4,450	0,2529 ns
Error	0,0001	8	1,4E-05			

Total	0,0003	14				
CV	0,3669					

Tabla 9. Análisis de varianza del parámetro densidad.

Dónde: *F.V.*= Fuente de variación; *SC*= Suma de cuadrados; *gl*= Grados de libertad; *CM*= Media de cuadrados; *F*= Factor calculado; *F. crítico*= Factor crítico; ****= Altamente significativo; *CV*= Coeficiente de variación.

De acuerdo datos obtenidos en la tabla 9 no se presentan diferencia significativa en la evaluación de la densidad, por lo tanto los diferentes niveles de lúpulo y semillas de cáñamo no influyen en este parámetro. Los valores oscilan del más bajo con una densidad de 1,0227 g/ml perteneciente al tratamiento 5 hasta el más alto de 1,0307 g/ml del tratamiento 2, sin embargo los tratamiento que más se acercan al valor del tratamiento testigo (1,024 g/ml) está el tratamiento 3 y 4 con valores de 1,027 g/ml ambos tratamientos.

Los datos obtenidos presentan similitud con datos reportados por (Adenuga et al, 2010) en la investigación de uso de hojas de vegetales amargos como sustituto del lúpulo da un valor de densidad final entre 1,014 a 1,040 g/mL. No obstante (Klemp F. , 2016) en la elaboración de una cerveza tipo Brown Ale la densidad final óptima debe estar entre 1,010 a 1,017 g/ml, mientras que (Tirado & Salazar, 2018) mencionan que para Gigliarelli (2016) la densidad final consistente de una cerveza debe estar en un rango de 1,006 a 1,030 g/ml.

Grados alcohólicos

Se presentan en la tabla 9 el análisis de varianza de grados alcohólicos.

Tabla 9. Análisis de varianza de parámetros grados alcohólicos.

F.V.	SC	gl	CM	F	F. crítico	p-v
Tratamientos	1,7467	4	0,4367	5,6223	3,8379	0,0
Repeticiones	2,3520	2	1,1760	15,1416	4,450	0,0
Error	0,6213	8	0,0777			
Total	4,7200	14				
CV	6,4811					

Dónde: *F.V.*= Fuente de variación; *SC*= Suma de cuadrados; *gl*= Grados de libertad; *CM*= Media de cuadrados; *F*= Factor calculado; *F. crítico*= Factor crítico; ****= Altamente significativo; *CV*= Coeficiente de variación.

De acuerdo al análisis de varianza realizado indica, que el F calculado es mayor que el F crítico a un nivel de confianza del 95%, es decir que los tratamientos analizados presentan diferencia significativa en la evaluación de los grados alcohólicos, por lo que se realiza la prueba de Tukey para identificar los tratamientos que presentan o no diferencia significativa en comparación con el tratamiento testigo. La prueba de Tukey se presenta en la tabla 10

Tabla 10. Prueba de Tukey al 0,05 para los tratamientos de la variable grados de alcohol.

Tratamientos	Medias	n	E.E		
2	4,87	3	0,1609	A	
1	4,33	3	0,1609	A	B
4	4,30	3	0,1609	A	B
3	4,20	3	0,1609	A	B
5	3,80	3	0,1609	B	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p>0,05$)					

Se puede evidenciar en la tabla 10, que los tratamientos no presentan diferencia significativa con respecto al tratamiento testigo (AB). El tratamiento 2 presenta un mayor grado alcohólico y el tratamiento 5 una menor presencia de grados alcohólicos, según (Suárez M. , 2013) la mayor cantidad de alcohol en cerveza se presenta cuanto más denso sea el mosto, esta afirmación se comprueba al hacer relación la densidad del tratamiento 2 quien también presenta valores de densidad más altos, mientras que el tratamiento 5 presenta valores más bajos de contenido de grado alcohólico. Por otra parte, los tratamientos identificados en el grupo homogéneo con las letras en común AB no presentan diferencia significativa con el valor de los grados alcohólico del tratamiento testigo, estos son el tratamiento 4 y 3, sin embargo, el tratamiento que más se acerca al valor del tratamiento testigo, es el tratamiento 4. Adicional los datos obtenidos de grados alcohólicos se asemejan a los grados alcohólicos que (Klemp F. , 2016) menciona son el rango óptimo para una cerveza tipo Brown Ale va de 4 - 4.6%. Se determinó como mejor tratamiento al T4 (Cerveza: 25% Lúpulo; 75% semillas de cáñamo) al no presentar diferencia significativa con respecto al tratamiento testigo en todos los parámetros físico químicos evaluados.

Análisis fisicoquímicos y microbiológicos del mejor tratamiento

Parámetros fisicoquímicos

Se presenta en la tabla 11 los parámetros fisicoquímicos del mejor tratamiento

Tabla 11. Resultados fisicoquímicos realizados al mejor tratamiento

PARÁMETROS	RESULTADO	UNIDAD	MÉTODO DE ANÁLISIS	MÉTODO DE ANÁLISIS REFERENCIAL	DE ESPECIFICACIONES	
					DE NTE INEN 2262: 2013	MIN MAX
Contenido alcohólico a 20° C	3	°GL	MIN-06	NTE INEN 340:2016 (Método alcoholímetro vidrio)	1,0	10,0
Acidez total	0,26	% (Ac. Láctico)	MIN-163	NTE 2323:2002/ Volumetría	INEN -	0,3
Carbonatación	2,6	L CO2/L bebida	MFQ-507	Gravimetría	2,2	3,5
pH	4,13	(T: 20.0 °C) Unidades de pH	MFQ-18	NTE 2325:2002/ Electrometría	INEN 3,5	4,8
Contenido de hierro	<0,25	mg/L	MFQ-476	SM, Ed. 23, 2017, 3111B-Fe / Espectrofotometría de AA por llama aire acetileno	-	0,2

Contenido de cobre	<0,10	mg/L	MFQ-82	SM, Ed. 23, 2017, - 3111B-Cu / Espectrofotometría de AA por llama aire acetileno	1,0
Contenido de zinc	<0,20	mg/L	MFQ-95	SM, Ed.23, 2017, - 3111B-Zn/ Espectrofotometría AA por llama aire acetileno	1,0
Contenido de arsénico	<0,005	mg/L	MFQ-106	AOAC 986.15/ - Absorción Atómica	0,1
Contenido de plomo	<0,5	mg/L	MFQ-102	AOAC 999.11/ - Absorción Atómica	0,1
Ceniza	0,24	%	MFQ-03	AOAC 923.03/ - Gravimetría, directo	-

Fuente: (Multianálityca S.A, 2023)

$$1 \text{ mg/dm}^3 = 1 \text{ mg/L}$$

Los resultados obtenidos del mejor tratamiento de la cerveza artesanal tipo Brown Ale son comparados con los parámetros fisicoquímicos requeridos por la normativa NTE INEN 2262: 2013, en cuanto a contenido alcohólico, pH, acidez y carbonatación, los cuales se encuentran dentro del rango establecido. En el contenido de ceniza presenta valores de 0,24%, con respecto a esta determinación (Medina, et al., 2018) menciona que una cerveza artesanal contienen en promedio 2,43% de cenizas. Los análisis de los metales pesados el contenido de hierro, cobre, zinc, arsénico se constata que presentan valores de acuerdo a lo permitido dentro de la normativa INEN 2262: 2013, a excepción del plomo, sin embargo de acuerdo a normas internacionales tales como (NOM-199-SCFI-2017, 2017) especifica un límite máximo de contenido de plomo de 0,5 mg/l.

Deduciendo así que el mejor tratamiento (T4) analizado de la cerveza artesanal Brown Ale presenta características físico químicas favorables para su aceptación de calidad.

Parámetros Microbiológicos

Se presenta en la tabla 12 los resultados del análisis microbiológico del mejor tratamiento.

Tabla 12. Resultados microbiológicos realizados al mejor tratamiento.

PARÁMETROS	RESULTADO	UNIDAD	MÉTODO DE ANÁLISIS INTERNO	MÉTODO DE ANÁLISIS DE REFERENCIA	ESPECIFICACIONES NTE INEN 2262:2013	
					MIN	MAX
Recuento de anaerobios mesófilos	<10	UFC/mL	MMI-13	Anaerobic Brewer / REP.	-	10
*Recuento de levaduras	8.8 x 10 ⁴	UFC/mL	MMI-02	AOAC 997.02/ Petrifilm	-	10
Recuento de mohos	<10	UFC/mL	MMI-02	AOAC 997.02/ Petrifilm	-	10

Fuente: (Multianáltyca S.A, 2023)

*= No cumple con las especificaciones establecidas en la norma NTE INEN 2262:2013.

De acuerdo con el análisis microbiológico realizado al mejor tratamiento se obtuvo el recuento de anaerobios mesófilos y el recuento de mohos con un valor <10 UFC/mL, por lo que la cerveza elaborada cumple con estos requisitos de calidad según la normativa NTE INEN 2262:2013 quien menciona que no debe sobrepasar el MAX de 10 UFC/cm³. Entre otro de los parámetros microbiológicos se analizó al recuento de levaduras la misma que no cumple con las especificaciones solicitadas por la normativa debido a que excede del rango permitido, esto puede deberse por el proceso de filtración, ya que la cerveza artesanal usualmente no se filtra y es normal la presencia de levadura en el fondo de la botella. En el estudio de análisis de recuento de levaduras según (Castro E. , 2018) menciona que los resultados obtenidos en su investigación presentan una

media de $1,3 \times 10^7$ UP/cm³ en las cervezas negras, por otro lado (Fuentes & Fuentes, 2014) en la investigación realizada sobre “Obtención de cerveza artesanal, tipo Ale oscura” obtienen un resultado de recuento de levaduras de 1.4×10^6 UFC/ml. Además, desde el punto de vista de (Suárez, et al., 2016) determina que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es apta para el consumo humano, aprobada como aditivo alimentario. Para obtener una cerveza artesanal con un mayor rendimiento libre de levaduras se debe optimizar el proceso de filtración. (AINIA, 2020).

Análisis de capacidad antioxidante

La determinación de la actividad antioxidante se basa en retrasar la oxidación de un sustrato oxidable por medio de varios mecanismos como la quelación de radicales libres e interceptación de oxígeno libre. (Rioja, 2018)

Para evaluar la capacidad antioxidante de las muestras analizadas de cervezas se aplicó la técnica de FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Power) el cual consisten en el poder que tiene una sustancia antioxidante para reducir el Fe³⁺ a Fe²⁺ que es menos antioxidante.

En la Tabla 36, se muestran los resultados obtenidos del análisis del parámetro

Tabla 36. Actividad de capacidad antioxidante.

Capacidad antioxidante en la cerveza Brown Ale			
Muestra:	Técnica:	Resultado:	Unidad:
Testigo	FRAP	482,71	$\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$
Mejor tratamiento	FRAP	323,12	$\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$

El análisis de este parámetro da como resultado una capacidad antioxidante de $482,71 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ al tratamiento testigo y al mejor tratamiento de $323,12 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$, por lo tanto la cerveza en sus diferentes concentraciones de lúpulo y semillas de cáñamo incrementan la capacidad antioxidante del organismo.

La cerveza testigo y el mejor tratamiento presentan compuestos con propiedades antioxidantes, debido a la presencia de los polifenoles y flavonoides que se encuentran en la composición del lúpulo, cebada y cáñamo, estos compuestos son los que actúan como antioxidantes. (Peralta, 2020).

Conclusiones

- El tratamiento 4 correspondiente a 75% semillas de cáñamo: 25% lúpulo fue determinado como mejor tratamiento dado que no presentó diferencia estadística significativa comparado con el tratamiento testigo en los parámetros fisicoquímicos evaluados (pH, acidez, densidad, grados alcohólicos) lo que permite evidenciar que la sustitución es viable.
- Los análisis físicoquímicos y microbiológicos de todos los parámetros requeridos por la INEN 2262: 2013 realizados al mejor tratamiento evidencia que los resultados del pH, acidez, carbonatación y contenido alcohólico cumplen con los rangos de aceptación según la normativa al igual que la presencia de los metales pesados, a excepción del plomo, el cual supera mínimamente el límite superior permitido, mientras que en los análisis microbiológicos el recuento de anaerobios y mohos se encuentra dentro de los límites especificados por la normativa, a excepción del recuento de levaduras el cual presenta un valor de 8.8×10^4 UFC/ml, lo que permite recomendar una revisión en las operaciones de filtrado de la cerveza.

Referencias

- Adenuga W., Nurudeen O, Adepoju P.A. Utilization of bitter vegetable leaves (*Gongronema latifolium*, *Vernonia amygdalina*) and *Garcinia kola* extracts as substitutes for hops in sorghum beer production Department of Food Technology, Lagos State Polytechnic, Ikorodu, Lagos, Nigeria. [Internet] 2010. [Citado 20 de junio de 2023] Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/286991428_Utilization_of_bitter_vegetable_leaves_Gongronema_latifolium_Vernonia_amygdalina_and_Garcinia_kola_extracts_as_substitutes_for_hops_in_sorghum_beer_production
- AINIA. Mejores técnicas disponibles en el sector cervecero. Madrid: Cerveceros de España. [Internet] 2020. [Citado 20 de junio de 2023] Disponible en: <https://prtres.es/data/images/la%20industria%20cervecera-74f8271308c1b002.pdf>
- Bandonill, E, y Sanchez, P. (2004). OPTIMIZATION OF PROCESS PARAMETERS FOR RICE (*Oryza sativa* L.) BEER PRODUCTION IN THE PHILIPPINES, Philippine Rice Research Institute [Internet] 2004 [Citado 2 de abril de 2023] Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Evelyn-Bandonill/publication/268295178_OPTIMIZATION_OF_PROCESS_PARAMETERS_F

OR_RICE_Oryza_sativa_L_BEER_PRODUCTION_IN_THE_PHILIPPINES/links/572df00708ae7441518f3db3/OPTIMIZATION-OF-PROCESS-PARAMETERS-FOR-RICE-Oryza-sativa-L-BEER-PRODUCTION-IN-THE-PHILIPPINES.pdf

- Cañas, E. A. (16 de Septiembre de 2019). Súper alimentos: Semillas de Cáñamo. Obtenido de <https://paginav.cl/2019/09/16/super-alimentos-semillas-de-canamo/#:~:text=Los%20%C3%A1cidos%20grasos%20esenciales%20juegan,tracto%20gastrointestinal%2C%20ri%C3%B1ones%20y%20pulmones.>
- Castro, E. (2018). EVALUACIÓN DE LA CALIDAD E INOCUIDAD POR CONTAMINACIÓN CON OCRATOXINA A DE LA CERVEZA ARTESANAL EXPENDIDA EN BARES DE LA CIUDAD DE CUENCA. Tesis de Posgrado. Universidad de Cuenca [Internet] Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/29444/1/Trabajo%20de%20Titulación.pdf>
- Cedeño, G., & Mendoza, J. (2016) EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE CERVEZA ARTESANAL TIPO ALE CON ALMIDÓN DE PAPA COMO ADJUNTO Y ESPECIAS. Tesis de Pregrado. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ [Internet] Obtenido de <https://repositorio.espam.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/42000/552/TAI109.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ceretta, A., Sergio, R., y Fassio, M. (2013). Cáñamo (Cannabis sativa L.). Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Montevideo, Uruguay. Obtenido de https://catalogo.latu.org.uy/opac_css/doc_num.php?explnum_id=2348
- Cervecista, C. (2020). La fermentación: clave en la producción cervecera. Obtenido de [https://www.loscervecistas.es/cultura-cervecista/la-fermentacion-clave-en-la-produccion-cervecera/#:~:text=Dependiendo%20del%20tipo%20de%20levadura,\(entre%2017%20y%2025%E2%81%B0C\).](https://www.loscervecistas.es/cultura-cervecista/la-fermentacion-clave-en-la-produccion-cervecera/#:~:text=Dependiendo%20del%20tipo%20de%20levadura,(entre%2017%20y%2025%E2%81%B0C).)
- Chiquito, C., & Hermenejildo, J. (2018). Estudio Gastronómico de la Cerveza Artesanal en la ciudad de Guayaquil. (Aspectos económicos, culturales y culinarios). Tesis de Pregrado. Universidad de Guayaquil. [Internet] Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/35833/1/TESIS%20Gs.%20289%20-%20Estudio%20de%20la%20Cerveza%20Artesanal.pdf>

- Fernández, C. (2019). Los beneficios del cañamo. Obtenido de <https://www.bioecoactual.com/2019/04/10/los-beneficios-del-canamo/>
- Ferreira, L. Elaboración de cerveza: Historia y evolución, desarrollo de actividades de capacitación e implementación de mejoras tecnológicas para productores artesanales. [Internet] 2014 Obtenido de <https://lipa.agro.unlp.edu.ar/wp-content/uploads/sites/29/2020/03/Trabajo-Final-Leonel-Ferreira-.pdf>
- Fuentes, A., & Fuentes, E. (2014). Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/4089/3/03%20EIA%20%20356%20DEFENSA%20DIAPOSITIVAS%20TESIS.pdf>
- Deloitte, S.C. (2017). La Cerveza Artesanal Una experiencia multisensorial [Internet] Obtenido de <https://www2.deloitte.com/content/dam/Deloitte/mx/Documents/consumer-business/2017/Cerveza-Artesanal-Mexico-2017.pdf>
- Greenbear. (26 de Marzo de 2020). Diferencias entre la cerveza cannábica y la cerveza de cañamo. Obtenido de <https://sierradecadizinforma.es/formated/greenbear.es/blog/alimentacion/cerveza-cannabica/>
- Guerberoff, G., Marchesino, M., & López, P. (2020). Obtenido de <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/nexoagro/article/view/28926/29911#:~:text=Los%20atributos%20sensoriales%20de%20la,y%20la%20senci%20en%20boca>
- Hough, J. S.. Biotecnología de la cerveza y de la malta. Acribia Editorial. [Internet] 1990 Obtenido de <http://www.bio-nica.info/biblioteca/HoughxxxBiotecnologiaCerveza.pdf>
- INEN 2262. (2013). Norma Técnica Ecuatoriana. Quito- Ecuador. Obtenido de https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_2262-1.pdf
- Klemp, F. (2016). Brown Ales. Obtenido de <http://www.cervezadeargentina.com.ar/recetas/brown.htm>
- Kunze, W. (2006). Tecnología para cerveceros y malteros. Obtenido de <https://pdfcoffee.com/libro-completo-kunze-5-pdf-free.html>
- Kunze, W. (2006). Tecnología para cerveceros y malteros. Alemania: VLB Berlin. Primera Edición [Internet] Obtenido de <https://es.scribd.com/document/490514876/Tecnologia-para-cervceros-y-malteros-Kunze-ordenado-pdf#>

- López , O., Espinoza, P., Fernández , L., Montero, M., & Bonilla, P. (2017). Química Central. Obtenido de <https://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/QUIMICA/article/download/2800/3708/14138#:~:text=Para%20determinar%20metales%20pesados%20en,la%20desgasificaci%C3%B3n%20de%20la%20muestra.>
- Medina-Saavedra, T., Arroyo-Figueroa, G., Herrera-Mendez, C., Gantes-Alcantar, M., Mexicano-Santoyo, L., Mexicano-Santoyo, A. (2018). Análisis químico proximal en residuos sólidos de cerveza artesanal y su aceptación en cerdas. ABANICO VETERINARIO. Obtenido de: <https://abanicoacademico.mx/revistasabanico/index.php/abanico-veterinario/article/view/174/191>
- NOM-199-SCFI-2017. (30 de 10 de 2017). Norma Oficial Mexicana. Obtenido de https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5502882&fecha=30/10/2017#gsc.tab=0
- NTE INEN 340. (2016). Obtenido de https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_340-2.pdf
- NTE INEN 2 323. (12 de 2002). Norma Técnica Ecuatoriana. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2323.pdf>
- NTE INEN 2 325. (12 de 2002). Normalizacion.gob.ec. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2325.pdf>
- NTE INEN 340. (Agosto de 2016). Normalizacion.gob.ec. Obtenido de https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_340-2.pdf
- Peralta , L. (2020). EFECTO SENSORIAL DE LA APLICACIÓN DE NIBS DE CACAO Y CAFÉ TOSTADO EN LA ELABORACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL. Tesis de pregrado. UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR Obtenido de <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/PERALTA%20BUSTAMANTE%20LINDA%20ISA%20BEL.pdf>
- Ponce-Molina, L., P. N., Campaña, D., Garófalo, J., Coronel, J., Jiménez, C., & Cruz, E. (s.f.). LA CEBADA (*Hordeum vulgare* L.): Generalidades y variedades mejoradas para la Sierra ecuatoriana. Obtenido de <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5587/2/Manual%20116%20La%20cebada.pdf>

- Luque, A., (2020, Spetiembre) El país tiene potencial con el cañamo. Revista lideres. Obtenido de <https://www.revistalideres.ec/lideres/entrevista-ecuador-potencial-canamo-cannabis.html>
- Rioja, A. (2018). DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL, CONTENIDO DE FENOLES Y ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN UNA BEBIDA NO LÁCTEA A BASE DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*). Tesis de Posgrado. UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS Obtenido de <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/18251/TM-1934.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Rodríguez, H. (2003). Determinación de Parámetros Físico-Químicos para la Caracterización de Cerveza Tipo Lager Elaborada por Compañía Cervecera Kunstmann S.A.. Tesis de pregrado. Universidad austral de Chile. Obtenido de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2003/far696d/sources/far696d.pdf>
- Suárez, M. (2013). Cervezas:componentes y propiedades. Tesis de posgrado Universidad de Oviedo, España. España. Obtenido de: https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/19093/TFM_?jsessionid=B1CCF CBEEC4350A24FD77A33A2CD6074?sequence=8
- Tirado , J., & Salazar, G. (Noviembre de 2018). BANANO (*Cavendish gigante*) DE RECHAZO COMO SUSTITUCIÓN PARCIAL DE CEBADA EN LA CALIDAD FÍSICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE LA CERVEZA ARTESANAL. Tesis de Pregrado. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ Obtenido de <http://190.15.136.145/handle/42000/892>
- Vásconez, L. (26 de Agosto de 2022). Las cervezas artesanales siguen creciendo en el Ecuador. Diario El Comercio. Obtenido de <https://www.elcomercio.com/actualidad/quito/cervezas-artesanales-siguen-creciendo-en-ecuador.html>
- Voguel, W. (2003). Elaboración casera de cerveza. Malaga, Spain: Achibia, S.A. Obtenido de https://www.editorialacribia.com/libro/elaboracion-casera-de-cerveza_54195/