



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



ESCUELA DE AGRICULTURA, SILVICULTURA, PESCA Y

VETERINARIA

CARRERA DE AGROINDUSTRIA

TRABAJO DE TITULACIÓN

Componente práctico del examen de carácter complejo, presentado al H. Consejo Directivo de la Facultad, como requisito previo para obtener el título de:

INGENIERA AGROINDUSTRIAL

TEMA:

“Impacto de la aplicación de tres variedades de levaduras (*S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus*) en la producción de cerveza artesanal tipo lager”.

AUTORA

Karen Isabel Benites Fernández

TUTOR

Mg. ia. Yary Ruiz Parrales, MAE.

Babahoyo-Los Ríos-Ecuador

2024

Resumen

Las levaduras *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus* tienen un impacto positivo en el proceso de fermentación, dado que también aportan compuestos organolépticos, nutrientes y metabolitos, que ayudan a mejorar la calidad del producto. En referencia a los resultados obtenidos se realizan las siguientes conclusiones: La concentración de levaduras en la calidad de la cerveza artesanal tipo lager es de: *S. cerevisiae* 0.80 - 1×10^7 células/ml, *S. pastorianus* 0,75-1,5 $\times 10^6$ células/mL y *S. bayanus* 1-1.2 $\times 10^6$ células/mL. Dentro de los parámetros físicos y químicos que influyen en el proceso de propagación y fermentación de las cepas de levaduras *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus* en la producción de cerveza artesanal tipo lager esta los siguientes: pH, temperatura y oxigenación. La temperatura de fermentación ale es de 20 a 25 °C; para la elaboración de lager, la recomendación es de 8 a 10 °C para la inoculación de levadura; durante el proceso, se recomienda una disminución gradual de 1 °C por día hasta llegar a los 4 °C, descendiendo a 1 °C cada 8 horas. El pH del mosto y de la cerveza es especialmente importante durante la germinación y fermentación. La mayoría de levaduras de cerveza lager presentan su desarrollo óptimo a un valor de pH entre 4,0 y 5,0. La oxigenación o agitación del mosto en la fermentación es un paso previo, esencial, durante las primeras horas de proceso; de esta aireación adecuada u oxigenación del mosto dependerá fundamentalmente la calidad del producto.

Palabras claves: Levaduras, pH, temperatura, oxigenación, fermentación.

Summary

The yeasts *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus* have a positive impact on the fermentation process, but also provide organoleptic compounds, nutrients and metabolites, which help improve the quality of the product. In reference to the results obtained, the following conclusions are made: The concentration of yeasts in the quality of lager-type craft beer is: *S. cerevisiae* 0.80 - 1x10⁷ cells/ml, *S. pastorianus* 0.75-1.5 × 10⁶ cells/mL and *S. bayanus* 1-1.2 × 10⁶ cells/mL. Among the physical and chemical parameters that influence the propagation and fermentation process of the yeast strains *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus* in the production of lager-type craft beer are the following: pH, temperature and oxygenation. The ale fermentation temperature is 20 to 25 °C; for lager production, the recommendation is 8 to 10 °C for yeast inoculation; During the process, a gradual decrease of 1 °C per day is recommended until reaching 4 °C, decreasing to 1 °C every 8 hours. The pH of wort and beer is especially important during germination and fermentation. Most lager beer yeasts grow optimally at a pH value between 4.0 and 5.0. Oxygenation or agitation of the must during fermentation is an essential prior step during the first hours of the process; The quality of the product will fundamentally depend on this adequate aeration or oxygenation of the must.

Keywords: Yeasts, pH, temperature, oxygenation, fermentation.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Resumen	II
Summary	III
ÍNDICE DE CONTENIDO	IV
ÍNDICE DE TABLAS	VI
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	VII
1. CONTEXTUALIZACIÓN.....	1
1.1. Introducción.....	1
1.2. Planteamiento de problema.....	2
1.3. Justificación.....	3
1.4. Objetivos del estudio	5
1.4.1. Objetivo general	5
1.4.2. Objetivos específicos.....	5
1.5. Línea de investigación.....	5
2. DESARROLLO	6
2.1. Marco conceptual.....	6
2.1.1. Introducción a las levaduras del género <i>Saccharomyces</i>	6
2.1.2. Importancia de las levaduras en la industria alimentaria y de bebidas	6
2.1.3. Características de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	7
2.1.4. Características de <i>Saccharomyces pastorianus</i>	8
2.1.5. Características de <i>Saccharomyces bayanus</i>	9
2.1.6. Factores que afectan la concentración de levaduras	10
2.1.6.1. Factores ambientales	11
2.1.7. Parámetros físicos y químicos en la fermentación de levaduras para cerveza artesanal lager	12
2.1.7.1. Parámetros físicos en la fermentación.....	12
2.1.7.1.1. Temperatura	13
2.1.7.1.2. pH en la fermentación.....	13
2.1.7.1.3. Agitación y oxigenación.....	14
2.1.7.2. Parámetros químicos en la fermentación	14
2.1.7.2.1. Concentración de azúcares	15
2.1.7.1.2. Concentración de alcohol y subproductos.....	15
2.1.7.1.3. Nitrógeno y otros nutrientes esenciales.....	16

2.1.8.	Interacción de parámetros físicos y químicos en la fermentación.....	16
2.1.8.1.	Relación entre pH y actividad metabólica de las levaduras	17
2.1.9.	Vidal útil de la cerveza artesanal tipo lager.....	17
2.2.	Marco metodológico.....	18
2.3.	Resultados.....	18
2.4.	Discusión de resultados	19
3.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	21
3.1.	Conclusiones.....	21
3.2.	Recomendaciones	22
4.	REFERENCIAS Y ANEXOS	23
4.1.	Referencias	23
4.2.	Anexos	34

ÍNDICE DE TABLAS

	Pag
Tabla 1. Concentración de levaduras en la calidad de la cerveza artesanal tipo lager.....	12

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

	Pag
Anexo 1. Cerveza artesanal tipo lager (<i>S. cerevisiae</i> , <i>S. pastorianus</i> , <i>S. bayanus</i>).....	32
Anexo 2. Levaduras tipo lager para el proceso de fermentación.....	32
Anexo 3. Fermentación con levaduras para la producción de cerveza artesanal tipo lager.....	32
Anexo 4. Medición de pH durante la fermentación.....	33
Anexo 5. Medición de temperatura durante la fermentación.....	33
Anexo 6. Proceso de oxigenación durante la fermentación.....	33

1. CONTEXTUALIZACIÓN

1.1. Introducción

Las levaduras del género *Saccharomyces* han sido utilizadas por el ser humano desde la antigüedad; la demanda creciente de productos elaborados con estos microorganismos ha fomentado el establecimiento y la mejora de procesos industriales de producción de biomasa de levadura; en la actualidad se generan grandes cantidades de levadura cada año que se emplean en la industria alimentaria, especialmente en la industria de panificación, cerveza y vino (Giraldo, 2021).

La producción de cerveza artesanal en Ecuador ha alcanzado 6,4 millones litros al año, según la Asociación de Cervecerías Artesanales. La elaboración de cerveza artesanal ha aumentado 36 % frente a 2021, cuando se produjeron 4,7 millones de litros. La producción de más de seis millones de litros de cerveza artesanal ha representado USD 25,5 millones para quienes se dedican a esa actividad económica, que se concentra en 12 ciudades de Ecuador. La mayor parte de negocios, el 32 %, está en Quito; le siguen Guayas, con un 13,88 %; y Loja, con un 10,20 % (Asocerv, 2024).

La cerveza artesanal tipo Lager generalmente combina el lupulado con amargor suave o mediano, con un cuerpo y estructura que presenta baja moderación. Ejecutan la fermentación con cepas de levadura Lager que operan mejor a temperaturas más frías, y también fermentan continuamente por un largo período de tiempo adicional. Estas levaduras también procesan la mayoría del acetato de etilo y el di acetil producidos durante la fermentación, reduciendo los sabores agresivos o fuertes, y no producen ácidos como el ácido láctico o acético, evitando sabores viscosos (Otero *et al.*, 2020).

Las levaduras se definen como organismos microscópicos unicelulares pertenecientes al dominio Eukarya y están clasificadas dentro del reino Fungi. Su reproducción puede presentarse sexual (por esporas) y asexual (gemación). Son muy conocidas por su gran capacidad de convertir carbohidratos en etanol y CO₂ mediante el proceso de fermentación alcohólica el cual es un proceso de mucha importancia en la industria de los alimentos (Nally, 2021).

Las levaduras *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus* se diferencian por su capacidad fermentativa, velocidad de consumo de azúcares, temperatura de fermentación y características respecto a la floculación celular. La levadura transforma los ingredientes del mosto en etanol y compuestos aromáticos como alcoholes superiores, ésteres y compuestos de carbonilo (Albarracín, 2020).

Las levaduras *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus* son claramente un factor limitante para la producción de cerveza artesanal y su influencia en la misma será decisiva, ya que no solo se limita a la fermentación, sino que también aporta compuestos organolépticos, nutrientes y metabolitos (Casas *et al.*, 2023).

1.2. Planteamiento de problema

La producción de cerveza artesanal tipo lager se ha convertido en una tendencia en auge, originada principalmente por la búsqueda de productos naturales y la demanda de cervezas con sabores diferenciados. Uno de los pasos críticos en la elaboración de la cerveza es la fermentación, un proceso que ha sido y se ha apoyado en el entusiasmo y la creatividad de los cerveceros artesanos. Diversos estudios indican la importancia del manejo de la cepa o variedad de levadura en la calidad sensorial de la cerveza, aunque la información recopilada en aplicaciones dentro de cervecerías artesanales es limitada (Sánchez *et al.*, 2020).

La importancia del estudio de las levaduras en la cerveza artesanal ha llevado a la necesidad de analizar las diferencias funcionales y de calidad entre ellas, para de esta manera, buscar una caracterización precisa de las mismas según su comportamiento fermentativo. Al usar diferentes tipos de levaduras y materias primas, su adición, aporta un aumento en la diversidad de cervezas resultantes al aplicar el mismo proceso de manufactura. Entre las variables a controlar en el proceso de elaboración de cerveza del tipo lager, se encuentran las condiciones de fermentación, la cual influye en la calidad sensorial del producto final (Bueno, 2023). Tal como lo indica en el **Anexo 1**.

El medio donde se realiza el proceso fermentativo también es considerado otro de los factores que condiciona la calidad del producto obtenido. La temperatura, el pH y la aireación, son elementos fundamentales a controlar a lo largo de todo el proceso. El pH óptimo para la conducción de la fermentación por Cerveza *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus* es 4.7-5.0. Los parámetros que condicionan a un medio para que sea hábitat de las levaduras además del pH y la presencia de O₂, incluyen factores como la concentración de los compuestos de N y C, y principalmente el hecho que es para estos microorganismos que el etanol es tóxico (Duliński y Poniewska, 2022).

1.3. Justificación

Las cervezas artesanales tipo lager elaboradas a partir de las cepas de levaduras *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus* presentan características organolépticas con intensos aromas afrutados y persistente amargor. Asimismo, presentan un ligero olor a levadura acompañado finamente de una ligera presencia de DMS. En cuanto a los aspectos gustativos, su balance es muy definido en comparación a la sensación sedosa y a la dulce. En la lengua, esta cerveza presenta una sensación plenamente delicada debido a que es enfatizada muy fuerte por un intenso sabor afrutado equilibrado (Yordi *et al.*, 2024).

La fermentación de cerveza artesanal lager es una serie de reacciones elaboradas por las levaduras *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus*, que proporcionan la energía necesaria para reproducirse y para continuar su función esencial de la fermentación, que es la creación de dos productos fundamentales: el anhídrido carbónico (CO₂) y la liberación del propio etanol, bautizando a la producción de alcohol. Los azúcares que generan los subproductos son consumidos por los extractos de malta UPA, dando a la bebida sus características organolépticas distintivas, propias de la cerveza artesanal (Sánchez *et al.*, 2020).

Para obtener la cantidad necesaria de levadura para dar inicio al proceso fermentativo se logra a través de la propagación. La propagación de la levadura se basa en la obtención de biomasa en condiciones aeróbicas, el proceso implica varios escalados que finalizan en la inoculación de la levadura en un mosto adecuado para la fermentación. La propagación debe garantizar la pureza de la cepa, inocuidad y valores adecuados de viabilidad celular (Fernández, 2023).

Por lo antes expuesto es importante describir el impacto de la aplicación de tres variedades de levaduras (*S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus*) en la producción de cerveza artesanal tipo lager.

1.4. Objetivos del estudio

1.4.1. Objetivo general

Determinar que especie de levaduras (*S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus*) genera un mayor impacto en las características organolépticas y tiempo de vida útil de la cerveza artesanal tipo lager.

1.4.2. Objetivos específicos

- Describir que concentración de las cepas de levaduras *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus* influyen significativamente en la calidad del producto.
- Detallar parámetros físicos químicos para el proceso de propagación y fermentación de las cepas de levaduras *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus* en la producción de cerveza artesanal tipo lager.

1.5. Línea de investigación

La presente investigación está enfocada dentro de los dominios de la Universidad Técnica de Babahoyo de Recursos agropecuarios, ambiente, biodiversidad y biotecnología. Pues la temática de la presente investigación es “Impacto de la aplicación de tres variedades de levaduras (*S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus*) en la producción de cerveza artesanal tipo lager”, el mismo que se encuentra enfocado en la línea de: Desarrollo agropecuario, agroindustrial sostenible y sustentable y en la sublínea de: Seguridad y soberanía alimentaria.

2. DESARROLLO

2.1. Marco conceptual

2.1.1. Introducción a las levaduras del género *Saccharomyces*

En relación a la fabricación artesanal de cerveza hay ciertas comunidades de levaduras que han tomado una dependencia mutua con el sustrato donde se desarrollan, han establecido un sistema determinado, en una red de interacciones, donde cada miembro tiene un papel específico para la función del sistema. Es así como llega el término conserva industrial y en consecuencia levaduras salvajes o especie colonizadora, que corresponden a una o varias comunidades de levaduras dependiendo del sustrato en específico y donde ciertas cepas, han encontrado su hábitat (Fuentes, 2021).

Uno de los géneros parentales dentro de las fuentes naturales citadas, es el de las levaduras del género *Saccharomyces*. Debido a sus características fisiológicas y fermentativas, han sido empleadas por el ser humano para la obtención de dos de sus más antiguas bebidas alcohólicas: cerveza y vino. Por más de 4 mil y 10 mil años respectivamente. Desde esas fechas hasta ahora, estas especies han logrado no solo medrar con aumentos en los procesos de fabricación, sino adaptarse a los sustratos mismos y mutar por selección o recombinación aportada por sus particularidades bioquímicas al sistema (Timoteo & Isela, 2024). Tal como lo indica en el **Anexo 2**.

2.1.2. Importancia de las levaduras en la industria alimentaria y de bebidas

Especies del género *Saccharomyces* son de importancia industrial en los sectores de alimentación de productos fitofarmacéuticos, debido a su carácter fermentador. La levadura se emplea principalmente para la producción de cerveza, vino y en la panadería. Aunque en menor importancia, también es usada en alimentación animal y en la industria farmacéutica (Burini et al., 2021).

Desde un punto de vista nutricional, la levadura de cerveza posee un índice proteico que oscila entre el 40-50%. Así, 100g de levadura aportan al organismo entre 40 y 50g de proteínas, cantidad muy superior a la que aporta un alimento proteico normal. De hecho, el análisis esencial de aminoácidos demuestra que la levadura de cerveza es muy rica en aquellos que constituyen la estructura de las proteínas desde un punto de vista bioquímico, fundamentales para la nutrición del ser humano (Tancara, 2021).

2.1.3. Características de *Saccharomyces cerevisiae*

La forma de las células de *Saccharomyces cerevisiae* es elipsoidal y éstas pueden ser esféricas (1 % de las células del cultivo) o alargadas (80-90 %), cuando están en crecimiento activo o disminuyen de tamaño, por ejemplo, en presencia de una fuente de carbono fácilmente fermentable. *Saccharomyces cerevisiae* también forma esporas cuando está en condiciones de estrés o agotamiento de nutrientes; este tipo de grano es único en la mitosis, y no tiene análogos en la especie candidata (Petrignani, 2022).

Saccharomyces cerevisiae fermenta azúcares para formar etanol y CO₂, lo que permite a este microorganismo ser responsable de la fermentación alcohólica. Las condiciones en las que se lleva a cabo la fermentación son un factor determinante en la cantidad de etanol que se produzca, afectando efectivamente a las características microbianas y derivando en otras rutas metabólicas. Esta es una simple razón por la que se estudia esta levadura, tanto en su comercialización como en la formación de otros procesos industriales (Peña, 2024).

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es un microorganismo eucariota unicelular que se ha usado durante diversos y extensos años para la elaboración de bebidas alcohólicas por su capacidad para fermentar azúcares, principalmente glucosa, en una atmósfera anaeróbica. En este proceso se obtiene etanol y dióxido de carbono como productos finales. La primera vez que se le encontró en una actividad biomédica fue curando una microbiota peligrosa (Tawas, 2022).

2.1.4. Características de *Saccharomyces pastorianus*

S. pastorianus se le atribuye derivar del híbrido natural *S. cerevisiae* x *S. uvarum*. La primera representa la forma espontánea del híbrido, si bien hay indicios de que pueda coexistir más de una clase haploide de esta levadura. La fusión sexual de *S. cerevisiae* con una célula de *S. bayanus* (sensu *S. pastorianus*) supone la formación del híbrido, el cual dará lugar a células con un largo periodo de división (smugg-budding) aún en condiciones de nutrientes por ser diploides (Pando et al., 2023).

La morfología y estructura celular son semejantes a las de todas las levaduras. Presentan forma ovoidea, con un diámetro de 0,5 a 2 μ m y una longitud que puede diferir notablemente entre cepas. En la pared celular de *Saccharomyces pastorianus* hay presentes dos polisacáridos. Aunque las proporciones de estos dos lípidos son diferentes en *Saccharomyces pastorianus* y *Saccharomyces cerevisiae*, la composición en ácidos grasos libres de la fracción total es la misma: palmitato, palmitoleico, estearato y oleato son los más importantes. La membrana celular es, como en muchas otras células, asimétrica (Villalba, 2022).

Saccharomyces pastorianus realiza la fermentación a baja temperatura, de ahí su otra denominación *S. uvarum*. Es llamativo su crecimiento prácticamente plano en lugar de en forma de vesículas, lo cual genera floculación en vez de precipitarse sobre el fondo del recipiente. Aun así, ambos tipos de fermentación, como la glucólisis, son inusuales, y una vez que el piruvato procedente de aquella es reducido, los productos finales son alcoholes, causando que la fermentación no sea más que incompleta. Esto hace que estos organismos sean aerobios, en cuanto a que necesitan oxígeno para existir (Castells et al., 2024).

Saccharomyces pastorianus es una levadura de fermentación baja, a la cual le afecta más el cold shock que a *S. cerevisiae*. Es sensible a bajas temperaturas, entre 5 y 18°C, ya que el desarrollo del micelio se detiene a 8°C. La levadura tiene un comportamiento alto-

fermentativo, produce etanol y menos CO₂ que las levaduras de fermentación alta. *Saccharomyces pastorianus* tiene un crecimiento rápido, el proceso fermentativo dura alrededor de una semana (Chicaiza, 2023).

2.1.5. Características de *Saccharomyces bayanus*

La cepa *Saccharomyces bayanus*, específicamente, es una levadura conocida también con el nombre de *Saccharomyces cerevisiae bayanus*. Esta especie está formada por células comúnmente esféricas o elípticas, miden aproximadamente entre 3 a 8 µm y en ocasiones llegan a unirse, formando pseudohifas. Como característica bastante particular, tiene la capacidad de producir daño alcohólico (Albarracín, 2020).

Las células de *S. bayanus* miden 4-8 x 5-12 µm, con la reproducción por gemación, como el resto de los *Saccharomyces*, las células hijas emergen de la superficie de las células madres, produciéndose una mitosis asimétrica; generalmente poseen 15-20 ns de ADN (Yan et al., 2020).

El metabolismo de *Saccharomyces bayanus* tiene lugar en dos fases bien diferenciadas. Durante la etapa anaeróbica se lleva a cabo una fermentación alcohólica, mientras que en la etapa aeróbica se produce una respiración fermentativa (Ruiz., 2021).

Las *Saccharomyces bayanus* son levaduras del tipo fermentativo, que ofrecen la posibilidad de fermentar azúcares sin oxígeno; degradando y transformando un compuesto orgánico (azúcares) en dos moléculas de ácido acético y dos moléculas de alcohol por célula en dos pasos bien diferenciados. Es en el segundo paso, el fermentativo, donde se realiza la producción de etanol permitiendo llevar a cabo una continua reproducción de células, manteniendo la actividad fermentativa y la ausencia de NAD⁺ reducido y de energía (Tawas, 2022).

En cuanto al rango de temperatura óptima gira en torno a los 30° y 35°C, este no es sustentable en el caso del tipo de levadura *Bayanus*, ya que tiende a destruirse completamente por efecto de las altas temperaturas. Por todo esto, el rango de temperatura a fijar para la conservación del mosto / vino no debe superar los 20°C en su límite inferior y los 18°C en su límite superior, óptimo 15°C (Albarracín, 2020).

En la elaboración de cerveza, *S. bayanus* imparte unas características de sabor alcohólico y notas afrutadas. El grado alcohólico varía en función de la mayoría de la variedad, siendo de 4,5-15 % volumen en la cerveza. Como consecuencia de que *S. bayanus* es resistente hasta un 14-16 %, se pueden llevar a cabo fermentaciones alcohólicas con un contenido de alcohol superior al 14 % vol (Bruner et al., 2021).

2.1.6. Factores que afectan la concentración de levaduras

La insuficiencia de oxígeno y fermentación metabólica es la sobreproducción de compuestos problemáticos en las cervezas, como el acetaldehído, lo cual evita que los azúcares se conviertan en alcohol de manera adecuada. Esta alteración existe cuando hay insuficiencia de fermentación en la fase actual del proceso. (Maicas & Mateo, 2023).

Para satisfacer las necesidades de sustrato de las levaduras, las células necesitan alcanzar un adecuado nivel de oxígeno disuelto en el mosto o caldo de fermentación, que obtienen a través de la fermentación alcohólica. A excepción de la fermentación alcohólica primaria, en la cual las levaduras obtienen suficiente energía a partir de la metabolización de los azúcares más complejos, en general se debe proporcionar oxígeno a las levaduras para garantizar sus necesidades biosintéticas (Sadeghi et al., 2023).

El oxígeno se aporta a través del aire diluido en los mostos para conseguir la totalidad de oxígeno necesaria. Acompañado de oxígeno, también se solubiliza en el mosto nitrógeno,

el cual ingresa a las células de levadura. La falta de oxígeno durante la fermentación alcohólica produce principalmente productos inaceptables de fermentación (García et al., 2021).

La concentración final de cepas de levaduras *Saccharomyces* está en función de distintos factores, destacándose de este modo la disponibilidad de nutrientes, la concentración de oxígeno, la flora microbiana existente en el medio, el pH del sustrato, la temperatura, etc (Calle, 2022).

2.1.6.1. Factores ambientales

La sacarosa es también un factor ambiental; este azúcar debe proteger a la levadura, porque el mosto fermentado por la malta adaptada, también llamada levadura madre, no es fermentado generalmente por el resto de la flora que habita el mosto, a excepción de algunos microorganismos no considerados patógenos como *Pichia fraga* (Caycedo et al., 2021).

El alcohol es otro factor ambiental que también parece estar relacionado con el crecimiento de una gran cantidad de levaduras que pueden sobrevivir en estrechos cambios en el contenido de alcohol. Influye en la cantidad de alcohol producido durante el tiempo de fermentación y en la cantidad en la cual la levadura es capaz de soportar su entorno alcohólico (Guevara, 2023).

Entre los factores ambientales asociados a la presencia y concentración de levaduras en la industria de la calidad de la cerveza, el primer factor que atrae es el efecto del pH. La concentración de levaduras disminuye con el aumento del pH; aportar mayor acidez al medio disminuye la concentración de levaduras (Timoteo & Isela, 2024).

Tabla 1.

Concentración de levaduras en la calidad de la cerveza artesanal tipo lager

Cepa de levaduras	Concentración
<i>S. cerevisiae</i>	0.80 - 1×10^7 células/ml
<i>S. pastorianus</i>	0,75- $1,5 \times 10^6$ células/mL
<i>S. bayanus</i>	$1-1.2 \times 10^6$ células/mL

Fuente: (Burini et al., 2021)

2.1.7. Parámetros físicos y químicos en la fermentación de levaduras para cerveza artesanal lager

2.1.7.1. Parámetros físicos en la fermentación

El control de la presión osmótica se logra adicionando compuestos con grado de fermentabilidad menor que la sacarosa y en menor cantidad, buscando mantener el perfil de fermentación deseado. Cuando las células presentan una alta presión osmótica, ocurre un efecto de deshidratación que podría convertirse en fisiológicamente irreversible si el proceso se produce superando ciertos límites, que para la *Saccharomyces cerevisiae* lager se acepta que en términos de sólidos solubles (°Brix) corresponden a 18 % (Cordova & Davila, 2024).

La fermentación consiste en un proceso bioquímico que es desarrollado por un organismo (levaduras), en un medio acuoso, en presencia de oxígeno o en su ausencia. Se traduce en una serie de transformaciones físico-químicas del medio, por la acción catalítica de enzimas segregadas por el organismo, que traen consigo la liberación de energía y la formación de productos diferenciales al inicio de la reacción. Las diferentes transformaciones derivan del uso de nutrientes, entre ellos compuestos orgánicos, como fuente energética, y del metabolismo de ciertos compuestos presentes en el medio, como fuente de carbono y nutrientes (Arias, 2022). Tal como lo indica en el **Anexo 3**.

2.1.7.1.1. Temperatura

Esta es muy variable si se compara con la temperatura de fermentación ale, que generalmente es de 20 a 25 °C. Para la elaboración de lager, la recomendación es de 8 a 10 °C para la inoculación de levadura. Durante el proceso, se recomienda una disminución gradual de 1 °C por día hasta llegar a los 4 °C, descendiendo a 1 °C cada 8 horas. Al bajar la temperatura de manera tan rápida en la cerveza, se formará el dióxido de carbono (CO₂) y la cerveza correría el riesgo de deterioro de Pitting (formación de agujeros en el fondo del envase), por lo que la presión interna de CO₂ no estaría bien equilibrada (Montecinos, 2021). Tal como lo indica en el **Anexo 4**.

Para el desarrollo de cerveza artesanal lager, es esencial realizar una adecuada y estricta gestión de la temperatura en cada uno de los pasos de la fermentación. Diversos sensores, termostatos y cámaras de fermentación cuentan con alarmas visuales y sonoras para el aviso en caso de alguna falla en el control de la temperatura, ya sea por un mal funcionamiento del aparato de refrigeración acoplado o bien por descompostura del mismo (Luna & Cobos, 2024).

Cuando son cervezas de fermentación superior, no se realizará una maduración tan larga como en la fermentación inferior y serán servidas de manera fresca y a temperatura matizada al paladar humano. Lo ideal es $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante un tiempo de 12 ± 1 horas. Durante la fermentación, se recomienda una temperatura constante, con lo que se obtiene un producto de calidad homogénea. Al final del proceso de fermentación, se permite un ligero aumento en la temperatura a 12 °C (Arévalo & Domínguez, 2020).

2.1.7.1.2. pH en la fermentación

Para el mosto de cerveza artesanal tipo lager, el valor de pH se sitúa entre 5,0 y 4,8 justo al principio de la fermentación (primeras 10-15 horas), para después disminuir hasta

valores de 4,2 - 4,3 e incluso buscar valores de 4,0, y por supuesto no superar nunca los valores de 5 que son francamente desaconsejables (Ochoa, 2024).

El pH del mosto y de la cerveza es especialmente importante durante la germinación y fermentación. La mayoría de levaduras de cerveza lager crecen en un rango de pH de 3,5 a 6,5, pero todas ellas presentan su desarrollo óptimo a un valor de pH entre 4,0 y 5,0 (Quinatoa & Valladares, 2023) Tal como lo indica en el **Anexo 5**.

2.1.7.1.3. Agitación y oxigenación

Durante la agitación, el oxígeno atmosférico es introducido en el mosto donde, durante la alimentación activa de un azúcar, la concentración de azúcar en una célula no es lo suficientemente alta como para soportar la oxidación completa del azúcar y se libera la oxidación parcial del azúcar a alcohol (AE). En el nuevo sistema de flujos, los principales productos de la fermentación anaeróbica son etanol y dióxido de carbono, que solo se producen en las fermentaciones con cervecerías artesanales (Delgado & Soler, 2021).

En la fase aeróbica, la destrucción de azúcar no farinosa por deshidrogenación del lactato que también es indicada por la cerveza de oxígeno y azúcares, como se describe a continuación. La fermentación alcohólica (también llamada fermentación de glucosa $6\text{CH}_2\text{O}$ a $2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} + 2\text{CO}_2$ por vía de Embden Meyer Parnas) es un proceso catabólico en anaerobiosis (ausencia de oxígeno) para la degradación de azúcares (típicamente glucosa y fructosa) de 6 carbonos y la obtención de energía (Altamirano et al., 2021). Tal como lo indica en el **Anexo 6**.

2.1.7.2. Parámetros químicos en la fermentación

Los parámetros químicos de interés en la fermentación de levadura de cerveza son: el alcohol, el pH, el grado de fermentación alcohólica, la fermentación glucolítica y la fermentación alcohólica. El alcohol o etanol es el producto final de la fermentación alcohólica

y, a su vez, influye negativamente sobre el equilibrio celular de la levadura, inhibiendo su rendimiento metabólico (Moreno, 2023).

El alcohol es el producto deseado como consecuencia de la fermentación alcohólica. Se encuentran problemas cuando la concentración supera el 7%, ya que, en la vida anaerobia, la levadura emite etanol y CO₂ equitativamente (Rodríguez, 2021).

2.1.7.2.1. Concentración de azúcares

La cantidad de cartabones existente por litro de mosto será el determinante para que las enzimas (amilasas) den origen a que el 70 % de los azúcares que los granos contienen sean degradados a maltosa y posteriormente a glucosa por efecto de la enzima "maltasa" (Grijalba & Zorrilla, 2023).

En el proceso de fermentación alcohólica, el mosto (solución líquida donde se fermenta la cerveza) es convertido en cerveza mediante la acción de las levaduras, quienes transformarán el azúcar en alcohol con la producción final de dióxido de carbono. Sin embargo, para que se pueda transformar parte del azúcar en gas, necesariamente debe tener suficiente cantidad de oxígeno (Aráuz, 2020).

El rendimiento de azúcar a etanol disminuye sensiblemente cuando la concentración va disminuyendo, lo que nos lleva a observar que es importante una buena aireación al momento de siembra de las levaduras, para aprovechar el azúcar y que una cantidad se transforme en gas. Sobre el punto de la aireación, es que se dará un primer parámetro de control al momento de realizar una fermentación de levaduras (Gutiérrez, 2024).

2.1.7.1.2. Concentración de alcohol y subproductos

Al analizar los glicéridos (la combinación química de monoacilgliceroles y ácidos grasos) se evidencia que los géneros otorgan diferentes combinaciones sumamente complejas. La razón expuesta provoca la diferenciación de las cepas entre sí, por lo menos

en seiscientas variantes. Cabe destacar que no solo los géneros sino también las especies difieren claramente entre sí, en particular las que producen y las que no producen ácido de alfa cetoglutarico (Deseta, 2022).

Las levaduras *S. cerevisiae* y *C. valdivieso* tuvieron una misma velocidad específica de producción de etanol en fructosa y maltosa, mostrando también el prototipo *C. valdivieso* mayor capacidad para producir etanol y resistencia a altas concentraciones alcohólicas. Valores de etanol producido por gramo de células se halló en *C. valdivieso* $6,025 \pm 0,522$ (gr/g) en fructosa y $4,792 \pm 0,1124$ (gr/g) en maltosa, en cambio para *S. cerevisiae* $6,494 \pm 0,2327$ (gr/g) en fructosa y $4,866 \pm 0,2333$ (gr/g) en maltosa (Timoteo & Isela, 2024).

2.1.7.1.3. Nitrógeno y otros nutrientes esenciales

El nitrógeno también es esencial para el crecimiento de las levaduras y una de sus funciones es permitir que las levaduras puedan desarrollares en cantidad suficiente para absorber el oxígeno cumpliendo la reacción aeróbica. Este término se refiere a la capacidad del medio de soportar un flujo aireante determinado, es decir, contribuye de manera indirecta a la adquisición de agua oxigenada para las células, mientras más cantidad de dicha sal sea presente mayor será la solubilidad de oxígeno en el medio (Amores & Sancho, 2021).

2.1.8. Interacción de parámetros físicos y químicos en la fermentación

El anhídrido carbónico (CO₂) interviene tanto en los procesos de re suspensión de las levaduras a través de las burbujas, produciendo una liberación del gas, como directamente a nivel químico. En un proceso donde participan varios microorganismos a través de un equilibrio natural denominado "efecto de entorno", cualquier parámetro físico y químico, en presencia de oxígeno, afecta su desarrollo. De ahí la importancia de conocer el efecto solicitado que cada parámetro tiene en el crecimiento y viabilidad de *Saccharomyces* (Larroque, 2020).

2.1.8.1. Relación entre pH y actividad metabólica de las levaduras

Al parecer, la cantidad de levadura añadida al mosto influye en el tiempo de latencia. Este factor es determinante, ya que la disminución de la población celular en la fermentación produce un retraso en el inicio de la actividad metabólica de la levadura. A pesar de que en las fermentaciones cerveceras tipo Ale el tiempo de latencia se ha estudiado en relación con diferentes parámetros físicos, esta cuestión no se ha abordado en el caso de las fermentaciones Lager, por lo cual no se conocen las causas de dicho fenómeno (Chipre, 2021).

2.1.9. Vida útil de la cerveza artesanal tipo lager

Diversos autores concuerdan que existe un tiempo de vida útil en las cervezas artesanales tipo Ale, que va en un intervalo de seis meses a un año de consumo, pero no plantearon fecha de caducidad (Llanos, 2020).

Existen investigaciones sobre cerveza artesanal y levaduras, donde las levaduras empleadas, participan como parte de su metabolismo en la producción del CO₂, la biomasa e incluso en la remoción de posibles micotoxinas provenientes de granos de cereales. Además, se ha reportado que la vida útil de las cervezas artesanales tipo Ale no es tan extensa como la de tipo Lager (Ogawa y Col, 2022).

Los principales factores identificados que afectan a la vida útil de este producto son la temperatura, el tipo de levaduras, el tiempo de fermentación, la luz y las posibles transformaciones químicas y microbiológicas. Estos factores se han correlacionado con los cambios físicos, químicos y microbiológicos que ocurren a lo largo del proceso de elaboración, almacenamiento y comercialización de este producto. La afectación de la vida útil se puede evidenciar a través de cambios en los atributos sensoriales, especialmente los visuales como el color y la turbidez y otros como el sabor, consecuencia de las transformaciones químicas y microbiológicas (Pérez, 2019).

Debido a las altas temperaturas que se emplean en el proceso de fermentación de este tipo de cerveza, puede ocurrir la proliferación de bacterias y hongos. Estas condiciones de operación influyen en una menor vida útil en comparación a las cervezas de baja fermentación (González, 2017).

2.2. Marco metodológico

El presente trabajo consistió en una investigación bibliográfica, que se realizó utilizando el método exploratorio, documental bibliográfico, información de los dspace de universidades, bibliografía de Google académico, artículos científicos de alto impacto, revistas indexadas y otros espacios de consulta bibliográfica especializada.

La información obtenida fue parafraseada, resumida y analizada a fin de obtener información relevante sobre el “Impacto de la aplicación de tres variedades de levaduras (*S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus*) en la producción de cerveza artesanal tipo lager”.

2.3. Resultados

En base al trabajo de investigación realizado sobre el “Impacto de la aplicación de tres variedades de levaduras (*S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus*) en la producción de cerveza artesanal tipo lager”, se determinó los siguientes resultados:

La concentración final de cepas de levaduras *Saccharomyces* está en función de distintos factores, destacándose de este modo la disponibilidad de nutrientes, la concentración de oxígeno, la flora microbiana existente en el medio, el pH del sustrato, la temperatura. La concentración de levaduras disminuye con el aumento del pH. Algunos estudios sugieren que aportar mayor acidez al medio disminuye la concentración de levaduras.

La insuficiencia de oxígeno y fermentación metabólica es la sobreproducción de compuestos problemáticos en las cervezas, como el acetaldehído, lo cual evita que los

azúcares se conviertan en alcohol de manera adecuada. Esta alteración existe cuando hay insuficiencia de fermentación en la fase actual del proceso.

Para la elaboración de cerveza artesanal lager, la recomendación es de 8 a 10 °C para la inoculación de levadura. Durante el proceso, se recomienda una disminución gradual de 1 °C por día hasta llegar a los 4 °C, descendiendo a 1 °C cada 8 horas. Al bajar la temperatura de manera tan rápida en la cerveza, se formará el dióxido de carbono (CO₂) y la cerveza correría el riesgo de deterioro de Pitting (formación de agujeros en el fondo del envase), por lo que la presión interna de CO₂ no estaría bien equilibrada.

Para el mosto de cerveza artesanal tipo lager, el valor de pH se sitúa entre 5,0 y 4,8 al principio de la fermentación (primeras 10-15 horas), para después disminuir hasta valores de 4,2 - 4,3 y por supuesto no superar los valores de 5 que son desaconsejables.

2.4. Discusión de resultados

Dentro del proceso fermentativo de la cerveza artesanal tipo lager los factores que condicionan la calidad del producto obtenido están la temperatura, el pH y la aireación, son elementos fundamentales a controlar a lo largo de todo el proceso.

Además, se menciona que los factores asociados a la presencia y concentración de levaduras en la calidad de la cerveza artesanal tipo lager, el primer factor que atrae es el efecto del pH. La concentración de levaduras disminuye con el aumento del pH. Algunos estudios sugieren que aportar mayor acidez al medio disminuye la concentración de levaduras (Timoteo & Isela, 2024).

También el tiempo de reproducción de las levaduras influye en el tiempo de latencia, pues, en general, las poblaciones con menor tiempo de generación producen menos CO₂ y etanol en esta etapa, lo que concuerda con el comportamiento metabólico de las mismas, ya

que estas comúnmente promueven el uso de compuestos cuyo producto final es otra levadura (Chipre, 2021).

En efecto el rendimiento de azúcar a etanol disminuye sensiblemente cuando la concentración va disminuyendo, lo que nos lleva a observar que es importante una buena aireación al momento de siembra de las levaduras, para aprovechar el azúcar y que una cantidad se transforme en gas. Sobre el punto de la aireación, es que se dará un primer parámetro de control al momento de realizar una fermentación de levaduras (Gutiérrez, 2024).

Las cepas de levaduras (*S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus*) realiza la fermentación a baja temperatura, donde a su vez las células necesitan alcanzar un adecuado nivel de oxígeno disuelto en el mosto o caldo de fermentación, que obtienen a través de la fermentación alcohólica.

3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

3.1. Conclusiones

En referencia a los resultados obtenidos se realizan las siguientes conclusiones:

- La concentración de levaduras *S. cerevisiae* que influye en la calidad de la cerveza artesanal tipo lager es la siguiente: $0.80 - 1 \times 10^7$ células/ml, produciendo una alta fermentación alcohólica, siendo determinante en la cantidad de alcohol que se produce, teniendo un mayor impacto en la producción del producto.
- La concentración de levaduras *S. pastorianus* que influye en la calidad de la cerveza artesanal tipo lager es la siguiente: $0,75-1,5 \times 10^6$ células/mL, con lo cual presenta un comportamiento alto-fermentativo produciendo etanol y menos CO₂ que las levaduras de fermentación alta.
- La concentración de levaduras *S. bayanus* que influye en la calidad de la cerveza artesanal tipo lager es la siguiente: $1-1.2 \times 10^6$ células/mL, con lo cual lleva a cabo fermentaciones alcohólicas con un contenido de alcohol superior al 14 %.
- Dentro de los parámetros físicos y químicos que influyen en el proceso de propagación y fermentación de las cepas de levaduras *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus* en la producción de cerveza artesanal tipo lager esta los siguientes: pH, temperatura y oxigenación.
- La temperatura es el factor que más influye en el proceso de fermentación ale, en la cual se considera una temperatura de 20 a 25 °C; para la elaboración de lager, la recomendación es de 8 a 10 °C para la inoculación de levadura; durante el proceso, se recomienda una disminución gradual de 1 °C por día hasta llegar a los 4 °C, descendiendo a 1 °C cada 8 horas.

- Los principales factores identificados que afectan a la vida útil de este producto son la temperatura, el tipo de levaduras, el tiempo de fermentación, la luz y las posibles transformaciones químicas y microbiológicas.

3.2. Recomendaciones

En base a la investigación realizada se recomienda lo siguiente:

- Sugiero establecer un manejo adecuado de las concentraciones de *S. cerevisiae* $0.80 - 1 \times 10^7$ células/ml, *S. pastorianus* $0,75-1,5 \times 10^6$ células/mL y *S. bayanus* $1-1.2 \times 10^6$ células/mL en la producción de cerveza artesanal tipo lager.
- Recomiendo verificar los parámetros físicos y químicos durante el proceso de propagación y fermentación de las cepas de levaduras *S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus* en la producción de cerveza artesanal tipo lager.
- Propongo en base al trabajo efectuado que la temperatura es muy importante por lo tanto deberíamos mantener que no pasen del rango de 20 a 25 °C durante la fermentación, ya que esto es crucial para obtener un producto de calidad homogénea.
- En base al estudio desarrollado aconsejo mantener valores óptimos de pH entre 3.5 – 6.5 durante la fermentación de levaduras de cerveza Lager, para lograr una mayor concentración de alcohol.
- Recomiendo realizar una oxigenación y agitación adecuada durante las primeras horas de fermentación, debido a que esto asegura una aireación adecuada del mosto para favorecer la calidad del producto final.

4. REFERENCIAS Y ANEXOS

4.1. Referencias

Arévalo, J. & Domínguez, T. (2020). Sustitución parcial de malta de cebada (*Hordeum vulgare*) por maíz morado (*Zea mays* L.) en el desarrollo de cerveza estilo Cream Ale: evaluación de parámetros fisicoquímicos y evaluación sensorial. Revista "Izote Journal, 1 (1). ISSN: 2957-762

Asociación de Cervecerías Artesanales (Asocerv). (29 de mayo 2024). Producción de cerveza artesanal en Ecuador. <https://www.primicias.ec/noticias/economia/cerveza-artesanal-produccion-ecuador/>

Arias, P. (2022). Obtención de bioetanol a partir de la fermentación del lixiviado generado de los residuos urbanos orgánicos provenientes del mercado municipal el arenal del cantón Cuenca (Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana). <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/25012/1/UPS-CT010569.pdf>

Amores, A., Sancho, P., Jiménez, A., & Palacios, V. (2021). Uso de polen de abeja como activador de la fermentación alcohólica en vinos blancos. Revista Internet De Viticultura y Enología, 5(3), 1-12. https://www.infowine.com/wp-content/uploads/2024/04/19487-15_AmoresArrocha_ES.pdf

Albarracín, K. (2020). Estudio de parámetros para la propagación de las cepas de levadura cervecera *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces carlsbergensis* para la fabricación de cerveza artesana (Tesis de Maestría, Universidad Politécnica de Madrid). 104 p.

Amarocho, C., Soto, J., & Charry, S. (2022). Caracterización fisicoquímica, microbiológica y sensorial de vino de curuba (*Passiflora mollissima* var. Bailey). Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 20(2), 45-59.

- Altamirano, J., Cárdenas, G., Vinueza, X., Villacorta, H., & Garzón, R. (2021). Evaluación de la sustentabilidad de fincas de la agricultura familiar, de dos eco tipos de Pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*), y su subproducto. Polo del Conocimiento: Revista científico-profesional, 6(12), 56.
- Albarracín, K. (2020). Estudio de parámetros para la propagación de las cepas de levadura cervecera *saccharomyces cerevisiae* y *saccharomyces carlsbergensis* para la fabricación de cerveza artesana (Tesis de grado, Universidad Politécnica de Madrid). <https://oa.upm.es/63464/>
- Aráuz, M. (2020). Fermentación de lactosuero para la obtención de etanol y su uso en cervezas y bebidas saborizadas Revisión de Literatura (Tesis de grado, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano). <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/dac4a18a-1b49-41ed-b8d3-bdf98ec7e58f/content>
- Castells, R., García, J., Espinosa, J., Pacheco, J., Suárez, F., & Moreno, J. (2024). Una visión general sobre el uso de levaduras secas activas para fermentaciones de vino. In XLV Jornadas de viticultura y enología de la Tierra de Barros; V Congreso Agroalimentario de Extremadura: Almendralejo, 2 al 5 de mayo de 2023 (pp. 99-111). Centro Universitario Santa Ana.
- Bruner, J., Marcus, A., & Fox, G. (2021). Brewing Efficacy of Non-Conventional *Saccharomyces Non-cerevisiae* Yeasts. *Beverages* 2021, 7, 68.
- Bueno, J. (2023). Evaluación de la influencia de la temperatura de fermentación en la reducción del diacetilo de una Cerveza Lager en Heineken Perú, Huachipa (tesis de grado, Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión). unjfsc.edu.pe

- Burini, J. A., Eizaguirre, J. I., Loviso, C., & Libkind, D. (2021). Levaduras no convencionales como herramientas de innovación y diferenciación en la producción de cerveza. *Revista Argentina de microbiología*, 53(4), 359-377.
- Casas, M., González, V., López, J., Morales, D., Maldonado, N., Pérez, M., González, S. (2023). Elaboración de cerveza artesanal ecológica con aloe vera. IX Certamen de Proyectos Educativos en Ingeniería Química en la UAL, 165, 13. ual.es
- Cordova, E. & Dávila, F. (2024). Influencia de tipos y tiempos de fermentación en los perfiles de taza sobre cuatro variedades de café (*Coffea arábica* L.) distrito de Chirinos (Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo).
<https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/12836>
- Chicaiza, J. (2023). Diseño y dimensionamiento de una línea de elaboración de cerveza artesana con segunda fermentación en botella, con una capacidad de 240.000 l/año en Elche (Alicante) (Tesis de grado, Universidad Politécnica de Madrid).
<https://oa.upm.es/76255/>
- Calle, B. (2022). Guía didáctica para la obtención de hongos a partir de cultivos caseros para el aprendizaje de la asignatura de Biología de los Microorganismos con estudiantes de quinto semestre de la carrera de Pedagogía de las Ciencias Experimentales: Química y Biología, período mayo 2021 - septiembre 2021 (Tesis de grado, Universidad Nacional de Chimborazo). <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/9336>
- Caycedo, L., Ramírez, L., & Suárez, D. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova*, 19(36),49-94.
<https://doi.org/10.22490/24629448.5293>

- Chipre, T. (2021). Elaboración de alcohol etílico a partir del corazón de la mazorca del choclo (Universidad Politécnica Salesiana del Ecuador).
<https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/20078>
- Chicaiza, J. (2023). Diseño y dimensionamiento de una línea de elaboración de cerveza artesana con segunda fermentación en botella, con una capacidad de 240.000 l/año en Elche (Alicante) (Tesis de grado, Universidad Politécnica de Madrid).
https://oa.upm.es/76255/1/TFG_JENNIFER_ALEJANDRA_CHICAIZA_QUEZADA.pdf
- Deseta, M. (2022). Desarrollo y aplicación de recubrimientos nanocompuestos para la preservación de la calidad de productos panificados (Tesis de grado, Universidad Nacional del Litoral). <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/handle/11185/6775>
- Duliński, R., Poniewska, D. (2022). The Impact of Mash pH and Exogenous Phosphorolytic Enzymes on the Release of Inositol Phosphates, Fermentable Sugars and Polypeptide Profile in the Technology of Buckwheat Beer. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca Food Science and Technology*, 1(79), 111-116 DOI:10.15835/buasvmcn-fst:2021.0045
- Delgado, I. & Soler, J. (2021). Obtención de bioetanol mediante procesos de fermentación con levaduras: revisión bibliográfica (Tesis de grado, Universidad de Zaragoza).
<https://zaguan.unizar.es/record/97964?ln=es>
- Fernández, F. (2023). Elaboración de cerveza artesana con diferentes cepas de *Lachancea* sp (Tesis de grado, Universidad de Extremadura). 58 p.
- Fuentes, J. (2021). Ingeniería genética de levadura y su aplicación biotecnológica para biorremediación de mercurio (Tesis de grado, Universidad Nacional Federico Villareal).https://repositorio.unfv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13084/5603/UNFV_F

CNM_Fuentes_Rivera_Navarro_Jessica_Paola_Titulo_profesional_2021.pdf?sequence=3&isAllowed=y

García, J., Zumalacárregui, L., & Santana, Z. (2021). Usos de la levadura *Pichia pastoris* en la producción de proteínas recombinantes. *Vaccimonitor*, 30(3), 153-163.

Guevara, W. (2023). Efecto del pH y temperatura en la fermentación de aguamiel de cabuya (*Agave Americana* L.) enriquecida con mashua (*Tropaeolum tuberosum*) ecotipo negra en la concentración de alcohol (Tesis de grado, Universidad Nacional de Huancavelica). <https://repositorio.unh.edu.pe/items/ede45a3f-a12b-4a64-b56b-19e3d577eb4e>

González, M. (2017). Principios de elaboración de las cervezas artesanales., Editorial lulu.com, pp. 1- 238. <https://www.lulu.com/es/shop/marcos-gonz%C3%A1lez/principios-de-elaboraci%C3%B3n-de-las-cervezas-artesanales/ebook/product-16rnry6.html?page=1&pageSize=4>

Gutiérrez, J. (2024). Efecto del furfural y el ácido acético en la fermentación y bioenergética de *Scheffersomyces stipitis* y *Saccharomyces cerevisiae* (Tesis de grado, Universidad Autónoma de Querétaro). <https://ri-ng.uaq.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/10400/FQLIN-289618%20%28PDF-A%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Grijalba, X. & Zorrilla, A. (2023). Efecto del tiempo y la temperatura de ebullición en la desnaturalización de proteínas extraídas por la maceración de cebada malteada (Tesis de grado, Universidad Nacional del Centro del Perú). <https://repositorio.uncp.edu.pe/handle/20.500.12894/9948>

- Giraldo, V. (2021). Sistema de propagación de levadura para la elaboración de bebidas alcohólicas en la cervecería libre de Colombia S.A (Tesis de grado, Universidad de Antioquia, Colombia). 35 p.
- Larroque, M. (2020). Selección de levaduras no tradicionales para la elaboración de cervezas artesanales (Tesis de Maestría, Universidad de la República). <http://riquim.fq.edu.uy//archive/files/c3ade5c42c2a75829a5af5ec8e548239.pdf>
- Llanos, J. (2020). Cerveza artesanal versus cerveza industrial: un análisis de las preferencias de los jóvenes universitarios en Mar del Plata., Tesis presentada en opción al Grado en Licenciatura en Economía, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina, <http://nulan.mdp.edu.ar/id/eprint/3350>
- Luna, T. & Cobos, V. (2024). Comparación de eficacia de *Saccharomyces Cerevisiae* Fermivin® 7013 y *saccharomyces Cerevisiae* comercial “Instaferm®” en la obtención de etanol a partir de la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (Tesis de Maestría, Universidad Estatal de Milagro). <https://repositorio.unemi.edu.ec/handle/123456789/7237>
- Maicas, S. & Mateo, J. (2023). The Life of *Saccharomyces* and Non-*Saccharomyces* Yeasts in Drinking Wine. *Microorganisms*, 11, 1178. <file:///C:/Users/hp/Downloads/microorganisms-11-01178-v3.pdf>
- Montecinos Mamani, E. S. (2021). Implementación de procedimientos de reutilización de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) para la ejecución en un segundo proceso fermentativo de cervezas de producciones minimas elaboradas en la cerveceria artesanal Niebla Brewing Company SRL (Tesis de grado, Universidad Mayor de San Andrés). <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/31929>

- Moreno, L. (2023). Estudio del efecto de la concentración de levadura en la fermentación alcohólica del zumo de melón (*Cucumis melo* L.) (Tesis de grado, Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión). <https://repositorio.unjfsc.edu.pe/handle/20.500.14067/6325/browse?type=subject&value=Fermentaci%C3%B3n+alcoh%C3%B3lica>
- Nally, M. (2021). Comportamiento de una cepa salvaje de *Saccharomyces cerevisiae* killer y su isogénica sensible respecto de diferentes fuentes de nitrógeno en cultivos mixtos. *Revista Argentina de Microbiología*, 37(2), 73-77.
- Ochoa, D. (2024). Elaboración de la cerveza artesanal tipo Pale Ale a base de cebada (*Hordeum vulgare*) variedad INIA 411 San Cristóbal y aguaymanto (*Physalis peruviana*) de la Región y evaluación de las características fisicoquímicas y organolépticas (Tesis de grado, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga). <https://repositorio.unsch.edu.pe/items/1b646baf-e7fb-4f11-acee-4780f0072fde>
- Otero, M., Cabello, A., Vasallo, M., García, L., López, J. (2020). Tecnología para la utilización integral de la levadura de cerveza en la industria alimenticia. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(4), 361-365.
- Ogawa, M., Carmona-Jiménez, P., García-Martínez, T., Jorrín-Novó, J.V., Moreno, J., Rey, M.D., & Moreno-García, J., (2022). Use of yeast biocapsules as a fungal-based immobilized cell technology for Indian Pale Ale-type beer brewing., *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106 (22), 7615-7625. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-12239-9>
- Peña, M. (2024). Potencial metabólico de levaduras aisladas de la fermentación modificada de cacao CCN-51 (Tesis de grado, Universidad del Azuay). <https://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/9>

- Petrignani, D. (2022). Selección de levaduras nativas *Saccharomyces cerevisiae* para vinificaciones en variedades blancas de viñedos de Pozo de los Algarrobos, San Juan (Universidad Nacional de San Juan). <http://huru.unsj.edu.ar/handle/123456789/263>
- Pando, R., Rodríguez, R., & Picinelli, A. (2023). Production of New Ciders: Chemical and Sensory Profiles. In *Natural Products in Beverages: Botany, Phytochemistry, Pharmacology and Processing*. 1-43. Cham: Springer International Publishing.
- Pérez, C. (2019). Obtención de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* mejoradas para su uso en cerveza tipo Ale., Tesis presentada en opción al Grado Científico de Máster en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma de Querétaro, México, 2019. <http://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/1173>
- Quinatoa, G. & Valladares, G. (2023). Elaboración de cerveza artesanal tipo brown ale con adición de semillas de cáñamo (*Cannabis Sativa* ssp. *Sativa*) (Tesis de grado, Universidad Técnica de Cotopaxi). <https://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/10948>
- Rodríguez, A. (2021). Superproductoras de manoproteínas y su efecto en la producción de congéneres en la fermentación alcohólica. *Biotecnología*. academia.edu
- Ruiz, C., Poblet, M., Cordero, R., Bordons, A., Reguant, C., & Rozès, N. (2023). Screening of *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspora delbrueckii* strains in relation to their effect on malolactic fermentation. *Food Microbiology*, 112, 104212.
- Ramos, N. (2024). Concentración de *Acetobacter aceti* a diferente temperatura para la elaboración de vinagre de frambuesa (*Rubus idaeus*) evaluando sus características fisicoquímicas (Tesis de grado, Universidad Nacional de Cajamarca). <https://repositorio.unc.edu.pe/handle/20.500.14074/6348>

- Ruiz, J. (2021). Estudios de genómica y transcriptómica comparadas en levaduras para la revelación aromática en la producción de vinos (Tesis de grado, Universidad Complutense de Madrid). <https://docta.ucm.es/entities/publication/136b7926-45f9-4a72-986e-3e5da9654c6e>
- Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Hajinia, F., Kharazmi, M. S., & Jafari, S. M. (2023). FoodOmics as a promising strategy to study the effects of sourdough on human health and nutrition, as well as product quality and safety; back to the future. *Trends in Food Science & Technology*, 136, 24-47.
- Sánchez, I., Ordoñez, K., Espinosa, M., López, X. (2020). Ésteres: El regalo de la levadura a tu cerveza. *RD-ICUAP*. *RD-ICUAP*, 6(17), 67-79. <https://doi.org/10.32399/icuap.rdic.2448-5829.2020>.
- Tawas, M. (2022). Estudio de la relaciones fisiológicas y moleculares entre cepas de *Saccharomyces cerevisiae* asociadas a la taberna, bebida extraída de la palma de coyol (*Acrocomia aculeata*. Jacq. Lodd Ex. Mart) (Tesis de Maestría, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapa). <https://repositorio.unicach.mx/handle/20.500.12753/4624?locale-attribute=es>
- Timoteo, N. & Isela, R. (2024). Aislamiento de levaduras obtenidas de aguamiel y su caracterización en la producción de bebidas alcohólicas (Tesis de grado, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro). <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/49808>
- Tancara, C. (2021). Diseño de un sistema de control para la automatización de la purga de levadura de cerveza (Tesis de grado, Universidad Mayor de San Andrés). <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/33690>

- Tawas, M. (2022). Estudio de la relaciones fisiológicas y moleculares entre cepas de *Saccharomyces cerevisiae* asociadas a la taberna, bebida extraída de la palma de coyol (*Acrocomia aculeata*. Jacq. Lodd Ex. Mart) (Tesis de grado, Universidad De Ciencias y Artes de Chiapa). <https://repositorio.unicach.mx/handle/20.500.12753/4624?locale-attribute=es>
- Timoteo, N. & Isela, R. (2024). Aislamiento de levaduras obtenidas de aguamiel y su caracterización en la producción de bebidas alcohólicas (Tesis de grado, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro). <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/49808>
- Vílchez, L. (2022). Análisis bioeconómico de la valorización de subproductos de la industria cervecera en dietas funcionales para una acuicultura sostenible. Proyecto de investigación: Mejora de la producción de la acuicultura mediterránea mediante el uso de herramientas biotecnológicas; Proyecto Mugildiet: Diseño y evaluación de dietas para una acuicultura sostenible de mugílidos (Tesis de grado, UNIVERSIDAD DE MURCIA). <file:///C:/Users/hp/Downloads/TESIS%20LUCIANO.pdf>
- Villalba, M. (2022). Caracterización de toxinas Killer con potencial aplicación en biocontrol de levaduras contaminantes de vinos (Tesis de grado, Universidad Nacional del Comahue). <http://rdi.uncoma.edu.ar/handle/uncomaid/16711>
- Yan, G., Zhang, B., Joseph, L., & Waterhouse, A. (2020). Effects of initial oxygenation on chemical and aromatic composition of wine in mixed starters of *Hanseniaspora vineae* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food microbiology*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32336379/>

Yordi, E., Rodríguez, S., Barroso, D., Martínez, A. (2024). Factores tecnológicos que afectan la vida útil de la cerveza artesanal de alta fermentación. *Revista Centro Azúcar*, 51(2), e1063-18. uclv.edu.cu

Zhang, J., Plowman, J. E., Tian, B., Clerens, S., & On, S. L. W. (2022). Predictive potential of MALDI-TOF analyses for wine and brewing yeast. *Microorganisms*, 10(2), 54-65. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8875952/>

4.2. Anexos



Anexo 1. Cerveza artesanal tipo lager (*S. cerevisiae*, *S. pastorianus*, *S. bayanus*) (Bueno, 2023)



Anexo 2. Levaduras tipo lager para el proceso de fermentación (Timoteo & Isela, 2024)



Anexo 3. Fermentación con levaduras para la producción de cerveza artesanal tipo lager (Arias, 2022)



Anexo 4. Medición de temperatura durante la fermentación (Montesino, 2021)



Anexo 5. Medición de pH durante la fermentación (Quinatoa y Valladares, 2023)



Anexo 6. Proceso de oxigenación durante la fermentación (Altamirano et al., 2021).