## ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

## Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción

"Mejora del proceso de floculación de la levadura cervecera"

### **PROYECTO INTEGRADOR**

Previo la obtención del Título de:

Ingeniera en Alimentos

Presentado por:

Karen Johanna Menoscal Muñoz Ana Belén Santamaría Campoverde

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año: 2021

#### **DEDICATORIA**

A mi mamá y mi hermana, por su amor, apoyo y motivación.

A mis abuelos, por sus oraciones y protección.

A mi cuñado por cuidarme como una hermana.

#### Karen Johanna Menoscal Muñoz

A mis padres por todo el esfuerzo y apoyo incondicional durante toda mi carrera. A mis abuelos por depositar todas sus oraciones y esperanzas en mí, para el alcance de mi meta. A mi hermana por ser mi cómplice y amiga. A Miguel por acompañarme en este duro camino siempre con palabras de aliento y una sonrisa. A mi querido sobrino Emilio por convertirse en mi fuente de motivación y superación. A todos mis amigos con quienes he compartido momentos únicos e inolvidables.

#### Ana Belén Santamaría Campoverde

### **AGRADECIMIENTO**

Mi más sincero agradecimiento a Dios por ser mi fortaleza y mi guía. A mi familia por su apoyo en cada decisión. A la MSc. Diana Coello, por ser una excelente tutora y al PhD. Sócrates Palacios por los soportes brindados. A mis amigos por aquellos momentos que hicieron memorable mi etapa universitaria.

#### Karen Johanna Menoscal Muñoz

Mi más sincero agradecimiento a Dios por darme el valor y la fuerza necesaria para poder culminar esta etapa de mi vida. Le doy gracias a mi madre por todo el esfuerzo y amor que motivó a alcanzar mi meta, a mi padre por educarme y con palabras sabias siempre exigirme a dar lo mejor de mí. Agradezco a los docentes MSc. Diana Coello y PhD. Sócrates Palacios por todo el apoyo brindado.

#### Ana Belén Santamaría Campoverde

## **DECLARACIÓN EXPRESA**

"Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; *Karen Johanna Menoscal Muñoz y Ana Belén Santamaría Campoverde* y damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual"



Karen Johanna Menoscal Muñoz Chapetin Sontamoria &

Ana Belén Santamaría Campoverde

## **EVALUADORES**



M.Sc. Haydeé Torres Camba PROFESOR DE LA MATERIA DIANA SOFIA Firmado digitalmente por DIANA SOFIA COELLO COELLO MONTOYA Fecha: 2021.09.29 13:11:51 -05'00'

M.Sc. Diana Coello Montoya
PROFESOR TUTOR

#### RESUMEN

La optimización de procesos es un campo fundamental para la mejora continua en la industria alimentaria. Las empresas cerveceras, a pesar de que manejan un crecimiento significativo a nivel mundial, presentan procesos que necesitan operar mayores rendimientos. Mejorar la floculación de las levaduras cerveceras es el enfoque del proyecto, para lo cual se analizó la influencia de la baja temperatura como una alternativa viable con respecto al porcentaje de consistencia y los hL de purgas. Se realizaron análisis estadísticos en el software Minitab 18 con los datos recopilados de las variables seleccionadas de una marca de cerveza comercial, empleando dos análisis de comparación de medias Tukey y un diseño cuadrado latino. De igual manera, se empleó un análisis de comparación de costos con y sin el acondicionamiento en frío para determinar la eficiencia de la mejora. Finalmente, se determina que la técnica implementada tiene un impacto positivo al permitir que la levadura tenga una mejor compactación en un tiempo de frío de 44 horas favoreciendo en un 5,62 % al porcentaje de consistencia y reduciendo el 20 % de hL de purgas establecido por tendencia de resultados. Además, se evidencia una reducción de \$ 0,43 en los costos de producción por hL con la mejora aplicada al proceso de floculación.

Palabras claves: Floculación, temperatura, consistencia, purgas.

#### **ABSTRACT**

Process optimization is a fundamental field for continuous improvement in the food industry. Even though beer companies manage significant growth worldwide, their current processes need to operate higher yields. Improving the flocculation of brewing yeasts is the focus of this project, for which the influence of low temperatures was analyzed as a viable alternative related to the percentage of consistency and the purge in hL. A statistical analysis was performed in the Minitab 18 software with the collected data from the selected variables of a commercial beer brand, using two comparison analysis of the media Tukey and the Latin square design. Similarly, a cost comparison analysis with and without cold treatment was used to determine the efficiency of the improvement. Finally, it is determined that the implemented technique has a positive impact by allowing the yeast to have a better compaction in a cold time of 44 hours, favoring the consistency percentage by 5,62 % and reducing the purge in hL by 20 % established by the trend of results. Moreover, a reduction of \$ 0.43 of the production costs per hL is evidenced with the improvement applied to the flocculation process.

**Keywords**: Flocculation, temperature, consistency, purges.

# **ÍNDICE GENERAL**

RESUM	EN	l
ABSTRA	ACT	II
ÍNDICE	GENERAL	III
ABREVI	ATURAS	V
SIMBOL	_OGÍA	VI
ÍNDICE I	DE FIGURAS	VII
ÍNDICE I	DE TABLAS	VIII
CAPÍTUI	ILO 1	1
1. INTF	RODUCCIÓN	1
1.1	Descripción del problema	1
1.2	Justificación del problema	2
1.3	Objetivos	3
1.4	Marco Teórico	3
1.4.1	La cerveza	4
1.4.2	Tipos de cerveza	4
1.4.3	Proceso de producción de la cerveza	5
1.4.4	Floculación	8
1.4.5	Factores que afectan la floculación	9
CAPÍTUI	ILO 2	11
2. MET	TODOLOGÍA	11
2.1	Selección de las variables de estudio	11
2.2	Análisis de normalidad	12
23	Análisis comparación de medias	13

2.3.1	Comparación de medias entre los procesos con y sin acondicionamient en frío	
2.3.2	Comparación de medias de las variables independientes del proceso con acondicionamiento en frío	13
2.4	Diseño cuadrado latino	
2.5	Comparación de costos	15
CAPÍTUL	_O 3	16
3. RES	ULTADOS Y ANÁLISIS	16
3.1	Selección de las variables de estudio	16
3.2	Análisis de comparación de medias	16
3.2.1	Comparación de medias entre el proceso con y sin acondicionamiento en frío	16
3.2.2	Comparación de medias de las variables independientes del proceso con acondicionamiento en frío	18
3.3	Diseño cuadrado latino	19
3.4	Análisis enfocado en la tendencia de los resultados	20
3.5	Comparación de costos	21
CAPÍTUL	_O 4	22
4. CON	CLUSIONES Y RECOMENDACIONES	22
4.1	Conclusiones	22
4.2	Recomendaciones	22
BIBLIOG	RAFÍA	
APÉNDIO	CES	

### **ABREVIATURAS**

ESPOL Escuela Superior Politécnica del Litoral

FIMCP Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción

ANOVA Análisis de varianza

EE Energía Eléctrica

DCL Diseño cuadrado latino

TMC Tasa de multiplicación celular

OCV Otros costos variables

USD Dólar americano

OMS Organización mundial de la salud

## **SIMBOLOGÍA**

% Porcentaje

°C Grados Celsius

°P Grados Platos

α Alfa

β Beta

kg Kilogramo

pH Potencial de hidrógeno

h Hora

hL Hectolitro

\$ Dólar

m<sup>3</sup> Metro cúbico

kW Kilovatios

W Vatios

kW-h Kilovatios/hora

> Mayor

< Menor

= Igual

° Grados

Cp Calor específico

*ṁ* Flujo másico

*v* Flujo volumétrico

CO<sub>2</sub> Dióxido de carbono

Ca<sup>+</sup> Ion calcio

Rj Estadístico Ryan – Joiner

s Segundo

J Joules

Q Calor

 $\Delta T$  Delta de temperatura

# **ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura	1.1 Etapas	del proceso de	cerveza6	3
--------	------------	----------------	----------	---

# **ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 2.1 Diseño de cuadrado latino 3x3	. 14
Tabla 3.1 Prueba Tukey en los niveles A y B con respecto al % de consistencia y hL	-
de purgas	. 17
Tabla 3.2 Rangos de los niveles de las variables independientes	. 18
Tabla 3.3 Prueba Tukey de V4 con respecto al % de consistencia y hL de purgas	. 18
Tabla 3.4 Análisis de varianza con respecto al % de consistencia	. 20
Tabla 3.5 Análisis de varianza con respecto a hL de purgas	. 20
Tabla 3.6 Datos seleccionados de la mejora del proceso	. 20
Tabla 3.7 Costo por batch de un proceso fermentativo	. 21

# **CAPÍTULO 1**

## 1. INTRODUCCIÓN

La cerveza, al igual que otras bebidas fermentadas, se ha producido durante miles de años y representa un papel fundamental en la mayoría de las sociedades (Hornsey, 2012). Según la OMS (2014), el Ecuador se sitúa como el noveno país con mayor consumo per cápita anual de alcohol con 7,2 litros al año por habitante. Además, posee una oferta de bebidas alcohólicas con un mercado aproximadamente de USD 3.529 millones (Andrade et al., 2020). HEINEKEN ECUADOR es una empresa multinacional holandesa con más de 150 años de experiencia que, además de su reconocida marca internacional, ha implementado cervezas locales en su plan de comercialización. En el año 2019 fue categorizada como la segunda empresa con mayor ingreso a nivel nacional con ventas de USD 19 millones considerando todas las marcas ofertadas (Andrade et al., 2020).

El proceso de elaboración de cerveza abarca varias etapas de transformación de la cebada, siendo el enfoque principal el proceso fermentativo por las conversiones bioquímicas que ocurren al transformar los azúcares del mosto en alcohol y dióxido de carbono. Para mantener las características deseadas del producto final se deben retirar las levaduras floculadas, procurando que su función haya sido ejecutada en el tiempo correcto. Debido a su capacidad de floculación, estas pueden ser levaduras tempranas o tardías, las cuales producen cervezas atenuadas o poco clarificadas, respectivamente (Reina y Miral, 2004).

Es fundamental proteger la calidad de la levadura cosechada luego de la fermentación, evitando un exceso de células suspendidas en el mosto de futuros procesos, las cuales afectarían directamente la velocidad de fermentación, el sabor de la cerveza, los procesos de maduración y filtración, y, por lo tanto, representarían un efecto relevante en la calidad de la cerveza (Stewart, 2018).

#### 1.1 Descripción del problema

En las industrias cerveceras se pueden apreciar problemas por la baja

sedimentación de los flóculos de levadura al finalizar el proceso de fermentación. Según lo mencionado por la empresa HEINEKEN ECUADOR, la sedimentación parcial de los flocs luego de la fermentación primaria causa pérdidas tanto del producto final como de la levadura, la cual puede ser utilizada para nuevos procesos fermentativos. Esta deficiencia del proceso disminuye los rendimientos en la producción y genera cambios significativos en los parámetros físico – químicos del producto final.

Actualmente, la empresa HEINEKEN ECUADOR presenta pérdidas económicas causadas por la baja floculación de levaduras, lo cual conlleva a la liberación de cerveza durante el proceso de decantación, manteniendo hoy en día rendimientos del 37 %, considerado un porcentaje bajo de floculación. Por otro lado, estas levaduras rebeldes en suspensión traen como consecuencia repercusiones en la calidad del producto, debido a los sabores indeseables que se generan por las reacciones que forman con el sedimento (Cardenas y Gualdron, 2019) y a su vez, incrementan el volumen de levaduras de desecho por permanecer en el extracto y ser recolectadas únicamente al culminar el proceso de filtración.

Las serias consecuencias de la baja floculación hacen necesario estrategias y acciones para incrementar los rendimientos de la levadura cosechada, de esta manera será posible dar a la empresa los beneficios de una alta compactación de la levadura, mejorando la productividad y eficiencia de la sedimentación.

#### 1.2 Justificación del problema

Optimizar los procesos de producción en las industrias alimentarias favorece en la obtención de mejores rendimientos y eficiencias durante toda la transformación de la materia prima en producto final. Las industrias cerveceras a pesar de presentar un proceso adecuado para la elaboración de un producto de alta calidad manejan cierto porcentaje de pérdidas de materia por procesos que podrían ser mejorados. Por lo cual, es necesario implementar alternativas de mejora enfocadas en el bienestar de la empresa.

En este trabajo se plantea la propuesta de analizar la implementación de la técnica de acondicionamiento en frío en el cono del equipo fermentador como método de mejora del proceso de floculación de las levaduras cerveceras. Esto buscará aumentar el porcentaje de rendimiento de la cosecha de levadura, al mejorar su capacidad de floculación, y disminuir la cantidad de extracto liberado durante el proceso. Con ello, se obtendrían beneficios económicos al aumentar la cantidad de producto para la comercialización y beneficios ambientales al reducir la carga contaminante de levadura desechada. Además, al ser un cambio físico en el proceso, no representa cambio alguno en la formulación establecida por la empresa para la elaboración de la cerveza.

La solución puede servir de referencia a otras empresas relacionadas al mismo sector productivo y que se encuentren con los mismos problemas en su proceso.

#### 1.3 Objetivos

#### 1.3.1 Objetivo General

Analizar la influencia del tratamiento de acondicionamiento en frío en el proceso de floculación de la levadura mediante el uso de métodos estadísticos determinando su impacto en los parámetros asociados.

#### 1.3.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto del acondicionamiento en frío, cantidad de extracto en el mosto, la tasa de multiplicación celular y el número de generación de la levadura en el porcentaje de consistencia de la levadura cosechada y el volumen en hL de las purgas realizadas en el proceso de fermentación.
- Obtener las variables independientes significativas con respecto al porcentaje de consistencia y volumen en hL de las purgas.
- Determinar el impacto económico de los parámetros influyentes en el proceso, por medio de una comparación de costos.

#### 1.4 Marco Teórico

#### 1.4.1 La cerveza

La cerveza es una bebida tradicionalmente fermentada a base de cebada, lúpulo, agua y levadura que proporciona las características sensoriales al producto, permitiendo identificar a cada cerveza entre las demás del mercado (Pérez, 2017). La cebada es la fuente principal de azúcares fermentables, cuya composición es 60 % almidón y otros carbohidratos, 4,8 % celulosa, 10 % proteínas y entre 10 – 15 % de agua (Ruiz, 2006). Sin embargo, existen otras fuentes de almidón que se añaden en el proceso de obtención de azúcares fermentables que se denominan "adjuntos", los cuales se mezclan con la malta en proporciones de hasta el 20 % del peso total de los cereales y de acuerdo al tipo de cerveza que se desea obtener (Sancho, 2015). Por otro lado, el lúpulo (Humulus lupulus) proporciona el característico amargor al producto, debido a las resinas presentes en su composición que, además, contribuyen con la estabilidad y abundancia de la espuma (Suarez, 2013). El agua es el componente mayoritario de la cerveza, tiene una composición aproximada del 85 %, por lo tanto, el porcentaje de dureza del agua influirá en la calidad del producto final, es así que las cervezas ligeras necesitan aguas blandas, mientras que las cervezas fuertes y oscuras admiten aguas más duras (Gisbert, 2016). La levadura cumple un papel fundamental en el proceso de producción de cerveza, ya que es responsable de la transformación de azúcares fermentables en alcohol y CO<sub>2</sub>, además influye en el perfil sensorial de la cerveza y la estabilidad de la misma (Zambrano y Borbor, 2014).

#### 1.4.2 Tipos de cerveza

En el mercado existen muchas marcas de cerveza que se diferencian entre si a pesar de mantener el mismo principio de fermentación. Claramente, la diversidad de los ingredientes utilizados y el tipo de procesamiento que lleven a cabo causan estas variaciones en el producto. Las levaduras son células que presentan variaciones en el proceso debido a su diversidad genética. Su función consiste en la conversión de los azúcares del mosto en alcohol y CO<sub>2</sub>, para lo cual necesitan de condiciones favorables que permitan su crecimiento, tales como nutrientes del mosto, temperatura de

inoculación, oxígeno, humedad y acidez del medio. La temperatura de inoculación permite clasificar a la levadura utilizada y con ello el tipo de cerveza que se elabora, siendo estas "cerveza Ale" y "cerveza Lager" (Gómez, 2014).

#### Cerveza Ale

La cerveza Ale también conocida como cerveza de alta fermentación, se lleva a cabo a temperaturas entre 18 – 24 °C durante aproximadamente los primeros 4 días o hasta que culmine su etapa de fermentación (Cardenas y Gualdron, 2019). Una vez se hayan obtenido los productos deseados, las levaduras se inactivan y se agrupan con la tendencia de flotar en la superficie del extracto, lo cual aporta turbidez al producto y dificultad su proceso de decantación. Una especie de levadura utilizada en este tipo de cerveza es *Sacharomyces cervisiae* (Suárez, 2013).

#### Cerveza Lager

A diferencia de la cerveza Ale, existen cervezas cuya temperatura óptima de inoculación se encuentran en el rango de 7 – 14 °C, conocidas como cerveza Lager o cerveza de baja fermentación. El tiempo de fermentación es de 3 a 5 días a partir de la inoculación, el cual culmina cuando se sedimentan las levaduras inactivadas del proceso en el tanque fermentador (Cardenas y Gualdron, 2019). En este caso, la cerveza presenta menor turbidez mejorando la tonalidad del producto a una más clara. La levadura *Sacharomyces pastorianus*, que es un híbrido entre *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces bayanus*, es un ejemplo de levadura tipo lager (Suárez, 2013).

#### 1.4.3 Proceso de producción de la cerveza

El proceso de elaboración de la cerveza consiste en la degradación del almidón de la cebada y adjuntos en el mosto, rico en azúcares fermentables, al pasar por múltiples operaciones hasta la etapa de cocción. Luego, en la fermentación se generan los metabolitos primarios junto con

pequeñas partículas en suspensión que son retenidos durante la filtración, obteniendo un producto clarificado listo para ser envasado (Cardenas y Gualdron, 2019), como se evidencia en la Figura 1.1.

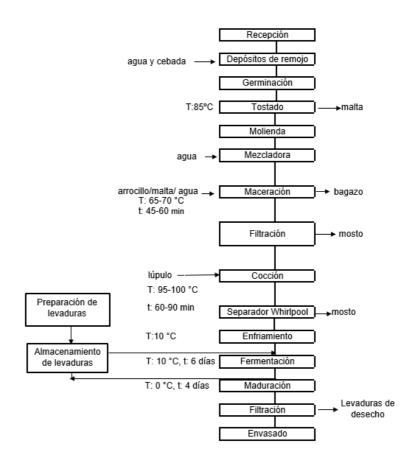


Figura 1.1 Etapas del proceso de cerveza (Elaboración propia)

El proceso fermentativo consiste en una reacción bioquímica exotérmica, donde las levaduras añadidas consumen el sustrato que se encuentra en el mosto (glucosa, sacarosa, maltosa, maltotriosa) generando una conversión en productos como alcohol y CO<sub>2</sub> (Guarco y Morales, 2015). Esto logra crear un perfil de sabor que permite diferenciar y caracterizar a cada una de las cervezas que se encuentran en el mercado (Albarracín, 2020).

Las levaduras añadidas al mosto rico en azúcares actúan en un tiempo prolongado generando una diversidad de reacciones bioquímicas. Para

detallar mejor las reacciones, se define el proceso en tres fases: latencia, primaria y secundaria (Ramírez, 2006).

#### Fase de latencia

La levadura activada al ser inoculada en el mosto necesita un proceso de adaptación de aproximadamente 12 h que le permita realizar un reconocimiento del medio en el que se encuentra (Cardenas y Gualdron, 2019). Para ello, las células aprovechan las vitaminas, minerales, aminoácidos, azúcares y oxígeno que están de manera inicial en el mosto, con este último se considera una etapa aerobia (Gómez, 2014). La cantidad de oxígeno no debe ser excesiva, caso contrario podría generarse procesos de oxidación y descarboxilación que conlleva a la obtención de productos no deseados (Pérez, 2017). Así mismo, la temperatura en que se inocula el mosto debe ser la correspondiente a la levadura utilizada, porque al existir una variación provocaría un choque térmico aumentando el tiempo de inactividad celular (Suárez-Machín et al., 2016).

#### Fase primaria

El extracto sufre cambios con la producción de alcohol y CO<sub>2</sub>, reduciendo la densidad y generando la atenuación del mosto durante los primeros 6 a 10 días de fermentación de acuerdo al tipo de levadura. A parte de los productos mencionados se generan otros sabores desagradables que son poco solubles y se adhieren a las paredes del tanque fermentador (Guarco y Morales, 2015).

En el proceso se puede evidenciar que la levadura está actuando al presenciar escape de gas en el airlock o la formación de una nata o espuma de color crema en la superficie del mosto que contiene proteínas aglutinadas y residuos de lúpulo (Villegas, 2013). Una vez vaya finalizando el proceso primario, la levadura se comienza a asentar en la parte inferior del tanque como indicativo de que ha realizado su función fermentativa (Gisbert, 2016).

#### Fase secundaria

Los sustratos presentes en el mosto se han consumido por completo para convertirse en alcohol, CO<sub>2</sub> y otros compuestos como ésteres, aldehídos, cetonas y ácidos orgánicos que le otorgan el perfil de sabor a la cerveza (Gómez, 2014). Existe también la presencia de compuestos no deseables como diacetilo, que posteriormente son reducidos durante el proceso de maduración. La cerveza que dispone de todos esos compuestos ya sean deseables o no, se la denomina "cerveza verde". Luego de retirar el sedimento comienza la etapa de maduración con temperaturas cercanas a 0 °C por aproximadamente 4 días para que se produzca la reducción de los productos indeseables generado en las fases anteriores (Cardenas y Gualdron, 2019).

#### 1.4.4 Floculación

La floculación, luego del proceso fermentativo, es la capacidad que tienen ciertas levaduras de realizar una agrupación de tipo asexual, reversible y dependiente del calcio presente en el mosto para formar los denominados "flocs" (Verstrepen et al., 2003). Esta unión entre miles de células se lleva a cabo gracias a las proteínas llamadas floculinas, presentes en la parte externa de la pared de células floculantes, que se unen selectivamente a los residuos de manosa adheridas en la pared externa de células adyacentes. Los residuos de manosa al encontrarse en células floculantes y no floculantes convierten a las floculinas en el factor crítico del proceso, las cuales requieren la presencia de iones de calcio en el medio para su activación (Rámirez et al., 2013). Una vez agrupadas entre sí, aumentan su peso y por gravedad descienden a la parte inferior del tanque fermentador (levaduras Lager) o se mantienen en la superficie del mosto (levaduras Ale) (Kayacan et al., 2020). El tiempo en que se produce la floculación es importante en la industria cervecera, ya que una floculación temprana genera fermentaciones lentas y sabores indeseables. Por ello, el comportamiento floculante se debe mantener constante en condiciones de cosecha, almacenamiento y reposición de levaduras (Ramírez, 2006).

#### 1.4.5 Factores que afectan la floculación

Este proceso puede verse afectado por varios factores que limitan su desarrollo, es decir, impiden el crecimiento de los flocs para lograr una buena sedimentación y realizar un proceso de cosecha adecuado sin la liberación de extracto durante el proceso. Entre estos factores encontramos los físicos, químicos y biológicos (Ramírez, 2006).

#### **Factores físicos**

La capacidad hidrodinámica por agitación de manera excesiva durante la fermentación puede interrumpir la formación de los flocs por el constante movimiento brusco. Además, los componentes hidrofílicos, hidrofóbicos, carga superficial, tamaño y edad de las partículas logran crear una barrera que no permite la adherencia entre células. Mientras más pequeñas y jóvenes las células, menor peso y estructura van a tener para sedimentarse (Speers, 2016).

#### Factores químicos

El mosto se caracteriza por tener cierta cantidad de nutrientes, iones metálicos y un valor de pH necesarios para que se lleven a cabo las reacciones de las levaduras en el proceso. El ion Ca<sup>+</sup> es un ejemplo de lo mencionado, ya que al trabajar como promotor (activador de floculinas) es necesario que esté presente en las proporciones adecuadas, caso contrario las floculinas no serían activadas y las levaduras quedarían suspendidas provocando mayor turbidez en el medio (Adler, 2016).

#### Factores biológicos

Un factor importante para la floculación es la gran variedad de fenotipos de floculinas que pueden encontrarse en las cepas de levaduras. Esta proteína se conforma por varios grupos de genes denominados FLO que da como resultado diversas características a la cepa (Stewart, 2018). Estos genes tienen la capacidad de evolucionar rápidamente en comparación a otros y modificar la estructura de la floculina, lo que ocasiona una alteración en la

fuerza de floculación al inicio o al final del proceso de manera incontrolada (Van et al., 2010).

# **CAPÍTULO 2**

## 2. METODOLOGÍA

El proyecto tuvo como objetivo realizar un análisis de los datos obtenidos durante la etapa fermentativa de la elaboración de cerveza con y sin la aplicación del tratamiento de acondicionamiento en frío, para lo cual se empleó una metodología estadística que se ejecutó a través del programa Minitab 18. El tratamiento de acondicionamiento en frío es la mejora establecida en el proceso de floculación, la cual consiste en la reducción de temperatura en el cono del fermentador para facilitar la sedimentación de las levaduras cuando se considere que la fermentación esté próxima a culminar (Espejo, 2014). Para el análisis, inicialmente, se recopiló data de curvas de fermentación que corresponden a diferentes lotes de una marca de cerveza comercial, las cuales presentaron valores con y sin la aplicación de la técnica. De igual manera, se recopiló una matriz de datos con información detallada de los parámetros analizados en la cerveza verde, es decir, cuando el proceso de fermentación ha culminado. Toda la información recopilada permitió extraer y organizar los datos necesarios e influyentes en el estudio, considerando únicamente las variables que aporten con los objetivos planteados. Se realizaron diferentes análisis estadísticos con respectos a tres escenarios considerados: diferencias de medias en variables respuestas con y sin aplicación de la técnica (análisis de comparación de medias), análisis individual de las variables independientes con respecto a las variables dependientes (análisis de comparación de medias) y análisis general de los factores considerados en el estudio (diseño cuadrado latino). Los dos últimos análisis mencionados fueron enfocados únicamente en datos del proceso donde se aplicó la técnica de acondicionamiento en frío. Finalmente, se realizó una comparación de los costos asociados al proceso con y sin la aplicación de la técnica, teniendo en consideración la mejor combinación obtenida en el estudio.

#### 2.1 Selección de las variables de estudio

La técnica de acondicionamiento en frío se empleó bajo una temperatura de 0 °C en la sección del cono del equipo fermentador, por lo cual se establecieron los niveles del factor de estudio: sin la aplicación de frío (A) y con la aplicación de

frío (B). La elección de variables dependientes fue acorde a la mejora evidenciada en los resultados, una vez ejecutada la técnica en el proceso. Adicionalmente, se seleccionaron variables independientes con la finalidad de conocer su influencia en la mejora para establecer un estudio más específico.

Como criterio para la selección de los parámetros de estudio se consideraron la variabilidad en los datos proporcionados y los resultados que estos aportaban con respecto a la mejora del proceso, con enfoque en su relación directa con los objetos de estudio.

#### 2.2 Análisis de normalidad

Para establecer que tipo de análisis estadístico corresponde adecuadamente a los datos obtenidos, se realizaron pruebas de normalidad a todos los parámetros identificados. Inicialmente se seleccionaron cantidades iguales de datos en cada variable del estudio y con ello se aplicó la prueba Ryan—Joiner cuyo enfoque es analizar tamaños de muestra menores a 50 datos. Para llevar a cabo el análisis de datos se plantearon las siguientes hipótesis:

 $H_0$  = Los datos analizados siguen una distribución normal

 $H_1$  = Los datos analizados no siguen una distribución normal

El valor p es el criterio utilizado para rechazar o no las hipótesis planteadas, el cual se mantuvo con un nivel de significancia del 99 % ( $\alpha$  = 0,01). De igual manera, se empleó el coeficiente de correlación de Ryan–Joiner como método confirmatorio del resultado presentado por el valor p, el cual consiste en una comparación de valores entre el resultado obtenido en el estadístico (Rj) y el coeficiente de correlación de la tabla de valores críticos del test de normalidad (Rjk), que se encuentra en el Apéndice A. De acuerdo con el valor que sea considerado mayor entre los dos se rechaza o no la hipótesis establecida, tal como se muestra a continuación:

 $H_0 = Rj > Rj_k$  (No se rechaza la hipótesis nula)

 $H_1 = R_i < R_{i,k}$  (Se rechaza la hipótesis nula)

Los resultados obtenidos en cada una de las variables permiten conocer si los análisis posteriores se realizan a partir de pruebas paramétricas en caso de que no se rechace la hipótesis nula, o pruebas no paramétricas en caso de que la hipótesis nula se rechace.

#### 2.3 Análisis comparación de medias

# 2.3.1 Comparación de medias entre los procesos con y sin acondicionamiento en frío

El enfoque inicial del estudio fue constatar que la técnica realmente proporciona una mejora en el proceso habitual de floculación, por lo cual se realizó un análisis de comparación de medias entre las variables respuesta cuando no se hace uso de la técnica de acondicionamiento en frío (A) y cuando esta es empleada en el proceso (B).

Se plantearon las siguientes hipótesis para determinar si existe diferencia significativa de medias, los cuales se evaluaron con un nivel de significancia del 99 % ( $\alpha$  = 0,01).

 $H_0$  = Todas las medias son iguales

 $H_1$  = Existe al menos una media que es diferente

# 2.3.2 Comparación de medias de las variables independientes del proceso con acondicionamiento en frío

Para analizar la influencia de la aplicación de frío (B) se realizó un análisis de comparación de medias respecto a cada una de las variables independientes en función de las variables respuestas.

Se plantearon las siguientes hipótesis para cada una de las variables independientes consideradas, de manera que se determinó si existe diferencia significativa de medias con un nivel de significancia del 99 % ( $\alpha$  = 0,01).

 $H_0$  = Todas las medias son iguales

 $H_1$  = Existe al menos una media que es diferente

#### 2.4 Diseño cuadrado latino

Para la obtención de un mejor análisis de resultados se utilizó el diseño cuadrado latino que permitió relacionar un factor tratamiento en presencia de dos factores bloque, teniendo en consideración que todos los factores deben mantener el mismo número de niveles cada uno para ser empleado, como se muestra en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1 Diseño de cuadrado latino 3x3

Variable 2 Variable 1	Alto	Medio	Bajo
Alto	A=Y <sub>111</sub>	B=Y <sub>212</sub>	C=Y <sub>313</sub>
Medio	B =Y <sub>221</sub>	C=Y <sub>322</sub>	A=Y <sub>123</sub>
Bajo	C= Y <sub>331</sub>	A=Y <sub>132</sub>	B=Y <sub>233</sub>

Fuente: Elaboración propia

La nomenclatura indicada en la tabla 2.1 como Y<sub>ijk</sub> representa el valor obtenido luego de realizar las combinaciones entre los tres factores representados por los subíndices ijk, siendo factor tratamiento (A, B y C), factor bloque 1 (variable 1) y factor bloque 2 (variable 2), respectivamente. La asignación de las variables de estudio en cada factor tuvo en consideración la restricción de los factores bloque, la cual indica que deben ser independientes entre sí, es decir, que no exista influencia de esa variable con respecto a la otra; mientras que con el factor tratamiento no existe ninguna restricción.

Para determinar si existen diferencia significativa tanto en los factores bloque como en el factor tratamiento se plantearon las siguientes hipótesis.

 $H_0$  = Los efectos de los tratamientos no ejercen un mejor control sobre la variable respuesta.

 $H_1$  = Al menos el efecto de uno de los tratamientos ejerce un mejor control sobre la variable respuesta.

El valor p es el criterio utilizado para rechazar o no las hipótesis planteadas, el

cual se mantuvo con un nivel de significancia del 99 % ( $\alpha$  = 0,01). El análisis consiste en que, si el valor p es menor que 0,01 se rechaza la hipótesis nula.

#### 2.5 Comparación de costos

Se realizó una comparación de costos entre dos escenarios distintos: en un proceso convencional de fermentación y otro considerando la aplicación del acondicionamiento en frío. Para este último, se determinó el coste energético adicional encargado de remover el calor presente en la mezcla ubicada en el cono del fermentador a una temperatura de 0 °C, mientras que el costo por hL del líquido liberado por purgas realizadas en el proceso es considerado en ambos escenarios de estudio.

$$Q_{sale} = \dot{m}C_p \Delta T \tag{2.1}$$

Donde:

Q = calor removido (kW)

 $\dot{m}$  = caudal másico del refrigerante (kg/s)

 $C_p$  = calor específico del refrigerante (J/ kg °C)

 $\Delta T$  = variación de temperatura del refrigerante (°C)

En la búsqueda de la energía utilizada para la optimización de la floculación se empleó la Ecuación 2.1 con los datos del refrigerante etilenglicol. Con el valor calculado (kW) y el tiempo de aplicación de la técnica (h) se determinó la energía con el factor económico estipulado por kW/h a nivel industrial y con ello conocer su influencia monetaria en el proceso. Los rubros considerados en el análisis fueron materia prima, mano de obra y otros costos variables (OVC) donde se incluye el costo por energía.

# **CAPÍTULO 3**

## 3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

#### 3.1 Selección de las variables de estudio

De acuerdo con el criterio empleado para la selección de las variables de estudio, se escogieron como variables respuestas el porcentaje de consistencia de la levadura cosechada y el volumen en hL de las purgas realizadas en todo el proceso. Estos parámetros evalúan la mejora en el proceso de floculación de las levaduras, debido a que permiten conocer si durante la sedimentación mejoró la compactación de las levaduras y con ello reducir la liberación de hL de producto (Varela et al., 2020). Adicionalmente, se seleccionaron cuatro variables independientes, que fueron el tiempo de duración del frío aplicado en el proceso (V1), la cantidad de extracto en el mosto (°P) al que se aplica la técnica (V2), la tasa de multiplicación celular (TMC) (V3) y el número de generación de la levadura utilizada (V4).

#### 3.2 Análisis de comparación de medias

Entre los datos recopilados de las variables establecidas se realizó una segunda selección en el cual se eliminaron los datos atípicos, obteniendo un total de 20 datos que favorecieron en la presentación de resultados más confiables. Luego de aplicar el análisis de normalidad (Apéndice B) se determinó que los datos evaluados seguían una distribución normal, por lo cual, se emplearon las pruebas paramétricas para realizar los análisis estadísticos respectivos. La prueba de Tukey de comparación de medias fue el método seleccionado para determinar la diferencia entre las medias de los datos obtenidos, debido a que controla de manera más eficiente los errores estadísticos  $\alpha$  y  $\beta$ , y a su vez es las más empleada en diversos estudios (Wong, 2010).

# 3.2.1 Comparación de medias entre el proceso con y sin acondicionamiento en frío

Analizando los niveles A y B del factor acondicionamiento en frío, se evidenció que existe diferencia significativa entre las medias de los valores

con respecto a la variable respuesta % de consistencia, al presentar letras distintas en la columna de agrupación (Tabla 3.1) permitiendo rechazar la hipótesis nula. A diferencia de la variable respuesta hL de purgas donde se evidenció que las medias son iguales entre sí al tener una misma letra en agrupación (Tabla 3.1) favoreciendo a no rechazar la hipótesis nula. En el Apéndice C se indican los gráficos estadísticos obtenidos de Minitab.

Tabla 3.1 Prueba Tukey en los niveles A y B con respecto al % de consistencia y hL de purgas

Variables respuestas	Técnica	N	Media	Agrupación
0/ de consistencia	В	12	53,25	Α
% de consistencia	Α	8	47,63	В
bl. do nurgos	В	12	33,08	Α
hL de purgas	Α	8	29,77	Α

Fuente: Estadístico Minitab

De acuerdo con las comparaciones de medias respecto al % de consistencia, el nivel B tiene un valor más alto en comparación al nivel A, debido a que la aplicación de temperaturas a 0 °C en el cono detiene o ralentiza las reacciones químicas del metabolismo celular de las levaduras (Uribe, 2007) y a su vez reducen la fluidez de la membrana celular mejorando su compactación (Chiva, 2010). Además, tendencias similares a los resultados presentados fueron encontrados en el estudio realizado por Aguilera et al. (2007) donde indica que esas temperaturas favorecen en la viabilidad de las levaduras manteniendo un ambiente inocuo y apto para posterior almacenamiento y reutilización.

En cuanto a los hL de purgas, la cercanía de medias en ambos niveles impide comprobar realmente la funcionalidad de la técnica debido a la presencia de factores externos que podrían afectar la composición de la cerveza, como un alto valor de TMC. Este incrementa la producción de etanol afectando la velocidad de fermentación, lo cual incrementa el número de purgas en el proceso al tratar de mantener las condiciones adecuadas (Pinillos, 2020). A su vez, la cantidad de extracción liberada es subjetivo al operario de turno, ya que no es un proceso automatizado con cantidades de hL fijas en cada purga.

# 3.2.2 Comparación de medias de las variables independientes del proceso con acondicionamiento en frío

Se analizaron 12 datos en cada una de las variables independientes mencionadas, a excepción de V4 donde solo se analizaron 8 datos por la presencia de valores atípicos que fueron eliminados. En cada variable se establecieron 3 niveles de datos de acuerdo con los rangos mostrados en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2 Rangos de los niveles de las variables independientes

Niveles	V1 (h)	V2 (° P)	V3 (%)	V4 (#)
Α	15 – 40	4,6 – 5	1,2 – 2,0	3 – 5
В	41 – 50	5,1 – 8,1	2,1 – 2,2	6 – 9
С	51 – 88	8,2 – 10,2	2,3 – 3,0	10 – 15

Fuente: Elaboración propia.

La única variable donde se evidenció diferencia de medias con respecto a la variable respuesta hL de purgas en los niveles C – A fue V4, rechazando la hipótesis nula planteada. Lo mencionado se evidencia en la tabla 3.3 al tener letras diversas en la agrupación que no permiten relacionar igualdad con los demás niveles. Las variables restantes presentaron medias iguales con respecto a las dos variables respuestas evidenciada en las tablas del Apéndice C y gráficos del Apéndice D. En estos casos no se rechazó la hipótesis nula planteada.

Tabla 3.3 Prueba Tukey de V4 con respecto al % de consistencia y hL de purgas

Variable de respuesta	V4	N	Media	Agrupación
	В	3	53,33	Α
% de consistencia	Α	2	52,50	Α
	С	3	52,00	Α
	Α	2	41,50	Α
hL de purgas	В	3	34,67	A B
	С	3	24,67	В

Fuente: Estadístico Minitab

Las medias de los niveles establecidos en V1, V2, V3 y V4 con respecto al % de consistencia son muy cercanas entre si debido a que la técnica de

acondicionamiento en frío tiene poco tiempo de haber sido implementada en la empresa patrocinadora, no posee un diseño estándar de aplicación y presenta variaciones en el indicador de apertura (inicio de aplicación de la técnica). Además, existieron otros factores alternos como la aireación en el mosto y la alta dosificación del inóculo que aportaron un medio adecuado para la mejora del proceso (Toribio, 2015), los cuales no fueron analizados como parte de las variables porque no existieron datos que especifiquen lo mencionado en cada lote estudiado.

Los hL de purgas no son influenciados solamente por la temperatura de frío, sino también por factores alternos antes mencionados permitiendo obtener valores cercanos en sus medias. Sin embargo, esto no significa que la técnica aplicada no ha brindado mejoras del proceso en general, debido a que se evidenció un aumento en el porcentaje de consistencia. Con respecto a V4 se puede evidenciar que el nivel C (levaduras antiguas) tiene una media menor que el nivel A (levaduras jóvenes), debido a que las levaduras más antiguas son morfológicamente más grandes e hidrófobas que las jóvenes y presentan arrugas que facilitan la adhesión célula a célula. Por lo tanto, las levaduras de mayor generación tienden a flocular más rápido reduciendo el número de levaduras rebeldes y con ello, disminuir el número de hL de purgas liberado (Verstrepen et al., 2003).

#### 3.3 Diseño cuadrado latino

De las variables independientes, se seleccionó como variable bloque 1 a V1 (tiempo de duración de la técnica), variable bloque 2 a V2 (cantidad de extracto en el mosto) y el factor tratamiento a V3 (TMC), debido a que cumplen las condiciones del diseño permitiendo evaluar si en combinación muestran un mejor control sobre las variables respuestas. La variable V4 no fue considerada por presentar estadísticamente diferencia entre sus medias, confirmando su influencia en el proceso y a su vez no disponía del número de datos necesarios para ser aplicado en el diseño.

Tanto en la Tabla 3.4 como en la Tabla 3.5 se visualizó que el valor p del factor

tratamiento es mayor que el nivel de significancia, por lo tanto, no se rechaza la hipótesis nula. Además, se pudo corroborar en análisis anteriores que de manera individual las variables no presentaron diferencias en sus medias, ni tampoco un efecto estadísticamente significativo en las variables de respuestas. Esto debido a las variaciones realizadas en la técnica a lo largo de su implementación.

Tabla 3.4 Análisis de varianza con respecto al % de consistencia

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
V3	2	24,222	12,111	4,36	0,187
V1	2	10,889	5,444	1,96	0,338
V2	2	24,889	12,444	4,48	0,182
Error	2	5,556	2,778		
Total	8	65,556			

Fuente: Estadístico Minitab

Tabla 3.5 Análisis de varianza con respecto a hL de purgas

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
V3	2	164,67	82,33	6,86	0,127
V1	2	132,67	66,33	5,53	0,153
V2	2	44,67	22,33	1,86	0,350
Error	2	24,00	12,00		
Total	8	366,00			

Fuente: Estadístico Minitab

#### 3.4 Análisis enfocado en la tendencia de los resultados

Debido a que estadísticamente los datos no presentan diferencias, se procedió a realizar un análisis de tendencia de los resultados recolectados para evidenciar la mejora en el proceso. En la Tabla 3.6 se establecieron los datos donde existe un mejor resultado con respecto a las variables respuestas planteadas.

Tabla 3.6 Datos seleccionados de la mejora del proceso

Tiempo de aplicación de frío (h)	ТМС	Número de generación de levadura	Extracto con aplicación de frío (°P)	% Consistencia	Purgas (hL)
44	2,24	7	5	57	24
48	1,94	14	5	55	26

Fuente: Empresa patrocinadora

El valor de extracto en el mosto (indicador de apertura) se mantiene en 5 °P, ya que a ese nivel la levadura ha consumido la mayor cantidad de azúcares evitando ralentizar el proceso fermentativo y con ello obtener un tiempo más reducido de aplicación de frío (Bruner et al., 2021). Con valores superiores en °P la fermentación avanzaría lentamente y el tiempo de aplicación del frío sería mayor, lo cual aumentaría los tiempos de proceso y la cantidad de energía utilizada (Chiva, 2010). Cedeño y Mendoza (2016) establecieron que el tiempo óptimo de frío para una mejor floculación es de 48 h, ya que así queda un residuo mínimo de levaduras en la cerveza verde permitiendo continuar con el proceso de maduración para eliminar los sabores indeseados generados durante la fermentación (Gumier, 2007). Este tiempo es un valor cercano a los datos seleccionados. Finalmente, con los números de generaciones de levaduras mostrados en la Tabla 3.6 se comprueba que, mientras mayor sea dicho número, la sedimentación aumenta, tendencias similares a los resultados presentados fueron encontrados en el estudio realizado por Verstrepen et al. (2003).

#### 3.5 Comparación de costos

Se realizaron los costos por energía con los datos de mejora presentados en la Tabla 3.6, lo cual permitió seleccionar el tiempo de aplicación de frío de 44 h como mejor opción al presentar menor costo en E.E (Apéndice E). Con ello, se efectuaron los análisis de comparación de costos junto con un lote de producción convencional, al cual no se le aplicó la técnica de acondicionamiento en frío.

Tabla 3.7 Costo por batch de un proceso fermentativo

Nivel de factor	Costos directos	Costos por pérdidas en purgas	E.E. adicional	Costo total
Α	\$58 582,08	\$925,02	\$0	\$59 507,10
В	\$57 772,80	\$487,92	\$0,04	\$58 260,76
Ganancia				\$1 246,34

Fuente: Elaboración propia

Considerando un solo tanque fermentador de 2880 hL, los costos de producción de la Tabla 3.7 disminuyeron en un 2 %, reflejando un aporte positivo de la técnica implementada en el proceso. Es importante mencionar que con la técnica de acondicionamiento en frío hay un incremento del 25 % de producción mensual,

debido a que la reducción en los tiempos de proceso de floculación aumenta la producción en un batch mensualmente, y con ello, un ahorro en mano de obra del 14 % (Apéndice F). Este ahorro antes mencionado provoca la variación de costos en el nivel B de la Tabla 3.7. Adicionalmente, se puede evidenciar que los costos por E.E. agregado al nivel B son considerados despreciables al no tener mayor impacto en el costo total por batch.

# **CAPÍTULO 4**

### 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1 Conclusiones

- La técnica de acondicionamiento en frío tuvo un impacto positivo en el proceso de floculación al permitir que la cepa de levadura tenga una mejor compactación en un tiempo de frío de 44 horas favoreciendo en un 5,62 % al porcentaje de consistencia (47,63 %) y reduciendo aproximadamente el 20 % los hL de purgas (30 hL), de acuerdo con lo establecido por tendencia de resultados.
- La cantidad óptima de extracto en el mosto se establece en un valor de 5 °P por presentar resultados más favorables con respecto a las variables respuestas consideradas. Además, optimiza el tiempo de floculación de un lote de cerveza al lograr reducir hasta un 14 % con respecto a el proceso estándar considerado.
- El proceso de floculación se ve favorecido por un mayor número de generaciones y 2 % de TMC mejorando la consistencia y evitando la liberación continua de hL de cerveza en el proceso.
- Estadísticamente, el acondicionamiento en frío y el número de generación de levaduras fueron los parámetros del estudio que se consideraron significativas con respecto al porcentaje de consistencia y los hL de purgas, respectivamente, al tener un rango de diferencia considerable en sus medias.
   Aquello no se reflejó en las demás variables estudiadas al presentar resultados donde no se comprueba la existencia de diferencia significativa.
- La técnica de acondicionamiento en frío beneficia a la empresa patrocinadora al reducir \$ 0,43 los costos de producción por hL de cerveza verde, junto con un incremento del 25 % en la capacidad de producción mensual.

#### 4.2 Recomendaciones

 Implementar el análisis de control de turbidez de la cerveza verde, para evidenciar de una manera más eficiente la mejora de la floculación con la técnica implementada.

- Establecer un diseño experimental de la técnica de acondicionamiento en frío con las variables significativas del presente estudio para consignar los valores adecuados donde la técnica sea más eficiente.
- Evaluar la influencia de otro tipo de variables que no se consideraron en el estudio como % de aireación, Ca+y pH en el mosto.
- Estandarizar los valores de las variables independientes consideradas en el estudio para disminuir las desviaciones en los resultados del proceso.

### **BIBLIOGRAFÍA**

- Adler, J. (2016). Investigating Malt Inducing Premature Yeast Flocculation: Threshold and Stability. [Tesis]. <a href="https://dalspace.library.dal.ca/bitstream/handle/10222/71928/Adler-Joshua-MSc-FOSC-June-2016.pdf?sequence=8&isAllowed=y">https://dalspace.library.dal.ca/bitstream/handle/10222/71928/Adler-Joshua-MSc-FOSC-June-2016.pdf?sequence=8&isAllowed=y</a>
- Aguilera, J., Randez, F y Prieto, J. (2007). Respuesta fría en Saccharomyces cerevisiae: nuevas funciones para mecanismos antiguos. FEMS Microbiology Reviews, 31, 3, pp 327 341. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00066.x
- Albarracín, K. (2020). Estudio de parámetros para la propagación de las cepas de levaduras cervecera Saccharomyces cerevisiae y Saccharomyces calsbergensis para la fabricación de cerveza artesana. [Tesis]. http://oa.upm.es/63464/1/TFM\_KATY\_ALBARRACIN\_TORRES.pdf
- Bruner, J., Marcus, A. y Fox, G. (2021). *Dry-Hop Creep Potential of Various Saccharomyces Yeast Species and Strains*. Fermentation, 7 (2), 66. <a href="https://doi.org/10.3390/fermentation7020066">https://doi.org/10.3390/fermentation7020066</a>
- Cardenas, P. y Gualdron, F. (2019). Propuesta de mejora en la producción de cerveza artesanal rubia a nivel semi industrial a base de la unión de dos maltas para la empresa milenaria. [Tesis]. <a href="https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/7621/1/6132203-2019-2-IQ.pdf">https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/7621/1/6132203-2019-2-IQ.pdf</a>
- Cedeño, G. y Mendoza, J. (2016). Evaluación fisicoquímica y sensorial de cerveza artesanal tipo ale con almidón de papa como adjuntos y especias. [Tesis]. <a href="http://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/552/1/TAI109.pdf">http://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/552/1/TAI109.pdf</a>
- Chiva, R. (2010). Mecanismos moleculares y bioquímicos implicados en la adaptación de Saccharomyces cerevisiae a las bajas temperaturas de fermentación. [Tesi]. <a href="https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/8694/Tesi.pdf?sequence=1&isAllowed=y">https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/8694/Tesi.pdf?sequence=1&isAllowed=y</a>
- Cueva, K. (2020). Influencia de la aireación de la levadura y dosis de Zinc en la generación natural del dióxido de azufre en el proceso de fermentación de la cerveza

  Brahma. [Tesis].

- https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/16253/CuevaCumpa\_K.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Espejo, E. (2014). Optimización del tiempo y temperatura en los procesos de cocción y fermentación para la elaboración de cerveza doble malta. [Tesis]. http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/9348
- Gisbert, M. (2016). *Diseño del proceso industrial para la elaboración de cerveza*. [Tesis]. <a href="https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/73275/Dise%C3%B1o%20y%20puesta%20en%20marcha%20de%20una%20planta%20elaboradora%20de%20cerveza.pdf?sequence=3">https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/73275/Dise%C3%B1o%20y%20puesta%20en%20marcha%20de%20una%20planta%20elaboradora%20de%20cerveza.pdf?sequence=3</a>
- Gómez, A. (2014). *Mejora y optimización del proceso de elaboración de la cerveza dentro de una industria cervecera.* [Tesis]. <a href="https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/39991/Trabajo%20final%20de%20grado.pdf?sequence=1&isAllowed=y">https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/39991/Trabajo%20final%20de%20grado.pdf?sequence=1&isAllowed=y</a>
- González, M., Fernández, S. y Sierra, J. (2019). Effect of temperature in the evaluation of yeast flocculation ability by the Helm's Method. [Tesis]. https://doi.org/10.1094/ASBCJ-54-0029
- Guarco, C. y Morales, A. (2015). Evaluación de la cinética de fermentación de una levadura Antártica y su aplicabilidad en el proceso de fermentación de cerveza. [Tesis]. http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/29974
- Gumier, S. (2007). Diseño de una planta de tratamientos post- fermentations de mostos de cerveza. [Tesis]. <a href="https://rodin.uca.es/xmlui/bitstream/handle/10498/6539/33287090.pdf?sequenc">https://rodin.uca.es/xmlui/bitstream/handle/10498/6539/33287090.pdf?sequenc</a> e=1
- Hornsey, I. (2012). *Alcohol and Its Role in the Evolution of Human Society*. Cambridge: RSC Publishing.
- Kayacan, Y., Mieghem, T. V., Delvaux, F., Delvaux, F. R. y Willaert, R. (2020).

  \*\*Adaptative Evolution of Industrial Brewer's Yeast Strains towards a Snowflake Phenotype.\*\* Fermetation, 6, 20, pp 1 9.

  \*\*http://doi.org/10.3390/fermentation6010020\*\*
- Minitab. (2019). Soporte de Minitab 18. Informes técnicos. https://support.minitab.com/es-mx/minitab/18/technical-papers/

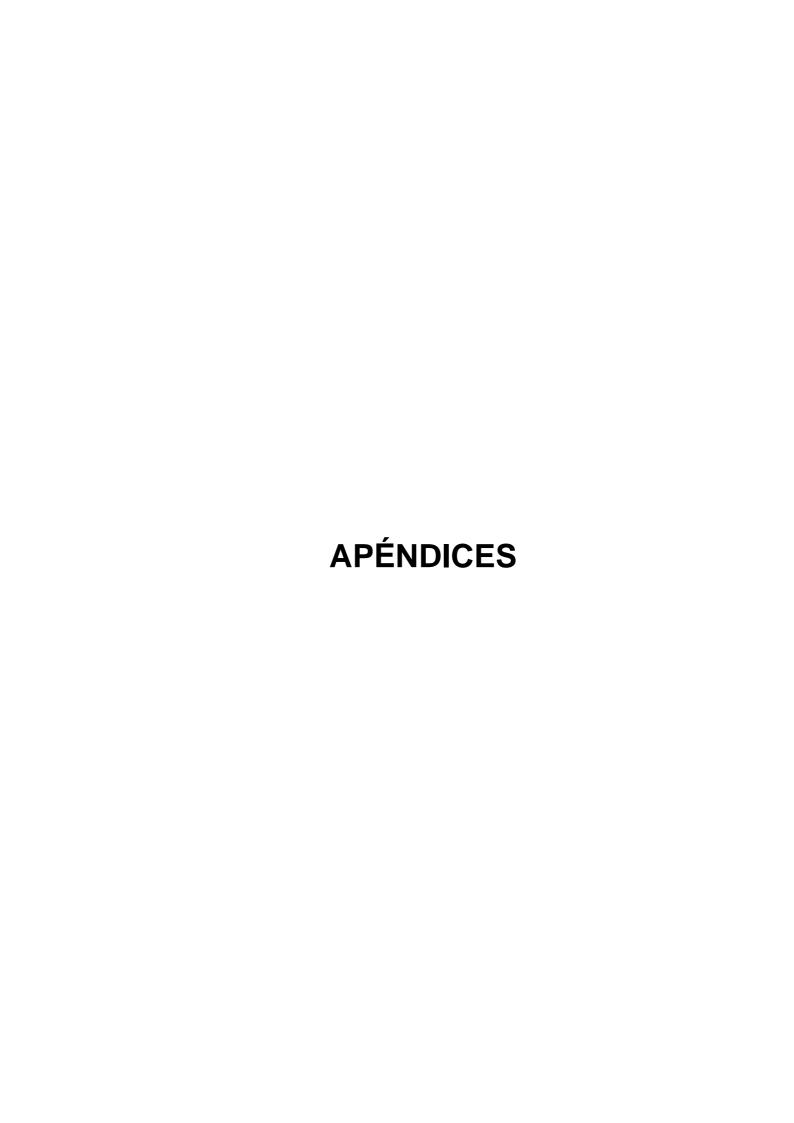
- Pérez, C. (2017). Obtención de cepas de Saccharomyces cerevisiae mejoradas para su uso en cerveza tipo ale. [Tesis]. <a href="http://ring.uag.mx/bitstream/123456789/1173/1/RI007600.pdf">http://ring.uag.mx/bitstream/123456789/1173/1/RI007600.pdf</a>
- Pinillos, R. (2020). Aprovechamiento del plátano maduro cv. Hartón (Musa paradisiaca L.) como adjunto en la elaboración de cerveza artesanal. [Tesis]. <a href="https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/16662/Pinillos\_mr.pdf?sequence=1&isAllowed=y">https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/16662/Pinillos\_mr.pdf?sequence=1&isAllowed=y</a>
- Ramírez, V. (2006). Valoración del potencial cervecero de maltas elaboradas con cebadas producidas en los estados de Hidalgo y Tlaxcala. [Tesis]. <a href="https://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/11045/Valoraci%C3%B3n%20del%20Potencial%20Cervecero%20de%20Maltas%20Elaboradas%20con%20Cebadas%20Producidas%20en%20los%20Estados%20de%20Hidalgo%20y%20Tlaxcala.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Ramírez, C., García, M., Muñera, L. y López, L. (2013). *Evaluación de la presencia de los genes FLO1, FLO5, FLO9 Y FLO11 en cepas de Saccharomyces cerevisiae.*Hecho microbiol, 4, 1, pp 1 11.
- Rectificadores Guasch S.A. (s.f.) Características de líquido de refrigeración. https://www.e-guasch.com/onlinedocs/catalogue/appnotes/AN090903\_c.pdf
- Ruiz, Y. (2006). Elaboración y evaluación de maltas cerveceras de diferentes variedades de cebada (Hordeum Vulgare) producida en los estados de Hidalgo y Traxcala.

  [Tesis].http://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/109
  62/Elaboracion%20y%20evaluacion%20maltas%20cerveceras.pdf?sequence=
- Sancho, R. (2015). Diseño de una micro planta de fabricación de cerveza y estudios de técnicas y procesos de producción. [Tesis]. <a href="https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/76575/02\_Memoria.pdf?sequence=5&isAllowed=y">https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/76575/02\_Memoria.pdf?sequence=5&isAllowed=y</a>
- Speers, A. (2016). *Brewing Fundamentals, Part 3: Yeast Settling Flocculation.* Master Brewers Association of the Americans, 53, 1, pp 17 22. <a href="http://dx.doi.org/10.1094/TQ-53-1-0302-04">http://dx.doi.org/10.1094/TQ-53-1-0302-04</a>
- Stewart, G. (2018). *Yeast flocculation sedimentation and flotation*. Fermentation, 4, 28, pp 1 32. <a href="http://doi.org/10.3390/fermentation4020028">http://doi.org/10.3390/fermentation4020028</a>

- Suárez-Machín, C., Garrido-Carralero, N. y Rodríguez, C. (2016). *Levadura Saccharomyces cerevisiae y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica.* ICIDCA. Sobre los derivados de la caña de azúcar, 50 (1), pp 20 28. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223148420004
- Suárez, M. (2013). *Cerveza: componentes y propiedades*. [Tesis]. <a href="https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/19093/TFM\_%20Maria">https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/19093/TFM\_%20Maria</a> <a href="mailto:%20Suarez%20Diaz.pdf">%20Suarez%20Diaz.pdf</a>; <a href="mailto:jsessionid=34AAA2735D5C8FCFC86E26215E35714C">jsessionid=34AAA2735D5C8FCFC86E26215E35714C</a> <a href="mailto:?sequence=8">?sequence=8</a>
- Toribio, K. (2015). Evaluación de la estabilidad con starter de Saccharomyces pastorianus spp. calsbergensis para la producción de cerveza tipo lager. [Tesis]. <a href="https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8298/tesis276.pdf;jsesionid=4EBA8B0B917534C37499CC3AED3FB5B2?sequence=1">https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8298/tesis276.pdf;jsesionid=4EBA8B0B917534C37499CC3AED3FB5B2?sequence=1</a>
- Uribe, L. (2007). Caracterización fisiológica de las levaduras aisladas de la filósfera de mora.
  [Tesis].
  <a href="https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8298/tesis276.pdf;jsessionid=4EBA8B0B917534C37499CC3AED3FB5B2?sequence=1">https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8298/tesis276.pdf;jsessionid=4EBA8B0B917534C37499CC3AED3FB5B2?sequence=1
- Van, S., Ghequire, M., Daenen, L., Verbelen, P., Verstrepen, K., y Delvaux, F. (2010). *Flocculation gene variability in industrial brewer's yeast strains.* Applied Microbiology and Biotechnology, 88, pp 1321 – 331. http://doi.org/10.1007/s00253-010-2843-5
- Varela, C., Bartel., C., Espinase, D., Borneman, A., Schmidt, S. y Curtin, C. (2020). Identification of flocculation wine yeast strains with improved filtration-related phenotypes through application of high-throughput sedimentation rate assays. Scientific Reports, 10, 2338. <a href="https://doi.org/10.1038/s41598-020-59579-y">https://doi.org/10.1038/s41598-020-59579-y</a>
- Verstrepen, K. J., Derdelinckx, G., Verachtert, H. y Delvaux, F. R. (2003). *Yeast flocculation: what brewers should know.* Applied Microbiology and Biotechnology, 61, pp 197 205. <a href="http://doi.org/10.1007/s00253-002-1200-8">http://doi.org/10.1007/s00253-002-1200-8</a>
- Villegas, L. (2013). Reingeniería de la planta de cerveza artesanal Cherusker. [Tesis]. 
  http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/2185#:~:text=Reingenier%C3%AD
  a%20de%20la%20Planta%20de%20cerveza%20artesanal%20Cherusker.&text
  =Reingenier%C3%ADa%20de%20la%20Planta%20de%20Cerveza%20Artesan
  al%20Cherusker%2C%20situada%20en,demanda%20generada%20por%20el
  %20mercado

- Wong, E. (2010). ¿Después de un análisis de varianza... qué? Ejemplos en ciencia de alimentos. Agronomía Mesoamericana, 21 (2), pp 349 356. http://www.mag.go.cr/rev\_meso/v21n02\_349.pdf
- Zambrano, J. y Borbor, K. (2014). *Utilización de una nueva cepa de levadura en el proceso de fermentación en una industria cervecera en la ciudad de Guayaquil.* [Tesis].

http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/123456789/30762/D-79860.pdf?sequence=-1&isAllowed=y



### Apéndice A

# Coeficientes de correlación Ryan - Joiner respecto al grado de significancia y número de datos.

Tabla A.1. Valores críticos de la prueba de normalidad de Ryan-Joiner

		α		
		.10	.05	.01
	5	.9033	.8804	.8320
	10	.9347	.9180	.8804
	15	.9506	.9383	.9110
	20	.9600	.9503	.9290
	25	.9662	.9582	.9408
n	30	.9707	.9639	.9490
	40	.9767	.9715	.9597
	50	.9807	.9764	.9664
	60	.9835	.9799	.9710
	75	.9865	.9835	.9757

### Apéndice B

### Pruebas de normalidad de Ryan – Joiner con nivel de significancia α=0.01

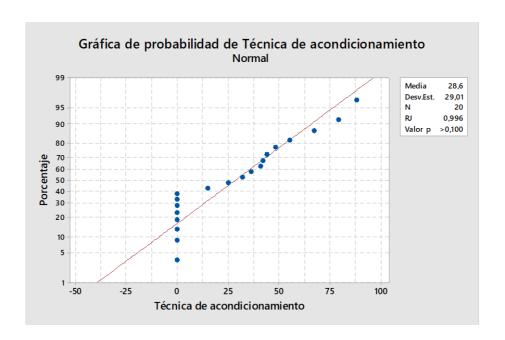


Figura B.1. Prueba de normalidad de la variable técnica de acondicionamiento en frío

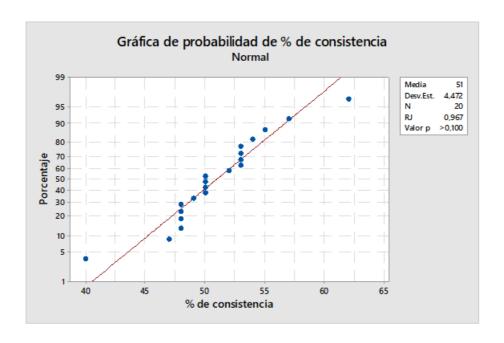


Figura B.2. Prueba de normalidad de la variable % de consistencia

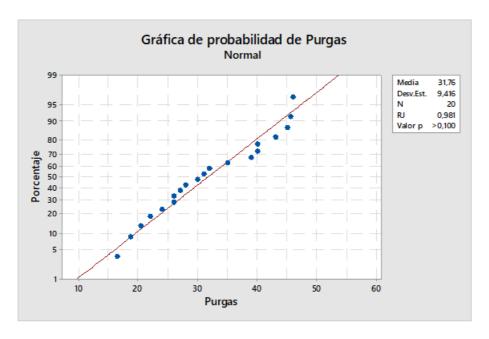


Figura B.3. Prueba de normalidad de la variable hL de purgas

En las Figuras B.1, B.2 y B.3 se puede evidenciar que el valor p es mayor que 0.05, por lo tanto, no se rechaza la hipótesis nula, la cual indica que los datos siguen una distribución normal. Además, se puede observar que el coeficiente de correlación Ryan-Joiner (Rj) es mayor al valor crítico Rjo,05,20. Por lo tanto, se concluye que los datos siguen una distribución normal.

Tabla B1. Interpolación del valor crítico Ryan-Joiner cuando n=12

n	RJ
10	0,918
12	Х
15	0,938

$$\frac{0,9383 - 0,9180}{15 - 10} = \frac{x - 0,9180}{12 - 10}$$

$$x = 0.926$$

$$R_{j0,05,12} = 0,926$$

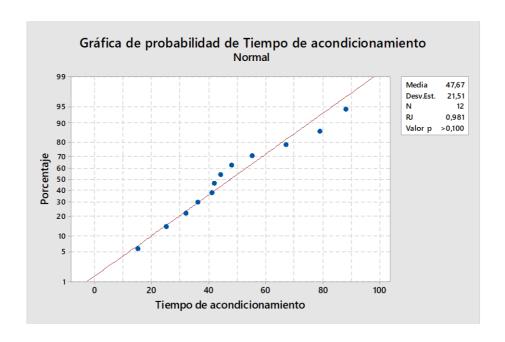


Figura B.4. Prueba de normalidad de la variable tiempo de acondicionamiento en frío

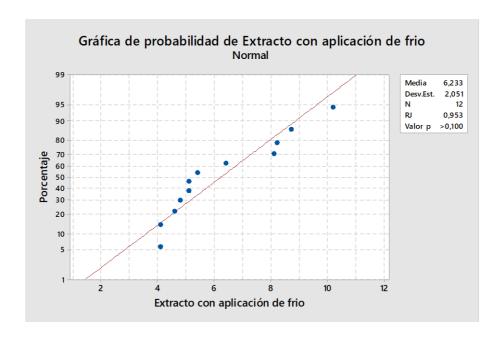


Figura B.5. Prueba de normalidad de la variable extracto con aplicación de frío

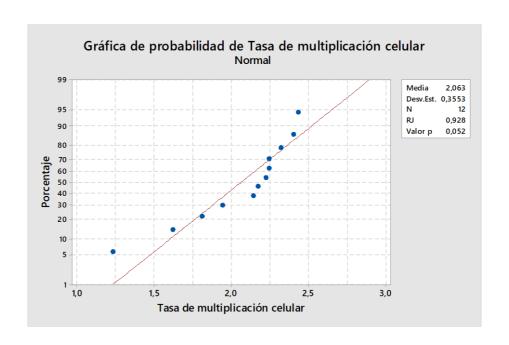


Figura B.6. Prueba de normalidad de la variable TMC

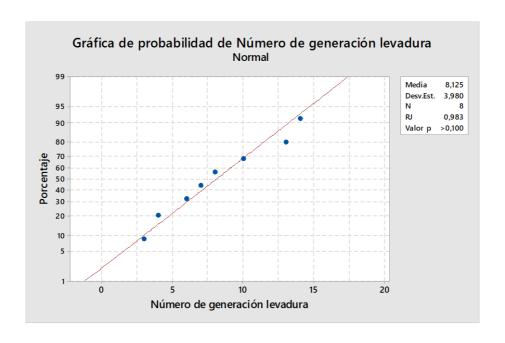


Figura B.7. Prueba de normalidad de la variable número de generación de levadura

En las Figuras B.4, B.5, B.6 y B.7 se puede evidenciar que el valor p es mayor que 0.05, por lo tanto, no se rechaza la hipótesis nula, la cual indica que los datos siguen una distribución normal. Además, se puede observar que el coeficiente de correlación Ryan-

Joiner (Rj) es mayor al valor crítico Rjo,05,12, el cual se calculó mediante interpolación. Por lo tanto, se concluye que los datos siguen una distribución normal.

#### **Apéndice C**

# Pruebas de comparación de medias respecto al % de consistencia y hL de purgas

Tabla C.1. Comparaciones en pareja de V1 con respecto al % de consistencia y hL de purgas

Variable de respuesta	V1	Ν	Media	Agrupación
% de consistencia	В	4	55,75	Α
	С	4	53,25	Α
	Α	4	50,75	Α
hL de purgas	С	4	36,75	Α
	Α	4	32,00	Α
	В	4	30,50	Α

Fuente: Estadístico Minitab

Tabla C. 2. Comparaciones en pareja de V2 con respecto al % de consistencia y hL de purgas

Variable de respuesta	V2	N	Media	Agrupación
% de	Α	4	56,00	Α
consistencia	С	4	52,50	Α
	В	4	50,50	Α
hL de purgas	С	4	36,00	Α
	Α	4	33,75	Α
	В	4	28,75	Α

Fuente: Estadístico Minitab

Tabla C. 3. Comparaciones en pareja de V3 con respecto al % de consistencia y hL de purgas

Variable de respuesta	V3	N	Media	Agrupación
% de consistencia	Α	4	54,50	Α
	В	5	54,00	Α
	С	3	50,33	Α
hL de purgas	С	3	35,67	Α
	Α	4	33,00	Α
	В	5	31,60	Α

Fuente: Estadístico Minitab

# $\label{eq:problem} \mbox{Apéndice D} \\ \mbox{Pruebas de Tukey con nivel de significancia $\alpha$=0.01} \\$

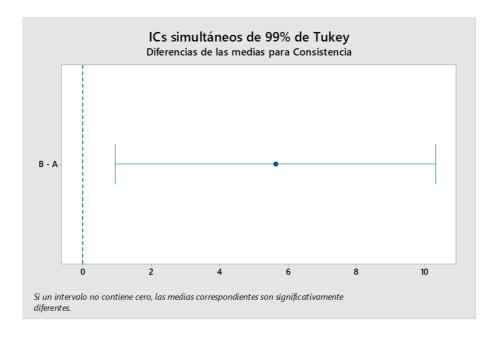


Figura D.1 Prueba Tukey de la técnica A y B respecto al % de consistencia

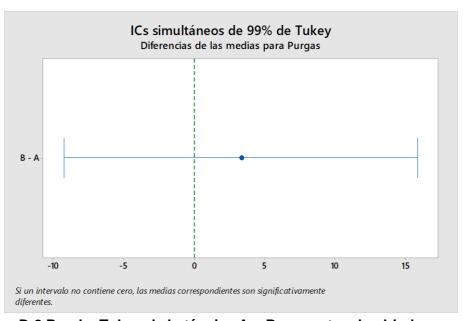


Figura D.2 Prueba Tukey de la técnica A y B respecto a los hL de purgas

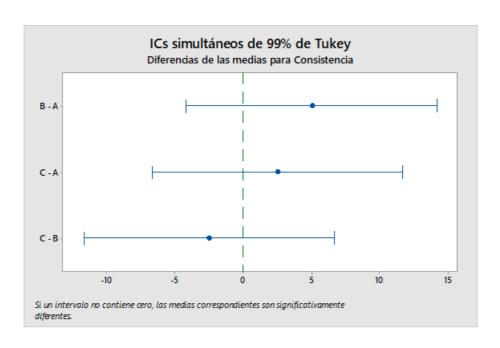


Figura D.3 Prueba Tukey de los niveles de tiempo de acondicionamiento en frío respecto al % de consistencia

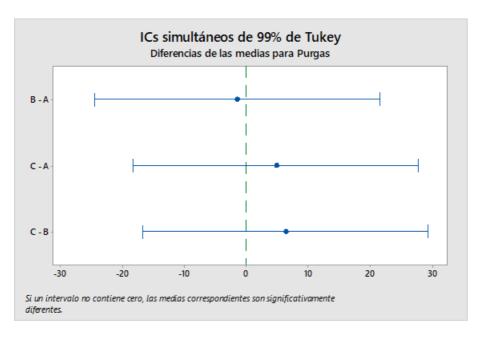


Figura D.4 Prueba Tukey de los niveles de tiempo de acondicionamiento en frío respecto a los hL de purgas

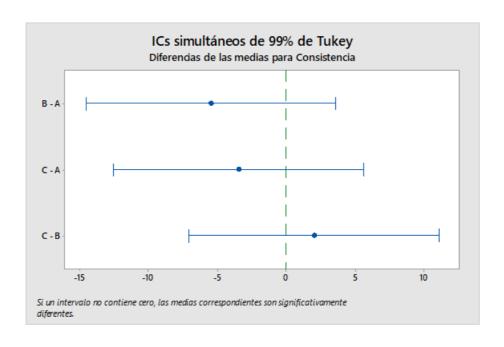


Figura D.5 Prueba Tukey de los niveles de extracto de acondicionamiento en frío respecto al % de consistencia

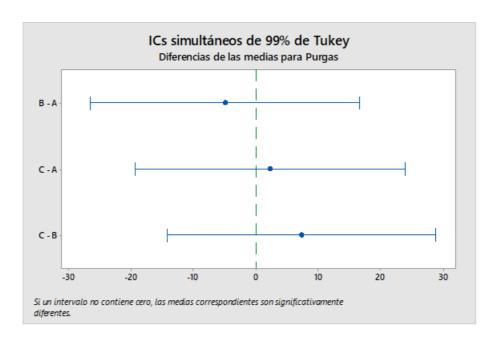


Figura D.6 Prueba Tukey de los niveles de extracto de acondicionamiento en frío respecto a los hL de purgas

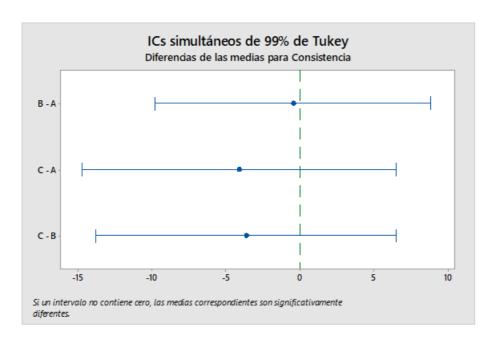


Figura D.7 Prueba Tukey de los niveles de TMC respecto al % de consistencia

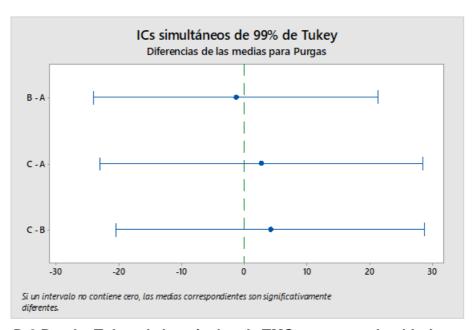


Figura D.8 Prueba Tukey de los niveles de TMC respecto a los hL de purgas

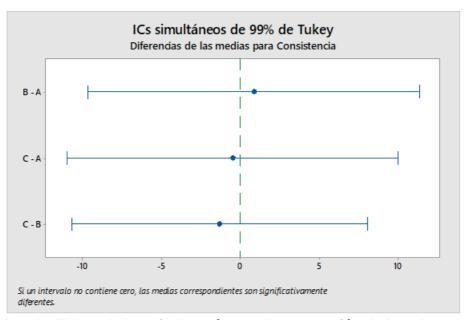


Figura D.9 Prueba Tukey de los niveles número de generación de levadura respecto al % de consistencia

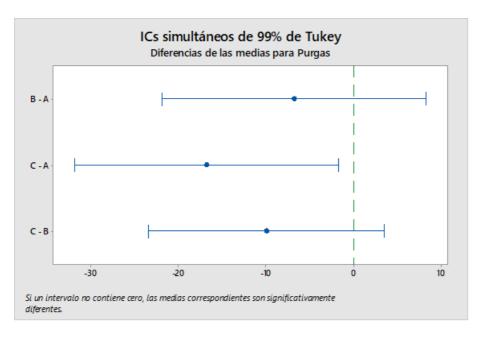


Figura D.10 Prueba Tukey de los niveles de número de generación de levadura respecto a los hL de purgas

#### **Apéndice E**

### Balance de energía del etilenglicol y obtención de la E.E. adicional en el proceso

Tabla E.1. Datos del refrigerante usado en la chaqueta del fermentador

Densidad del etilenglicol	1112,13 kg/m <sup>3 a</sup>
Calor específico del etilenglicol	2408,62 J/kg°C b
Caudal volumétrico del etilenglicol	10 <i>m</i> <sup>3</sup> /h
Temperatura inicial del etilenglicol	-3 °C
Temperatura final del etilenglicol	2 °C

Fuente: <sup>a</sup> y <sup>b</sup> (Rectificadores Guasch S.A., s.f.)

Tanto el caudal volumétrico como las temperaturas inicial y final del etilenglicol fueron datos proporcionados por la empresa patrocinadora, como se muestra en la Tabla E.1.

Cálculo del flujo másico:

$$\dot{m} = \dot{v} * \rho$$

$$\dot{m} = 10 \frac{m^3}{h} * 1112,13 \frac{kg}{m^3}$$

$$\dot{m} = 11121,3 \frac{kg}{h} * \frac{1 h}{3600 s} = 3,089 \frac{kg}{s}$$

Cálculo del calor absorbido por el refrigerante:

$$Q_{etilenglicol} = m_{etilenglicol} C_p \Delta T$$

$$Q_{etilenglicol} = 3,089 \frac{kg}{s} * 2408,62 \frac{J}{kg °C} * (2 °C - (-3 °C))$$

$$Q_{etilenglicol} = 37204,15 W = 37,20 kW$$

Asumiendo una eficiencia del 85% en el equipo:

$$E.E. = 37,20 \text{ } kW * 0,85$$
  
 $E.E. = 31,62 \text{ } kW$ 

Considerando un tiempo de frío de 44 h:

$$E.E. = \frac{31,62 \ kW * 44 \ h}{2880 \ hL}$$

$$E.E. = 0,4831 \ \frac{kW - h}{hL}$$

Considerando un tiempo de frío de 48 h:

$$E.E. = \frac{31,62 \ kW * 48 \ h}{2880 \ hL}$$

$$E.E. = 0,527 \frac{kW - h}{hL}$$

### Apéndice F

### Costos por Batch, costo E.E. adicional, costo por pérdida de hL y costos por una disminución de tiempo de producción

Tabla F.1. Costos por batch para una capacidad de 2880 hL

Rubros	Costo por hL	Costo batch
Rubios	(\$)	2880 hL (\$)
Materia prima		
Mosto + Fermentación	13,00	37440,00
Total 1	13,00	37440,00
<u>Personal</u>		
Cocimiento	0,436	1255,68
Fermentación/Maduración	1,566	4510,08
Total 2	1,996	5765,76
Costo Indirecto		
Tarifa OCV	5,339	15376,32
Total 3	5,339	15376,32
Total 1+2+3	20,335	58582,08

Tabla F.2. Costo de energía eléctrica por hL con la técnica implementada

Tiempo de enfriamiento (h)	kW-h por hL	Costo (\$) / kW-h	Costo (\$) / hL
44	0,483	\$0,09	\$0,0435
48	0,527	\$0,09	\$0,0474

Tabla F.3. Costos por hL de purgas en nivel A y B

Nivel	Purgas (hL)	Costo (\$) / hL	Costos (\$) / hL de purgas
Sin técnica de acondicionamiento (A)	45,5	\$20,335	\$925,01
Con técnica de acondicionamiento (B)	24	<del>4</del> =2,000	\$487,92

Tabla F.4 Costos por capacidad en la producción mensual

Nivel de factor	# Batch / mes	Capacidad total (hL)	Costo por capacidad mensual (\$)
Α	4	17280	\$69 120
В	5	17200	\$86 400

Tabla F.5. Costos por batch con una reducción del 14% de tiempo

Rubros	Costo (\$) por	Costo batch
Kubios	hL	2880 hL
Materia prima		
Mosto + Fermentación	13	37440
Total 1	13	37440
<u>Personal</u>		
Cocimiento	0,375	1080
Fermentación/Maduración	1,347	3879,36
Total 2	1,722	4959,36
Costo Indirecto		
Tarifa OCV	5,339	15376,32
Total 3	5,339	15376,32
Total 1+2+3	20,06	57772,8