

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**Ensayo para obtener bebida tipo cerveza con insumos regionales
Ayacucho - 1995**

**Tesis para optar el título profesional de Biólogo,
Especialidad: Microbiología**

Presentado por:

Bach. Edgardo Luis Torres Quispe

Asesor:

Blgo. Fidel Rodolfo Mujica Lengua

Ayacucho - Perú

1997



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACUTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela de Formación Profesional de Biología

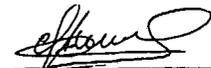
El Jurado Calificador da constancia de que el presente Trabajo de Tesis presentado por el Bachiller Edgardo Luis TORRES QUISPE, titulado: "Ensayo Para Obtener Bebida Tipo Cerveza con Insumos Regionales" Ayacucho-1995. Para optar el Título de Biólogo - Microbiólogo fue sustentado y aprobado con la nota de Trece (13), con fecha 03 del mes Abril de 1998.



Q.F. José A. YARLEQUEMUJICA
Miembro Jurado



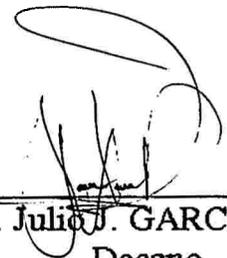
Blgo. Fidel R. MUJICA LENGUA
Miembro Jurado



Blgo. Elbert HERMOZA VALDIVIA
Miembro Jurado



Dr. Víctor ALEGRIA VALERIANO
Miembro Jurado



Msc. Julio J. GARCIA VARAS
Decano

DEDICATORIA

Con gratitud y admiración al abnegado sacrificio de mis padres, Juan y Georgina, por pretender inducir e inculcar estudio y trabajo a todos sus hijos.

A mis hermanos, Sofia, Consuelo, Pavel, Juan, Katia y Mariana por la comprensión y el apoyo brindado, y a todos mis demás familiares, por su apoyo incondicional.

A mis adoradas compañeras en la vida, Katia y Liz Kristina, por su cariño, apoyo y comprensión

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, mi alma mater, por haber forjado en mí nuevos conocimientos y experiencias para mi formación profesional, y así poder servir a la sociedad en aras del desarrollo.

A los docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Al Biólogo-Microbiólogo Fidel R. Mujica Lengua, por su constante apoyo y asesoramiento, en la realización del presente trabajo de investigación, volcando sus conocimientos y experiencias.

RESUMEN

La Industria Cervecera Nacional, tiene como una de las principales limitaciones, el abastecimiento de materias primas, que, excepto el agua, la cebada, el lúpulo y la levadura son importados. Frente a este problema, la posibilidad de reemplazar al lúpulo (*Humulus lupulus*), parcial o totalmente por el "ajenjo" (*Artemisia absinthium*), es una alternativa interesante.

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de Microbiología, sección de Microbiología Industrial, Alimentos y de Aguas, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, desde el mes de julio de 1996 a junio de 1997, siendo el objetivo general, el de sustituir el lúpulo, que es un ingrediente principal importada de la cerveza, por el "ajenjo" que es común en nuestra región, para así abaratar costos en la producción de bebidas tipo cerveza.

El proceso de elaboración de una bebida tipo cerveza, se inició paralelamente en 12 fermentadores, cuyos mostos luego de los tratamientos previos conocidos fueron ajustados a las siguientes condiciones : 6 fermentadores con concentraciones de 1 y 2 gr/lit de lúpulo y 6 fermentadores con concentraciones de 0.25 y 0.50 gr/lit de "ajenjo", a pH de 4, 5 y 6 para cada concentración. La temperatura inicial fue de 4-5 °C por 10 días y luego de 18 °C por 8 días. Al final, el producto fue

pasteurizado. Durante la fermentación alcohólica se determinaron el porcentaje de etanol, azúcares reductores y azúcares totales; en tanto que al final de la maduración se realizaron los análisis físico-químicas, organolépticos y microbiológicos.

El mayor porcentaje de etanol (4.99 %), se consiguió a pH 5.0 y a una concentración de 2 gr/lit de lúpulo; en cambio el mayor rendimiento de etanol se encontró para el tratamiento con "ajenjo" a pH 5 y una concentración de 0.25 gr/lit. Las características físico-químicas y organolépticos del producto final obtenido están dentro de los requisitos establecidos por la Norma Técnica Peruana correspondiente a Cerveza.

Es posible conseguir una bebida tipo cerveza reemplazando al lúpulo por el "ajenjo", con características de amargor y aroma muy similares a los que proporcionan el lúpulo

SUMARIO

	Pág.
RESUMEN	
INTRODUCCION	01
REVISION DE LITERATURA	03
1.- La Cerveza	03
1.1.- Generalidades	03
1.1.1.- Definición	03
1.1.2.- Características	03
1.1.3.- Historia	04
1.1.4.- Importancia	05
1.1.5.- Legislación	06
1.1.6.- Clasificación de la cerveza	07
1.2.- Materia prima para la elaboración de la cerveza	08
1.2.1.- Cebada	08
1.2.2.- Ubicación taxonómica	09
1.2.3.- Descripción botánica	09
1.2.4.- Composición química	10
1.3.- Lúpulo .- Generalidades.	10
1.4.- Ajenjo .- Generalidades	11
1.4.1.- Descripción botánica	11
1.4.2.- Composición química	11
1.4.3.- Usos y aplicaciones	12
1.5.- Proceso de la elaboración de la cerveza tipo "ale"	12
1.5.1.- Maceración y germinación	12
1.5.2.- Malteado	13
1.5.3.- Obtención del mosto	13
1.5.4.- Lupulación	14
1.5.5.- Fermentación	14
1.5.6.- Maduración	14
1.6.- Defectos y alteraciones de la cerveza	15
1.7.- Microbiología de la fermentación	16

1.7.1.- La Levadura.- Generalidades	16
1.7.2.- Ubicación taxonómica	17
1.7.3.-Característica bioquímicas, fisiológicas y nutricionales que influyen en el crecimiento de las levaduras	17
1.7.4.- Fermentación Alcohólica	18
1.7.5.-Aspecto Bioquímico del proceso de fermentación	18
1.7.6.-Factores que afectan el proceso de fermentación	19
1.7.7.- Parámetros de la Fermentación .	20
1.8.- Norma Técnica de la elaboración de la Cerveza	20
MATERIAL Y METODOS .-	22
1.-Materiales	22
1.1.- Materia Prima	22
2.- Metodología	22
2.1.-Materia Prima	22
2.1.1.- Selección de granos	22
2.1.2.- Obtención de la malta	22
2.2.- Microorganismo	23
2.2.1.- Reactivación de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 4126.	23
2.2.2.- Preparación del inóculo	23
2.3.- Proporción malta : agua	23
2.4.- Concentración lúpulo o ajeno y pH	23
2.5.-Proceso de obtención del mosto	23
2.6.- Proceso de fermentación alcohólica	24
2.7.- Proceso de maduración	26
2.8.- Flujoograma de proceso de obtención de cerveza y bebida tipo cerveza	27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
3.1.- Porcentaje de Etanol	29
3.2.- Azúcares Reductores	35
3.3.-Azúcares Totales	41
3.4.-Análisis Microbiológico	46
3.5.- Evaluaciones físico-químicos finales	47

6. 3.6.- Rendimiento de Etanol	49
CONCLUSIONES	51
RECOMENDACIONES	53
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	54
ANEXOS.	58

INTRODUCCION

La cerveza es prácticamente una “chicha de cebada” que a lo largo de muchos siglos se ha llegado a tecnificar industrialmente, así, su origen se remonta a la cultura egipcia desde hace 6000- 8000 a.a.e. En nuestro país la producción de cerveza tiene aproximadamente 100 años, teniendo actualmente un mercado oligopólico, donde solo compiten 2 grandes empresas que son la Corporación Backus y Johnston, con varias líneas de producción dentro de un mercado segmentado, como son : La cerveza Cristal, Pilsen, Garza Real, San Juan, Bremen, etc.; y por otro lado la Compañía Cervecera del Sur, con 2 líneas de producción que viene a ser la Cerveza Cuzqueña y la Arequipeña

Todas ellas enfrentan el problema de abastecimiento de materias primas, que en su mayor parte son importadas, como la cebada, insumos secundarios (como el maíz, arroz, etc.), el lúpulo y la levadura. Frente a esto las propias empresas productoras de cerveza han tenido una constante preocupación de buscar abaratar sus costos utilizando insumos regionales , pero estos esfuerzos han tenido muy poco éxito.

En tal sentido, la posibilidad de reemplazar, parcial o totalmente el lúpulo por el “ajenjo“, que es un insumo regional, constituye una alternativa frente a esta problemática, ya que los primeros resultados que se tienen como producto del

presente trabajo de tesis indican claramente que se pueda obtener un producto bastante similar a una cerveza tradicional.

Además, el "ajenjo" es una planta herbácea silvestre, muy común en nuestra región, que tiene como principio amargo a la absintina y aceites esenciales como la tuyona, que posiblemente sean equivalentes a las resinas que se encuentran en la flores femeninas de la planta del lúpulo, por lo que se trata de una planta bastante apropiada para poder reemplazar a esta última. Bajo este contexto, se plantearon inicialmente los siguientes objetivos :

- Realizar un ensayo preliminar para obtener cerveza en el laboratorio (testigo).
- Optimizar los parámetros referidos a concentración de lúpulo, pH, temperatura y tiempo de fermentación que influyen en el rendimiento de etanol.
- Sustituir el lúpulo por el "ajenjo" a fin de obtener una bebida similar a la cerveza.
- Caracterizar fisico-química y organolépticamente el producto obtenido.

REVISION DE LITERATURA

1.- La Cerveza.-

1.1.- Generalidades :

1.1.1.- Definición .- (Lat. Cervista) Es una bebida alcohólica resultante de la fermentación del mosto preparado por infusión o decocción de la malta de la cebada y adicionado de lúpulo Dorland (1987).

Cerveza, es la bebida resultante de la fermentación alcohólica obtenida por la acción de la levadura cervecera (*Saccharomyces cerevisiae* ó *Saccharomices carlbergensis*), del mosto preparado de malta y agua, con el agregado de lúpulo o su extracto natural, con o sin la adición del bióxido de carbono producido por la fermentación natural y con o sin la adición de otros productos aptos para el consumo humano ITINTEC (1973).

1.1.2.- Características.- Una cerveza típica americana contiene 91 % agua, 4.6 % carbohidratos en forma de maltosa y dextrina, 0.5 % sustancias proteicas, 0.2 % sales minerales y 3.59 % de alcohol en peso. También contiene vitaminas esenciales como tiamina, niacina, riboflavina, Ac. Pantoténico y piridoxina, entre otros todos los constituyentes de la cerveza se asimilan con rapidez Desrosier (1983)

1.1.3.- Historia .- La cerveza es una bebida tan corriente y tan conocida que nadie piensa en su historia. Sin embargo, fue una de las invenciones de la humanidad. Prueba suficiente de que existen muchos documentos y que figuran entre los mas antiguos testimonios de la historia. El mas notable es el Monument Blau, del British Museum de Londres, en el que se menciona a la cerveza entre 10 chivos y medidas de grano cocido, se usaba pues en la Mesopotamia hace 8.000 años.

Otros documentos como una tabla sumeria que tiene algo mas de 5.000 años y que proviene de las mismas regiones que el Monument Blau, en las orillas del Golfo Pérsico, otros que son representaciones del trabajo de los esclavos en Egipto de hace alrededor de 4.500 años.

A pesar de ser la bebida común, la cerveza era considerada como una bebida exquisita, de selección, reservada para los dioses, los reyes y los muertos. Desde épocas muy antiguas se ha apreciado la cerveza , no solo como una bebida agradable, sino como un eficaz reconstituyente.

La fabricación de la cerveza es una experiencia tan antigua como el cultivo del grano y sobrepasa los 6.000 años de edad, como se refiere a la fabricación de la cerveza algunos registros mas antiguos de Egipto, China, Grecia y Roma. En la edad media la cerveza estaba asociado a los monasterios Desrosier (1983).

La evidencia arqueológica demuestra que la elaboración de cerveza había llegado a ser un arte importante, hace unos 6.000 años, en el valle del Nilo. Los pueblos del Oriente aprendieron, hace ya mucho tiempo, a obtener Saké y bebidas parecidas a partir del arroz. En 1502, Colón fue obsequiado en el Nuevo Mundo con una especie de vino hecho de maíz, parecido a la cerveza inglesa Rose (1978).

La elaboración de cerveza creció al mismo ritmo que lo hicieron las carreteras, canales y ferrocarriles, esto en referencia a las grandes factorías elaboradoras

de cerveza, capaces de sostener un mercado nacional e internacional en expansión, huellas del cual son marcas como "India Pale Ale", "Russian Stout" y "Export".

El descubrimiento de las máquinas de vapor permitió aumentar mucho el tamaño de los equipos de las fábricas de cerveza que originalmente utilizaban la fuerza humana o la hidráulica para mover sus máquinas. El problema capital de las fábricas era la necesidad de operar a bajas temperaturas en ciertas etapas del malteado y la elaboración de cerveza. Por eso, las campañas de malteado y elaboración de cerveza se limitaban en los países de clima templado al otoño, el invierno y la primavera y tanto las malterías como las industrias cerveceras eran impropias de los climas tropicales. Al comienzo del siglo XX se dispuso de equipos de refrigeración basados en la compresión de amoníaco, lo que permitió que el malteado y la elaboración de cerveza pudieran llevarse a cabo durante todo el año, tanto en los países y regiones de climas templados, como en los tropicales Hough (1990).

1.1.4.- Importancia.- La cerveza no solo es una bebida agradable, bella, refrescante, tónica, estimulante compañera de la mesa y de la conversación. Es también, según varios investigadores médicos, un alimento casi completo; le faltan solo grasas o lípidos para ser, como el huevo y la leche, alimento completo, con proteínas, vitaminas, glúcidos, minerales, oligoelementos... y lípidos. Es además, según los mismos investigadores, un preventivo de enfermedades y un notable factor de salud De Romaña (1982).

Científicos que han analizado las cervezas imparcialmente, coinciden en declarar, que la cerveza tiene un valor tónico definido. Particularmente las resinas de los lúpulos tienen un efecto tónico. La cerveza es una bebida sana y alimenticia.

La cerveza es una bebida ciertamente alcohólica, sin embargo, lo es sólo hasta cierto punto. Contiene una dosis alcohólica pequeña, dentro de nuestros

criterios y nuestros gustos, diríamos que es bastante y conveniente para un hombre sobrio, y tal vez algo escasa para un bebedor. Algunas medicinas, sobre todo ciertos elixires, contienen una dosis alcohólica parecida. Con ello no queremos insinuar que la cerveza sea un producto más de farmacia que de "bar": simplemente se trata de que su nocividad es casi nula. Así se explica su difundido uso, y las condiciones de salud de los pueblos que la consumen con mayor asiduidad, como por ejemplo, en caso de mujeres embarazadas, aparte del valor nutritivo de esta bebida-alimento son importantísimas, dos cualidades: la cerveza favorece la digestión y ejerce una influencia sedante sobre el sistema nervioso, y por otro lado la cerveza es, durante el periodo del embarazo, un verdadero alimento cuyas calidades múltiples aseguran al régimen un refuerzo que hay que estimar en su justo valor. Es así, la cerveza, considerado como tónico y energético, permite al organismo utilizar inmediatamente sus calorías, razón por la cual se recomienda también a deportistas, a personas que padecen de constipaciones, con nerviosismo, etc. Guilpin (1954); Sánchez (1969).

Consumida moderadamente, la cerveza tiene un efecto diurético y deshidrata los tejidos. La cerveza como tal no engorda, sino más bien aminora el apetito.

Otro aspecto relacionado con la cerveza, es el de su mayor o menor toxicidad con respecto a otras bebidas alcohólicas. Dados los índices del contenido alcohólico 3.8, 4.0 y 5.0%, según las marcas y si se compara estos índices con el 40 a 43% de alcohol que contienen los Whiskies y aguardientes, o con el 7 al 12% que tienen los vinos, evidentemente la cerveza está muy lejos de la toxicidad que caracteriza a las bebidas propiamente alcohólicas. Por ello en muchos países se le llama "La bebida de la moderación" Lozano, Nancy (1980).

1.1.5.- Legislación.- La composición de la cerveza es una fórmula clásica: en Alemania, desde la ley 1516 las autoridades Bávaras introdujeron las leyes de la pureza de la cerveza, que restringieron las materias primas aptas para su elaboración a cebada malteada, agua, lúpulo y levadura. Osea, desde hace 480 años la cerveza se fabricaba estrictamente con los ingredientes arriba mencionados. Estas leyes se fueron gradualmente introduciendo en toda Alemania, de tal modo que en 1918 obligaban a todos los fabricantes de cerveza que pretendieran exportarla. En épocas recientes, son numerosos los países que han introducido controles estrictos de algunos aditivos y se exige mencionar su empleo, en las etiquetas, por ejemplo, papaína un enzima proteolítico, Hough (1990); Jagnow (1991).

1.1.6.- Clasificación o tipos de cerveza.- Los diferentes tipos de cerveza se preparan variando la temperatura del proceso, los ingredientes y en particular los tipos de granos y levaduras.

Cervezas fabricadas a partir de cebada malteada con o sin adición de otros hidratos de carbono, lúpulo, agua y levaduras :

a.- **“Ale”** - Fermentadas con levaduras altas. Aunque los términos **“ale”** y **cerveza** con frecuencia se utiliza en forma sinónima, la diferencia radica en que el **“ale”** tiene un contenido alcohólico mayor, que llega hasta 6% que otras cervezas;

i.- **“Pale”** claras .- fabricadas a partir de maltas pálidas y fuertemente aromatizadas con lúpulo, habitualmente poco dulces; entre ellas se encuentran las cervezas Kolsch de Colonia y su distrito ;

ii.- **“Bitter”**, amargas, término usado para las **“pale ales”** de barril ;

iii.- **“Brown”**, amargas, fabricadas con maltas que proporcionan un color intenso, generalmente mas dulce y menos cargado de lúpulo que las pálidas ;

iv.- "Mild", suaves, habitualmente equivalentes, para la cerveza de barril, a las pardas ;

v.- "Stout", son las mas oscuras, algunas intensamente amargas y otras, en cambio dulces ;

vi.- "Porter", es mas dulce que el "ale" ordinario, y se fermenta con menos lúpulo dando una espuma mas rica y pesada;

vii.- "Vinos de cebada, ordinariamente muy pálidas.

b.- "Lagers", bebidas que se fermentan de 10 - 15°C con levadura que sedimenta en el fondo (levaduras bajas) de la tina después de la fermentación. La cerveza lager contiene poco lúpulo y con frecuencia se almacena en recipientes de madera y tiene una vida larga.

i.- "Pale", fabricadas con malta pálida , carentes de sabor dulce y aromatizadas con lúpulo ;

ii.- "Dark", fabricadas con maltas oscuras, algunas veces ligeramente dulces y más fuertes que las pálidas ;

iii.- "Märzen, Bock", cervezas de gran fuerza fabricadas solo en ciertas épocas del año.

1.2.- Materia prima para la elaboración de cerveza.-

1.2.1.-Cebada.- Nombre científico *Hordeum vulgare*, considerado como uno de los cereales más duros y tiene significativa importancia como alimento humano y animal, así como en la fabricación de cerveza Scade (1981).

Ocupa el primer lugar entre las materias primas de la cerveza, no siendo sustituible. A nivel mundial ocupa el cuarto lugar en orden de importancia económica de superficie de cultivo y recurso alimentario, se usa en la alimentación del ganado y por su demanda en la industria cervecera. En la actualidad su cultivo es muy importante

en los países desarrollados para la obtención de la malta y fabricación de licores como el Whisky y otros. A nivel nacional, es mucho mas importante, pues ocupa el tercer lugar en orden de importancia dentro del cultivo de los cereales. La mayor superficie de cultivo se lleva a cabo en la sierra y representa el 99.5 % de la superficie de cultivo y casi el 90 % del producto se usa para el consumo humano y solo un 10 % en la industria.

1.2.2.- Ubicación Taxonómica.- Según Robles Sánchez, la clasificación es la siguiente:

Reino	Vegetal
División	Tracheophyta
Subdivisión	Pteropsidae
Clase	Angiospermae
Subclase	Monocotiledoneae
Orden	Graminales
Familia	Gramineae
Género	Hordeum
Especie	Vulgare.
Nombre Científico	<i>Hordeum vulgare.</i>
Nombre común	Cebada.

1.2.3.- Descripción Botánica .- La cebada tiene un hábito de crecimiento anual y propagación sexual, pues su multiplicación se realiza por medio de una semilla cuyo embrión se origina por la unión de un gameto masculino y otro femenino. Monoica por encontrarse el androceo y gineceo en una

misma planta, Hermafrodita y perfecta, por encontrarse los dos órganos sexuales en una misma flor.

Las cebadas cultivadas se han clasificado dentro de tres grupos:

- Cebada de 6 carreras u *Hordeum vulgare*
- Cebada de 2 carreras u *Hordeum distichum*.
- Grupo indeterminado u *Hordeum irregulare*.

1.2.4.- Composición Química .- Composición química de una cebada de seis y de dos hileras (Cortesía del Comité de Fabricantes de Cerveza INDECOPI) :

VARIABLES	6 hileras cebada de arista suave		2 hileras cebada "Hannchen"	
	base "talcaul"	base seca	base "talcaul"	seca
	%	%	%	%
Humedad	14.03	-	8.19	--
Proteínas	11.38	13.23	9.01	9.81
Cenizas	2.11	2.45	2.67	2.91
Grasas	1.79	2.08	2.67	2.35
Fibra (libre de cenizas)	5.72	6.65	2.52	2.74
Extracto (libre de nitrógeno)	64.97	75.57	75.45	82.18
Carbohidratos	70.69	82.22	77.97	84.92
Cáscaras	11.11	12.92	7.8	8.5
Azúcar como maltosa	0.42	0.49	0.47	0.51
Almidón	42.88	49.87	54.72	59.6

1.3.- Lúpulo.- Generalidades.- N.C. *Humulus lupulus*, es una planta trepadora moracea, de flores dioicas. En las plantaciones de lúpulo, solo se cultivan plantas femeninas, que se multiplican en forma vegetativa, pese a no existir fecundación, se desarrollan las flores mediante prolongación de las bacteas hasta construir las llamadas "piñas", conos o estróbilos, que se recolectan de agosto a setiembre. Los pelos glandulares calciformes de las bacteas contienen además de aceites etéreos las sustancias amargas del lúpulo.

Los componentes mas importantes del lúpulo son : las sustancias amargas. En el lúpulo frescos están presentes preferentemente en forma de ácidos alfa-amargos como Humulona I, Cohumulona II y Adhumulona III, y de ácidos beta-amargos Lupulona IV, Colupulona V y Adlupulona VI. Son estos unos compuestos de gran capacidad de reacción, que durante la desecación, almacenado y tratamiento proporcionan mediante isomerización, oxidación y polimerización gran número de productos secundarios. El lúpulo es el mas indispensable aditivo en la fabricación de la cerveza. Como clarificador provoca la precipitación de sustancias proteicas del mosto. Modifica el carácter de este hacia un aroma específico y sabor amargo; en virtud de las sustancias antibióticas que contiene, junto con el alcohol y CO₂. El lúpulo, contribuye a la conservación de la cerveza y debido a su contenido de pectina favorece la formación de espuma. El hervido del mosto con lúpulo tiene por objeto : 1) concentrarlo, 2) esterilizar el mosto, 3) inactivar las enzimas, 4) extraer las sustancias solubles del lúpulo, 5) coagular, precipitar las proteínas y otras sustancias, 6) caramelizar ligeramente los azúcares, 7) proporcionar sustancias antisépticas (principalmente alfa resinas (humulona, cohumulona y adhumulona), al mosto y a la cerveza Austin (1990); Belizt (1988); Coultate (1986); Frazier (1985).

1.4.- Ajenjo.- Generalidades .- Originaria de Inglaterra y de toda Europa, es de fácil cultivo en primavera y en lugares sombreados y en tierra arcillosa, bastante pesada. Después de su florescencia, se debe cortar la planta para favorecer el crecimiento del año siguiente. El ajenjo es una planta poco exigente, se reproduce por semillas o estacas, se desarrolla mejor en lugares soleados y muy húmedos Muñoz (1995).

1.4.1.- Descripción Botánica .- Nombre científico, *Artemisia Absinthium*, de la familia Compuestas, planta de muy fuerte aroma y olor aromático.

El ajeno es una planta perenne, de 1 metro de altura, de ramas herbáceas, flexibles, asurcadas longitudinalmente y de hojas alternadas muy recortadas y plateadas y de flores pequeños y amarillos que forman racimos, que tienen un sabor extremadamente amargo y olor muy aromático O.M.S. (1995); C.I.P.I. (1994).

1.4.2.- Composición Química .- Contiene un aceite esencial rica en cetona terpénica : La tuyona, acompañado de su alcohol correspondiente: el tuyol, felandreno, cadineno, proazuleno. Los principios amargos son la absintina (lactona) molécula doble y anabsintina, compuestos de flavona y ácidos C.I.P.I. (1994); Muñoz (1995).

1.4.3.- Usos y Aplicaciones.- Tiene propiedades aperitivas, tónico-digestivas, diaforética y vermífugas. Se aplica en forma de extractos, polvos, infusión, decocción y tintura para extracción de esencia y de la absintina. Se utiliza también en afecciones hepáticas, laxantes, antigripal, antirreumático, etc.

En licorería, en la composición de bebidas amargas y aperitivas como el vermouth C.I.P.I. (1994); Muñoz (1995); O.M.S. (1995).

1.5.- Proceso de la Elaboración de Cerveza tipo "ALE" :

1.5.1.- Maceración y Germinación .- Consiste en remojar los granos de cebada en agua, por espacio de 24-48 horas, a una temperatura de 10-15.6 °C., haciendo que incremente su peso. Se adiciona CaO ó NaOH para eliminar gérmenes y polifenoles indeseables de la masa fermentescible. Esta impregnación acuosa, además de solubilizar sustancias amargas, determina que el germen comience a desarrollar, formándose una raicilla y plumeta. Con esto se han puesto en marcha las enzimas. Las principales son una citasa que ataca las membranas celulares, una proteasa que produce la hidrólisis de las proteínas, solubilizando aminoácidos y peptonas y, lo que es mas importante, dos enzimas amilolíticas, la alfa y beta-amilasas, producción de oxígeno y

liberación de CO₂. Al cabo de 8-10 días se puede considerar terminada esta etapa. Una gran porción de almidón, no atacable por la levadura, se ha convertido en maltosa y glucosa que así transformados servirán de caldo de cultivo posteriormente. Se detiene el proceso secando los granos con calor suave.

En el curso de la germinación, el contenido de alfa-amilasa del grano aumenta de un modo notable; las enzimas actúan sobre los gránulos de almidón y liberan dextrinas y maltosas. Tan solo los granos de cebada madura, ricos en almidón y pobres en nitrógeno, dan una malta apropiada. La germinación solo se puede producir luego de un periodo de inactividad, por lo que es necesario que la cebada haya sufrido una "maduración".

1.5.2.- Malteado .- Los granos germinados pueden secarse y molerse para hacer harinas de malta, o bien aplastarse o remojar en agua, filtrando la solución y concentrándola para producir extracto de malta o polvo de malta seca. Todo esto previa filtración, limpieza y purificación de gérmenes y brotes de los granos. La cebada germinada y seca se denomina malta.

1.5.3.- Obtención del Mosto .- La malta se lleva a tostación a 60-70°C para las cervezas negras. Luego se procede al amasado que tiene por objeto solubilizar, en lo posible, las porciones utilizables de la malta y sus refuerzos y, especialmente estimular la hidrólisis de los almidones y otros polisacáridos y la de las proteínas y sus productos de degradación. Se separa primero la masa de malta, mezclando la malta molida con agua previamente tratada y de gran pureza. Se filtran y se separan. Por una parte las heces de malta servirán para alimento de animales y, por otra, un líquido que contiene gran cantidad de maltosa, algo de dextrinas y glucosa, aminoácidos, peptonas y proteínas, siendo este, el mosto.

1.5.4.- Lupulación .- Se hacen hervir, las flores o el extracto de lúpulo, junto con el líquido o mosto antes descrito, produciéndose modificaciones que mucho tienen que ver con el aroma y cualidades de la cerveza. Todo esto le otorga junto con la ebullición dos propiedades más, la de precipitar proteínas remanentes, que luego afectarían la limpidez que se esperan encontrar en una buena cerveza, y la esterilización del líquido, lo que impedirá que microorganismos extraños desnaturalicen sus propiedades organolépticas. El mosto es ahora estéril.

1.5.5.- Fermentación .- Se filtra el lúpulo si se usaron las flores enteras y se siembran las Levaduras, el *Saccharomyces cereviciae*, enfriando a su vez el medio a temperaturas por debajo del 0°C..

Luego de 7-8 días, ya con una densidad mucho más atenuada por transformación de los componentes del mosto, se pasa a una fermentación que se realiza a mayor temperaturas, 14-23 °C x 5-7 días. Esta es “cerveza verde” que falta aún terminar .

1.5.6.- Maduración .- La cerveza recién fermentada debe someterse a diversos tratamientos antes de ser envasada finalmente para su distribución. La maduración implica una fermentación secundaria por las levaduras residuales que pasan a la cerveza desde el fermentador primario. La cerveza verde se bombea a tanques de maduración donde permanecerá a cero grados centígrados durante varias semanas o meses . Adquiere un sabor y aroma más suave. Por otra parte, toma un aspecto más límpido. Cuando se considera suficientemente madura se filtra, quedando gran cantidad de levaduras que se puede utilizar con distintos fines, sea dentro de la industria cervecera o para alimentación de animales. Se hace entonces una pasteurización y carbonatación, agregando el anhídrido carbónico que sea necesario. Los tiempos y la temperatura utilizados varían de una cervecería a otra, aunque usualmente se utilizan a

temperaturas bajas de 2 a 6 °C, también con periodo de almacenamiento variable hasta varios meses. Después del acondicionamiento, la cerveza contiene células microbianas, precipitados proteicos y sustancias coloidales, que hay que separar mediante procesos, como por ejemplo filtración, centrifugación, etc. La estabilidad microbiológica se consigue por filtración estéril y/o pasteurización Frazier (1985); Hough (1990); Salinas (1988); Ward (1991).

1.6.- Defectos y Alteraciones de la Cerveza . El agradable sabor de la cerveza de buena calidad obedece a la cantidad presente de CO₂, de taninos, sustancias amargas del lúpulo, ésteres, aminoácidos y otros componentes normales de la cerveza ya mencionados. El cuerpo de la cerveza depende de su tasa de mosto originario. Para enjuiciar el sabor de la cerveza se utiliza como criterio esencial la formación de espuma, tomando en consideración su volumen (dependiente a su vez de la tasa de ácido carbónico), densidad de la espuma y, sobre todo, la persistencia (originada por productos del desdoblamiento proteico, sustancias amargas del lúpulo y pentosanas). Ejercen acción perjudicial sobre la espuma los ácidos grasos de bajo peso molecular participantes en el buqué de la cerveza.

Los defectos de la cerveza se refieren al olor y al sabor. Al igual que en las enfermedades de la cerveza que se expondrán a continuación, obedecen a una fabricación y almacenamiento inadecuado. Como defecto de sabor puede citarse, por ejemplo, un perceptible sabor amargo provocado por la oxidación de polifenoles y de las sustancias contenidas en el lúpulo. Como ya se ha señalado, el sabor soso obedece a tasas demasiado escasas de ácido carbónico .

La cerveza puede enturbiarse durante el almacenado, formando en ocasiones sedimento en el fondo de los recipientes. El 40-75% de las sustancias responsables de la turbidez son proteínas y polipéptidos , que se hacen insolubles. Otros componentes del

enturbiamientos son hidratos de carbono (entre el 2 y el 15%) ante todo alfa y beta-glucanos. Sobre medidas a adoptar para evitar enturbiamientos, defectos de la cerveza que por lo general provocan su descomposición son las contaminaciones por Sarcinas (*Pediococcus cereviciae*), bacterias acidolácticas, acidoacéticas, así como por cocos formadores de mucus (*Pediococcus bicosus*).

En los casos muy leves, los citados microorganismos dan a la cerveza un sabor ácido semejante al del diacetilo de la mantequilla.

1.7.- Microbiología de la Fermentación :

1.7.1.- La Levadura.- Generalidades.-

La Levadura es un elemento básico en la obtención de la cerveza, y es reproducida en el país durante la elaboración de la cerveza. A partir de cultivos puros importados de otros países como Alemania, Dinamarca, EE.UU, etc. Sánchez (1960)..

Entre las 500 especies de levaduras conocidas, la *Saccharomyces cereviciae* y su variedad *ellipsoideus* es la más antigua al servicio del hombre y la que se cultiva más intensamente; la levadura se ha utilizado tradicionalmente desde hace varios cientos de años atrás, en las fermentaciones de productos vegetales. En efecto, se emplean numerosas cepas de levadura de cerveza en la fabricación del vino, de la cerveza, del saké, de otras bebidas alcohólicas y en la panadería. Otras levaduras como la *Kluyveromyces fragilis* fermentan la lactosa y sirven para producir alcohol a partir del suero de la leche Sasson (1984); Stanier (1965). Las células del género *Saccharomyces* pueden ser redondas, ovaladas ó alargadas y pueden formar pseudomicelio . Se reproducen por gemación multipolar, ó por formación de ascosporas que puede seguir a la conjugación. Pero pueden también desarrollarse a partir de células diploides cuando estas representan la fase vegetativa Frazier (1985).

Es comúnmente aceptada, la heterogeneidad morfológica de las células de levaduras, puesto que se las observa en forma ovoide, esférica, elipsoidea, apiculada, etc. Y presentan dimensiones que varían de acuerdo a la especie, y a los constituyentes nutritivos del mosto, a la edad de la célula y otros. Por lo general, las levaduras utilizadas en las industrias de las fermentaciones, presentan como término medio dimensiones que oscilan entre 3.0 a 6.0 μm . De ancho y largo respectivamente. En cambio las levaduras que no tienen importancia en las fermentaciones industriales y que por lo general contaminan los mostos, son más pequeñas y tiene dimensiones que oscilan entre 1.0 a 2.0 μm de ancho y largo respectivamente Jagnow (1991); Frazier (1985).

1.7.2.- Ubicación Taxonómica .-

División	:	Hongos
Tipo (filum)	:	Eumicetos
Clase	:	Ascomicetos
Orden	:	Sacaromicetale
Familia	:	Sacaromicetaceas
Subfamilia	:	Sacaromicetoidea
Género	:	Saccharomyces
Especies	:	Cerevisiae y Carlbergensis

1.7.3.- Características Fisiológicas y Nutricionales que influyen en el crecimiento de las Levaduras .-

a.- Características Fisiológicas.- Una de las características fisiológicas de los *Saccharomyces* que ayuda a su identificación es la de que no utilizan el nitrato como fuente de nitrógeno frente a lo que hacen algunos otros géneros, como *Hansénula*. La *Saccharomyces cerevisiae* es utilizada en las fermentaciones

industriales, sobre todo en la producción de alcohol y en panadería; esta levadura no degrada la Lactosa. Durante la fermentación para la elaboración de cerveza la *Saccharomyces cerevisiae* utilizan los azúcares sacarosa, fructosa, maltosa y maltotriosa en este orden Ward (1991); Hough (1990).

b.- Características Nutricionales.- Las levaduras requieren básicamente materiales que contienen elementos necesarios para su crecimiento y su reproducción, como : Carbono, Nitrógeno, Oxígeno, elementos inorgánicos como Fósforo, Azufre, Hidrógeno, Magnesio, etc. Requieren también vitaminas y otros compuestos orgánicos, a fin de obtener un desarrollo satisfactorio y mantener en funcionamiento normal sus actividades vitales, característica usual de las levaduras cerveceras e industriales, lo cual implica conocer la composición del mosto que es utilizado como substrato en la fermentación Flores (1980).

1.7.4.- Fermentación Alcohólica .- Generalidades .- La Fermentación alcohólica es un proceso que realizan algunos microorganismos (generalmente algunas levaduras) en convertir ó metabolizar los azúcares fermentables en alcohol , CO₂ y energía gracias a la acción de complejos enzimáticos.

Literalmente 1.0 gr de azúcar fermentado, producirá aproximadamente ½ gr de alcohol y ½ gr de CO₂, siendo el mecanismo de conversión la siguiente ecuación:



1.7.5.- Aspecto Bioquímico del Proceso .- En la fermentación alcohólica realizado por las Levaduras, la Vía principal se denomina Vía Glicolítica, que comprende una serie de reacciones que en forma secuencial sufre la glucosa hasta convertirse en Piruvato. La energía liberada durante el proceso, que se realiza bajo condiciones anaeróbicas, se conserva parcialmente en los enlaces de la moléculas de ATP. La primera reacción consiste en la transformación de la glucosa en glucosa-6-P,

- concentración de azúcares iniciales, a concentraciones altas los azúcares actúan adversamente sobre las levaduras provocando lentitud en la velocidad de fermentación y como consecuencia un bajo nivel en la producción de alcohol ;
- pH, generalmente el pH adecuado para la fermentación alcohólica es ligeramente ácida que oscila entre 3.5 a 4.5;
- proporción Mosto : Agua, es indispensable encontrar la proporción adecuada para que la levadura realice normalmente la fermentación alcohólica, ya que depende de esta proporción, la presencia de azúcares fermentables necesarios para la cantidad de alcohol deseada ;
- otros factores como CO₂, O₂, T°, esterilidad del mosto, otros factores de crecimiento etc. Influyen favorable ó desfavorablemente en el proceso de la fermentación alcohólica.

1.7.7.-Parámetros de la Fermentación.-

- a.- **Concentración inicial de Azúcares Reductores**, que suele ser adecuado de 10 a 18% ;
- b.- **pH del Mosto**, que el mosto debe tener un pH óptimo para que la levadura pueda desarrollarse adecuadamente, lo cual oscila entre 4.2 a 5.2 ;
- c.- **otros**, como temperatura, proporción mosto / agua, etc.

1.8.- Normas Técnicas de la Elaboración de Cerveza .-

Requisitos :

I.- Las cervezas deberán satisfacer los siguientes requisitos :

- a.- no contener más del 6 % de alcohol en volumen ;
- b.- no presentar más de 0.06 % de acidez volátil expresada como ácido acético ;

- c.- presentar una acidez total no mayor de 0.3 % expresada como ácido láctico ;
- d.- contener un mínimo de 0.3 % de anhídrido carbónico por peso ;
- e.- contener un mínimo de 0.03 % de ácido fosfórico por peso ;
- f.- contener un mínimo de 0.15 % de proteínas por peso ($N \times 6.25$) ;
- g.- el extracto aparente mínimo será 1.8° Plato.

II.- Las cervezas deberán ser completamente limpias al momento de su expendio, no debiendo contener cuerpos extraños.

III.- La cerveza alterada ó afectada por enfermedades ó por defectos de sus materias primas, deberá ser inutilizada en el acto ITINTEC (1975).

MATERIAL Y METODOS :

El presente trabajo de investigación se realizó en la Sección de Microbiología Industrial, Alimentos y Aguas, Laboratorio de Microbiología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

1.- Materiales .-

1.1.-Materia Prima .- Para el presente trabajo de investigación se utilizó cebada cervecera procedente de la Provincia de Andahuaylas, Departamento de Apurímac, y que previa selección, la respectiva limpieza y desinfección de los granos se procedió a la preparación de la malta para el proceso de elaboración de la cerveza.

2.- Metodología.-

2.1.-Materia Prima.-

2.1.1.- La cebada cervecera se sometió a un Análisis Organoléptico para una mejor selección de los granos.

2.1.2.- Obtención de la Malta.- Con los granos de cebada cervecera previamente seleccionados, limpios y desinfectados, se procedió a la respectiva maceración en agua para la germinación de los granos, que al cabo de 5 días, se interrumpió el proceso y se procedió a la desecación de los granos y que luego de la molienda se obtuvo la malta, a la cual se le determinó el Poder Diastásico (expresados enPD/c.).

2.2.- Microorganismo .-

2.2.1 Reactivación de *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126 .-

La cepa de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126, se repicaron en tubos de ensayo que contenían agar saboraud y se incubó a 28 °C x 48 horas.

2.2.2.- Preparación del Inóculo.- A partir del tubo que contenía la cepa pura de *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126, se tomó una asada y se inoculó a un tubo de ensayo conteniendo 10 ml de caldo YM, se incubó a 30 °C por espacio de 24-48 horas. Luego de incubado se trasvasó el contenido del tubo, a un recipiente conteniendo el 5 % cuantitativamente del mosto total a fermentarse.

2.3.- Proporción Malta - Agua .- La proporción Malta : Agua inicial fue de 1 : 3, constituyendo así el 25 % de concentración del sustrato, por lo tanto se pesó 250 gr. de malta para obtener 1 Lt de mosto, para las diferentes concentraciones y pH respectivos.

2.4.- Concentración de Lúpulo o Ajenjo y ajuste de pH.- Se trabajó con 2 concentraciones de lúpulo de 2.0 y 1.0 gr/lit. para mostos con pH de 4 , 5 y 6 a justados para cada concentración, contenidos en un fermentador de vidrio, resultando 6 fermentadores. Igualmente se trabajó con 2 concentraciones para el caso de hojas de ajenjo previamente tratada: de 0.5 y 0.25 gr. para mostos con pH ajustados de 4 , 5 y 6, resultando también 6 fermentadores, haciendo un total de 12 reactores o fermentadores.

2.5.- Proceso de obtención del Mosto.- El proceso de obtención del mosto que se siguió, ha sido igual para cada uno de los 12 fermentadores. Por lo tanto, en un beaker de 2 litros se vertió 750 ml de agua destilada y se añadió 250 gr. de malta, luego se procedió a macerar a temperatura de 70 °C x 2 horas, luego se filtró, lavando 3 a 4

veces la materia a filtrarse con agua destilada caliente, resultando 1 Lt. de líquido filtrado siendo éste, el mosto, e inmediatamente se sometió a ebullición cada litro de mosto con las diferentes concentraciones, 2.0 gr., 1.0 gr. de lúpulo y 0.50 gr. ; 0.25 gr de ajeno respectivamente, por espacio de 2 horas.

Luego se tomó 5 ml de mosto lupulado o "ajenado" de cada uno de los fermentadores a la cual se efectuaron los siguientes análisis físico-químicos:

- ajuste de pH = 4.0, 5.0 y 6.0 , por el Método del pH-metro ;
- determinación de temperaturas de fermentación, (T° = Refrigeración y ambiente);
- determinación de Dosaje de Etanol, por el Método de la Oxidación Química, expresado en gr/100 ml Amerine (1976);
- determinación de Azúcares Reductores, por el Método de Somogyi-Nelson, expresados [glucosa], mg/ml Clark (1978);
- determinación de Azúcares Totales por Refractometría, expresados en °Brix;
- determinación de Acidez Titulable, expresados en porcentaje de Acido Láctico Lees (1994);
- determinación de la densidad, con densímetro a 20°C Hart (1984);.
- determinación de Cenizas por el Método de Ignición o Calcinación a 600°C por 3-6 h., expresados en gr / 100 ml Frazier (1985);
- determinación del Nitrógeno Amínico, expresado en gr ANL / 100 ml. A.O.A.C. (1980).

2.6.- Proceso de Fermentación Alcohólica - Preparado el mosto, determinado los pH y temperatura respectiva, inmediatamente se procedió a inocular la levadura *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126, previamente reactivada, para la fermentación alcohólica a cada fermentador, é inmediatamente fueron sometidos a temperatura de refrigeración, siendo esta la primera etapa de fermentación, que implicó un promedio de

9 días, y la segunda etapa de fermentación a temperatura de 18 °C (temperatura ambiente), que comprendió un promedio de 9 días. En el transcurso de ambas etapas de fermentación se iban tomando pequeñas cantidades de muestras de los fermentadores con intervalos de 48 y 72 horas, a partir de los cuales se realizaron los siguientes análisis fisico-químicos :

- dosaje de Etanol por el método de oxidación química expresados en gr/100 ml Amerine (1976);

- determinación de Azúcares Reductores expresados [glucosa], mg/ml Clark (1978);

- determinación de Azúcares Totales por refractometría, expresado en °Brix.

Finalizado la etapa de fermentación se procedió a filtrar el contenido de los fermentadores, tomando muestras para realizar los últimos análisis para luego someter a la siguiente etapa consistente en la maduración de la cerveza que viene a ser el producto final, los análisis fisico-químicos fueron los siguientes :

- determinación del Dosa je de Etanol, expresados en gr/100 ml ;

- determinación de Azúcares Reductores, expresados en mg/ml ;

- determinación de Azucars Totales, expresados en °Brix ;

- determinación de Acidez Titulable, expresado en gramos de ácido láctico por 100 ml ;

- determinación de la Densidad a 20 °C, expresados en gr/ml ;

- determinación de Cenizas, a 600°C por 3-6 h expresados en gr/100 ml.;

- determinación de Nitrógeno Amínico, expresados en gr ANL /100 ml;

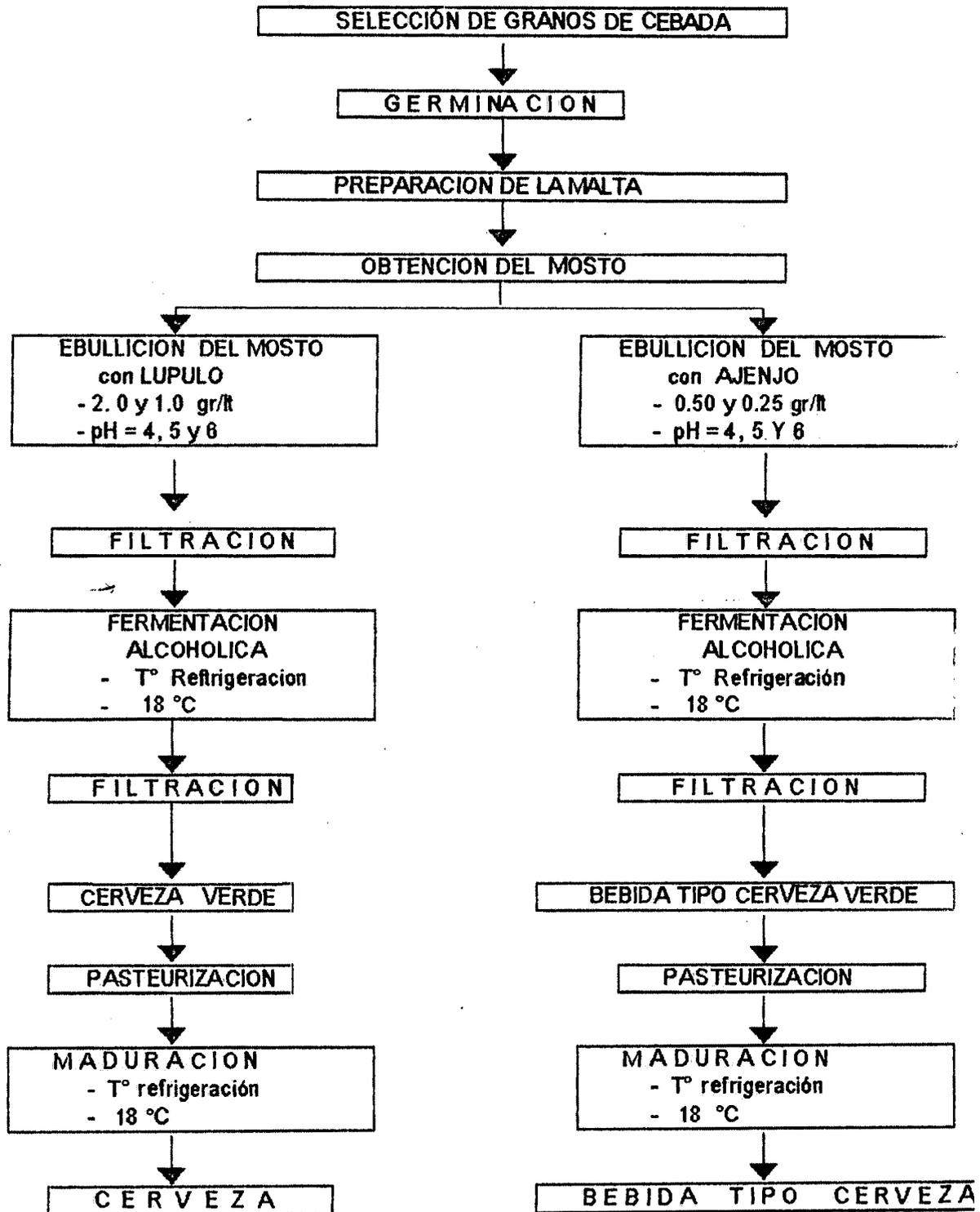
- determinación de Proteínas, con factor de conversión= 6.25, en%;

- determinación del Extracto Seco, expresado en gr / litro;

- determinación del pH final.

2.7.- Proceso de Maduración.- Terminado la etapa de fermentación, filtrado el mosto, se colocó la cerveza joven o "verde" y bebida tipo cerveza "verde", en recipientes oscuros con tapa hermética y se sometió a pasteurización, para iniciar luego el proceso de maduración a temperatura de refrigeración, por espacio de 20 días e inmediatamente a temperatura ambiente (promedio 18 °C), por espacio de varias semanas, transvasando de un recipiente a otro cada 15 días con la finalidad de obtener una mejor clarificación por el método de decantación, tomando muestras para realizar los siguientes análisis finales y examen de aceptabilidad del producto terminado o producto final :

- **Análisis Microbiológico :**
 - . numeración de microorganismos aerobios mesófilos viables;
 - . numeración de bacterias coliformes fecales;
 - . numeración de levaduras; y
 - . numeración de mohos.
- Finalmente se realizó la prueba de aceptabilidad, que fue aplicada a un grupo de personas con cierta experiencia y preferencia por el consumo de cerveza.

FIGURA No 1**FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE OBTENCION DE CERVEZA Y BEBIDA TIPO CERVEZA**

RESULTADOS Y DISCUSION

Luego de terminar con las evaluaciones finales, se presentan a continuación los principales resultados ordenados en tablas y Figuras.

Sin embargo es necesario precisar que los granos de cebada cervecera utilizadas, fueron seleccionadas en base a un riguroso análisis organoléptico, para garantizar la buena calidad del producto final. La determinación del Poder Diastásico en la malta obtenida, sirvió para tener una idea grosera de la actividad enzimática, siendo sus valores normales entre 120 y 180 PD t/c. (comunicación verbal del Ing. Reynoso).

Por otro lado, los diferentes autores consultados en la revisión de literatura, respecto a la proporción malta/agua, señalan varias alternativas, sin embargo, se optó por trabajar con una cifra promedio, es decir, 1 : 3 ó 250 gr de malta en 750 ml de agua destilada, de la misma manera se llegó a establecer los valores para las concentraciones de lúpulo y ajeno, resultando así 2 concentraciones representativas de 2.0 y 1.0 gr/lt para el caso de lúpulo y 0.50 y 0.25 gr/lt para el caso del ajeno. En este último caso, no se utilizaron las mismas concentraciones como para el caso del lúpulo ya que mediante ensayos previos, se estableció mediante análisis organoléptico, que el ajeno a esas concentraciones, da al mosto un amargor similar a la del lúpulo.

En cuanto a pH se seleccionaron valores de 4, 5 y 6, porque son los más frecuentemente reportados por la bibliografía. Las temperaturas empleadas de

refrigeración (4-5°C) y ambiente (18°C), se utilizaron en el mismo proceso, tanto para la fermentación alcohólica como para la maduración del producto.

En la TABLA I, se presentan los valores del porcentaje de etanol durante la fermentación alcohólica con lúpulo o ajeno a diferentes valores de pH. De ella se desprende que la fermentación alcohólica con *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126 fueron más eficientes en los fermentadores de pH 5.0, tanto para los tratamientos con lúpulo y ajeno; es decir, se observa que prácticamente la concentración de lúpulo o ajeno no interfiere en la actividad de las levaduras. En consecuencia, se obtuvo un producto con 4.99 y 4.95 % de etanol, utilizándose lúpulo, con concentraciones de 2.0 y 1.0 gr/lit respectivamente, y por otro lado 4.91 % de etanol en los tratamientos con ajeno tanto para las concentraciones 0.50 y 0.25 gr/lit. Esto coincide con la Norma Técnica Peruana (INDECOPI 1973), que señala para la cerveza un máximo de 6 % de etanol; por otro lado Hart (1984), señala que en las cervezas tipo "lager", se alcanza un promedio de 4.47 % de etanol y en los de tipo "ale" 5.32 % de etanol; en cambio para Belitz (1988), las cervezas pueden tener un mínimo de 3.5 % de etanol y un máximo de 5.5 % de etanol; así mismo Uribe (1980), señala valores entre 3.40 y 4.32 % de etanol para diferentes marcas de cerveza embotellada, incluyendo las de tipo "ale". Las figuras Nos 2, 3, 4 y 5, permiten visualizar claramente, el comportamiento de la producción de etanol utilizando tanto lúpulo como ajeno a diferente pH.

TABLA I

PORCENTAJE DE ETANOL DURANTE LA FERMENTACION ALCOHOLICA CON *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126, CON LUPULO O AJENJO A DIFERENTES VALORES DE pH. AYACUCHO 1995.

Material	conc. gr/Lt	pH	TIEMPO DE FERMENTACION (días)								
			0	1	4	6	8	11	13	15	18
Lúpulo	2,0	A1=4.0	0	0,09	1,12	2,24	2,56	2,84	2,92	2,92	2,92
		B1=5.0	0	0,09	1,54	2,73	3,71	4,69	4,78	4,95	4,99
		C1=6.0	0	0,09	0,85	1,62	1,88	2,01	2,01	2,09	2,09
	1,0	A2=4.0	0	0,08	1,08	2,32	2,58	2,88	2,96	2,98	2,98
		B2=5.0	0	0,09	1,37	2,47	3,63	4,85	4,86	4,95	4,95
		C2=6.0	0	0,09	0,77	1,58	1,71	1,96	2,01	2,05	2,09
Ajeno	0,5	A3=4.0	0	0,08	1,16	2,26	2,6	2,85	2,88	2,88	2,88
		B3=5.0	0	0	1,41	2,65	3,58	4,78	4,86	4,91	4,91
		C3=6.0	0	0,04	0,94	1,58	1,75	1,98	2,13	2,18	2,18
	0,25	A4=4.0	0	0,09	1,08	2,04	2,56	2,78	2,84	2,86	2,86
		B4=5.0	0	0,09	1,45	2,47	3,5	4,69	4,78	4,86	4,91
		C4=6.0	0	0,09	0,85	1,54	1,75	1,88	2,05	2,13	2,18

FIGURA No 2.- Porcentaje de Etanol durante la Fermentación Alcohólica con *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126, con 2.0 gr/Lt de Lúpulo a diferentes valores de pH. Ayacucho 1995.

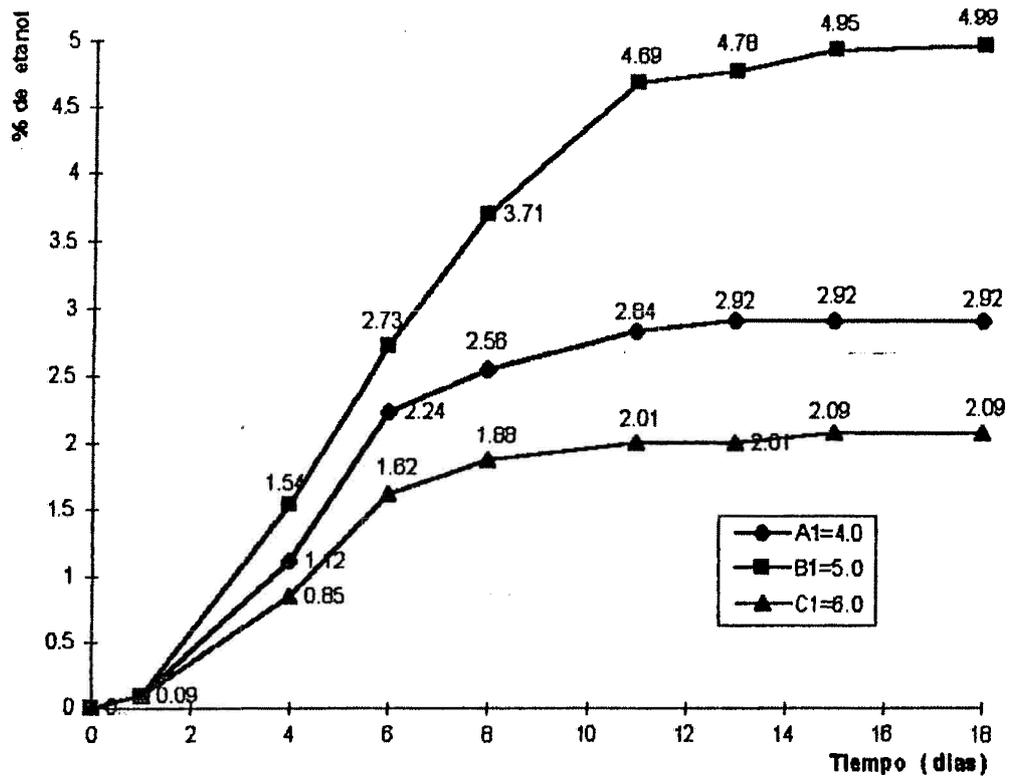


FIGURA No 3.- Porcentaje de Etanol durante la Fermentación Alcohólica con *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126, con 1.0 gr/Lt de Lúpulo, a diferentes valores de pH. Ayacucho 1995.

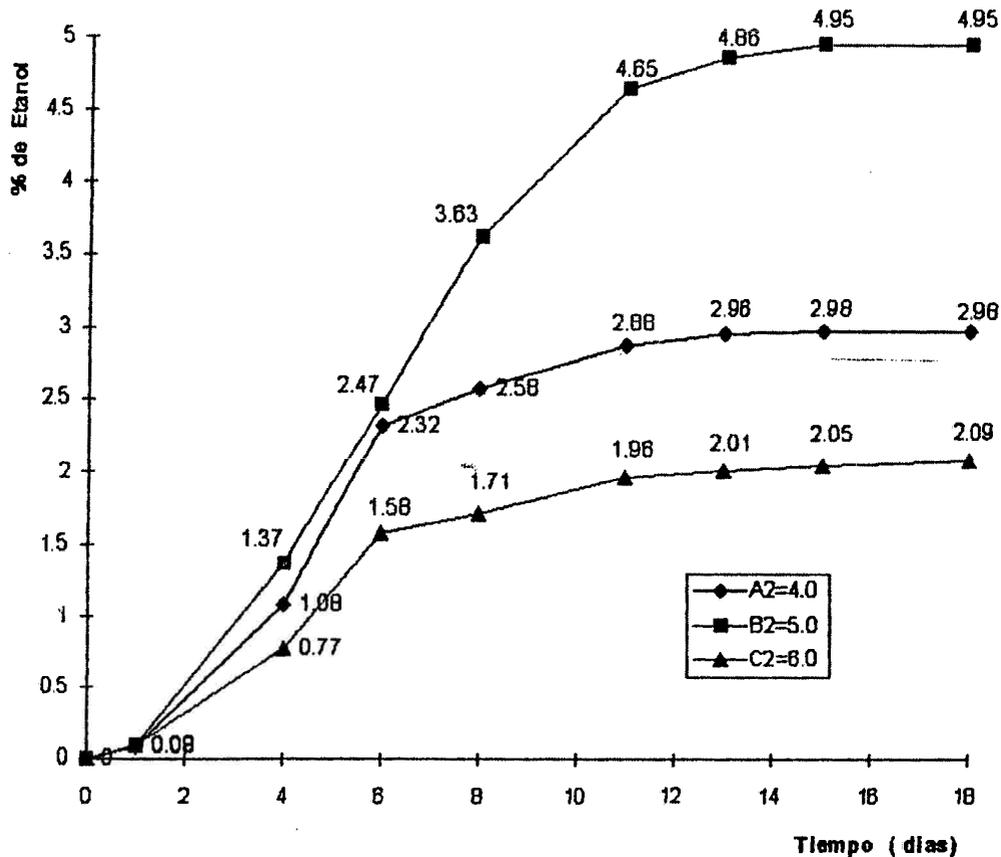


FIGURA No 4.- Porcentaje de Etanol durante la Fermentación Alcohólica con *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4128, con 0.50 gr/Lt de Ajenjo, a diferentes valores de pH. Ayacucho 1995.

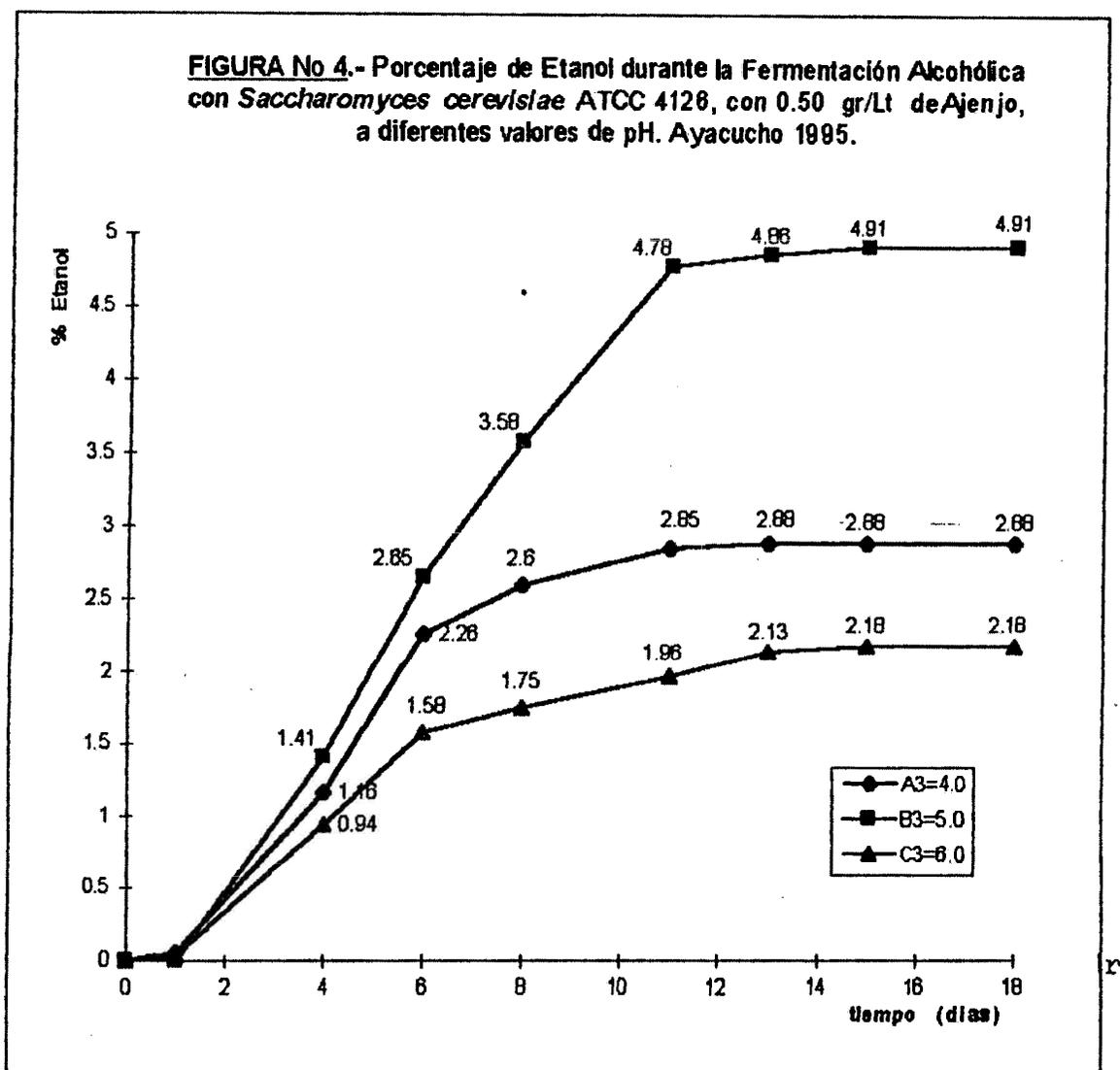
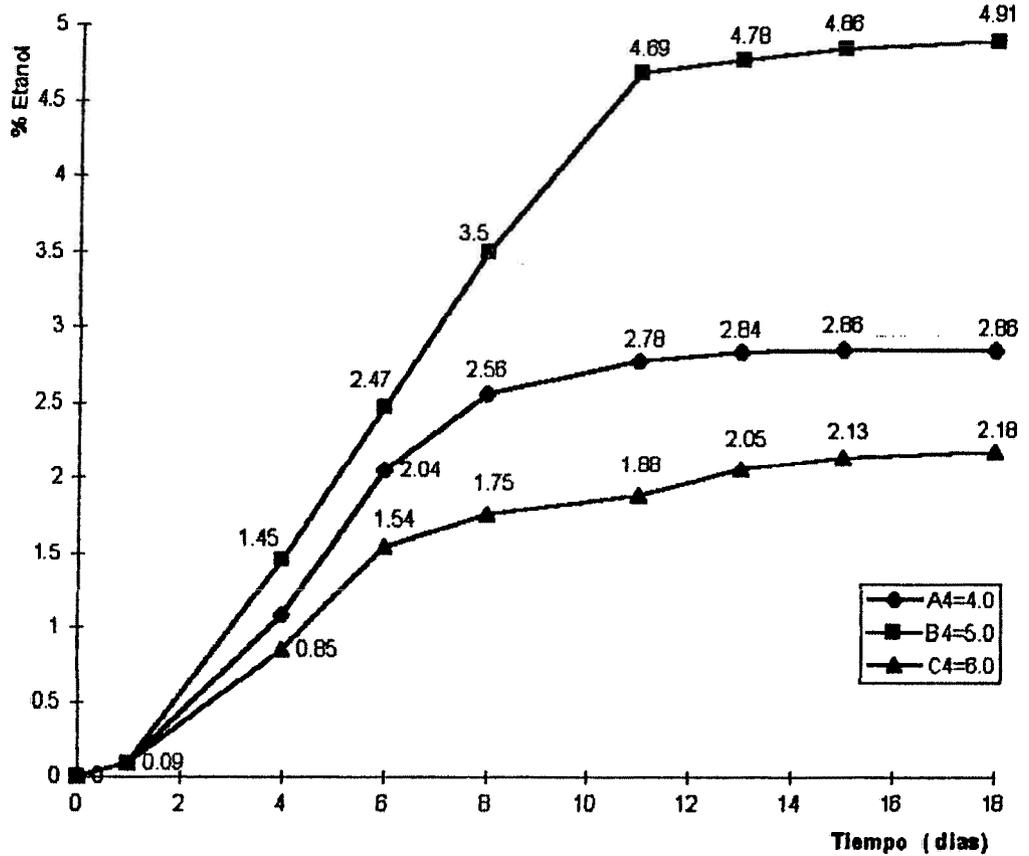


FIGURA No 5.- Porcentaje de Etanol durante la Fermentación Acohólica con *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126, con 0.25 gr/Lt de Ajenjo a diferentes valores de pH. Ayacucho1995.



En la TABLA II, se presentan los resultados del consumo de Azúcares Reductores ([glucosa], mg/ml.) durante el proceso de fermentación. Se observan que en los tratamientos con lúpulo el consumo de Azúcares Reductores llegó a 0.086 mg % para un pH igual a 5.0, y una concentración de 2.0 gr /lt y un valor similar al mismo pH pero a concentración de 1.0 gr/lt. En cambio en los tratamientos con ajeno el consumo de Azúcares Reductores fué ligeramente mayor dando un valor 0.089 mg %, a pH 5.0 para ambas concentraciones de 0.5 y 0.25 gr/lt. Estos valores resultan ser inferiores a los reportados por Hart (1984), quién señala 1.48 % en cervezas tipo "lager" y 1.58 % en las de tipo "ale". Así mismo, Uribe (1980) indica una cifra de 0.65 a 1.86 % para Azúcares Reductores. De todos modos el pH es el factor que influye principalmente en la fermentación, y no se observan mayores diferencias cuando se emplea lúpulo o ajeno como agentes de aroma y amargor característico. Esto abre la posibilidad de que se pueda utilizar ajeno en remplazo de lúpulo, siempre y cuando se logre una fórmula adecuada a la preferencia de los consumidores que sería motivo de un trabajo adicional. En las Figuras Nos 6, 7, 8, y 9, se muestran las curvas del consumo de Azúcares Reductores a diferentes pH y diferentes concentraciones de lúpulo y ajeno.

TABLA II

CONSUMO DE AZUCARES REDUCTORES ([glucosa], mg/ml) DURANTE LA FERMENTACION ALCOHOLICA CON LUPULO O AJENJO A DIFERENTES VALORES DE pH. AYACUCHO 1995.

Material	Conc gr/Lt	pH	TIEMPO DE FERMENTACION (Dias)								
			0	1	4	6	8	11	13	15	18
Lúpulo	2,0	A1=4.0	0,16	0,155	0,147	0,139	0,126	0,119	0,119	0,119	0,119
		B1=5.0	0,161	0,155	0,147	0,138	0,104	0,095	0,092	0,086	0,086
		C1=6.0	0,1592	0,1543	0,1495	0,1408	0,136	0,136	0,1351	0,1351	0,1341
	1,0	A2=4.0	0,1621	0,1562	0,1428	0,1388	0,1245	0,1197	0,1162	0,116	0,116
		B2=5.0	0,16	0,157	0,147	0,134	0,107	0,098	0,091	0,087	0,087
		C2=6.0	0,161	0,156	0,149	0,145	0,142	0,141	0,136	0,135	0,133
Ajeno	0,5	A3=4.0	0,1608	0,1558	0,1547	0,138	0,1252	0,1187	0,1132	0,1098	0,1098
		B3=5.0	0,16	0,147	0,138	0,116	0,111	0,107	0,101	0,089	0,089
		C3=6.0	0,16	0,15	0,139	0,136	0,136	0,135	0,135	0,132	0,132
	0,25	A4=4.0	0,158	0,151	0,145	0,136	0,126	0,117	0,112	0,11	0,11
		B4=5.0	0,157	0,15	0,143	0,137	0,123	0,111	0,101	0,09	0,089
		C4=6.0	0,158	0,1523	0,1389	0,137	0,136	0,136	0,136	0,1351	0,1341

FIGURA No 6.- Consumo de Azúcares Reductores en ([glucosa], mg/ml. durante la fermentación alcohólica con 2.0 gr/l de lúpulo a diferentes valores de pH. Ayacucho 1995.

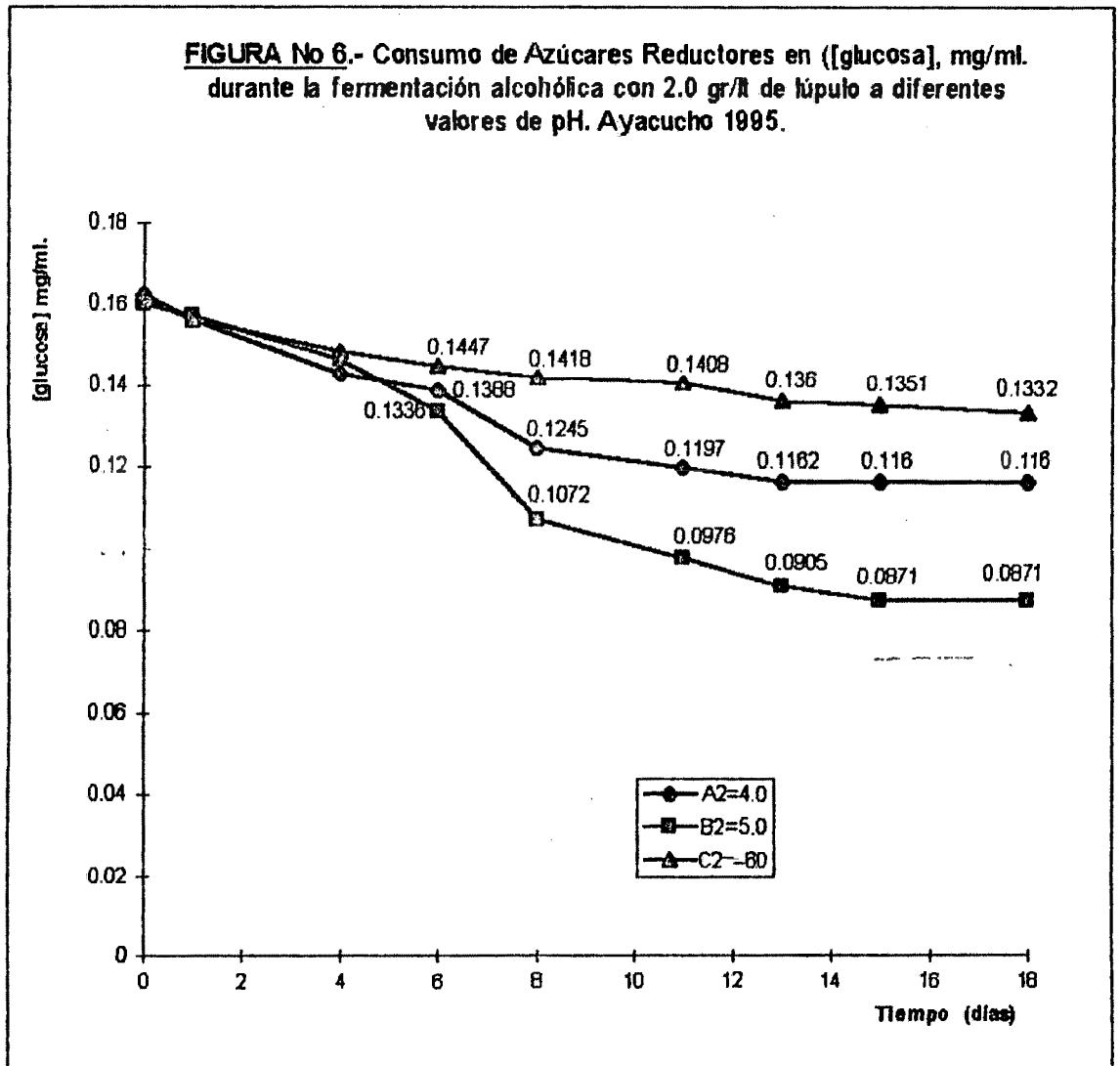


FIGURA No 7.- Consumo de Azúcares Reductores ([glucosa], mg/ml.) durante la Fermentación Alcohólica , con 1.0 gr/l de lúpulo a diferentes valores de pH Ayacucho 1985.

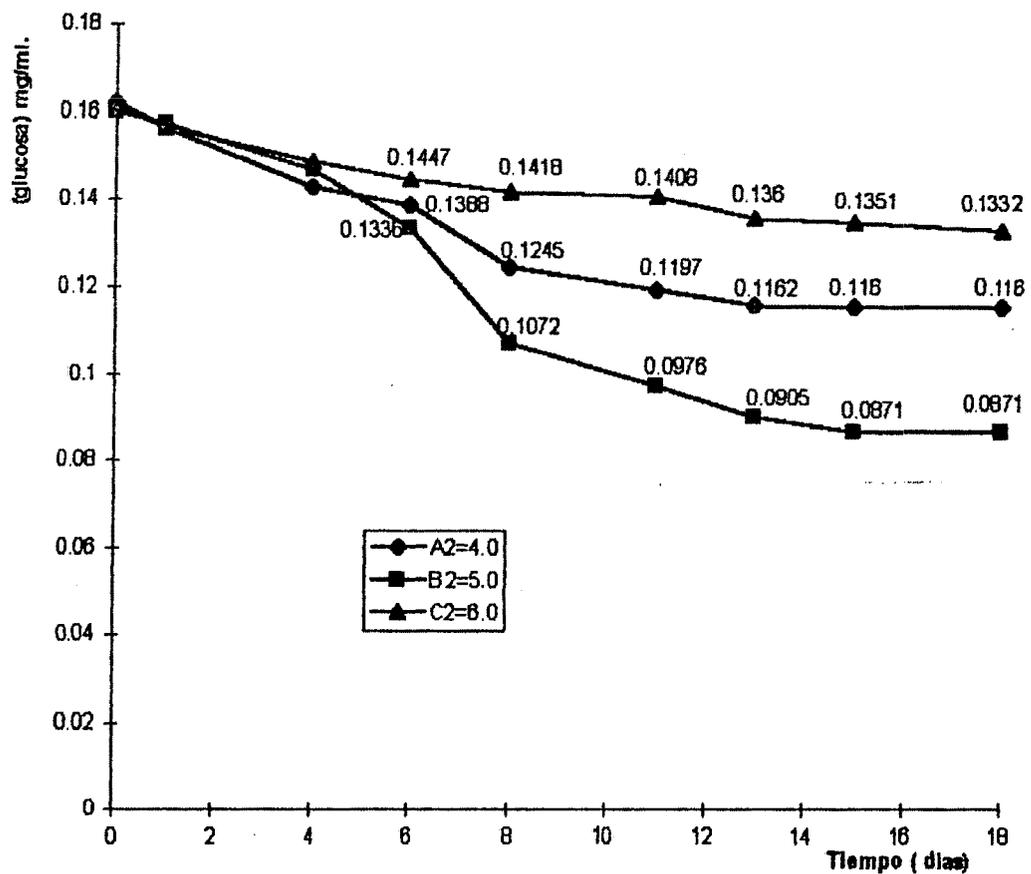


FIGURA No 8.- Consumo de Azúcares Reductores ([glucosa], mg/ml) durante la Fermentación Alcohólica , con 0.50gr/lit de Ajeno, a diferentes valores de pH. Ayacucho 1995.

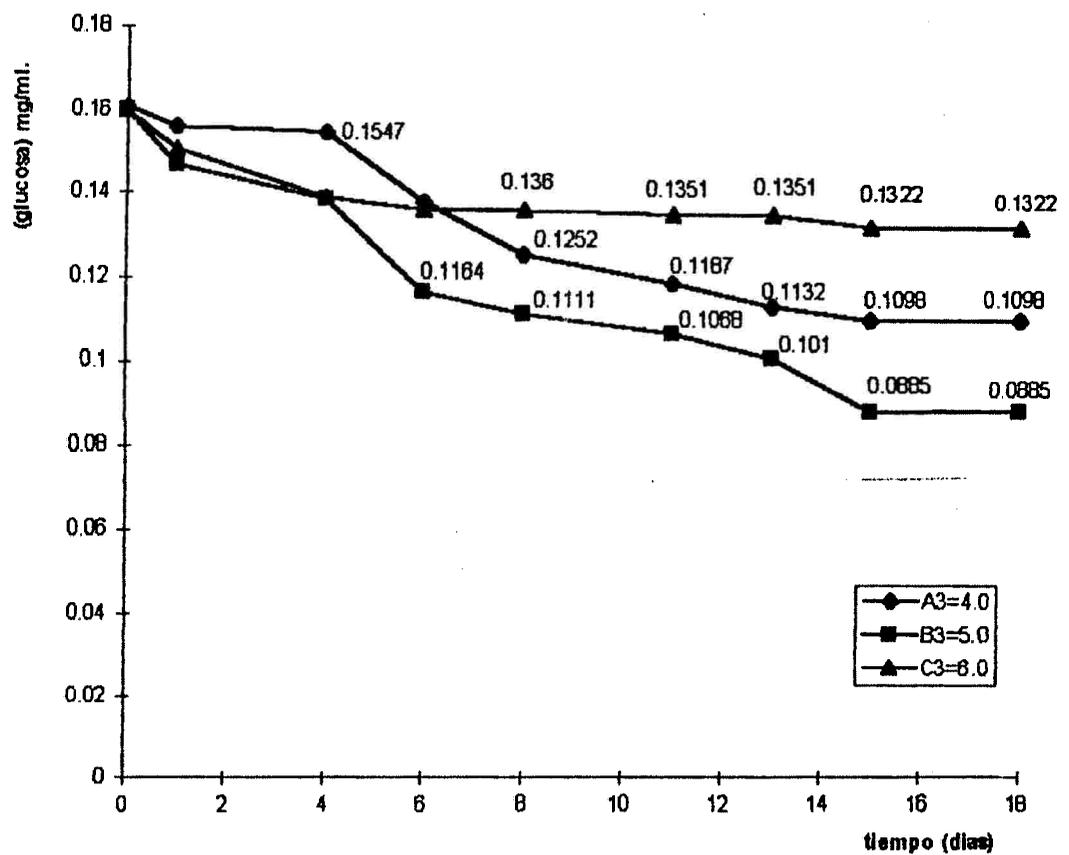
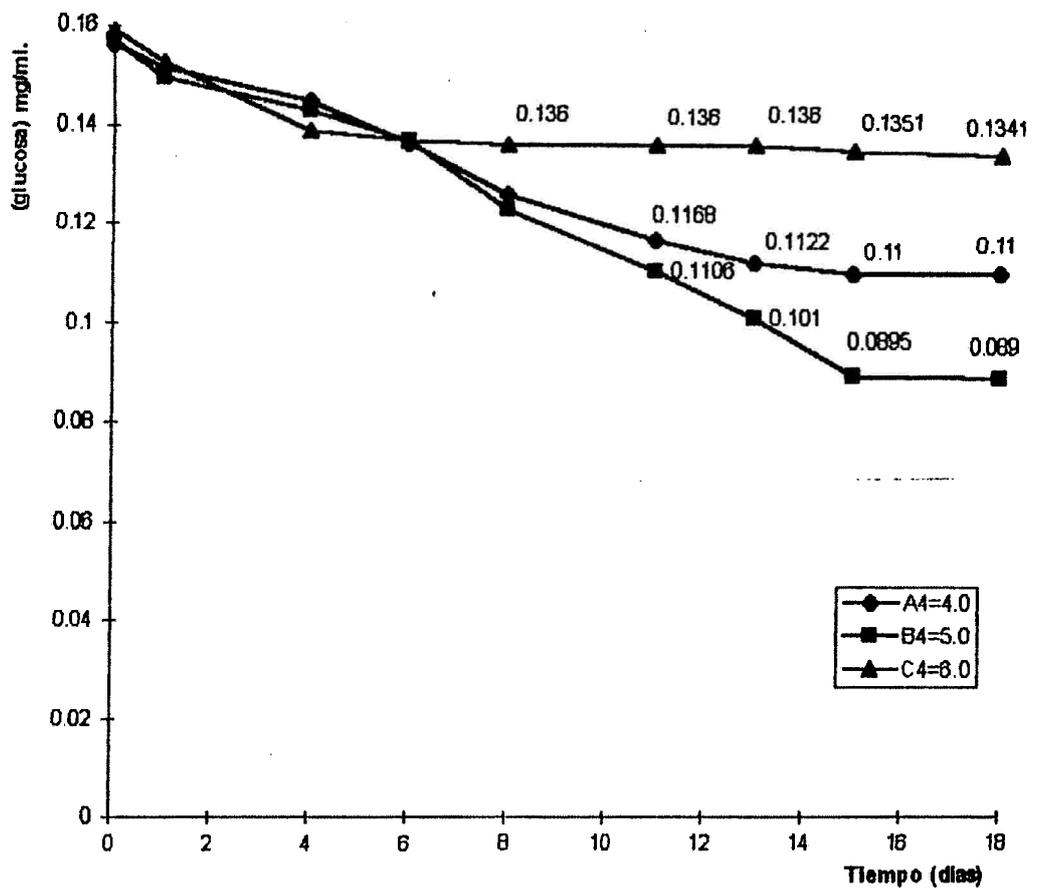


FIGURA No 9.- Consumo de Azúcares Reductores ([glucosa], mg/ml.) durante la Fermentación Alcohólica , con 0.25 gr/l de ajenjo a diferentes valores de pH. Ayacucho 1995.



En la TABLA III, se tienen los resultados de la variación de Azúcares Totales expresados en °Brix. Estas evaluaciones se hicieron adicionalmente por cuanto no forma parte de los requisitos físico-químicas de la cerveza. En este caso se observa prácticamente la misma tendencia que en el caso de Azúcares Reductores, es decir, hubo mayor consumo de Azúcares Totales a pH 5.0, tanto en los tratamientos con lúpulo y ajeno, conforme se puede observar detalladamente en las Figuras Nos. 10, 11, 12 y 13.

TABLA III

VALORES DE AZUCARES TOTALES (°Brix) DURANTE LA FERMENTACION ALCOHOLICA CON *Saccharomyces Cerevisiae* ATCC 4126, CON LUPULO O AJENJO A DIFERENTES VALORES DE pH. AYACUCHO 1995.

Material	Conc gr / lt.	pH	TIEMPO DE FERMENTACION (dias)								
			0	1	4	6	8	11	13	15	18
Lúpulo	2,0	A1=4.0	14	13,8	11,6	9,6	6,6	5,4	5,6	5,6	5,6
		B1=5.0	14	13,8	9,8	8,4	5,8	4,4	3,4	3,4	3,2
		C1=6.0	14	13,8	13,6	11,8	8,8	8	7,6	7,2	7,2
	1,6	A2=4.0	14	13,6	11,8	9,8	6,8	5,6	5,4	5,2	5,2
		B2=5.0	14	13,8	9,6	7,8	6,4	4,2	3,4	3,2	3,2
		C2=6.0	14	13,8	13	11,8	9,8	8,6	7,4	7,2	7
Ajeno	0,5	A3=4.0	14	13,4	11,8	9,2	7	6	5,4	4,8	4,8
		B3=5.0	14	13,8	11,8	9,8	6,8	5,4	4	3,6	3,4
		C3=6.0	14	13,8	12,8	12,4	11,4	8,8	7,8	7,2	7,2
	0,25	A4=4.0	14	13,6	11,4	11,0	7,2	6,2	5,4	5,2	5,2
		B4=5.0	14	13,8	11,8	9,8	6,8	5,4	4	3,6	3,4
		C4=6.0	14	13,8	12,8	12,4	11,4	8,8	7,8	7,4	7,2

FIGURA No 10.- Valores de Azúcares Totales durante la Fermentación Alcohólica con *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4128, con 2 gr/l de lúpulo, a diferentes valores de pH. Ayacucho 1995.

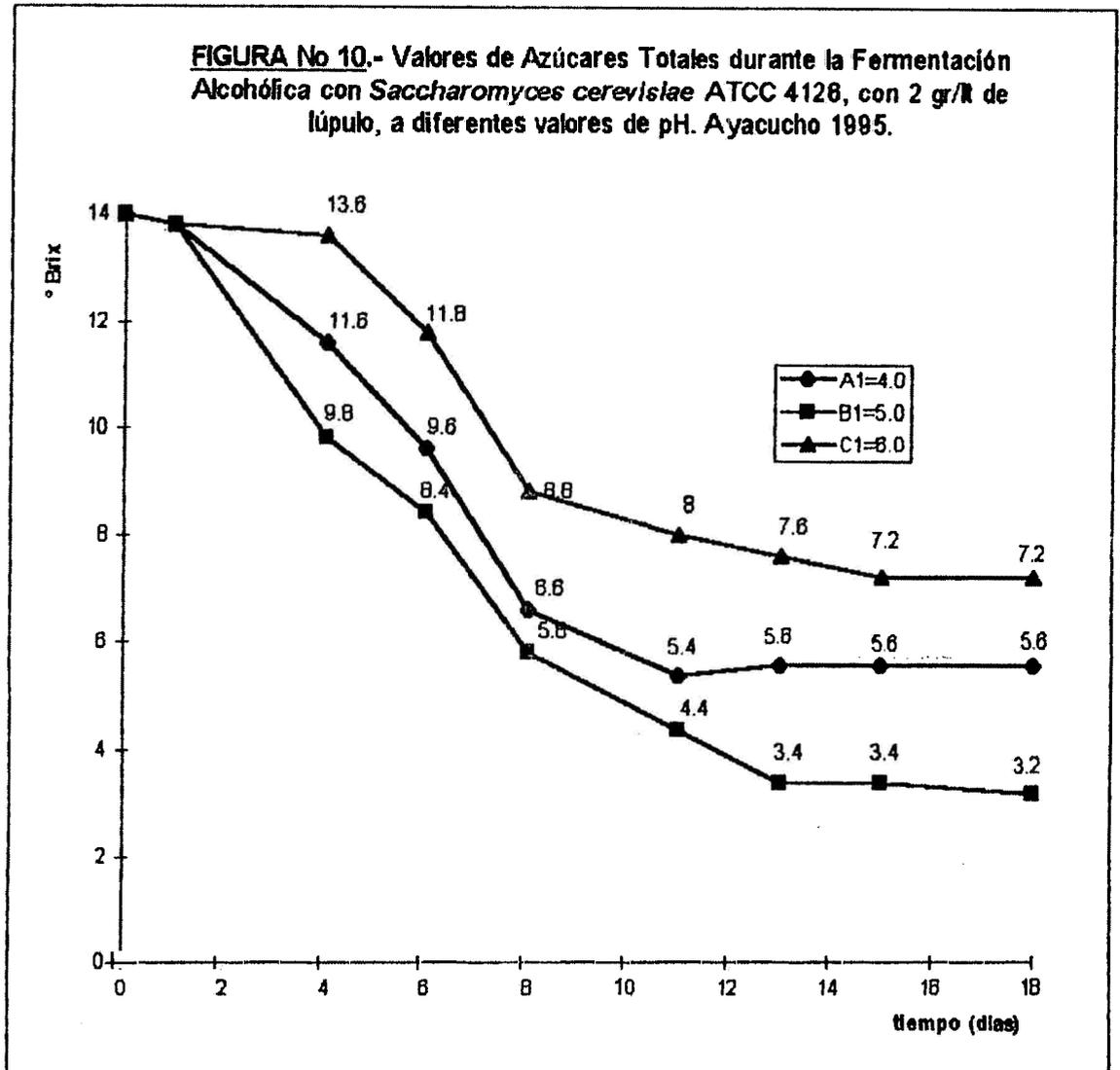


FIGURA No 11.- Valores de Azúcares Totales durante la Fermentación Alcohólica con *Sacharomyces cerevisiae* ATCC 4126, con 1 gr/t de Lúpulo a diferentes pH. Ayacucho 1995.

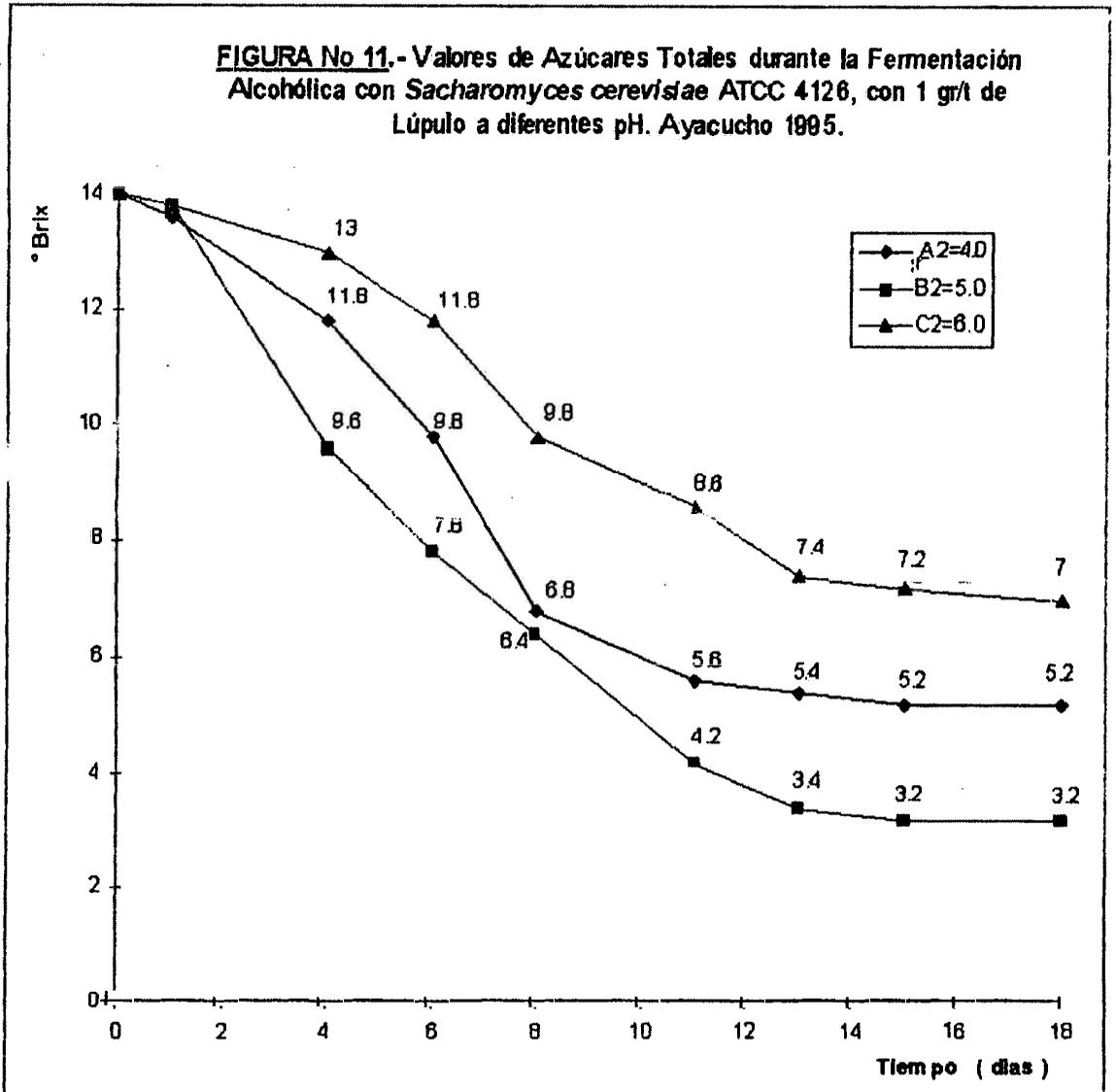


FIGURA No 12.- Valores de azúcares Totales durante la Fermentación Alcohólica con *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126, con 0.5 gr/l de Ajenjo a diferentes pH Ayacucho 1995.

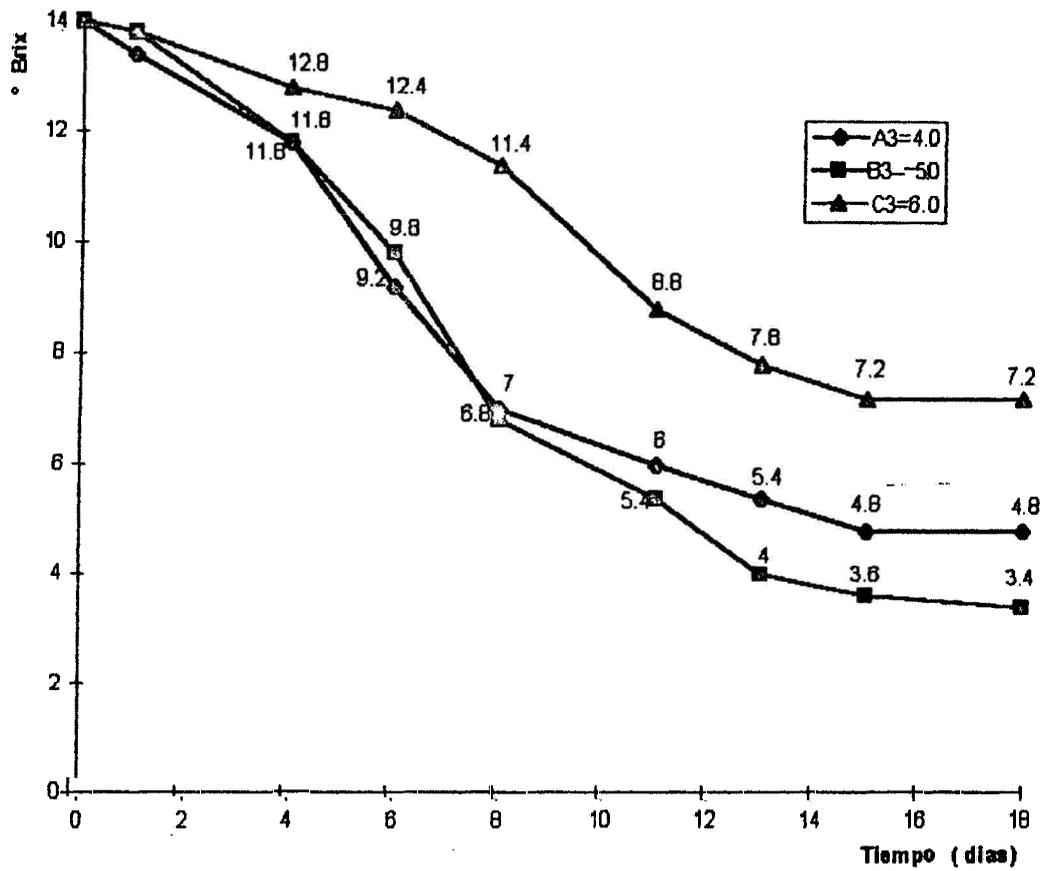
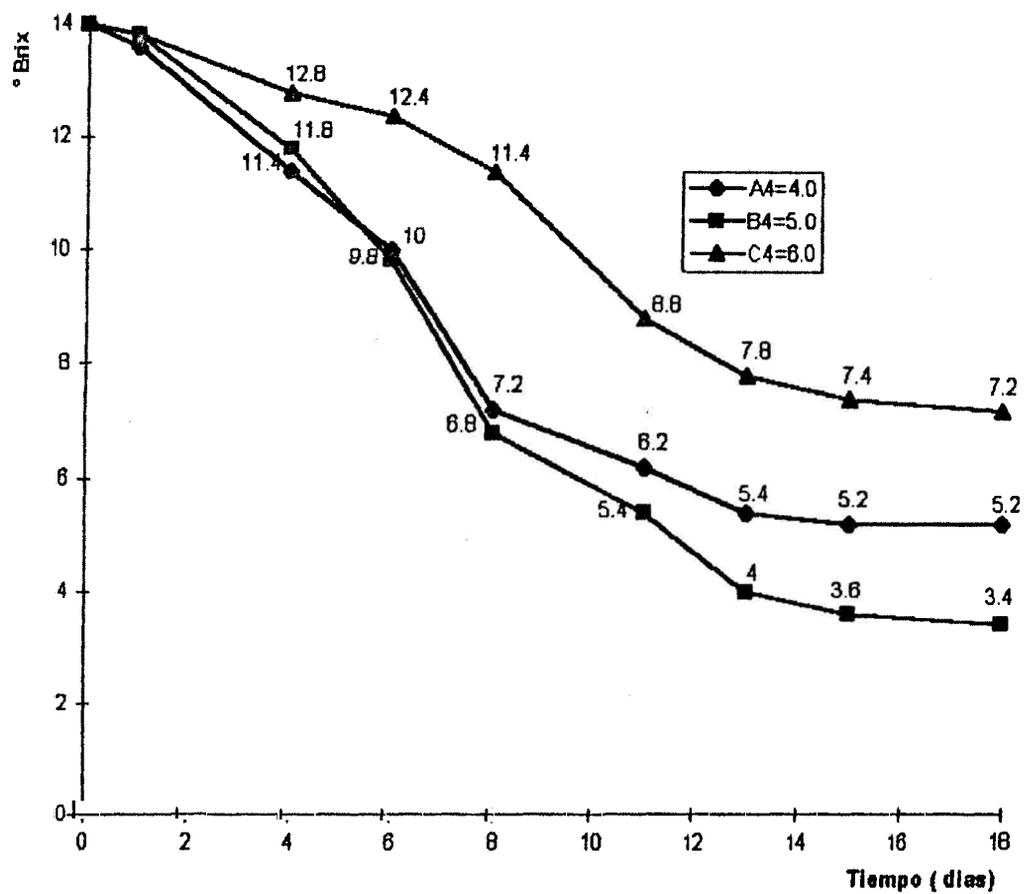


FIGURA No 13.- Valores de Azúcares Totales durante la Fermentación Alcohólica con *Saccharomyces Cerevisiae* ATCC 4126, con 0.25 gr/l de Ajenjo a diferentes pH. Ayacucho 1995.



En la TABLA IV, se muestran los resultados del Análisis Microbiológico, de los productos finales obtenidos. Los valores demuestran que durante todo el procedimiento se han guardado las máximas condiciones de asepsia, por lo que no hubo indicios de contaminación con microorganismos exógenos, de igual modo los valores están dentro de los límites Microbiológico recomendados para bebidas fermentadas, según Refai (1981).

TABLA IV

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE CONTROL DE CALIDAD PRACTICADOS A LOS PRODUCTOS FINALES OBTENIDOS. AYACUCHO 1995.

TIPOS DE ANÁLISIS	Con LUPULO		Con AJENJO	
	2.0 gr / lt pH = 5.0	1.0 gr / lt pH = 5.0	0.50 gr / t pH = 5.0	0.25 gr / lt pH = 5.0
Numeración de Mesófilos viables (UFC / ml)	< 10	< 10	< 10	< 10
Numeración de Levaduras (UFC / ml)	< 10	< 10	< 10	< 10
Numeración de Mohos (UFC / ml)	< 10	< 10	< 10	< 10
Numeración de Coliformes Fecales	< 3	< 3	< 3	< 3

En la TABLA V, se presentan los principales resultados de la evaluación físico-químico realizado al producto final. En cuanto a la acidéz titulable se obtuvieron, valores bastantes similares a los reportados por algunos autores como por ejemplo Hart (1984), reporta un valor promedio de 0.15 % de acidéz titulable para cervezas tipo "lager" y un valor promedio de 0.17 para las cervezas tipo "ale". Por otro lado Uribe (1980), reporta valores entre 0.14 y 0.17% de acidéz titulable. En lo referente a cenizas, los valores obtenidos en el siguiente trabajo, va de 0.16 a 0.18 %, cifras que resultan ser superiores a lo reportados por Hart (1984), que menciona valores de 0.12 % de ceniza para la cervezas tipo "lager" y "ale"; 0.13 % para las cervezas tipo "porter" y 0.15 % para las de tipo "stout". Por otro lado Uribe (1980), indica para cervezas embotelladas de buena calidad y de diversas marcas valores de 0.10 a 0.15 % que son inferiores a las cifras encontradas en el presente trabajo.

Con respecto al Nitrógeno Amínico, se refiere básicamente a la cantidad de nitrógeno que representan los aminoácidos presentes en conjunto, habiéndose encontrado el mayor valor en el producto obtenido utilizando lúpulo a pH 5.0 y a una concentración de 1 gr/lt. y el menor valor utilizando ajeno a pH 5 y a una concentración de 0.25 gr/lt.

En cuanto a Proteínas, se encontraron valores muy próximos entre 0.28 y 0.30 % habiéndose hecho los cálculos utilizando el factor de 6.25 . Estos valores son inferiores a los indicados por Hart (1984), que señala un valor promedio de 0.36 % para cervezas tipo "lager" y 0.37 % para cervezas tipo "ale". En cambio Uribe (1980), reporta valores mayores que los obtenidos para cerveza tipo "ale" de 4 marcas diferentes de un rango de 0.38 a 0.49 % . Además las cifras obtenidas cumplen con los

requisitos señalados en la Norma Técnica Peruana No 213 . 014, cervezas, que precisa un mínimo de 0.15 % de proteínas para cerveza.

El extracto seco se refiere al conjunto de sustancias sólidas y sustancias disueltas en el agua, tales como azúcar, sales minerales y algunos nitrogenados, los cuales se calculan mediante la evaporación del agua. Las bebidas tipo cerveza que se reportan tienen valores entre 14.08 gr/lit de extracto seco (para el tratamiento con ajenjo a pH 5.0 y concentración de 0.25 gr/lit), y 15.1 gr/lit de extracto seco para los tratamientos con lúpulo a pH 5.0 y concentración de 1 gr/lit. Estos valores resultan superiores a los reportados por Hart, (1984), quien cita un promedio de extracto seco de 5.19 % para la cerveza tipo "lager", y un promedio de 4.19 % para las cervezas de tipo "ale"; por otro lado Uribe (1980), señala rango de 9.93 - 13.04 gr/lit de extracto seco para cervezas embotelladas de diversas marcas que son valores ligeramente inferiores a los encontrados en el presente trabajo.

Finalmente, en cuanto al pH, se observó que en todos los tratamientos, durante el curso del proceso de fermentación y maduración, el pH mostró una tendencia a bajar. Esto se observa especialmente en los tratamientos con pH inicial 5.0, que llegaron a valores de 4.1 - 4.2, los cuales son prácticamente similares a los reportados por Hart, (1984), quien señala un pH promedio de 4.35 para las cervezas tipo "lager" y 4.19 para las cervezas tipo "ale"; e igualmente similares a los reportados por Uribe (1980), que estima un rango de 4.19 - 4.54 para cervezas embotelladas de buena calidad de diferentes marcas.

TABLA V

DETERMINACION DE LOS PARAMETROS FISICO-QUIMICOS DE LOS PRODUCTOS OBTENIDOS. AYACUCHO 1995.

VARIABLES	CON LUPULO		CON AJENJO	
	2.0 gr / l pH = 5.0	1.0 gr / t pH = 5.0	0.50 gr / t pH = 5.0	0.25 gr / t pH = 5.0
Porcentaje de Etanol (mg %)	4,99	4,95	4,91	4,91
Azúcares Reductores Finales (mg/ml)	0,086	0,087	0,089	0,089
Azúcares Totales finales (° Brix)	3,2	3,2	3,4	3,4
Acidez Titulable (% de ácido láctico)	0,18	0,17	0,19	0,17
Densidad (gr / ml)	1,065	1,068	1,06	1,055
Cenizas (%)	0,18	0,17	0,18	0,16
Amino nitrógeno (mg ANL %)	0,09	0,095	0,0877	0,078
Proteínas Totales (%)	0,28	0,3	0,29	0,28
Extracto Seco (gr / l)	15,1	15,1	14,3	14,08
pH Final	4,2	4,1	4,15	4,2

En la TABLA VI, se muestra el rendimiento de etanol que expresa la cantidad del producto formado en este caso, por unidad de sustrato consumido, es decir, azúcares reductores. En el presente trabajo el mejor rendimiento se observó en el tratamiento con "ajenjo" a pH de 5.0 y una concentración de 0.25 gr/lt llegando a una cifra de 0.72.; seguido por el tratamiento también con "ajenjo" de pH 5.0 y una concentración de 0.5 gr/lt, seguido de los tratamientos con lúpulo a pH de 5.0 y concentraciones de 1.0 y 2.0 gr/lt de lúpulo con valores de 0.69, 0.68 y 0.67, respectivamente. Estas cifras, son similares a la obtenida por Chipana (1989), quién trabajó en fermentación alcohólica con savia de cabuya; en cambio, son superiores a lo obtenido por García Godos (1994), quién utilizó como sustrato, hidrolizado de "ichu", obteniendo un rendimiento de etanol de 0.61; é igualmente, superior a lo encontrado por

Chuchón (1989), quién halló un rendimiento de 0.45 trabajando en fermentación alcohólica utilizando como sustrato "oca"; y finalmente, nuestros resultados son inferiores a lo reportado por Betalleluz (1989), quién encontró un rendimiento de 0.84 trabajando con "tuna". Esto permite corroborar que el manejo de fermentación alcohólica durante la elaboración de bebida tipo cerveza, utilizando malta de cebada, fue eficiente.

TABLA VI

**RENDIMIENTO DE ETANOL EN LOS TRATAMIENTOS MAS
OPTIMOS. AYACUCHO 1995.**

VARIABLES	LUPULO		AJENJO	
	2.0 gr/l pH 5.0	1.0 gr/l pH 5.0	0.50 gr/l pH 5.0	0.25 gr/l pH 5.0
Azúcares Reductores Iniciales (mg/ml)	0,161	0,16	0,16	0,157
Azúcares Reductores Finales (mg/ml%)	0,086	0,087	0,089	0,089
Dosaje de Etanol Final (gr%)	4,99	4,95	4,91	4,91
RENDIMIENTO	0,67	0,68	0,69	0,72

CONCLUSIONES

1.- Se logró realizar un ensayo preliminar para obtener una cerveza clásica en el laboratorio que sirvió de testigo, en el proceso de elaboración de una bebida tipo cerveza.

2.- En el proceso de fermentación alcohólica, llevado a cabo a pH de 4.0, 5.0 y 6.0, el dosaje de etanol mas alto fue de 4.99 %, utilizándose 2.0 gr/lt de lúpulo, seguido de 4.95 %, utilizándose 1.0 gr/lt de lúpulo, seguido de 4.91 % utilizando "ajenjo", tanto a concentraciones de 0.25 y 0.50 gr/lt , a valores de pH 5.0. Las demás condiciones se mantuvieron estables, tales como concentración de azúcares reductores iniciales (promedio de 0.16 mg %), temperatura de 4-5 °C por 10 días y temperatura de 18 °C por 8 días.

El mejor rendimiento de etanol se obtuvo en el tratamiento con "ajenjo" a una concentración de 0.25 gr/lt y un pH 5.0 llegando a un valor de 0.72.

3.- Se encontró que el polvo obtenido de la hojas de "ajenjo" (*Artemisia absinthium*), a una concentración de 0.25 y 0.50 gr/lt, proporciona características de amargor y aroma similares a los que proporciona el empleo tradicional del lúpulo (*Humulus lupulus*) durante la elaboración de bebida tipo cerveza.

4.-Se logró obtener una bebida tipo cerveza, utilizándose hojas de “ajenjo”, en lugar de flores femeninas del lúpulo, siendo el producto final bastante similar en sus características físico-química y organolépticos, al de una cerveza clásica.

5.- Los análisis microbiológicos revelaron buenas condiciones de asepsia y ausencia de contaminación durante los ensayos.

RECOMENDACIONES

1.- Realizar, estudios fitoquímicos comparativos mas profundos sobre los principios amargos, tanto del lúpulo como del "ajenjo", en los diferentes órganos vegetativos y/o reproductores de la planta del "ajenjo", a fin de establecer con mayor exactitud, la concentración mas adecuada de ajenjo, para obtener una bebida tipo cerveza.

2.- Fomentar la industrialización de esta bebida, a fin de lograr una aceptabilidad por parte de los consumidores, así como, incentivar el cultivo del "ajenjo" para este fin.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

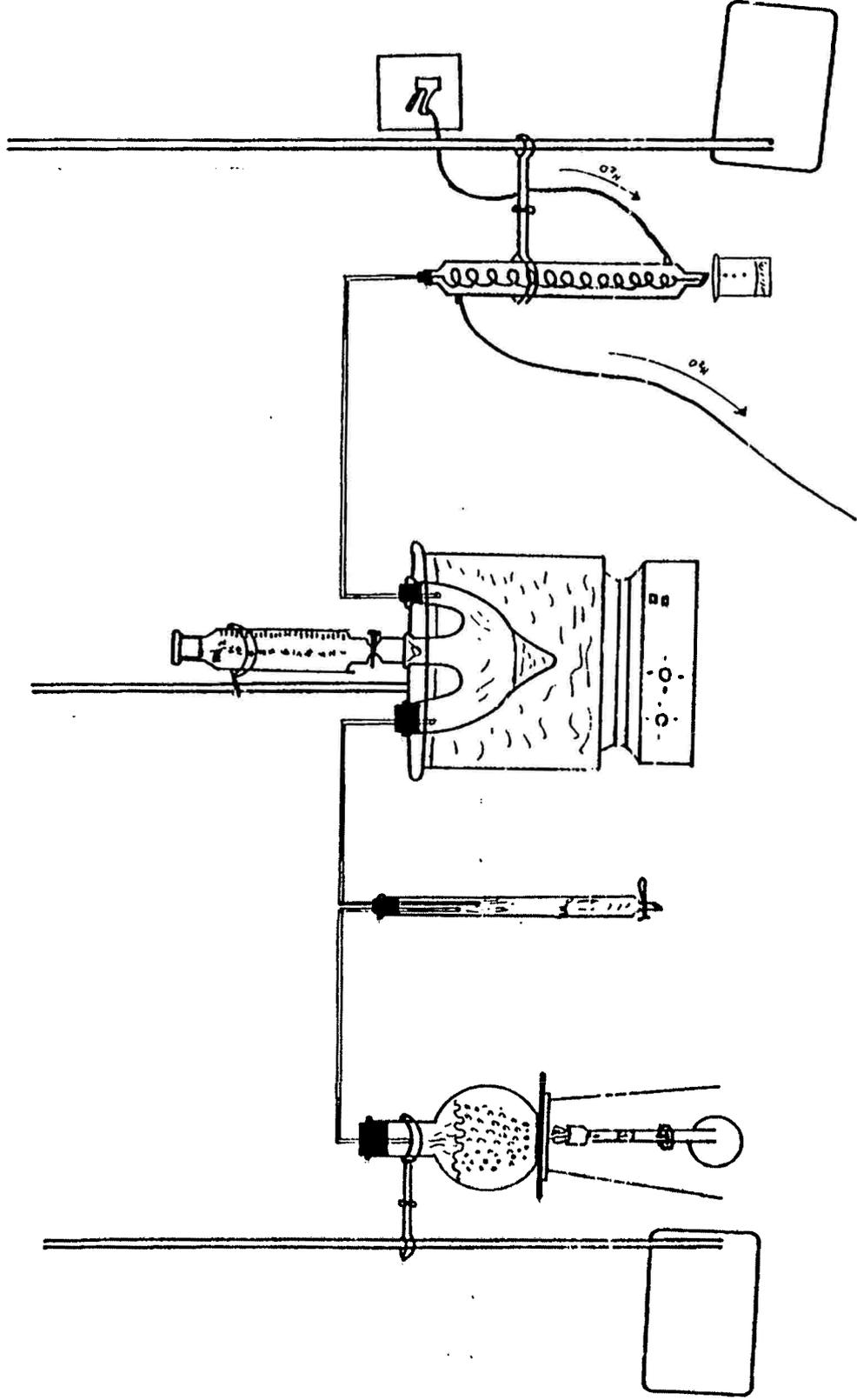
- 1.- AMERINE, M. (1976). Análisis de Vinos y Mostos. Editorial Acribia, Zaragoza - España.
- 2.- ANDES, L. (1978). Fabricación de Conservas. 3ra edic. Edit. Gustavo Gilis S.A. España.
- 3.- A.O.A.C. (1980). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 13va edic. U.S.A.
- 4.- AQUARONE, E. (1983). Alimentos e bebidas produzidos por fermentacao. Vol. 5. Edit. Edgard blucher Ltda. Brazil.
- 5.- ARIANSEN, J. (1984). Ciencia y Tecnología de los Alimentos. 1ra edic. CIPL Lima Perú.
- 6.- AUSTIN, G. (1990). Manual de Procesos Químicos en la Industria. Tomo III. 1ra edic. Edit. Mc Graw-Hill. Mexico.
- 7.- BARCELO, J. (1979). Diccionario Terminológico de Química. 2da edic. Edit. Alhambra, S.A. España.
- 8.- BELITZ, H. (1988). Química de los Alimentos. 1ra edic. Edit. Acribia. S.A. España.
- 9.- BETALLELUZ, F. (1989). Obtención de Etanol por Bioconversión de Cáscara de Baya *Opuntia ficus indica* (tuna), utilizando células inmovilizadas de *Pachisolen tannophilus* ATCC 32691. Tesis UNSCH. Fac. Cs. Biológicas. Ayacucho-Perú.
- 10.- BROOCK, T. (1993). Microbiología. 6ta edic. Edit. Acribia S.A. España.
- 11.- CATALOGO DE PLANTAS MEDICINALES (1994). Industria Farmacéutica CIPL Lima Perú.
- 12.- CHEFTEL, J. (1976). Introducción a la Bioquímica y tecnología de los Alimentos. 1ra edic. Edit. Acribia S.A. España.
- 13.- CHIPANA, M. (1989). Producción de Etanol a partir de la savia del *Agave americana* "Cabuya", utilizando cepas de *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126 y *Saccharomyces sp* SR-1. Tesis UNSCH. Fac. Cs. Biológicas Ayacucho Perú.

- 14.- CHUCHON, S. (1989). Producción de etanol y Proteína Monocelular a partir de *Oxalis tuberosa* "oca", usando *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126. Tesis UNSCH. Fac.Cs. Biológicas. Ayacucho Perú.
- 15.- CLARK, J. (1978). Bioquímica Experimental. Edit, Acribia S.A. España.
- 16.- CORNEJO, V. (1976). Las Plantas Medicinales y su Correcta Utilización Imprenta UNSCH.
- 17.- COULTATE, T.(1986). Alimentos :Química de sus componentes.1ra edic, Edit. Acribia S.A. España.
- 18.- DE ROMAÑA, José-maría (1982). Salud con Cerveza. Lima Perú.
- 19.- DESROSIER, N. (1983). Elementos de Tecnología de los Alimentos. 1ra edic. Edit. Continental S.A. México.
- 20.- DORLAND (1987). Diccionario de Ciencias Médicas. 7ma edic. Edit. El Ateneo S.A. España.
- 21.- FLORES, A. (1980). Nutrición y metabolismo de los organismos eucarióticos como las levaduras. En : "Seminario Internacional de la Cerveza". UNMSM. Lima Perú.
- 22.- FRAZIER, W. (1985). Microbiología de los Alimentos. 3ra edic. Edit. Acribia S.A. España.
- 23.- GUILPIN, H. (1954). Cerveza y Salud. Lima Perú.
- 24.- GACESA, P. (1994). Tecnología de las enzimas. Edit. Acribia S.A. España.
- 25.- GARCIA GODOS, Paula(1994). Producción de Etanol utilizando gramíneas naturales "ichu" como fuente de celulosa. Tesis UNSCH.
- 26.- GUIJA, E. (1980). Enzimas y reacciones enzimáticas en Levaduras. En : "Seminario Internacional de la Cerveza". UNMSM. Lima Perú.
- 27.- HART, F. (1984). Análisis Moderno de os Alimentos. 1ra edic. Edit. Acribia S.A. España.

- 28.- HIXCOX, G. (1992). Gran Enciclopedia Práctica de Recetas industriales y Fórmulas Domésticas. 1ra edic. Edit. Gili S.A. México.
- 29.- HOUGH, J. (1990). Biotecnología de la Cerveza y de la malta. Edit. Acribia S.A. España.
- 30.- INDUSTRIA FARMACEUTICA CIPI (1994). Catálogo de Plantas medicinales. Lima Perú.
- 31.- ITINTEC (1973). Cervezas. 213.014 Requisitos.
- 32.- ITINTEC (1977). Productos Elaborados a partir de Frutas y otros Vegetales. Determinación de Acidez. Norma Técnica Nacional Peruana.
- 33.- ITINTEC (1970). Cerveza. Método para determinar el pH. Norma Técnica Nacional.
- 34.- JAGNOW, G. (1991). Biotecnología, Introducción con experimentos modelo. 1ra edic. Edit. Acribia S.A. España.
- 35.- JAY, J. (1981). Microbiología Moderna de los Alimentos. 2da edic. Edit. Acribia S.A. España.
- 36.- KENT, N. (1971). Tecnología de los Cereales. 1ra edic. Edit. Acribia S.A. España.
- 37.- LEES, (1994). Análisis de los Alimentos. 2da edic. Edit. Acribia S.A. España.
- 38.- LOZANO, Nancy. (1980). Importancia de la Cerveza como bebida. En: "Seminario internacional de la Cerveza". UNMSM. Lima- Perú.
- 39.- MAYER, L. (1963). Métodos de la Industria Química. 2da. Parte Orgánica. Edit. Reverté S.A. Argentina.
- 40.- MINISTERIO DE SALUD (1996). Tabla peruana de Composición de los Alimentos. 7ma. Edic. Lima Perú.
- 41.- MULLER, G. (1981). Microbiología de los Alimentos Vegetales. 1ra edic. Edit. Acribia S.A. España.
- 42.- MUÑOZ, F. (1994). Plantas Medicinales y Aromáticas, estudio cultivo y procedimiento. 1ra edic. Edit. Mundi-Prensa. España.
- 43.- O.M.S. (1995). Plantas que Curan.

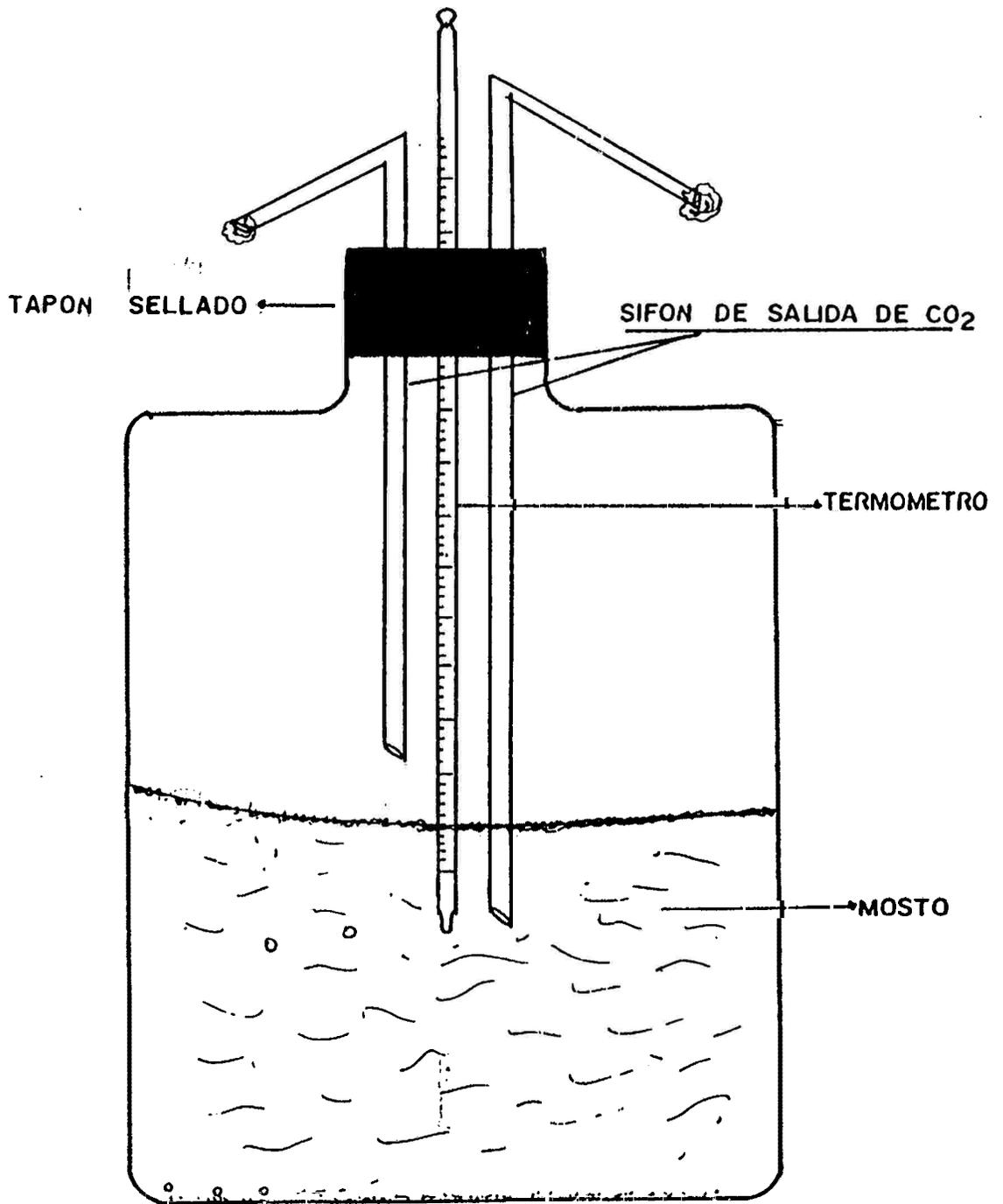
- 44.-REFAI, M.K. (1981). Manual para el control de calidad de los alimentos.4.-Análisis Microbiológico. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma.
- 45.- RHODES, A. (1969). Principios de Microbiología Industrial. Edit. Acribia S.A. España.
- 46.- ROSE, A. (1978). La Cerveza en Scientifican american Edit. Blume. España.
- 47.- SALINAS, R. (1988). Alimentos y Nutrición, Bromatología Aplicada a la Salud. Ira edic, Edit. El Ateneo S.A. Argentina.
- 48.- SANCHEZ, L.A. (1960). Historia de la Cerveza en el Perú. Lima Perú.
- 49.- SASSON, A. (1984). La Biotecnología : Desafios y promesas. UNESCO.
- 50.- SCADE, J. (1981). Cereales. Ira edic. Edit. Acribia S.A. España.
- 51.- SCHMIDT-HEBBE, H. (1991). Las Enzimas en los Alimentos. Edit. Fundación. Chile.
- 52.- STANIER, R. (1965). El Mundo de los Microbios.Ira edic. Edit. Aguilar S.A. España.
- 53.-TORRES, N.(1983). Bioquímica general. Edit. El Ateneo S.A. Argentina.
- 54.- URIBE, B. (1980). Componentes Químicos de la Cerveza. En : "Seminario Internacional de la Cerveza". NMSM. Lima Perú.
- 55.- WALTER, W. (1982). Introducción a la Microbiología. Ira edic. Edit. CIA Editorial continental S.A. México.
- 56.- WARD, Owen P.(1991). Biotecnología de laFermentación. Editorial Acribia S.A. España.

ANEXOS



EQUIPO DE MICRODESTILACION PDR ARRASTRE DE VAPOR
PARA DOSAJE DE ETANOL

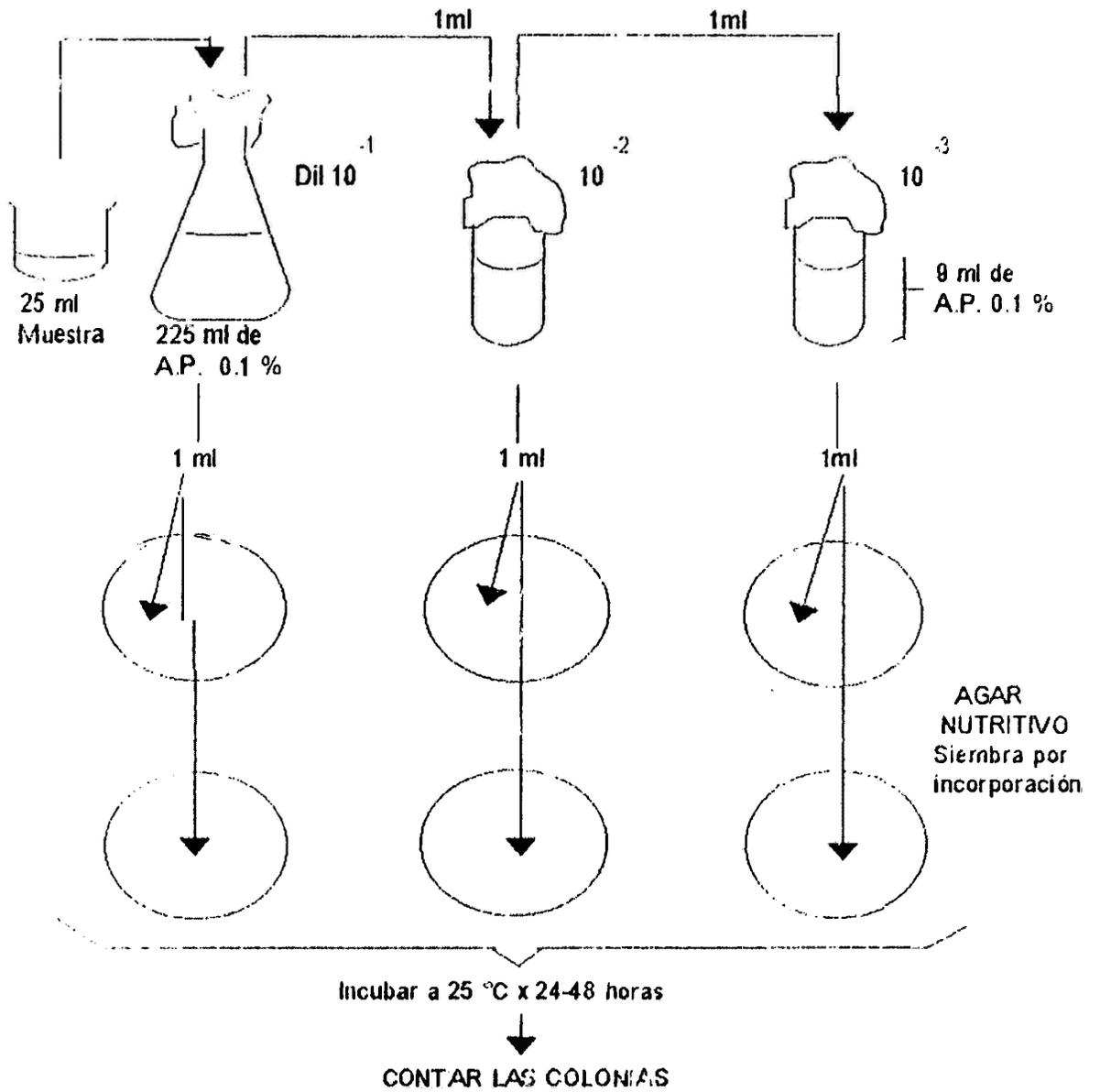
ANEXO No 2



FERMENTADOR ARTESANAL UTILIZADO
EN EL PRESENTE TRABAJO

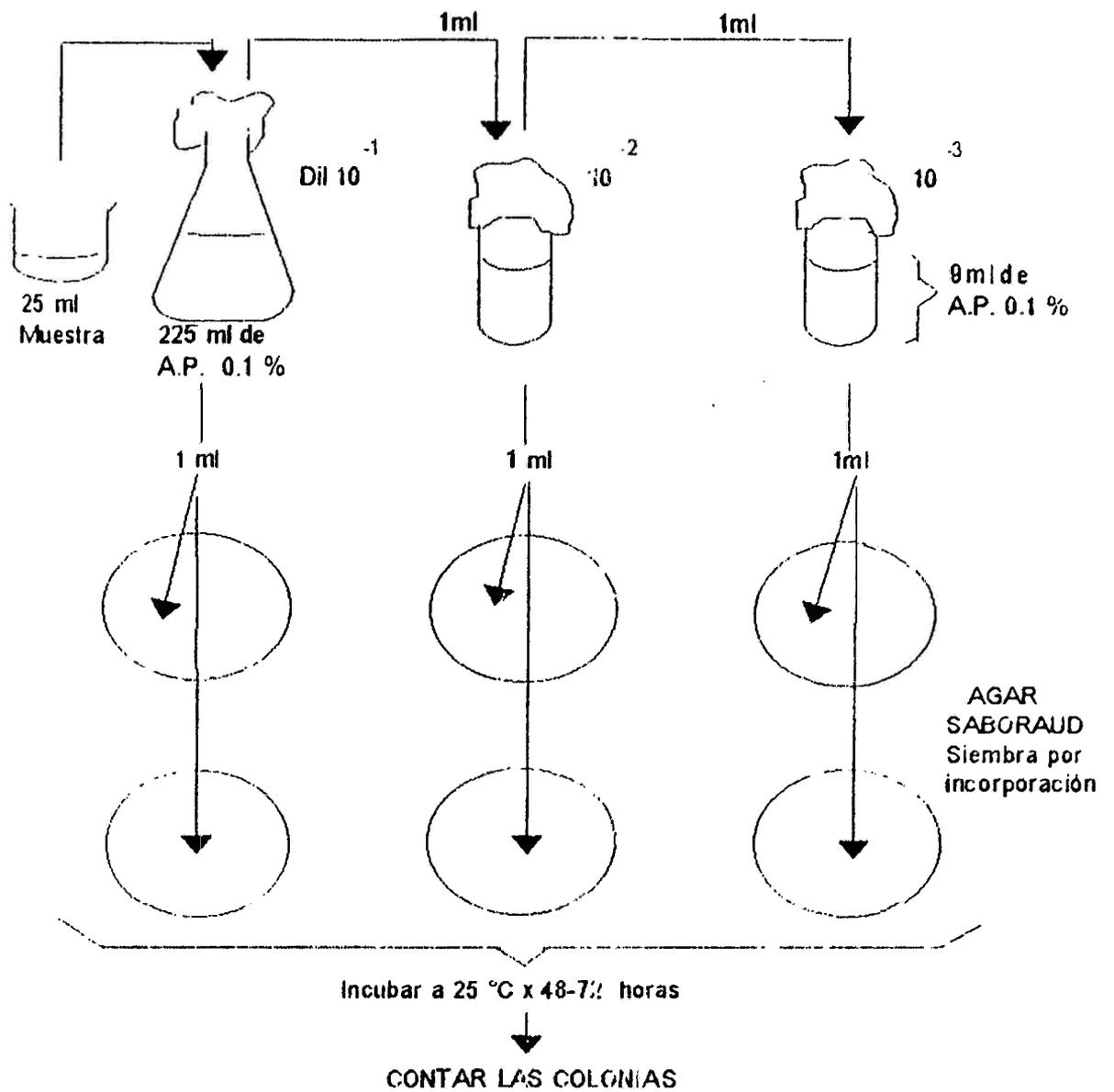
ANEXO N.º 3

NUMERACION DE MESOFILOS VIABLES



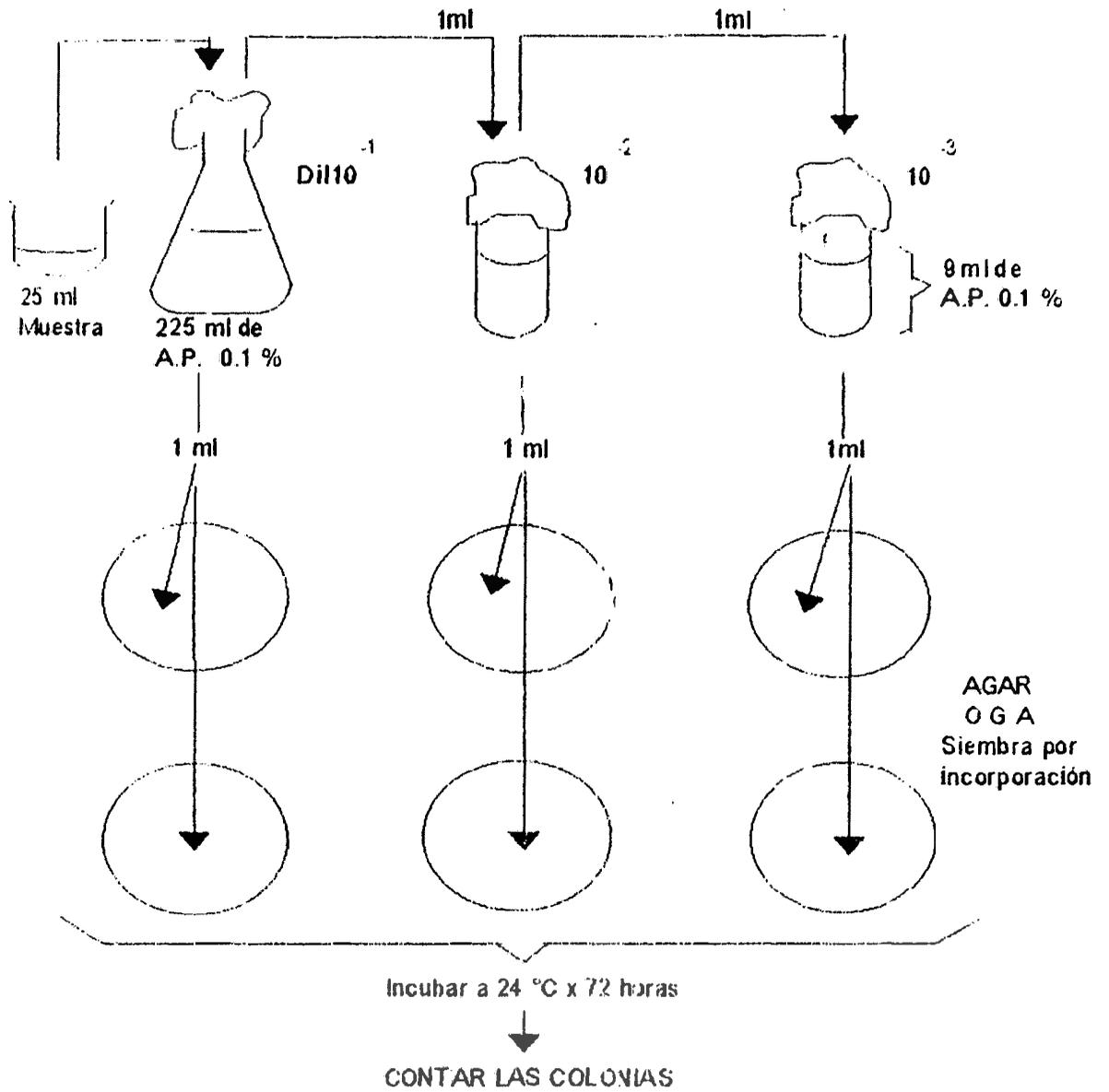
ANEXO No. 4

NUMERACION DE LEVADURAS



ANEXO No. 5

NUMERACION DE MOJOS



ANEXO No 6

NUMERACION DE COLIFORMES FECALES

