



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA

EVALUACIÓN DEL USO DE MALTAS CAMELO EN LA ELABORACIÓN DE CERVEZAS

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO CIVIL EN BIOTECNOLOGÍA

NICOLÁS FERNANDO MARDONES ORTEGA

PROFESOR GUÍA
JOSÉ CRISTIAN SALGADO HERRERA

MIEMBROS DE LA COMISIÓN
ZIOMARA GERDTZEN HAKIM
FERNANDO REYES BADILLA

SANTIAGO, CHILE

JUNIO 2012

Resumen

Las maltas caramelo son maltas especiales que ofrecen color, aroma y sabor a las cervezas. La caracterización del producto malta caramelo elaborado en Malterías Unidas S.A. mostró que la determinación de su color es crítica para la estandarización de su producción y se elaboró un modelo para su estimación con un dispositivo RGB Color Analyzer.

Los componentes activos del perfil organoléptico de las maltas caramelo son atribuidos a la Reacción de Maillard, siendo 3-metilbutanal uno de los compuestos volátiles más importantes en el aroma característico de maltas base y maltas especiales. El desarrollo de 3-metilbutanal y otros compuestos volátiles no identificados fue estudiado en mostos con 10% de malta caramelo de color promedio 135 EBC evaluando maltas caramelo que presentaron niveles de desagregación protéica y amilolítica elevados y bajos, y regímenes de tostado de intensidades elevadas y bajas. Para ello se utilizó cromatografía de gases (GC) con detector FID. El impacto de estos parámetros también se evaluó en cervezas elaboradas con un 10% de malta caramelo con ayuda de un panel sensorial seleccionado.

Los resultados mostraron que para maltas caramelo 120 EBC el nivel de dos compuestos volátiles fue influenciado por la temperatura de curado y el tiempo total de la duración del proceso. Maltas caramelo que fueron elaboradas con regímenes más intensos (mayor temperatura en menor tiempo) presentaron menor cantidad de componentes volátiles, en particular de 3-metilbutanal, lo que indicó un consumo de estos compuestos volátiles - componentes intermedios de la Reacción de Maillard -, hacia la formación de compuestos coloreados (melanoidinas). Por otro lado el nivel de 3-metilbutanal no fue influenciado por el grado de desagregación de la malta verde antes de ser convertida en malta caramelo. Por otro lado maltas con un menor nivel de desagregación mostraron concentraciones mayores de los volátiles que eluían a los 5,75 min, 12,33 min y 26,27 min en GC con columna GS-Q bajo el programa de temperatura empleado. Estos compuestos no fueron identificados, sin embargo la diferencia de concentraciones de estos volátiles no se manifestó en cervezas con 10% de malta caramelo lo que implicaría que los componentes no son primordiales para el perfil característico de una cerveza con malta caramelo.

El nivel de desagregación de la malta verde afectaría el perfil químico de volátiles de cervezas cuando se ocupa un 10% de malta caramelo 135 EBC pero no necesariamente su perfil organoléptico. El impacto de 3-metilbutanal no se evaluó sensorialmente en cervezas, pero dados los reportes de su importancia en el aroma de las maltas y productos a base de malta se proponen medidas para poder evaluar 3-metilbutanal de forma sensorial y así evaluar el impacto de la no estandarización de los regímenes de tostado en maltas caramelo.

A F. Ortega C.

... que de seguro hubiera leído y escuchado, con gran interés, esto una y mil veces...

Agradecimientos

Agradecer a mi Comisión de titulación, profesores del Departamento de Ingeniería Química y Biotecnología de la Universidad de Chile y subgerente de Ingeniería y Desarrollo de Malterías Unidas S.A., Dr. J. Cristian Salgado H., Dra. Ziomara P. Gerdtzen H. y Sr. Fernando Reyes B. por haberme guiado en este proceso con interés y dedicación. Al profesor Sr. Francisco Gracia por disponer del Laboratorio de Catálisis y equipo cromatográfico que con tanta urgencia se necesitaba, y a Francisco Díaz por ayudarme a entender el funcionamiento de todo y alegrarse junto conmigo por los buenos resultados del proceso.

Al Departamento de Ingeniería y Desarrollo de Malterías Unidas S.A, por el financiamiento de este trabajo y por darme las herramientas, capacitándome en cervecería y cromatografía, para el desarrollo de este proyecto. A Fernando y a Rodrigo por las críticas siempre constructivas. A las demás personas de Malterías Unidas S.A., Sra. Inés y Cecilia por las gestiones y por las sonrisas al llegar; A Elías, por los traslados, a Mónica y su laboratorio de Calidad, Claudia y Paola, en especial a los analistas Víctor, Carlos y Manuel, por haber dado respuesta a todas las consultas y facilitar el material con el que se realizó este trabajo; a Fernando V. por haber autorizado los análisis sensoriales y a las más de 20 personas que se dedicaron, con esfuerzo, a la cata de cervezas, ardua labor, con el único fin de colaborar con los resultados y generar nuevos conocimientos.

A mis amigos del DIQBT, en especial a Loreto, Eduardo, Camilo, Camila S., Diego, Esteban, Pablo, Gonzalo, Reynaldo, María Paz, Richard, Nicolás y Camila B., por los innumerables buenos momentos estudiando, y no estudiando, para sacar la carrera adelante de la mejor forma posible, pasándolo bien. A Lisset, por haber estado tan entusiasmada con mi tema de memoria y ayudarme en su práctica profesional, gracias por la dedicación. A las demás personas de la Universidad de Chile, amigos de primer a último año, Ignacio, Diego y Leo, por estar al inicio de esto, cuando todo parecía tan lejano y obviamente por todos los buenos momentos vividos.

A mi grupo scout Ailinpuhuen y a todas las personas que he conocido ahí desde pequeño, por haberme forjado como persona y darme carácter para enfrentar estos desafíos, en especial a Camila por soportarme tanto en la U como en el Grupo.

A mis amigos del colegio, y toda la vida, que son muchos para nombrarlos, por haber siempre confiado en mí, hasta el día de hoy. En especial a Claudio por recordarme reiterada y explícitamente su amistad.

A Gabriela por acompañarme y entenderme estos ya casi dos años y por hacer que todo parezca tan simple al lado de ella. Y a mi familia en general, a mi tía Ana María por facilitar que esta puerta se abriera, y hermano, abuelos y madre en particular, por siempre creer en mí y darme motivo para seguir adelante.

Índice de Contenidos

1. Introducción General	1
1.1. Malterías Unidas S.A.	1
1.1.1. El mercado de las cervezas	1
1.2. La malta	2
1.2.1. El almidón.....	2
1.2.2. Estructura del grano de cebada	4
1.2.3. Gelatinización y licuefacción	5
1.3. Proceso de elaboración de malta (malteo)	6
1.4. Maltas especiales.....	7
1.5. La cerveza.....	8
1.6. Proceso de elaboración de cervezas	9
2. Antecedentes.....	12
2.1. Elaboración de malta caramelo en Malterías Unidas S.A.....	12
2.2. Medición de color en maltas caramelo.....	13
2.2.1. Unidades de color en malta.....	13
2.2.2. Problemas en la medición de color en maltas caramelo.....	14
2.2.3. Dispositivo RGB Color Analyzer.....	15
2.3. Desarrollo de color, sabor y aroma en maltas caramelo.....	16
2.3.1. Reacción de Maillard y caramelización	16
2.3.2. Identificación de compuestos claves en el aroma y sabor	18
2.4. Herramientas para el estudio de las maltas caramelo	21
2.4.1. Cromatografía de gases (GC)	21
2.4.2. Headspace	24
2.4.3. Aplicación en Laboratorio de Calidad – Malterías Unidas S.A.....	24
2.4.4. Análisis sensorial.....	25
3. Objetivos.....	28
3.1. Objetivo General	28
3.2. Objetivos Específicos.....	28
4. Metodología.....	29
4.1. Metodología general	29
4.2. Caracterización de maltas caramelo.....	30

4.3.	Elaboración de cervezas.....	30
4.4.	Medición rápida de color en maltas caramelo.....	32
4.5.	Análisis sensorial para la evaluación de cervezas con maltas	32
4.5.1.	Planteamiento.....	32
4.5.2.	Planificación	33
4.5.3.	Realización	33
4.6.	Análisis mediante cromatografía de gases	34
4.6.1.	Reactivos.....	34
4.6.2.	Equipos y procedimiento	34
5.	Resultados y discusión	36
5.1.	Influencia de parámetros productivos y de calidad maltera en el desarrollo de color de maltas caramelo.....	36
5.1.1.	Caracterización de los parámetros de calidad de malta caramelo.....	36
5.1.2.	Caracterización de los parámetros de la malta verde y proceso de elaboración de malta caramelo.....	38
5.1.3.	Comparación de tostadoras	45
5.1.4.	Elección de variables de proceso.....	48
5.1.5.	Relación de los parámetros de calidad de malta Pilsen con el color de maltas caramelo	49
5.1.6.	Elección de color de maltas caramelo a evaluar	54
5.1.7.	Maltas especiales seleccionadas para análisis	55
5.2.	Medición de color en maltas caramelo.....	57
5.2.1.	Evolución de los parámetros RGB y HSL medidos con el dispositivo RGB Color Analyzer respecto al color de malta caramelo	57
5.2.2.	Determinación de variables predominantes	59
5.2.3.	Identificación de outliers	61
5.2.4.	Validación del modelo	64
5.3.	Análisis sensorial para la evaluación de cervezas con maltas caramelo seleccionadas	66
5.3.1.	Selección y entrenamiento de jueces.....	67
5.3.2.	Caracterización de parámetros organolépticos en las cervezas con malta caramelo	68
5.3.3.	Evaluación de cervezas elaboradas con 15% de malta caramelo.....	71
5.3.4.	Evaluación de cervezas con 10% de malta caramelo	73

5.4.	Análisis cromatográficos	75
5.4.1.	Identificación de tiempos de residencia de patrones.....	76
5.4.2.	Análisis de mostos.....	77
5.4.3.	Influencia de la temperatura y contaminantes.....	77
5.4.4.	Cromatografía de Mostos A y B (nivel de desagregación).....	79
5.4.5.	Cromatografía de Mostos C y D (condiciones de proceso).....	84
5.4.6.	Identificación de peaks con uso de compuesto patrón.....	88
6.	Discusiones generales.....	92
7.	Conclusiones	103
	Bibliografía	106
8.	Anexos.....	113
A.	Esquema de la ciclación de una molécula de glucosa.....	113
B.	Proceso de elaboración de malta (malteo)	113
	Recepción y almacenamiento de la cebada.....	113
	Remojo	114
	Germinación	114
	Secado.....	114
	Almacenado y transporte.....	115
C.	Proceso de elaboración de cervezas.....	115
	Molienda	115
	Maceración	116
	Filtrado.....	117
	Cocción y adición de lúpulo	117
	Fermentación.....	118
	Maduración	118
D.	Conceptos en cromatografía de gases	119
E.	Fundamento y funcionamiento de un Headspace (HS)	122
F.	Columnas tipo PLOT: GS-Q.....	123
G.	Metodología para un análisis sensorial.....	123
H.	Total de componentes principales para la temperatura (final y máxima, humedad malta verde, días de germinación y duración del proceso).....	126
I.	Relación de la temperatura final y duración de proceso con el color de la malta caramelo separado por máquina tostadora	127

J.	Parámetros productivos y de calidad maltera	128
K.	Parámetros de calidad y proceso para cada una de las maltas seleccionadas 130	
L.	Componentes principales generados con las variables R (Red), G(Verde), B(Azul), H(Hue), S(Saturation) y L(Luminosidad).....	130
M.	Color de malta caramelo versus R (Red), G(Verde), B(Azul) y L(Luminosidad). 131	
N.	Residuos del modelo ajustado para la estimación de color	132
O.	Modelo final del color de malta caramelo en función del valor de R.....	132
P.	Rueda de los sabores de las cervezas	133
Q.	Perfil cromatográfico de cervezas con malta caramelo	134
R.	Cromatogramas de la línea base	135
S.	Datos cromatográficos para evaluación de mostos Pilsen	135
T.	Datos cromatográficos para mosto caramelo B (10%)	136
U.	Diagramas de cajas y bigotes de cada peak conservado (P#) en mosto Pilsen, mosto caramelo A (10%) y mosto caramelo B (10%).....	136
V.	Diferencias significativas para peaks conservados en mosto Pilsen, mosto caramelo A (10%) y mosto caramelo B (10%).....	139
W.	Datos cromatográficos para mosto caramelo C (10%).....	140
X.	Cromatograma: agua destilada + 3-metilbutanal	140
Y.	Cromatograma: mosto pilsen + 3-metilbutanal	141
Z.	Análisis de diferencias significativas en tiempos de retención de peaks P/Q/R6 y P/Q/R7	142

Índice de Tablas

Tabla 1 – Enzimas activas en la maceración para el proceso de sacarificación. La temperatura del proceso de maceración se determina para favorecer la acción enzimática.....	10
Tabla 2– Composición porcentual de carbohidratos (CHO) y aminoácidos (Aá) de un mosto típico obtenido mediante un método de infusión simple.....	11
Tabla 3 – Valores normales para el color de malta caramelo por tipo de malta caramelo	14
Tabla 4 – Clasificación general de detectores para cromatografía de gases según especificidad.....	23
Tabla 5 – Temperaturas de ebullición de los compuestos de interés	34
Tabla 6 – Condiciones de operación definidas para GC Clarus 500	35
Tabla 7 – Matriz de correlaciones entre parámetros de calidad de malta caramelo. N= 416.....	38
Tabla 8 – Matriz de correlaciones entre parámetros de proceso de malta caramelo. N= 2054.....	40
Tabla 9 – Componentes principales del proceso de caramelizado y tostado.	44
Tabla 10 – Contribución de las variables de proceso para cada componente principal generado.....	45
Tabla 11 – Contribución de variables a los componentes principales extraídos para parámetros de calidad de malta Pilsen.....	50
Tabla 12 – Agrupación de variables más importantes (con mayor contribución relativa) en cada componente principal.....	51
Tabla 13 – Matriz de correlación lineal para variables del componente principal 1	52
Tabla 14 – Medidas de tendencia central para la producción de maltas caramelo en el rango de color 110-170 EBC.	55
Tabla 15 – Maltas caramelo seleccionadas para análisis de índice de Kolbach, Friabilidad y Extracto fino/proteína.	56
Tabla 16 – Maltas caramelo seleccionadas para análisis de Temperatura final/tiempo de proceso.....	56

Tabla 17 – Coeficiente de correlación lineal de Pearson de las variables de cada modelo de color con la variable Color EBC para maltas caramelo.	59
Tabla 18 – Contribución de cada variable para los componentes principales extraídos de un PCA para la totalidad de los datos obtenidos de color de malta caramelo en el rango 43 a 859 EBC	59
Tabla 19 – Resumen de los coeficientes de determinación de un modelo basado en los recíprocos de la variable x (R, G, B o L) para la predicción de color de mosto de malta caramelo en el rango entre 43 y 570 EBC.....	61
Tabla 20 – Estadísticos robustos a outliers.....	62
Tabla 21 – Intervalos 95% de confianza para la estimación de la media para los casos estándar y para cuando los datos son winzorizados	63
Tabla 22 – Estimación de parámetros para modelo recíproco de x ($y = a + b/x$) del color en función de R.....	64
Tabla 23 – Análisis de varianza y lack-of-fit para modelo de predicción de color EBC en función del recíproco de R.....	65
Tabla 24 – Desempeño juez para cada prueba de selección	67
Tabla 25 – Sabores y sensaciones en boca potenciales a ser desarrollados en cervezas con malta caramelo.	68
Tabla 26 – p-valor para la comparación de la medias de cada atributo entre cervezas con malta caramelo A y B a través de ANOVA	74
Tabla 27 – Tiempos de retención aproximados para los patrones de compuestos volátiles bajo programa de temperaturas isoterms basados en sus temperaturas de ebullición.....	77
Tabla 28 – Tiempos de retención promedio para cada tipo de mosto analizado: 0% malta caramelo (100% malta Pilsen) y 10% de malta caramelo para el tipo A y el tipo B.	80
Tabla 29 – Denominación para cada los peaks de compuestos conservados en mostos de malta caramelo A y B y malta Pilsen.	81
Tabla 30 – Área promedio de cada peak para cada tipo de mosto analizado: 0% malta caramelo (100% malta Pilsen) y 10% de malta caramelo para el tipo A y el tipo B.	82

Tabla 31 – Área promedio de cada peak para cada tipo de mosto analizado: 0% malta caramelo (100% malta Pilsen) y 10% de malta caramelo para el tipo A y el tipo B. Valores de desviaciones corregidos para mosto caramelo B.....	83
Tabla 32 – Mostos y peaks que representan una diferencia significativa para las medias de sus áreas. Método: Tukey HSD (95%).	84
Tabla 33 – Tiempos de retención promedio para cada tipo de mosto analizado: 0% malta caramelo (100% malta Pilsen) y 10% de malta caramelo para el tipo C y el tipo D.	85
Tabla 34 – Denominación para cada los peaks de compuestos conservados en mostos de malta caramelo A y B y malta Pilsen.	85
Tabla 35 – Área promedio de cada peak para cada tipo de mosto analizado 0% malta caramelo (100% malta Pilsen) y 10% de malta caramelo para el tipo C y el tipo D.	86
Tabla 36 – Mostos y peaks que representan una diferencia significativa para las medias de sus áreas. Método: Tukey HSD (95%).	87
Tabla 37 – Valores de área de peak patrón (3-metilbutanal) en agua destilada (F=10) y mosto (F=100).	89
Tabla 38 – Valores de tiempo de retención promedio para 3-metilbutanal en mosto y agua (F=1000)	90
Tabla 39 – Áreas promedio de 3-metilbutanal en agua y mosto Pilsen (F=1000)	90
Tabla 40 – Clasificación de las pruebas sensoriales, función, aplicaciones y ejemplo.	124
Tabla 41 – Total de componentes principales generados para Temp. Máxima, Temp, final, Días de germinación, % humedad de la malta verde al inicio del proceso de caramelizado y tostado y duración del proceso.....	126
Tabla 42 – Modelo que minimiza el coeficiente de correlación (R^2) para la relación de color de malta caramelo vs temperatura final y duración del proceso separado por máquina tostadora.	127
Tabla 43 – Parámetros medidos y registrados para la producción de maltas especiales y para la calidad final de maltas especiales y base en Malterías Unidas S.A.....	129
Tabla 44– Especificaciones de las 4 maltas seleccionadas para la evaluación de las diferencias de parámetros de calidad y proceso en cervezas.....	130
Tabla 45 – Total de componentes principales generados mediante un PCA a las variables R, G, B, H, S y L.....	130

Tabla 46 – Tiempo de retención, área y altura para los peaks detectados en cada repetición de análisis cromatográficos para mostos Pilsen.	135
Tabla 47 – Tiempo de retención, área y altura para los peaks detectados en cada repetición de análisis cromatográficos para mostos con 10% de malta caramelo B.	136
Tabla 48 – Determinación de diferencias significativas (HSD Tukey; 95%) para peaks conservados en mosto Pilsen, mosto caramelo A (10%) y mosto caramelo B (10%).	139
Tabla 49 – Tiempo de retención, área y altura para los peaks detectados en cada repetición de análisis cromatográficos para mostos con 10% de malta caramelo C.	140
Tabla 50 – Determinación de los tiempos promedio de los peaks en P6, Q6 y R1 junto con sus intervalos de confianza (HSD de Tukey, 95%).....	142
Tabla 51 – Determinación de los tiempos promedio de los peaks en P7, Q7 y R2 junto con sus intervalos de confianza (HSD de Tukey, 95%).....	142

Índice de Figuras

Figura 1 – Organización de monómeros de glucosa en homopolímeros de amilosa, amilopectina y glucógeno. La amilosa y amilopectina conforman en conjunto el almidón.	3
Figura 2 – (a) Estructura cíclica de la glucosa indicando la numeración de los carbonos. (b) Representación de los enlaces glucosídicos $\alpha(1-4)$ y $\alpha(1-6)$ encontrados en la estructura del almidón.	3
Figura 3 – Sección longitudinal de un grano de cebada.	4
Figura 4 – Diagrama de bloques del proceso de elaboración de malta denominado malteo.	6
Figura 5 – Diagrama de bloques de la elaboración de malta base y maltas especiales.	8
Figura 6 – Diagrama de bloques de un proceso cervecero	9
Figura 7 – Perfil longitudinal de un equipo de tostación para malta caramelo y malta tostada utilizado en Malterías Unidas S.A.	12
Figura 8 – a) Modelo H500 RGB Color Analyzer con niveles de Matiz, Saturación y Luminisidad b) Representaciones tridimensionales de las teorías de color RGB (<i>red, green, blue</i>) y HSL (<i>hue, saturation, lightness</i>)	15
Figura 9 – Esquema general de la Reacción de pardeamiento no enzimático. Implicadas están la Reacción de Maillard y Reacción de Strecker.	18
Figura 10 – Análisis de volátiles por medio de Headspace dinámico y GC/MS en mostos de distinto rango de color: 5 EBC - mosto 100% malta Pilsen; 55, 150 y 300 EBC: mostos congresos con maltas caramelo de los respectivos colores	19
Figura 11 - Intensidad de sabor para varios atributos detectados en mosto por un panel de degustación entrenado. 5 EBC: mosto 100% malta Pilsen; Mostos 25, 60, 80, 120 y 300 EBC: mostos congresos con maltas caramelo de los respectivos colores	21
Figura 12 – Estructura básica de una columna capilar para cromatografía de gases. ..	22
Figura 13 – Cromatograma realizado con columna capilar para mostos.....	23
Figura 14 – a) Reacción general para la formación de DMS y DMSO a partir de SMM b) Interacción entre la presencia o ausencia de SMM, DMS y DMSO en las etapas de	

producción de mosto y cerveza y los factores que influyen en el desarrollo final de DMS en exceso en cerveza.....	25
Figura 15– a) Localización de los receptores de la lengua para los sabores dulce, salado, ácido y amargo en la lengua humana (Mason <i>et al.</i> , 2002) b) Metodología general del análisis sensorial (Saens y Araya, 1985).....	27
Figura 16 – Diagrama de bloque general para la metodología empleada.	29
Figura 17 – Escala de intervalo unipolar no estructurada para determinación de intensidad de sabor	33
Figura 18 – Diseño de bloques completos equilibrados con muestra de referencia.....	34
Figura 19 – Análisis multivariable de parámetros de calidad de malta caramelo. N = 416.	37
Figura 20 – Análisis multivariable de variables del proceso en tostadoras. N=2054.	39
Figura 21 – Relación del color respecto a la temperatura final del proceso. Modelo de dobles cuadrados; $y = -126891 + 11,2022 \cdot x^2$; $R^2 = 39,7\%$	41
Figura 22 – Relación del color respecto a los tiempos de proceso de caramelizado y tostado. Modelo exponencial: $y = \exp(4,20614 + 0,00649371 \cdot x)$; $R^2 = 7,31\%$. 41	
Figura 23 – Relación del color respecto a la humedad de la materia prima a la entrada. Modelo no lineal; $y = (11,8237 + 0,000296978 \cdot x^2)^2$; $R^2 = 0,12\%$	42
Figura 24 – Histograma comparativo de la frecuencia de producción de cada color de malta por máquina tostadora	46
Figura 25 – Diagrama de cajas y bigotes para la comparación de la duración del proceso de producción de malta caramelo por tostadora (N=1066) (a) y para la comparación de la temperatura final alcanzada en el proceso de producción de malta caramelo por tostadora (N=1039) (b).	47
Figura 26– Gráfico Color malta caramelo versus la relación de temperatura final de proceso sobre el tiempo de proceso.....	49
Figura 27 – Cantidad de extracto con molienda fina versus contenido de proteína para malta Pilsen. Modelo de dobles recíprocos; $y = 1(0,0136927 - 0,0144288x)$; $R^2 = 51,1\%$)	53
Figura 28 - Gráfico Color malta caramelo versus la relación de extracto fino sobre el nivel de proteína de la malta Pilsen proveniente del mismo cajón de malta verde base para la malta caramelo	53

Figura 29– Distribución de la producción para las maltas caramelo según su color	55
Figura 30 – Evolución de los parámetro del modelo RGB con el aumento de color de maltas	58
Figura 31 – Evolución de los parámetro del modelo HSL con el aumento de color de maltas	58
Figura 32 – Color EBC de mosto versus la luminosidad de los granos. Se marca una acumulación de puntos probablemente resultado de errores experimentales.	61
Figura 33 – Identificación de puntos no representativos de la curva de R para la confección de un modelo predictivo del color	62
Figura 34 – Gráfico de outliers con límites Sigma (σ). Media: 322,08; Desviación estándar: 90,6; n = 424.....	63
Figura 35 – Scatter plot de modelo para la estimación de color en maltas caramelo....	65
Figura 36 – Evaluación de 18 parámetros organolépticos en cervezas con 15 y 20% de malta caramelo. Número de jueces: 10.	69
Figura 37 – Valor promedio de cada atributo organoléptico por tipo de cerveza (N = 10)	70
Figura 38 – Coeficientes de variación (desviación estándar/promedio) para cada atributo.....	70
Figura 39 – Densidad de mosto y cerveza en las etapas de filtración, cocción y fermentación para elaboraciones con 20, 15 y 0% de malta caramelo	71
Figura 40 – Análisis sensorial (valores promedio) de cervezas elaboradas con 15% de maltas caramelo A y B. Número de jueces: 6.....	72
Figura 41 – Análisis sensorial de cervezas elaboradas con 10% de maltas caramelo A y B. Valores relativos a la cerveza Pilsen.....	73
Figura 42 – Perfil cromatográfico para mostos con distintas concentraciones de malta caramelo. Columna GS-Q. Programa: 70°C (2 min), R=25°C/min, 190°C (10 min)	76
Figura 43 – Variación de la línea base del detector FID influenciada por el programa de temperatura del horno en cromatografía de gases.....	78
Figura 44 – Cromatogramas para mosto Pilsen (0% malta caramelo).	79

Figura 45 – Coeficientes de variación para las áreas de los peaks cromatográficos en mosto Pilsen, caramelo A y caramelo B.	82
Figura 46 – Áreas promedio de cada peak en mosto Pilsen, mosto caramelo A y mosto caramelo B.....	83
Figura 47 – Coeficientes de variación para las áreas de los peaks cromatográficos en mosto Pilsen, caramelo C y caramelo D.....	86
Figura 48 – Áreas promedio de cada peak en mosto Pilsen, mosto caramelo D y mosto caramelo C.	87
Figura 49 – Perfil mosto Pilsen con y sin adición de 3-metilbutanal.	90
Figura 50 – Proyección de Harworth para α - y β - piranosa de la D-glucosa	113
Figura 51 – Representación del tiempo de retención para un compuesto con retención (t_r) y sin retención (t_o) para el cálculo del factor de capacidad	119
Figura 52 – Representación de los factores para el cálculo del factor de cola	121
Figura 53 – Secuencia de muestreo con Headspace.	122
Figura 54 –Representación gráfica de las variables Temp. Máxima, Temp, final, Días de germinación, % humedad de la malta verde al inicio del proceso de caramelizado y tostado, y duración del proceso para el subespacio generado con los primeros 3 componentes principales extraídos de un PCA.....	126
Figura 55 – Relación de los parámetros de proceso de malta caramelo (duración y temperatura final) por máquina tostadora.....	127
Figura 56 – Evolución del color de malta caramelo respecto a los parámetros R, G, B y L medidos con el dispositivo RGB Color Analyzer.	131
Figura 57 – Representación de los residuos del modelo elaborado para la predicción de color de maltas caramelo a partir del parámetro R.....	132
Figura 58 – Representación gráfica del modelo final para la predicción de color de malta caramelo a partir de R	132
Figura 59 – Representación de la “Rueda de los sabores en cerveza”, basada en el trabajo de Morten Meilgaard.....	133
Figura 60 – Cromatograma de cerveza con 10% malta caramelo en programa isotérmico a 100°C	134

Figura 61 – Cromatograma de cerveza con 10% de malta caramelo en programa 70°C(2 min);R1=25°C/min; 190°C (10 min).....	134
Figura 62 – Cromatograma de cerveza comercial (Austral Pale Ale) en programa 70°C (1,5 min); R1= 25°C/min hasta los 100°C ; R2=10°C/min; 190°C (10 min).....	134
Figura 63 – Cromatogramas de la inyección de agua destilada (3µl) para la determinación de la línea base. Programa: 70°C (1,5 min); R1=25°C/min (hasta 122°C); R2= 5°C/ min (hasta 185°C); R3=0,5°C/min (hasta 190°C); 190°C (10 min)	135
Figura 64 - Diagrama de cajas y bigotes de la comparación de cada uno de los peaks conservados en mosto Pilsen, mosto caramelo A (10%) y mosto caramelo B (10%)	138
Figura 65 – Cromatogramas de tres repeticiones de la dilución de 3-metilbutanal en agua destilada (F=1000). Programa: 70°C (1,5 min); R1=25°C/min (hasta 122°C); R2= 5°C/ min (hasta 185°C); R3=0,5°C/min (hasta 190°C); 190°C (10 min).....	140
Figura 66 – Cromatogramas de tres repeticiones de la dilución de 3-metilbutanal en mosto pilsen (F=1000). Programa: 70°C (1,5 min); R1=25°C/min (hasta 122°C); R2= 5°C/ min (hasta 185°C); R3=0,5°C/min (hasta 190°C); 190°C (10 min).....	141
Figura 67 – Representación de los tiempos promedio de los peaks en P6, Q6 y R1 junto con sus intervalos de confianza (HSD de Tukey, 95%).....	142
Figura 68 – Representación de los tiempos promedio de los peaks en P7, Q7 y R2 junto con sus intervalos de confianza (HSD de Tukey, 95%).....	142

1. Introducción General

1.1. Malterías Unidas S.A.

Malterías Unidas S.A. (Maltexco) es una empresa cuyo rubro es la fabricación de cebada malteada. Elabora productos para la industria de alimentos y bebidas a partir de este producto. La cebada malteada o malta es la materia prima base de la cerveza. Es una fuente de almidón, el cual se degrada a azúcares reductores que son fermentados por levaduras para producir etanol, obteniéndose una bebida con bajo a moderado grado alcohólico.

El presente desarrollo de tema de memoria se llevó a cabo en la empresa Malterías Unidas S.A., en su Departamento de Ingeniería y Desarrollo. El departamento ha impulsado el avance de productos de alta calidad mejorando los procesos internos de la planta. Esto, en conjunto con una permanente actualización en el rubro, pretende abrir nuevas oportunidades de negocio, por ejemplo, para extracto de cebada tostada y extensores de cacao, productos derivados de la cebada y cebada malteada respectivamente.

Malterías Unidas S.A. también ha impulsado el desarrollo de la microcervecería y cervecería artesanal en Chile y la región latinoamericana participando y promoviendo actividades como el Chilean Beer & Drink Experience (Andes Wines, 2011), Copa de las Cervezas de América (Alma Cervecera, 2011) y la Cena Mensual de Cerveceros (Baserga, 2012). Este sector industrial está en crecimiento y es un nicho donde conocimientos de la biotecnología confluyen con los avances en tecnologías de secado y transferencia de calor, filtración y procesos de separación, fermentación entre otros.

1.1.1. El mercado de las cervezas

El mercado de las cervezas se divide según volumen de producción en cervecería casera, microcervecería, brewpub, Regional Craft Brewery, entre otros (Trivelli, 2010). La elaboración de cervezas ha tenido una creciente expansión. En Chile el consumo de esta bebida aumentó un 36% en 5 años llegando desde los 25,4 litros por persona el 2002 a 34,5 litros el 2007, subiendo a 39 litros por persona el año 2011 (Todo Vinos, 2008; Alma Cerveza, 2011; Saavedra, 2007). A nivel mundial la producción ha mantenido un alza permanente siendo hoy alrededor de dos mil millones de hectolitros (Apostol, 2009).

En Chile la principal maltería es Maltexco - Malterías Unidas S.A. la cual aporta anualmente 100.000 toneladas de cebada malteada además de extracto de malta, maltas especiales, harina de malta y otros derivados de la cebada, para el mercado nacional e internacional. Dentro de su proceso de expansión hacia mercados externos, Maltexco firmó el año 2009 un acuerdo de distribución exclusiva de maltas especiales

en el mercado de Craft Brewers¹ con la empresa Brewers Supply Group, principal proveedor de materias primas y accesorios para cervecería en Estados Unidos (Trivelli, 2010). Para poder competir, la empresa necesita estandarizar sus productos y poder aumentar su oferta en cantidad y variedad. Es por esto que es importante estudiar el impacto de la malta en la calidad de la cerveza, en particular este trabajo se enfocó en la malta de tipo caramelo y su impacto en la elaboración de cervezas.

1.2.La malta

La malta corresponde a cebada parcialmente germinada detenida en su proceso por deshidratación. El proceso completo se denomina malteo. En Chile se obtiene a partir de cebada de dos filas². Los granos de malta poseen un contenido de humedad bajo (2 al 5 % p/p) y elevado poder diastásico (poder enzimático otorgado principalmente por α - y β -amilasa además de proteasas).

La malta es la principal fuente de almidón en el proceso cervecero, el cual es hidrolizado enzimáticamente en la maceración (etapa del proceso cervecero) y fermentado por las levaduras produciendo etanol. Además es fuente de proteínas involucradas en la estabilidad de la espuma de la cerveza, sabores y ciertos resultados no deseados como la turbiedad (Hough, 1982). Existen 5 tipos de maltas denominadas maltas base, estas son las Maltas Pilsen, Pale Ale, Vienna, Munich, y Belgian Munich, diferenciadas principalmente por el rendimiento de azúcares extraíbles como resultado de la degradación del almidón y por su coloración (Álvarez, 2011). Maltexco fabrica malta Pilsen.

1.2.1. El almidón

El almidón es la reserva energética en los vegetales como el glucógeno es para los animales. Estas moléculas son compuestas sólo por monómeros de glucosa y por tanto son homopolímeros. La fórmula general del almidón es $(C_6H_{10}O_5)_n$ y se organiza de dos maneras: como polisacárido lineal – amilosa – representa el 20% del almidón; y como polisacárido ramificado – amilopectina – representa el 80% del almidón (Carey, 2010; Hough, 1982, Briggs, 1998). La Figura 1 representa esquemáticamente esta organización.

El monómero de glucosa corresponde a una aldosa de 6 carbonos (aldohexosa). Posee dos grupos funcionales, un grupo carboxilo y un grupo carbonilo, que son capaces de

¹ Mercado conformado por el segmento Microbrewery (producción menor a 15 mil barriles), Brewpub (cervecerías-restaurant) y Regional Craft Brewery (producción entre 15 mil y 2 millones de barriles) (Trivelli, 2010)

² Una cebada de dos filas o carreras posee dos hileras de granos, uno a cada lado de un tallo central o axis y que en conjunto con filamentos que brotan de él forman la espiga de la cebada. También las hay de 6 filas (Hough, 1982).

reaccionar entre si y producir una ciclación denominada piranosa (Carey, 2010). Esta forma es energéticamente más estable y es como comúnmente se encuentra en la naturaleza (D-(+)-glucosa o dextrosa), una figura del proceso puede verse en el anexo A. Cuando forma parte del almidón, en su forma de amilosa, cada monómero de glucosa está unido al siguiente por un enlace glucosídico $\alpha(1-4)$ haciendo que el grupo reductor ubicado en la posición 1 pierda su funcionalidad por ser parte del enlace. Así una larga cadena de monómeros de glucosa tiene el mismo poder reductor que un solo monómero de glucosa. Este poder reductor fundamenta el nombre de “azúcares reductores” a los polímeros producto de la hidrolización del almidón. En la amilopectina las ramificaciones presentes se deben a un enlace $\alpha(1-6)$ entre los monómeros. El prefijo α y β indican la estereoquímica del enlace. El resto de la cadena de amilopectina conservan los enlaces $\alpha(1-4)$ igual que en la amilosa como se observa en la Figura 2 (Carey, 2010; Hough, 1982).

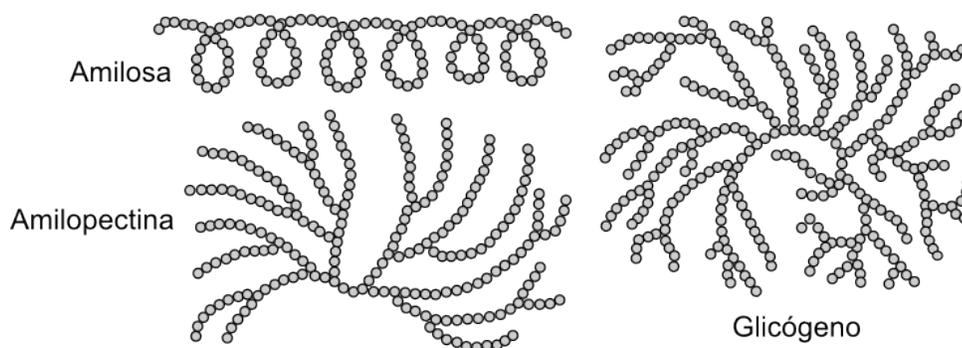


Figura 1 – Organización de monómeros de glucosa en homopolímeros de amilosa, amilopectina y glucógeno. La amilosa y amilopectina conforman en conjunto el almidón.

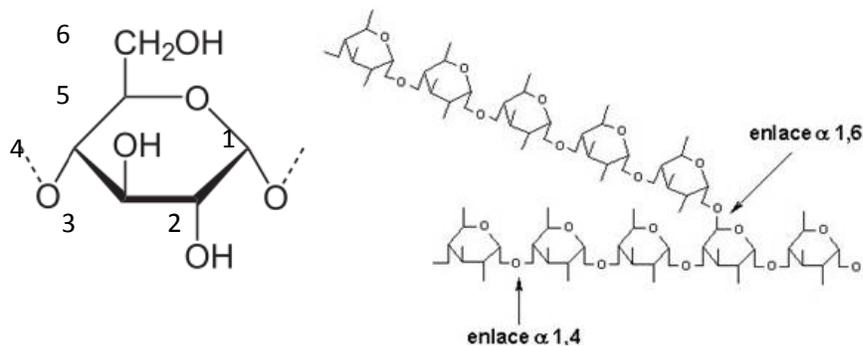


Figura 2 – (a) Estructura cíclica de la glucosa indicando la numeración de los carbonos. (b) Representación de los enlaces glucosídicos $\alpha(1-4)$ y $\alpha(1-6)$ encontrados en la estructura del almidón.

La hidrólisis de almidón realizada durante la maceración produce una serie de oligosacáridos de distinto peso molecular. Esta degradación se debe a actividad enzimática del propio grano de malta en donde las enzimas tienen como sustrato un enlace específico de la cadena de glucosa, las más importantes son la α y β -amilasa. Endo y exoenzimas hidrolizan sólo enlaces en una cadena lineal mientras que otras permiten hidrolizar las ramificaciones. La maltosa es un producto de esta hidrólisis y corresponde a un dímero de la glucosa. Su nombre se deriva precisamente de la

malta ya que es el azúcar reductor más abundante al ser hidrolizada esta por actividad de la α y β -amilasa (Briggs, 1998). Posee un sabor dulce, aunque menor poder endulzante que la sacarosa, ya que esta última es un dímero de glucosa-fructosa, siendo la fructosa más dulce que la glucosa (Carey, 2010).

1.2.2. Estructura del grano de cebada

El almidón y otras estructuras forman parte del grano de cebada. El conocimiento los cambios de su estructura se ocupa como indicador de los procesos biológicos internos que vive el grano, procesos que se controlan en el malteo y que determinan su calidad como producto cevecero.

El grano de cebada es elongado y cónico en sus extremos como se muestra en la Figura 3. La cáscara es rota o truncada en el punto donde antes estaba adosado al resto de la espiga cuando aún no era cosechado (extremo proximal). Por debajo de la cáscara (constituida por la lemma y palea) existe una variedad de estructuras que envuelven al grano. Del exterior al interior existe el pericarpio, testa, aleurona, región subaleurona, y región central, estas dos últimas forman el endospermo amiláceo el cual contiene al almidón, de interés para el proceso cevecero. La testa delimita el interior del exterior, posee polifenoles (proantocianidas) o comúnmente llamados taninos los cuales son indeseados en la cerveza pues producen turbiedades. La testa restringe la transferencia de sustancias solubles como aminoácidos, azúcares, sales y proteínas para todo el grano excepto para el embrión, el cual está separado de las reservas de nutrientes por un epitelio (epitelio escutelo). Existen varias estructuras que en conjunto conforman el embrión (ver Figura 3), estas estructuras forman el eje del embrión que aparece como un ápice cuando la germinación comienza (Briggs, Boulton, Brookes y Stevens, 2004; Ministerio de agricultura, pesca y alimentación, 2005; De Francesco, González, 2000; Hough, 1982).

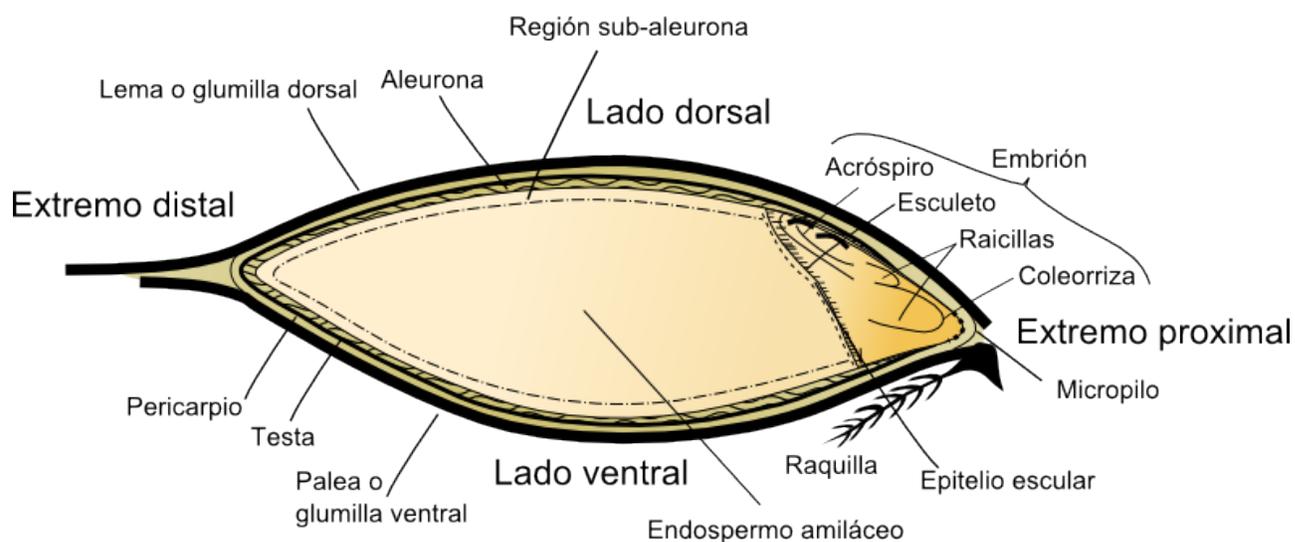


Figura 3 – Sección longitudinal de un grano de cebada. Se muestran las capas del grano y estructuras que forman al embrión, las cuales sufren transformaciones durante el proceso de malteo. Modificado de Briggs *et al.*, 2004 y Hough 1982.

Con excepción del embrión, todas las estructuras del grano están *muertas* (Briggs *et al.*, 2004) y las que están al exterior de la testa, infectadas por poblaciones de microorganismos, los que aportan también con actividad enzimática para la degradación del almidón en la maceración para la elaboración de la cerveza. La mayor parte del endospermo corresponde a células de pared delgada empacadas con gránulos de almidón en una matriz protéica. Existen gránulos de almidón grandes ($20 \mu\text{m} \pm 3,9$), medianos ($7,5 \mu\text{m} \pm 2,9$) y pequeños ($2,3 \mu\text{m} \pm 0,7$), esta diferencia de tamaño y la cantidad de cada uno de ellos impacta en la facilidad para la hidrólisis y el aprovechamiento de la extracción del almidón. Estos gránulos poseen regiones cristalinas y amorfas donde aparentemente la amilosa se halla en el centro, siendo el resto amilopectinas (Hammond, van Waesberghe y Wheeler, 2007). Las paredes de las células del endospermo poseen gran cantidad de carbohidratos como β -glucanos³ y hemicelulosa. La aleurona, que se encuentra en la periferia del endospermo corresponde a una capa de células ricas en proteínas y exentas de almidón la cual posee el grosor de 3 células delgadas⁴. Estas células poseen reservas de lípidos y proteínas además de sus organelos funcionales. Tanto la aleurona y como el escutelo secretan enzimas hidrolíticas que degradan el endospermo produciendo azúcares y aminoácidos para sostener el crecimiento de la planta que se desarrollará del grano. Además durante el crecimiento el embrión libera giberelina, una fitohormona que estimula la síntesis de enzimas en la capa de la aleurona lo que acelera la degradación de las reservas nutritivas. Así, las enzimas atacan al endospermo desde el extremo proximal al distal de forma progresiva (Briggs *et al.*, 2004; Hough 1982).

1.2.3. Gelatinización y licuefacción

Los procesos de gelatinización y licuefacción tienen influencia tanto en la maceración, para facilitar la acción enzimática, como en el proceso de elaboración de una malta especial llamada malta caramelo. Cuando los gránulos de almidón son sumergidos en agua y elevada su temperatura de forma incremental, se alcanza un punto en que las estructuras de la matriz protéica que los envuelven, y la estructura del gránulo, empiezan a perderse. El grano de cebada completo empieza a inflamarse de forma irreversible. Se dice que la estructura ha gelatinizado cuando este fenómeno ha comenzado. En primer lugar los enlaces débiles entre las moléculas de almidón de las regiones amorfas del granulo son interrumpidas y este empieza a hidratarse por el ingreso de moléculas de agua entre las cadenas de amilopectina y amilasa. La viscosidad se incrementa al máximo. La temperatura de gelatinización dependerá del tamaño del gránulo (pequeño, mediano, grande) el cual puede variar dependiendo del

³ Polisacáridos de celulosa con enlace glicosídico $\beta(1-3/1-4/1-6)$ en distintas posiciones del anillo de glucosa, formando ramificaciones no necesariamente correspondientes a la del almidón.

⁴ Estas células son básicamente paredes celulares presionadas entre sí (Briggs *et al.*, 2004)

grado de germinación de la malta y de su variedad. La temperatura de gelatinización suele estar entre los 60 y 66°C para gránulos medianos y grandes, mayor a 70°C para los pequeños (Hammond *et al.*, 2007). Esta disposición abierta de las estructuras del endospermo hace que las cadenas de polisacáridos y polipéptidos sean más vulnerables a la acción enzimática (α - y β -amilasa además de proteasas), con ello se hidroliza el interior de las cadenas de amilosa y amilopectina, las estructuras protéicas se debilitan y la viscosidad disminuye. Se dice que el almidón ha licuado. Esta licuefacción permite la solubilización de azúcares fermentables, dextrinas y aminoácidos, cruciales para el posterior proceso de fermentación.

1.3. Proceso de elaboración de malta (malteo)

El diagrama de la figura 4 muestra la secuencia de cada uno de las operaciones que se llevan a cabo para producir malta, desde la recepción y almacenamiento de la cebadas hasta el almacenamiento y transporte del producto terminado. Las etapas donde la materia prima sufre algún proceso de transformación son Remojo, Germinación y Secado. Para detalles de cada etapa ver anexo B.



Figura 4 – Diagrama de bloques del proceso de elaboración de malta denominado malteo. La materia prima, cebada, y el producto terminado, malta, se someten a condiciones especiales de guarda mientras que las etapas de transformación corresponden a Remojo, Germinación y Secado.

Durante la recepción al llegar a las plantas de malteo, la cebada se somete a análisis de viabilidad o capacidad germinativa, nitrógeno total, proteína total, friabilidad (medida basada en la dureza del grano), tamaño, densidad aparente, humedad entre otros. El parámetro crítico en esta etapa es el contenido de proteína total el cual es un discriminante de la cebada apta para ser malteada (contenido proteico entre el 9 y 13%) de la que no. El bajo contenido protéico la hacen comparativamente idónea para la producción de cervezas respecto a otros cereales. A menor contenido de proteína mayor es el de almidón y puede extenderse también a una menor presencia de cascarilla (Hough, 1982; Sánchez, 2011), se potencia por tanto la extracción de azúcares reductores mientras se disminuyen las proteínas que son causantes de turbiedad e inestabilidad de las cervezas.

Durante el remojo el grano de cebada es rehidratado para activar al embrión. Comienza la respiración celular y con ello el grano se prepara para la germinación. La operación se realiza en grandes tinas, en Maltexco de 60 m³, obteniendo una humedad final del 42 a 45% (Hough, 1982). En la etapa de germinación se controla la humedad y la temperatura del grano de manera de mantener homogéneo el desarrollo de la cebada.

La humedad se mantiene en 40% aproximadamente mientras que la temperatura en 15°C homogenizando reiterativamente lechos poco profundos donde se dispersa el material (Hough, 1982; Briggs, 1998). En esta etapa el grano comienza la degradación de sus reservas nutritivas sintetizando enzimas en la capa de la aleurona las cuales hidrolizan el almidón y las paredes celulares del endospermo (Vriesekoop, Rathband, MacKinlay y Bryce, 2010). El conjunto de estas reacciones bioquímicas se denominan desagregaciones. En el secado el objetivo es detener la desagregación y conservar la actividad enzimática del grano. Maltas con alto poder diastásico son producidas a bajas temperaturas y tiempos prolongados de secado, viceversa para maltas más oscuras pero menor poder enzimático (Hough, 1982; Vandecan, Saison, Schoupe, Delvaux F. y Delvaux F.R., 2010). En Maltexco esto se realiza en hornos donde se sopla aire caliente a temperaturas máximas de 80°C.

1.4.Maltas especiales

Las maltas especiales tienen baja o nula actividad enzimática. Aportan colores, sabores y aromas que la malta base no puede entregar. No son una fuente potencial para extraer azúcares reductores como lo es la malta base. Se ocupan en baja proporción, usualmente entre un 5 y 10% del peso total de malta a utilizar para producir cerveza. El color y la espuma son las primeras contribuciones que se notan en cervezas con maltas especiales, seguidas por el aroma, estos factores contribuyen al sabor y la sensación en boca definen cada estilo de la cerveza (Gruber, 2001).

Las maltas caramelo y maltas tostadas son dos tipos de maltas especiales, diferentes por su proceso de producción. Son obtenidas con regímenes distintos de temperatura y tiempo en equipos secadores de tambor rotatorio llamados tostadoras. Una malta tostada se produce por la adición de una etapa de tostado de la malta Pilsen elaborada según el esquema de la Figura 4, una malta caramelo en cambio, es una modificación de la etapa final de secado de la cebada germinada, tomándola directamente de los lechos de germinación (malta verde) y llevándola a la tostadora. Estas tostadoras alcanzan temperaturas más altas que el horno de secado de malta Pilsen, con ello se produce un caramelizado del almidón y luego un oscurecimiento por tostación. Un esquema de este proceso puede verse en la Figura 5.

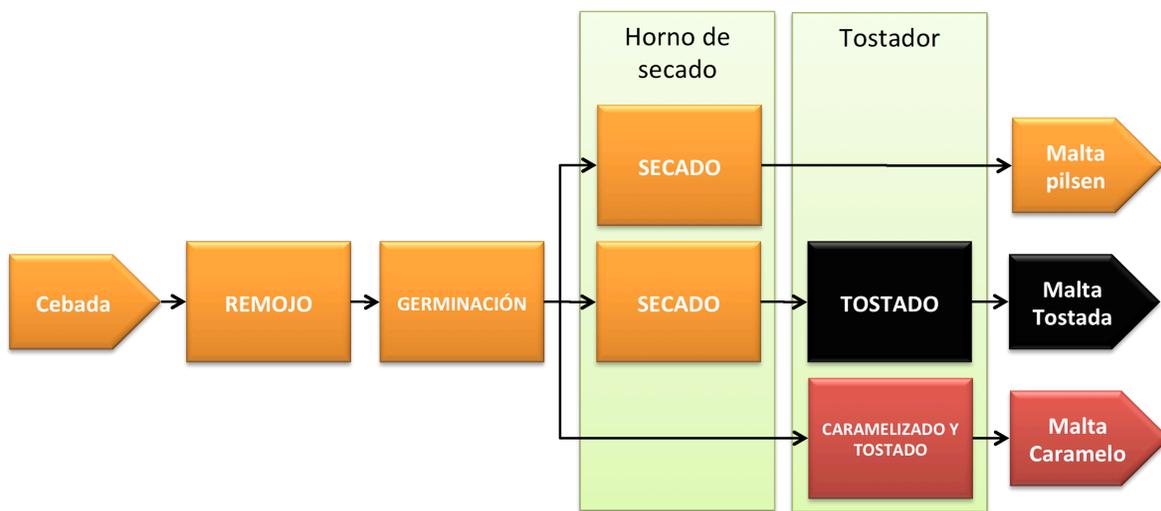


Figura 5 – Diagrama de bloques de la elaboración de malta base y maltas especiales.

Existe una amplia gama de maltas caramelo, diferenciadas principalmente por el color. Las hay desde rojas pálidas hasta pardos muy oscuros, prácticamente negras. El oscurecimiento también va acompañado por cambios en su perfil organoléptico. Maltas caramelo de colores cercanos al rojo pálido poseen un sabor predominantemente dulce (debido a la caramelización de los azúcares provenientes del almidón), mientras que maltas caramelo de colores de rangos oscuros (cercanas al pardo o negro) son más amargas. Análisis de color, medido en unidades EBC (European Brewery Convention), y nivel de extracto son realizados para determinar el aporte en color y cuerpo a las cervezas que las utilizan. También mejoran la estabilidad de los sabores en la cerveza debido a la presencia de compuestos antioxidantes (Woffende, Ames y Chandra, 2001).

1.5.La cerveza

La cerveza es una bebida alcohólica hecha con granos germinados de cebada (malta) y otros cereales fermentados en agua con la adición previa de lúpulo. Esta combinación de materias primas se deriva de la denominada Ley de Pureza, declarada en Baviera en 1516, pero su historia se remonta a más de 5000 años (Hough, 1982; Ibañez 2011; Azxoytia, 2010). Actualmente existen 3 tipos generales de cervezas diferenciadas por las levaduras que se utilizan (Álvarez, 2011):

Cervezas tipo Ale: Asociadas a la tradición Inglesa y Belga, fermentadas con levaduras que ascienden a la superficie durante el proceso de fermentación (levaduras denominadas “altas”, *Saccharomyces cerevisiae*), de sabor frutal pero con gran amplitud de otros sabores.

Cervezas tipo Lager: Asociadas a la tradición Alemana y del norte de Europa, posteriormente expandidas a Estados Unidos. Fermentadas con levaduras que se hunden en el proceso (levaduras denominadas “bajas”, *Saccharomyces carlsbergensis*) y de sabores más bien neutros y refrescantes.

También existe las cervezas tipo Lambic, que se fermentan con levaduras “salvajes”, es decir, mediante una fermentación natural sin cepas específicas. Entre ales y lagers hoy existen más de 90 estilos distintos, caracterizados uno a uno por el Programa de Certificación de Juez Cerveceros (Beer Judge Certification Program, BJCP). Uno de los factores que permiten la gran gama de estilos es justamente la existencia de una gran variedad de maltas bases y también de maltas especiales, estas últimas responsables del color y sabores característicos de muchos estilos.

1.6. Proceso de elaboración de cervezas

La elaboración de cervezas cuenta con 6 etapas principales representadas en el diagrama de bloques de la Figura 6. Para una descripción de cada etapa ver anexo C.

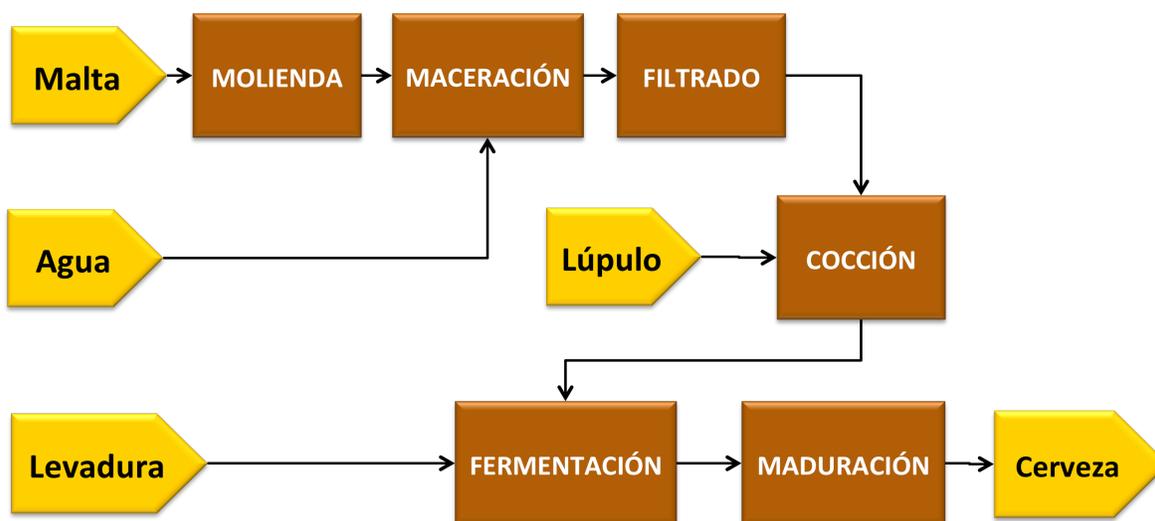


Figura 6 – Diagrama de bloques de un proceso cervecero. Se representan en amarillo las materias primas y en café las operaciones unitarias y el producto final. Adaptado de Hough (1982).

Las materias primas son las mencionadas con anterioridad (malta, agua, lúpulo, levadura) y se agregan en momentos distintos del proceso. Este empieza con la molienda y la rehidratación del grano de malta reactivando las enzimas presentes las que empiezan a degradar el almidón y estructuras protéicas que no habían sido afectadas con anterioridad en la germinación. La molienda previa es para disminuir el tamaño de partícula y favorecer la extracción de los compuestos solubles. La etapa de maceración consiste justamente en dar las condiciones apropiadas (pH, temperatura y cofactores principalmente) para favorecer una determinada acción enzimática por un tiempo específico. Las principales enzimas, que permanecen activas luego de la deshidratación de la malta, y que por tanto participan del proceso de sacarificación son la α -amilasa, la β -amilasa, la glucosamilasa, la dextrinasa límite y la invertasa (Vriesekoop *et al.*, 2010). Además también existe presencia de celulasas, hemicelulasas, y enzimas proteolíticas (Hammond *et al.*, 2007). A partir del almidón se obtienen azúcares fermentables y dextrinas (azúcares que, por su tamaño, no son

fermentables). También se obtienen aminoácidos que favorecerán el crecimiento celular de las levaduras al inicio de la fermentación. La Tabla 1 muestra las enzimas que actúan, sus sustratos, productos y condiciones óptimas.

La gelatinización y licuefacción del almidón favorecen la acción enzimática sobre las cadenas de almidón. También existe liberación de polipéptidos presolubilizados y aminoácidos además de la liberación e hidrólisis de β -glucanos, pentosanos y otras moléculas de pared celular del grano. La diferencia de temperaturas óptimas entre las distintas enzimas permite el uso de perfiles de temperatura versus tiempo para favorecer determinada acción enzimática, proteólisis o sacarificación.

Del macerado se obtiene un mosto líquido con alto porcentaje de sustancias solubles y sólidos correspondientes a los granos agotados. Una composición típica del mosto dulce, luego de la filtración para separar los sólidos (granos agotados), puede observarse en la Tabla 2.

Tabla 1 – Enzimas activas en la maceración para el proceso de sacarificación. La temperatura del proceso de maceración se determina para favorecer la acción enzimática. Fuentes: (a) Álvarez, 2011; (b) Hough, 1982; (c) Vriesekoop *et al.*, 2010; (d) Rico, 1990; (e) MacGregor *et al.*, 1994; (f) Basanta, 2009.

Enzima	Reacción	Sustrato	Productos	Temperatura óptima	pH óptimo
α -amilasa	Endohidrólisis enlaces glicosídicos $\alpha(1,4)$ de amilopectina y amilasa	Amilosa, amilopectina	Glucosa, maltosa, dextrinas	65-75°C ^c ; 70°C ^b ; 71-75°C ^a	5,5 ^b ; 5,6-5,8
β -amilasa	Exohidrólisis penúltimo enlace glicosídico $\alpha(1,4)$ de amilopectina y amilasa por extremo no reductor	Dextrinas, amilosa, amilopectina	Maltosa	60-65°C ^c ; 60°C ^b	5,2 ^b ; 4,7-5
Glucos-amilasa	Exohidrólisis enlace glicosídico terminal $\alpha(1,4)$ de amilopectina y amilasa extremo no reductor	Maltosa, dextrinas, amilosa, amilopectina	Glucosa	35-40°C ^c	4,0-5,0 ^d
Dextrinasa límite	Hidrólisis de enlaces glicosídicos $\beta(1,6)$ (lugar de ramificaciones en amilopectina)	Amilopectina	Dextrinas, maltosa	55-60°C ^c	5,5-6,6 ^e
Invertasa	Hidrólisis de sacarosa	Sacarosa	Glucosa y Fructosa	33-35°C ^c	5,5 ^f
Glucanasas	Degradación de β -glucanos	β -glucanos	β -glucanos de menor peso molecular	35-45°C ^a	4,5-5,0 ^f
Proteasas	Degradación de proteínas	Polipéptidos	Polipéptidos menores, oligopéptidos y aá.	45-55°C ^a	4,8-5,5 ^b

Tabla 2– Composición porcentual de carbohidratos (CHO) y aminoácidos (Aá) de un mosto típico obtenido mediante un método de infusión simple. Modificado de Briggs, 1998; Stewart, 2009 y Coghe *et al.*, 2005.

CHO	[%]	Aá	[%]	Aá	[%]	Aá	[%]	Aá	[%]
Glucosa	10-15	Pro	22,6	Gln	5,9	Asn	3,5	Trp	2,7
Fructosa	1-2	Leu	7,8	Ala	5,7	Asp	3,3	His	2,7
Sacarosa	1-5	Arg	7	Tyr	4,9	Ser	2,9	Gly	1,8
Maltosa	45-60	Phe	6,8	Lys	4,3	Glu	2,9	Met	1,4
Maltotriosa	15-20	Val	6,8	Ile	4,1	Thr	2,9		
Dextrinas	20-30								

La maltosa es el carbohidrato con mayor concentración mientras que la prolina el aminoácido con mayor presencia. Estos pueden ser parte de Reacción de Maillard, la cual se verá más adelante.

Luego, durante la cocción se produce la concentración, esterilización y precipitación de proteínas por denaturación térmica; formación de color debido la caramelización de azúcares y reacción de Maillard (Buera, Chirife, Resnik y Wetzler, 1987); y formación de compuestos que confieren sabor y aromas en el mosto. En el hervor se adiciona lúpulo, una flor perteneciente a la familia de las cannabixaceas, que entrega los sabores amargos típicos de la cerveza y componentes antioxidantes (Álvarez, 2011; Hough, 1982; Álvarez, 2007; Palmer, 1999). Se produce la clarificación del mosto por la formación del *trub*, turbiedades precipitadas las cuales pueden ser separadas.

En la fermentación los azúcares presentes en el mosto hervido son metabolizados por las levaduras para producir etanol y la consecuente liberación de dióxido de carbono. Los aminoácidos y compuestos nitrogenados son consumidos como nutrientes en el crecimiento celular. En el mosto también están presentes iones zinc (provenientes del agua utilizada y su pretratamiento), los cuales actúan como cofactores en las rutas metabólicas de las levaduras. La temperatura de fermentación se mantiene en 20°C aproximadamente para levaduras Ale (*Saccharomyces cerevisiae*) y 15°C aproximadamente para las tipo Lager (*Saccharomyces carlsbergensis*) (Álvarez, 2011; Daniels, 1996; Hough, 1982, Palmer, 1999). Se obtiene un producto levemente acidificado con pH aproximado de 4,5.

La maduración se produce una precipitación de sustancias no deseables como proteínas y polifenoles, también se produce la gasificación que cervecería artesanal se logra con la adición de glucosa al recipiente final de la cerveza, produciendo una segunda fermentación y reteniendo el dióxido de carbono producido, el que se diluye gasificando la bebida.

2. Antecedentes

2.1. Elaboración de malta caramelo en Malterías Unidas S.A.

El proceso general de elaboración de maltas caramelo consiste en mantener a alta temperatura la humedad del grano, produciendo una licuefacción del contenido del endospermo, obteniendo un líquido azucarado. Esta etapa se denomina caramelización. Luego el producto es secado y el líquido solidificado en la etapa de tostado. El endospermo queda convertido en una masa semicristalina rica en azúcar y de agradable sabor (Briggs, 1998). Para alcanzar distintos niveles de color el grano se somete a etapas de tostado donde azúcares reductores y grupos aminos reaccionan para producir melanoidinas, compuestos pardos de alto peso molecular, en la Reacción de Maillard.

En Maltexco las maltas caramelo se venden por rango de color, siendo esta característica la única que diferencia a un producto de otro en la línea de maltas caramelo. Su proceso de producción se lleva a cabo en dos equipos Leopad originalmente diseñados para el tostado de café. Estas máquinas están compuestas principalmente por un tambor rotatorio en su cuerpo interno. La temperatura interna del tambor es elevada con aire caliente proveniente de una turbina a gas. El tambor cuenta con un extractor para separar raicillas y cáscaras secas que se desprenden durante el proceso. Existen válvulas que regulan el flujo de aire circulante, pudiendo tener un ciclo cerrado de aire o diferentes porcentajes de purga junto con el ingreso de aire fresco. Durante el proceso se controla la temperatura en puntos críticos, el tiempo de proceso y los flujos de aire. Cuentan también con un enfriador para cuando el grano está seco. Figura 7 muestra una imagen de la interfaz de control de los equipos representando un perfil del equipo.

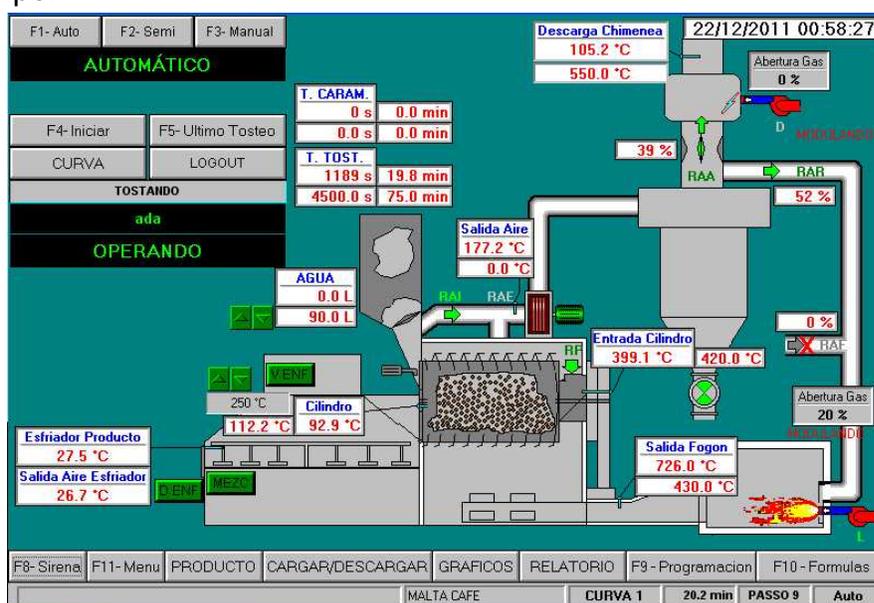


Figura 7 – Perfil longitudinal de un equipo de tostación para malta caramelo y malta tostada utilizado en Malterías Unidas S.A. Se muestra la interfaz del software de control de proceso.

El inicio del proceso se da automáticamente cuando la temperatura interior del cilindro alcanza los 180°C descargando el contenido de malta verde (900 kilos aproximadamente con un 45% de humedad) al interior del tambor rotatorio. Durante la primera etapa, la caramelización, el aire circulante se mantiene en un ciclo cerrado. La turbina, o fogón, indicado como una llama en la Figura 7, calienta el aire que luego envuelve la capa exterior del cilindro que contiene los granos. Este tambor se mantiene sellado calentando los granos sin que pierdan su humedad mientras ellos aumentan su temperatura. La temperatura se mantiene en 80 grados aproximadamente durante 30 minutos. Con esto se produce una gelatinización del almidón debido a la entrada de moléculas de agua a la red molecular del mismo, licuándolo promovido por la acción enzimática. Luego, el tambor se abre con lo que se extrae la humedad del grano. Existe una purga de aire caliente el cual arrastra el vapor de agua, eliminándolo del sistema, mientras se hace el ingreso de aire fresco a la sección del fogón para calentarlo y luego secar los granos. Esta etapa se conoce como tostado y consta de 3 fases caracterizada cada una por tasas distintas de incremento de temperatura. En general las tasas son crecientes para eliminar el agua remanente. Así el proceso de elaboración de malta caramelo tiene como parámetros críticos el tiempo y temperatura de caramelizado y, para cada fase de tostado la temperatura inicial, temperatura final y duración de esa fase. Esta última etapa también se conoce como curado (Briggs, 1998).

Al finalizar el proceso se vierte agua sobre el tambor para enfriar su interior y se traspa su contenido al equipo enfriador. Este dispersa el grano sobre una superficie amplia y, mediante ventiladores, disminuye la temperatura del grano seco bajo permanente agitación con paletas. Se producen alrededor de 500 kg de grano seco (5% de humedad, aunque es cada vez menor a medida que aumenta el color) que son depositados en contenedores de madera intermedios de 4000 kilos de capacidad cada uno, en total existen 8. Luego la carga pasa a un tamizador para separar las impurezas como raicillas aglomeradas tal que se pueda envasar el producto terminado.

2.2. Medición de color en maltas caramelo.

2.2.1. Unidades de color en malta

Para la medición de color en maltas y cervezas existen tres unidades: escala Lovibond [°L], escala SMR y escala EBC. La escala Lovibond es una de las primeras medidas utilizadas, elaborada por Joseph Lovibond en 1860 (Álvarez, 2011), actualmente se utiliza en buena parte de Europa y Estados Unidos y es común su encuentro en recetas cerveceras provenientes de esos lugares. Es un método visual donde se compara, a través de un cristal y contra una luz controlada, el color de un líquido (que puede ser mosto o cerveza) con el color de un filtro (placa traslúcida de color definido). Si bien es un método estándar, su realización se debe hacer por varias personas por vez y acarrea errores que terminan por generar resultados con alta variabilidad (método 4.1.4.2.8.1 MEBAK). Un método más estandarizado es el Método de Referencia

Estándar o SMR por sus siglas en inglés. Este método usa la espectrofotometría como base de su medición y sus unidades (grados SMR) son lineales con los grados Lovibond con un factor de 1 (Álvarez 2011; Daniels, 1996).

La escala EBC (European Brewing Convention) es el método con el que se informa el color de los productos elaborados por Malterías Unidas S.A. y que está ampliamente aceptado como una forma de facilitar la creación y transferencia de conocimiento en el sector cervecero de Europa (EBC, 2011). El objeto a medir es un mosto. El método se basa en la medición de la extinción o absorbancia en espectrofotómetro a una longitud de onda 430 nm y la multiplicación por 25 (método 4.1.4.2.8.2 MEBAK). Para maltas base su rango de medición es entre 3,6 y 25,3 unidades de EBC. Para maltas más oscuras el mosto se debe diluir y llegar a ese rango para luego multiplicar por el factor de dilución. Esto implica un problema para colores en maltas especiales de colores muy oscuros, como las maltas tostadas, ya que se ha reportado que el decremento de color no es lineal con la dilución (Daniels, 1996). Para las maltas caramelo, en general, se puede hacer la medición sin diluir hasta los 130 EBC (método 4.2.3 MEBAK). Se mide la absorbancia del mosto congreso de malta caramelo en una cubeta de 25 mm, se calcula el color EBC y luego se multiplica por 2 (y por el factor de dilución F en caso de ser necesario), finalmente se resta el color de la malta pilsen que fue usada en el mosto congreso. La Ecuación 1 muestra el cálculo.

Ecuación 1

$$\text{Color Malta Caramelo [EBC]} = (ABS_{430\text{ nm}} \cdot 25 \cdot 2 \cdot F) - (\text{Color Malta Base [EBC]})$$

De acuerdo a este resultado las maltas caramelo se pueden clasificar según la Tabla 3 (método 4.2.3 MEBAK).

Tabla 3 – Valores normales para el color de malta caramelo por tipo de malta caramelo (método 4.2.3 MEBAK)

Tipo de malta caramelo	Unidades EBC
Carapils	4 a 7
Carahell	50 a 70
Caramünich	100 a 130

En el laboratorio de calidad de Malterías Unidas se utiliza siempre un factor de dilución de 10 para maltas caramelo y los colores de los productos medidos van desde 35 a más de 650 EBC.

2.2.2. Problemas en la medición de color en maltas caramelo

El uso de métodos espectrofotométricos para medir el color en maltas se basa en la elaboración del mosto. Para maltas especiales la metodología estándar es la de la elaboración del Mosto Congreso, esta consiste en ocupar 50 gramos de malta total, 50% malta Pilsen (previamente caracterizada por color) y 50% malta especial (caramelo o tostada). La molienda y equipos y la filtración están especificados en el método

4.1.4.2.1 y 4.1.4.2.2 de los Métodos de Análisis Cerveceros (MEBAK) respectivamente. Este procedimiento demora aproximadamente 3 horas ya que incluye el tiempo de molienda, macerado y filtrado. Lo mismo ocurre con el uso de la escala Lovibond, la cual necesita un medio líquido para hacer la comparación de color (el mosto). Por otra parte la producción de maltas caramelo lleva aproximadamente 2 horas por batch, lo que hace imposible un control del color en línea en el proceso acarreando problemas como:

- Poca homogeneidad de los batch, ya que el término del proceso batch se hace de manera visual, mediante la comparación subjetiva con un patrón, por el operador de la tostadora
- Batch retenidos mientras no están listos los análisis de calidad
- Mezcla de productos con diferencias de color

Debido a esto es que nace la necesidad de crear un método que mida el color sobre el grano, no sobre el mosto, y que sea lo suficientemente preciso y objetivo como para tomar decisiones del proceso en línea.

2.2.3. Dispositivo RGB Color Analyzer

Un dispositivo de medición de color fue adquirido y probado para confeccionar un nuevo método de medición de color ajustado a las necesidades productivas existentes. El equipo RGB Color Analyzer (Anaheim Scientific modelo H500, EE.UU.), Figura 8 a), mide la cantidad de color Rojo, Azul y Verde (RGB) presente en un material, así mismo también entrega valores de Tono o Matiz (Hue), Saturación y Luminosidad (HSL).

Los modelos RGB y HSL son espacios vectoriales utilizados para representar matemáticamente un color. La teoría del color empezó con una rueda donde se podían apreciar todos los matices (rojo, azul, verde, amarillo) y la transición entre cada uno. Luego evolucionó al concepto de colores sólidos, que son representaciones tridimensionales de los valores que representan un color como los mostrados en la Figura 8 b) (Ford *et al.*, 1998).

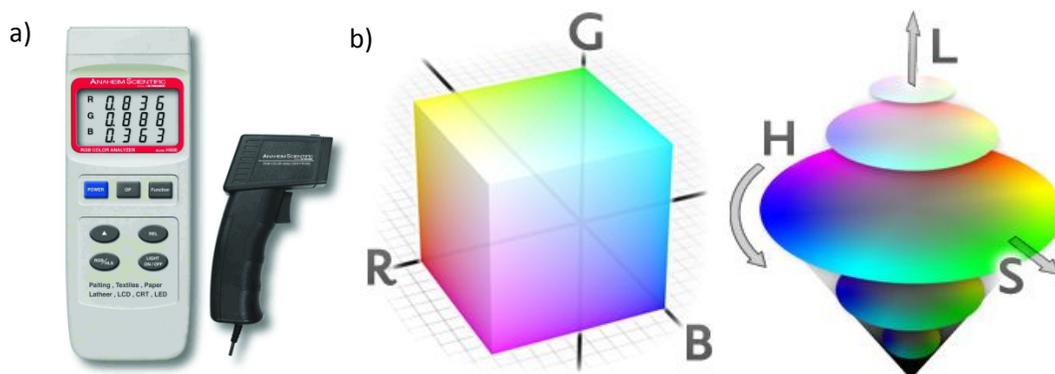


Figura 8 – a) Modelo H500 RGB Color Analyzer con niveles de Matiz, Saturación y Luminosidad b) Representaciones tridimensionales de las teorías de color RGB (*red, green, blue*) y HSL (*hue, saturation, lightness*) (Ford y Robert, 1998)

El modelo RGB es un modelo aditivo, es decir que un color se compone como la suma de las cantidades o intensidades de Rojo, Verde y Azul que refleja un material, así el negro se mide como (0,0,0) y, para el caso del RGB Color Analyzer, el blanco como (1023, 1023, 1023). Este modelo es encontrado en el funcionamiento de la mayoría de las pantallas de televisión y computación. El modelo RGB no es lineal con la percepción humana y es dependiente del dispositivo, además la especificación de los colores en un hardware por la persona es semi-intuitiva al tener que ajustar la cantidad de cada uno de estos colores para llegar al deseado. El modelo HSL es una transformación lineal del RGB, por tanto dependiente del dispositivo y no lineal con la percepción humana, la ventaja que tiene es que es más intuitivo a la hora de seleccionar un color eligiendo su matiz o tono para luego variar el brillo y la saturación. El Matiz o Tono es la composición de la longitud de onda espectral que produce los colores que se ven y sus valores van en forma creciente junto con la percepción desde el rojo al violeta. La Saturación es la pureza relativa del color sobre una escala de grises de igual luminosidad, y la Luminosidad su cercanía con el blanco o el negro (Ford *et al.*, 1998). Para el caso del dispositivo RGB Color Analyzer, los valores van de 0 a 1000.

2.3.Desarrollo de color, sabor y aroma en maltas caramelo

2.3.1. Reacción de Maillard y caramelización

Las maltas caramelo aportan sabores dulces y amargos a las cervezas en donde son ocupadas (Gruber, 2001). Los componentes activos de estos perfiles organolépticos se atribuyen principalmente a intermediarios y productos de la Reacción de Maillard. Ésta consiste en una cadena compleja de reacciones que lideran la formación de sabor, aroma y color, considerada importante en la industria de los alimentos (Davies y Labuza, 1995). Un grupo carbonilo, proveniente de azúcares presentes en las maltas, reacciona con un grupo amino de aminoácidos libres o los disponibles en las proteínas, para formar, en su primera etapa, una glicosamina N-sustituida y luego, tras sucesivas condensaciones, un Compuesto de Amadori y agua. En esta primera etapa no se producen compuestos coloreados. La segunda etapa está influenciada por el medio, pero principalmente se produce una deshidratación y fragmentación del azúcar. En medio ácido se produce una Base de Schiff cíclica, este compuesto es inestable por lo que se libera el grupo amino. A altas temperaturas se produce una fragmentación del azúcar. Los aminoácidos se degradan por la vía de la Reacción de Strecker, especialmente a altas temperaturas formando aldehídos generados por descarboxilación oxidativa de los aminoácidos (producción de CO₂). Al final de esta etapa aparecen compuestos que ofrecen color. En la tercera etapa ocurre una síntesis de compuestos heterocíclicos con nitrógeno con lo que principalmente se obtiene el pardeamiento final del producto. A los compuestos coloreados se les conocen como melanoidinas y tienen alto peso molecular (Davies y Labuza, 1995; van Boekel, 2006). Los compuestos que más aportan sabor y olor en maltas oscuras son moléculas

intermediarias de bajo peso molecular de la reacción de Maillard, los productos finales, como las melanoidinas, son compuestos con baja actividad en el desarrollo de sabor y aroma (Coghe, Martens, D'Hollander, Dirinck y Delavaux., 2004). La Figura 9 muestra la representación de la reacción en general.

Factores que afectan a la cadena de reacciones son la concentración de azúcares reductores y aminoácidos, la temperatura (que aumenta la tasa de reacción con su incremento), la cantidad de agua (que favorece la reacción cuando ronda el 10 o 15% de humedad en el grano, y no a mayores pues se inhiben las reacciones de deshidratación) y el pH, ya que la reacción es favorecida en medios alcalinos (Barreiro, Sandoval y Aleida, 2006; Herrera, Bolaños y Lutz, 2003; Ajandouz, Tchiakpe, Dalle, Benajiba y Puigserver, 2001). La caramelización en sí es otro conjunto de reacciones producidas por efecto del calor que ocurre cuando los azúcares son calentados sobre su punto de fusión, donde, en condiciones ácidas, condensaciones, arreglos y ciclaciones de aldosas y cetosas originan furfural y otros compuestos aromáticos (Barreiro *et al.*, 2006).

En el estudio de la formación de color en sistemas controlados de azúcar y aminoácido se ha encontrado que la caramelización de los azúcares reductores en soluciones acuosas calentadas a 100 y 55°C contribuye por si sola, e independiente a la Reacción de Maillard, a la formación de color, entre un 10 y 36% para sistemas de fructosa-lisina y entre un 25 y 43% en sistemas fructosa-glicina (van Boekel, 2006; Buera, 1987).

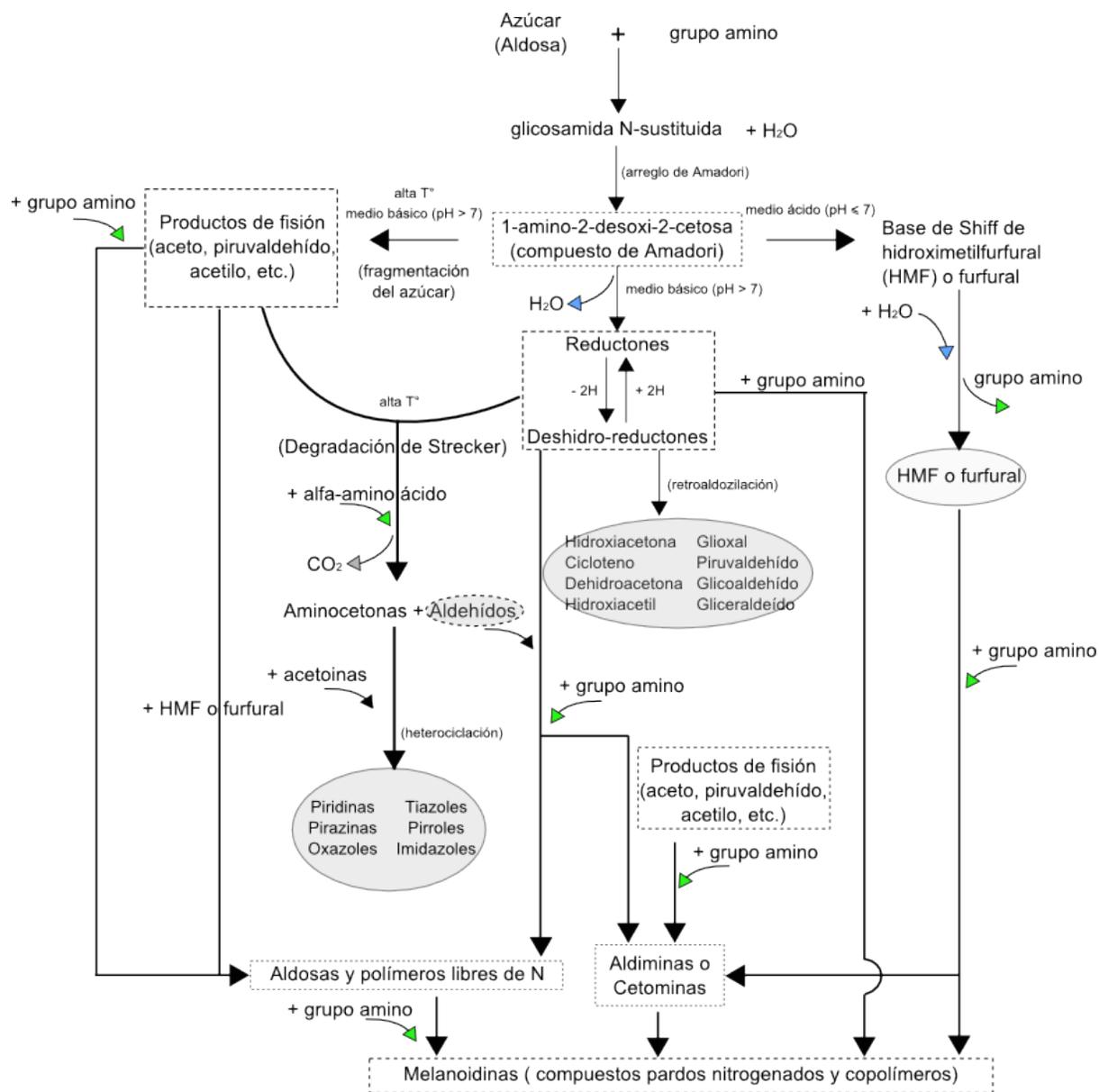


Figura 9 – Esquema general de la Reacción de pardeamiento no enzimático. Implicadas están la Reacción de Maillard y Reacción de Strecker. Adaptado de Hodge (1953), Davies (1995) y van Boekel (2006).

2.3.2. Identificación de compuestos claves en el aroma y sabor

3-metilbutanal y 2-metilbutanal han sido reportados como componentes volátiles responsables del característico olor a malta en cebada malteada y como importantes en el aporte de olor en extractos acuosos de maltas caramelo. Los niveles de estos compuestos son incrementados durante el proceso de tostado alcanzando un máximo a un color cercano a los 100 EBC para luego decrecer a medida que aumenta el color EBC (Beal y Mottram, 1994; Woffenden, Ames y Chandra, 2001; Coghe *et al.*, 2004; Fickert y Schieberle, 1998). Para relacionar las concentraciones de estos compuestos con su aporte en el aroma es usada la técnica de olfatometría (un tipo de análisis sensorial descriptivo) acoplada a cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/O/MS) (Saens y Araya, 1985). El flujo que eluye del GC es dividido en partes

iguales al MS y a un puerto odorífero donde se vaporiza la muestra siendo posible distinguir los distintos olores de los peaks a medida que se separan en la columna capilar, luego cada olor se puede asociar a un peak o un conjunto de peaks identificados por MS u algún otro detector (Oteiza, 2011).

La identificación de 3-metilbutanal y 2-metilbutanal como compuestos importantes en el aporte organoléptico de maltas, mostos y soluciones acuosas de malta hace correspondencia con que los compuestos volátiles más detectables extraídos por Headspace dinámico es el grupo de aldehídos (aldehídos lineales, insaturados, ramificados (como 2-metilpropanal, 2-metilbutanal y 3-metilbutanal), ramificados insaturados). Otro grupo es el que contiene compuestos con anillos heterocíclicos de oxígeno (furanos y furanonas) y trazas de anillos heterocíclicos de nitrógeno, como pirroles y pirazinas (Coghe *et al.*, 2004).

La Figura 10 muestra el nivel de 3-metilbutanal y otros compuestos en mostos de distinto rango de color EBC. Se aprecia que el nivel máximo de 3-metilbutanal es alcanzado para mosto congreso elaborado con malta caramelo de color 150 EBC. Estos antecedentes también son respaldados por los trabajos de Beal y Donald (1994) y Wonffenden *et al.* (2001) donde la mayor concentración de 3-metilbutanal se encuentra a tiempos correspondientes a colores cercano a los 100 EBC (15 min antes de la finalización de un proceso de tostado) y en soluciones acuosas con malta caramelo 72 EBC respectivamente. La presencia de 2-metilpropanal, 2-metilbutanal y 3-metilbutanal y otros aldehídos productos de la degradación de Strecker, junto con compuestos sulfurados, furanos, esterés, cetonas, alcoholes, compuestos nitrogenados, terpenos, tiazoles y oxazoles han sido identificados en mostos en ebullición no lupulados ((De Schutter, Saison, Delvaux, Derdelinckx, Rock, Neven y Delvaux, 2008).

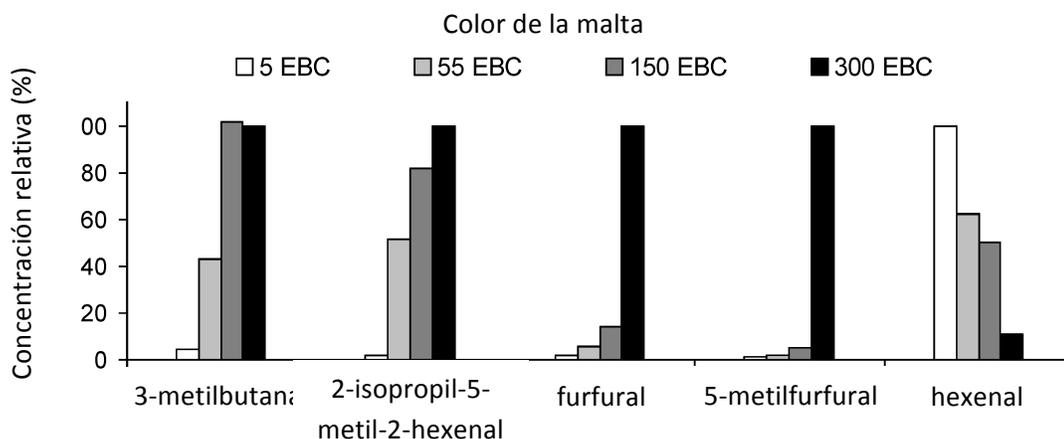


Figura 10 – Análisis de volátiles por medio de Headspace dinámico y GC/MS en mostos de distinto rango de color: 5 EBC - mosto 100% malta Pilsen; 55, 150 y 300 EBC: mostos congresos con maltas caramelo de los respectivos colores (Coghe *et al.*, 2004).

Maltol (3-Hidroxi-2-metil-4-pirona) también ha sido reportado como responsable de olores encontrados en cebada malteada y maltas caramelo. Su presencia ha sido confirmada por GC/MS en mostos no lupulados (Beal y Mottram, 1994) y directamente

en malta seca por medio de microextracción en fase sólida (SPME) y GC/MS. Aporta principalmente sabores y olores a caramelo y está presente en mayor concentración en maltas caramelo 150 EBC comparadas con la de 65 EBC o 1500 EBC siendo esta última malta tostada (Vandecam, Saison, Schoupe, Delvaux, F. y Delvaux, F.R., 2010). Su contribución en el aroma también ha sido comprobada por Fickert y Schieberle (1998) aunque puede no ser el único responsable de la característica de caramelo (Beal y Donald (1994).

Por otro lado anillos heterocíclicos con nitrógeno son importantes en la contribución de sabores tostados y sus niveles se encuentran en altas concentraciones en maltas tostadas. Moléculas con geometría heterocíclica planar con uno o dos nitrógenos en su anillo son responsables de sabores quemados o tostados, descritos en ocasiones como a tierra. Un grupo importante son las pirazinas, las cuales se encuentran en bajas concentraciones en colores bajos en maltas caramelo. Aun así 2-metoxi-3-isopropilpirazina, 2,3,5-trimetilpirazina, y 2-etil-3,5-dimetilpirazina han sido identificados en malta caramelo 117 EBC (Fickert y Schieberle, 1998) aportando cualidades organolépticas a “tierra” o “granuloso”. Se ha confirmado también la presencia de 2-metoxi-3-isopropilpirazina en malta en los trabajos de Vandecam *et al.* (2010), confirmando además que este tipo de pirazinas en maltas tostadas se encuentran a mayor concentración que en las maltas caramelo. 2,5(o 6)-dimetilpirazina y metilpirazina también han sido reportadas en maltas caramelo de 15, 23, 72, 148 y 440 EBC, obteniendo 2,5(o 6)-dimetilpirazina un máximo doble en 72 y 440 EBC y metilpirazina un máximo en 148 EBC (Wonffenden *et al.*, 2001). Etilmetil y trimetilpirazina son responsables de sabores tostados e incluso a “toffee” aun cuando son sometidos a grandes factores de dilución. De Shutter *et al.* (2008) reportó 13 pirazinas en el análisis de volátiles producidos durante la ebullición de mosto Pilsen no lupulado. Los antecedentes muestran que en general las pirazinas se presentan en mayor concentración a medida que el color de la malta aumenta además de que existen varios tipos de pirazinas que se pueden detectar.

Análisis sensoriales en mostos muestran que parámetros como carnosos, dulce, pan, caramelo, amargo y quemado evolucionan de distinta forma a medida que son utilizadas maltas caramelo más oscuras en la fabricación de mostos (Coghe *et al.*, 2004). La Figura 11 muestra este comportamiento.

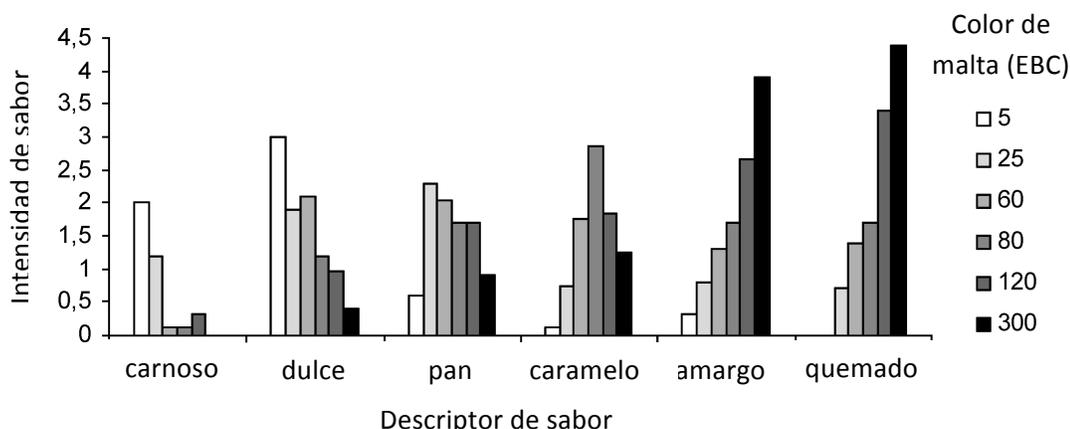


Figura 11 - Intensidad de sabor para varios atributos detectados en mosto por un panel de degustación entrenado. 5 EBC: mosto 100% malta Pilsen; Mostos 25, 60, 80, 120 y 300 EBC: mostos congresos con maltas caramelo de los respectivos colores (Coghe *et al.*, 2004).

Por su parte, la idea de que compuestos con una geometría similar puedan causar los mismos efectos en la sensación de sabor ha sido desarrollada desde 1977 y su estudio se ha extendido hasta el día de hoy (Swift, 2002).

2.4.Herramientas para el estudio de las maltas caramelo

Los antecedentes mostrados anteriormente se han realizado con la utilización de metodologías instrumentales, identificando y cuantificando distintos compuestos moleculares que están presentes en el grano de malta caramelo e identificando el sabor y aroma de los cuales son responsables estos compuestos. Esto se realiza con análisis cromatográficos y análisis sensoriales respectivamente.

2.4.1. Cromatografía de gases (GC)

La cromatografía se utiliza para la separación de los compuestos pertenecientes a una muestra para su posterior identificación y análisis. La base de la cromatografía es la migración diferencial de las moléculas de analito a través de una columna con una fase que interactúa selectivamente con ellos. Los componentes principales de la cromatografía de gases para producir una separación son la fase móvil (gas portador), la que transporta a las moléculas a separar, y la fase estacionaria, la cual posee afinidad por los compuestos e interactúa con ellos diferencialmente para separarlos. La fase estacionaria es un polímero térmicamente estable y de alto peso molecular (Sadek, 2004). La interacción entre estas dos fases se lleva a cabo en una columna. Estas pueden ser empacadas o capilares. En columnas capilares el diámetro interno es menor a los 0,53 mm y la fase estacionaria recubre la superficie interna del capilar formando una película (film) fijada por medio de un soporte de sílica. Figura 12 muestra el corte transversal de una columna capilar (Agilent, 2007, Oteiza, 2011).

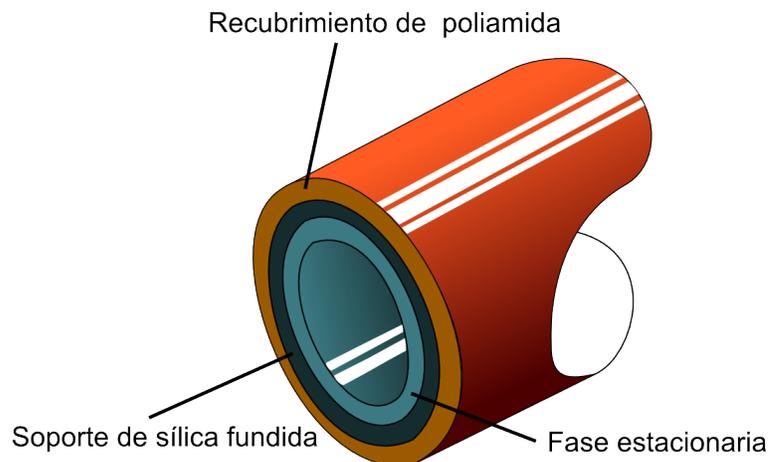


Figura 12 – Estructura básica de una columna capilar para cromatografía de gases.

Durante el trayecto de la fase móvil en la fase estacionaria de la columna capilar cada molécula se adsorbe determinado tiempo en la fase estacionaria, luego es desorbida, arrastrada por la fase móvil nuevamente, colisionando con otras moléculas para luego volver a adsorberse temporalmente en la fase estacionaria. Esto sucede miles de veces a medida que las moléculas avanzan por la columna. Todas las moléculas relativas a un compuesto específico recorren la columna a una misma velocidad, distinta de la velocidad de las moléculas de los otros compuestos, formando bandas de muestras. La velocidad con que avanza cada banda depende de la estructura de ese compuesto, de la estructura de la fase estacionaria y de la temperatura de la columna. A mayor temperatura mayor es la velocidad de avance (Oteiza, 2011). El ancho de estas bandas depende a su vez de las condiciones de operación y de la dimensión de la columna. A mayor largo las bandas disminuyen su ancho (Agilent, 2007). Para evitar el solapamiento de las bandas es necesaria la selección de una columna apropiada y de ajustadas condiciones de operación para evitar también perturbaciones entre las moléculas y evitar coelución de bandas. Estas bandas de compuestos salen (eluyen) de la columna y son detectadas emitiendo una señal proporcional a la cantidad de moléculas que eluyeron, esta señal se representa versus el tiempo de análisis en un cromatograma. La Figura 13 muestra un perfil cromatográfico tipo (Beal *et al.*, 1994; Oteiza 2011).

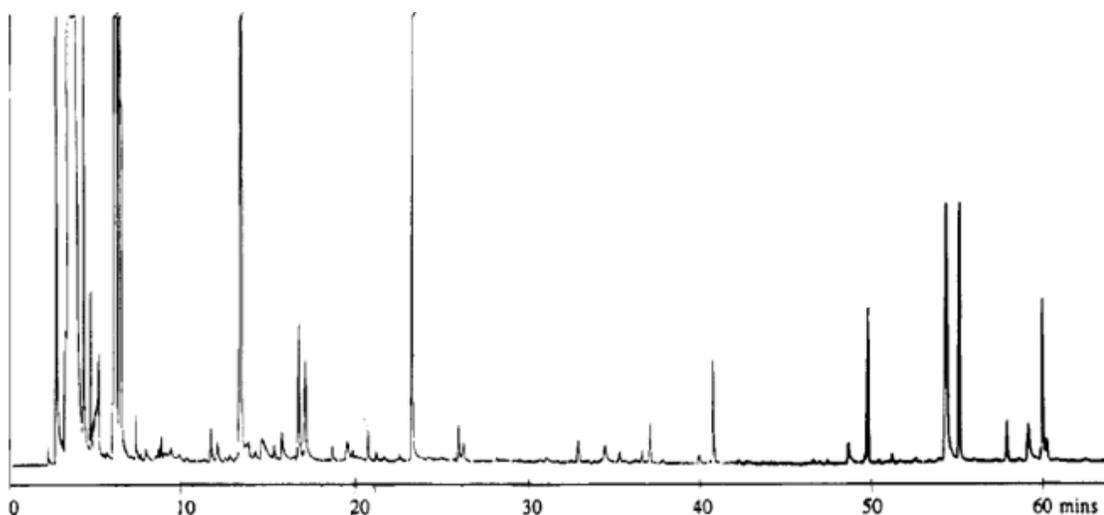


Figura 13 – Cromatograma realizado con columna capilar para mostos. Cada peak representa un compuesto distinto. El tiempo en que cada peak aparece en el gráfico corresponde al tiempo de retención de ese compuesto (t_r) (Beal *et al.*, 1994)

El tipo de señal producida se depende del detector utilizado, los cuales pueden ser específicos o no específicos y con distintos grados de sensibilidad (Tabla 4). Ellos transforman las moléculas detectadas en un peak dado por un cambio de voltaje. En los cromatograma cada peak tiene una forma gaussiana debido a los efectos de difusión en la banda de la muestra. Lo ideal es que un peak sea simétrico pero pueden ocurrir fenómenos como la formación de una cola a medida que avanza el tiempo de análisis (*tailing*).

Tabla 4 – Clasificación general de detectores para cromatografía de gases según especificidad

Detectores	
No específicos	Específicos
Detector Ionización de Llama (FID)	Capturador de Electrones (ECD)
De Conductividad Térmica (TCD)	Detector de Nitrógeno, Fósforo (NPD)
Espectrómetro de Masas (MS)	Detector Fotométrico de Llama (FPD)

Los detectores específicos sólo responden a algunos tipos de enlaces o átomos y poseen gran sensibilidad, mientras que los no específicos responden básicamente a todo tipo de compuestos, poseen menor sensibilidad pero permiten analizar un rango mayor de moléculas.

La puesta en marcha de un protocolo cromatográfico tiene que tener en cuenta la sensibilidad y reproducibilidad de los resultados y para su interpretación es necesario atender los siguientes conceptos explicados con detalle en el anexo D (Agilent, 2007; Oteiza, 2011; Sadek, 2004).

- Tiempo de retención (t_r): Tiempo que demora un compuesto es recorrer la columna
- Tiempo de retención de compuesto no retenido (t_m): equivalente al tiempo que demora un volumen fijo de gas portador en recorrer la columna

- Factor de separación o selectividad (α): medida de la separación de las puntas de los peaks
- Resolución (R_s): medida de la separación de los peaks considerando su ancho
- Factor de cola (T): efecto que produce asimetrías en los peaks

2.4.2. Headspace

Es una técnica se utiliza para realizar inyecciones de una muestra al cromatógrafo de gases con alto grado de reproducibilidad. La técnica de Headspace (HS) corresponde a una extracción de volátiles sin la utilización de solventes. El HS posee un horno en el cual se introduce un vial con la muestra líquida. Dentro del horno la temperatura es controlada durante un tiempo definido hasta alcanzar el equilibrio de los volátiles entre la fase gas y la fase líquida. Se toma directamente el volumen del espacio de cabeza del vial y se inyecta a la columna del GC para producir la separación. Para detalles sobre el fundamento y funcionamiento de esta técnica revisar anexo E.

2.4.3. Aplicación en Laboratorio de Calidad – Malterías Unidas S.A.

En Maltexco se ha recuperado la implementación de un protocolo para la determinación de dimetil sulfuro (DMS) en malta por medio de la cuantificación por cromatografía de gases acoplada a Headspace (HS/GC).

El DMS es un compuesto volátil que en concentraciones bajas contribuye positivamente al sabor de la cerveza, especialmente en estilos cervezas lagers, pero que a concentraciones sobre las 50-80 ppb se percibe como desagradable recordando a sabores y olores de vegetales cocidos. Su generación se debe a la descomposición endotérmica de la S-metilmetionina (SMM), producida en los procesos de secado de la malta, filtración y ebullición del mosto, o cuando las cervezas se someten a altas temperaturas (especialmente durante su guarda). El nivel de SMM se ve influenciado por el nivel de proteínas y este por la variedad de la cebada. El DMS es muy volátil (punto de ebullición cercano a los 38°C) por lo que durante el secado gran cantidad de este compuesto se pierde, pero otra parte se oxida formando DMSO (dimetilsulfóxido) el cual es reducido nuevamente por la levadura en el proceso de fermentación, generando DMS en la cerveza. Maltas pálidas tienen mayor concentración de SMM que maltas oscuras o maltas especiales. El SMM que no se eliminó en el proceso de secado se transfiere al mosto que, durante el proceso cervecero, se hierve. En la cocción se forma DMS que es volatilizado y eliminado al igual que en el secado. Presencia de DMS en las cervezas frescas puede ser un indicador de mala calidad en la malta y/o problemas en el proceso de cocido (Llorca, 1999). Un esquema de este proceso puede verse en la Figura 14, donde las figuras geométricas indican presencia o ausencia del compuesto correspondiente.

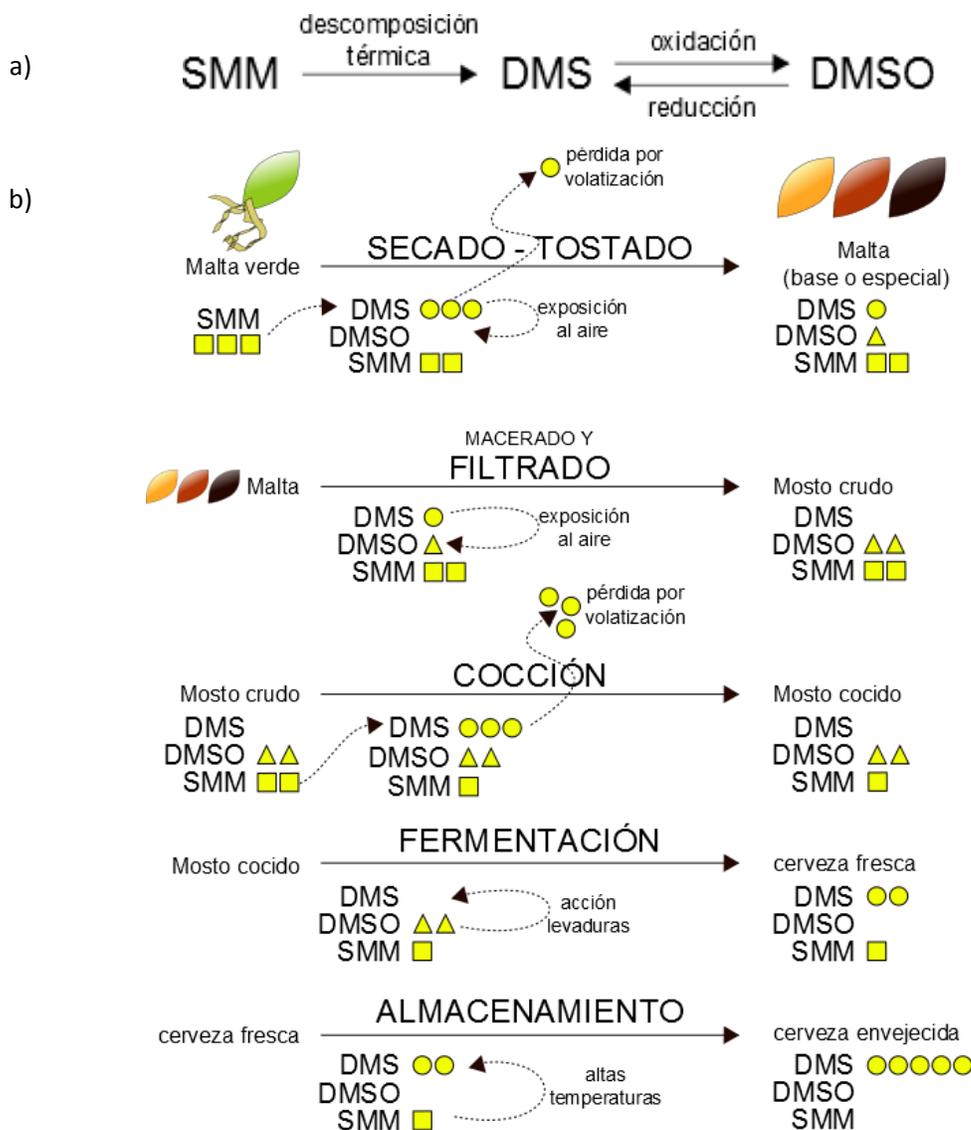


Figura 14 – a) Reacción general para la formación de DMS y DMSO a partir de SMM b) Interacción entre las presencia o ausencia de SMM, DMS y DMSO en las etapas de producción de mosto y cerveza y los factores que influyen en el desarrollo final de DMS en exceso en cerveza.

El protocolo adoptado en Malterías Unidas S.A. determina el DMS libre y los precursores (DMS-p) en una extracción acuosa realizada con malta pilsen finamente molida. Se utiliza el método de adición de estándar para su cuantificación. Para la medición de DMS libre se utiliza directamente el sobrenadante de la extracción acuosa, mientras que para DMS-p se realiza un pretratamiento térmico en rotavapor con la adición de hidróxido de sodio, esto convierte los DMS-p en DMS, luego la solución se mide con HS/GC utilizando una columna GS-Q (Anexo F). El DMS total es la suma del DMS libre y DMS-p.

2.4.4. Análisis sensorial

El análisis sensorial es el conjunto de técnicas que miden propiedades de los alimentos por uno o más de los sentidos humanos para determinar su calidad sensorial, ya que

los métodos instrumentales, por si solos y hasta el momento, no son suficientes para explicar las respuestas que tiene el ser humano ante los productos alimenticios (Saens y Araya, 1985). El desarrollo de estos métodos nace de la necesidad de utilizar al ser humano como instrumento objetivo para la caracterización cualitativa o cuantitativa de los alimentos.

Para interpretar las respuestas que tiene el ser humano frente a estos estímulos es necesario conocer cómo el ser humano procesa esta información y cómo la expresa, esto incluye (Saens y Araya, 1985):

- Percepción del estímulo, fisiológica como psicológicamente
- Elaboración de la sensación
- Comunicación verbal de la sensación.

Por otro lado la calidad sensorial es el resultado de la interacción entre el alimento, el ser humano y su entorno, así los aspectos que más influyen en el proceso son:

- Las características físicas, químicas y estructurales del alimento
- Las condiciones fisiológicas, psicológicas y sociológicas de la persona
- El ambiente de testeo y
- El método o prueba sensorial utilizada.

Para un alimento (comestible o bebestible) existen tres atributos primarios que integran su calidad sensorial. Se clasifican según el sentido u órgano receptor que los capta: Aspecto (visión – tamaño, forma, color), Sabor (gusto y olfato) y Textura (tacto – sensación en boca, viscosidad – y oído) (Mason y Nottingham, 2002).

En particular los resultados reportados en la Figura 11 se refieren al sabor. Este se entiende como la interacción entre olfato y gusto principalmente, también influye el sentido del tacto (sensación térmica, textura). La nariz tiene más de 20 millones de receptores mientras que en la lengua hay alrededor de 1000, esto hace que por el sentido del olfato se perciba un amplio rango de sensaciones y que se necesite menor cantidad de moléculas volátiles para generarlas. Por su parte el sentido del gusto puede detectar 5 cualidades o sabores básicos: dulce, salado, ácido, amargo y umami⁵. La posición de los receptores para los primeros 4 son indicados en la Figura 15.

⁵ “Sabroso” o carnosos, puede redondear y equilibrar sabor de alimentos no dulces. Se debe a interacción de potenciadores de sabor como glutamato monosódico, inosinmonofosfato y guanoinmonofosfato. Se encuentra principalmente en comidas orientales, jamones y carnes ahumadas o saladas (Brewer, 2006).

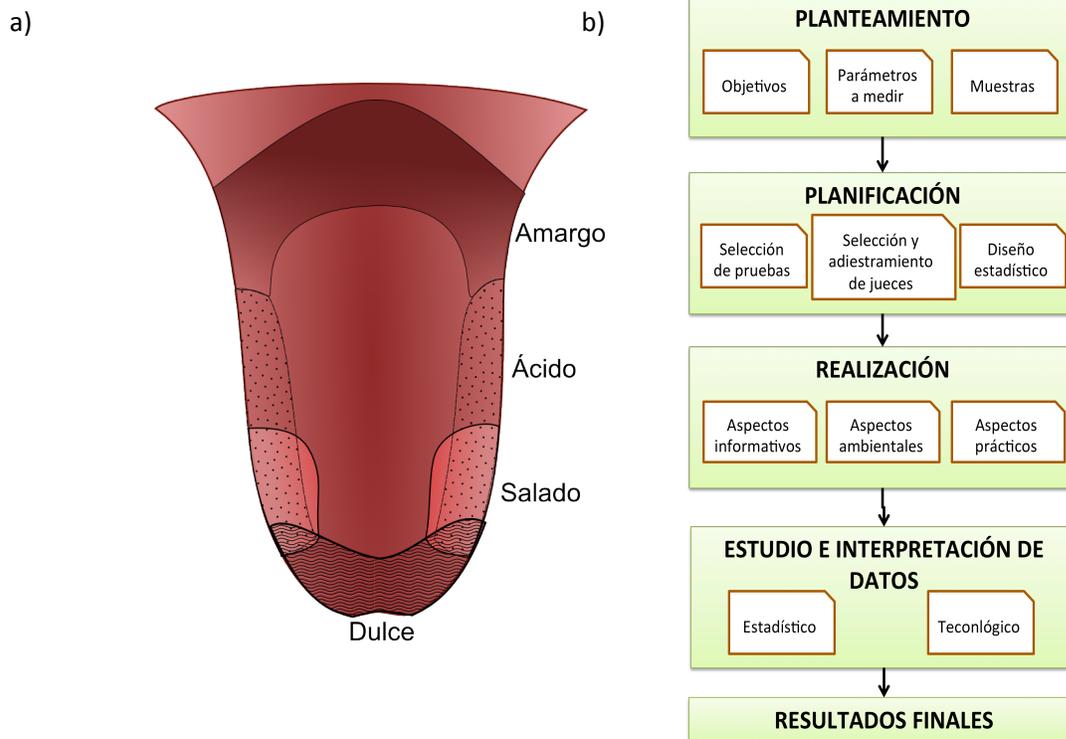


Figura 15– a) Localización de los receptores de la lengua para los sabores dulce, salado, ácido y amargo en la lengua humana (Mason *et al.*, 2002) b) Metodología general del análisis sensorial (Saens y Araya, 1985)

Umbral de Reconocimiento, efecto de fatiga e interacción de estímulos

La concentración mínima para la cual un individuo puede reconocer un sabor específico en una muestra se denomina Umbral de Reconocimiento. Una vez percibido el sabor, si el estímulo persiste, ocurre un fenómeno de adaptación y fatiga de los receptores, los que pierden sensibilidad y dejan de percibir el estímulo con la misma intensidad que antes. Por otro lado la interacción de los estímulos considera supresión de sabores, neutralización de un sabor por otro o intensificación, así por ejemplo la acidez suprime el dulzor y sales como glutamato monosódico (umami) intensifican sabores neutrales (Mason *et al.*, 2002). Estos fenómenos son afectados por la temperatura de la muestra, el estado de sueño de la persona, el hambre, la edad y el sexo, y pueden ser fuente de errores en los resultados de un análisis sensorial (Kemp, Hollowood y Hort, 2009).

Con esta información general se ha planteado una metodología para asegurar la reproducibilidad de la información que se pueda obtener de un conjunto de personas frente a un alimento en específico. La Figura 15 b) esquematiza esta metodología (Saens y Araya, 1985) cuyos detalles pueden consultarse en el anexo g.

3. Objetivos

3.1.Objetivo General

Contribuir a la estandarización de la producción de malta caramelo producida por Malterías Unidas S.A. estudiando sus características de calidad y su comportamiento en la elaboración de cervezas de manera sensorial e instrumental para determinar los parámetros que más impacto tengan en la caracterización de la cerveza elaborada con malta caramelo.

3.2.Objetivos Específicos

Elaborar un método rápido para la medición objetiva de color en maltas caramelo.

Caracterizar cualitativa y cuantitativamente la elaboración de la malta caramelo en Malterías Unidas y hallar variables críticas.

Montar y estandarizar un proceso cervecero a escala de laboratorio junto con los análisis de calidad respectivo para la evaluación de sus productos intermedios y finales.

Estudiar cualitativa y cuantitativamente el impacto de la malta caramelo en cervezas de elaboración propia a través de análisis sensoriales y análisis cromatográficos.

Relacionar resultados sensoriales y cromatográficos de evaluaciones cualitativas y cuantitativas de mostos y cervezas con malta caramelo para determinar el impacto organoléptico de compuestos moleculares individuales que estas maltas puedan entregar.

4. Metodología

4.1. Metodología general

El diagrama de bloques general utilizado para la metodología se presenta en la Figura 16.

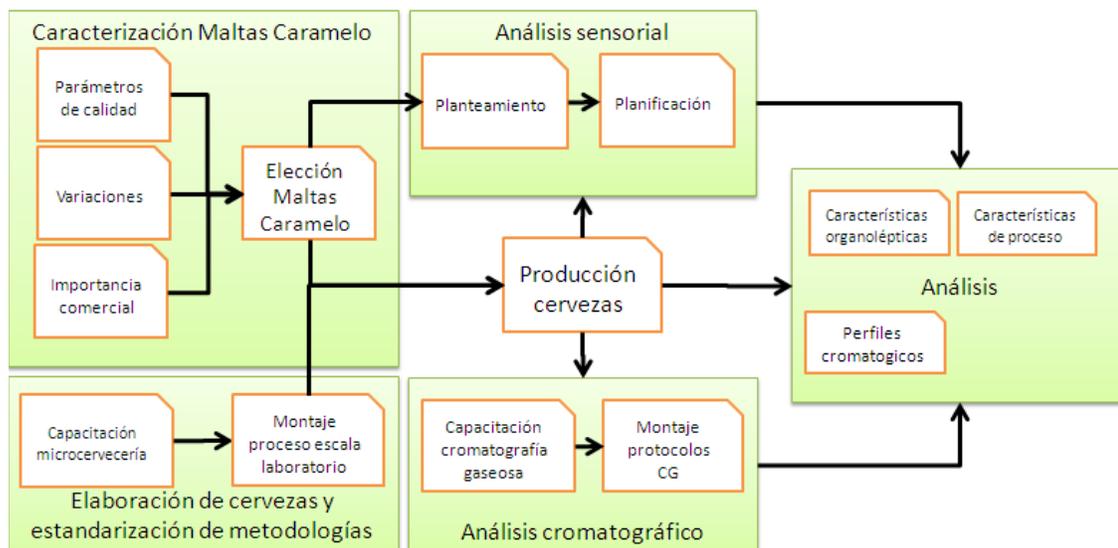


Figura 16 – Diagrama de bloque general para la metodología empleada.

El trabajo se realizó en cinco etapas.

- **Caracterización de maltas caramelo:** Se estudió la cantidad y tipo de productos elaborados, su proceso productivo y los principales equipos implicados. Las maltas caramelo se caracterizaron según parámetros de calidad y se identificaron aquellas variables que más influían al desarrollo su color.
- **Elaboración de cervezas:** Para la evaluación de los productos se adaptó el proceso cervecero artesanal (cervecería casera y microcervecería) a escala de laboratorio.
- **Estandarización de metodología para la medición rápida de color en maltas caramelo:** Con el objetivo de disminuir los tiempos de medición para poder hacer comparaciones al instante con la sola utilización del grano seco.
- **Análisis sensoriales:** Para evaluar el perfil organoléptico de las muestras de malta seleccionadas y utilizadas para elaborar cerveza se estableció un panel degustador y pruebas sensoriales específicas.
- **Análisis cromatográfico:** Para evaluar los compuestos volátiles de las maltas caramelo seleccionadas con las cuales se elaboró cerveza se estableció un protocolo cromatográfico.

4.2. Caracterización de maltas caramelo.

Para caracterizar las maltas caramelo se realizó la identificación de las variables de proceso que se controlaban y de las cuales se llevaba registro histórico, lo mismo para las variables que definen la calidad final del producto terminado. Esto también se realizó para las maltas Pilsen. Un vez identificadas, para estudiar su evolución en el proceso, se realizó un estudio de trazabilidad. El estudio se basó en 4 bases de datos diferentes: Maltas especiales – Calidad en contenedores intermedios; Maltas especiales – Calidad en envasado final; Maltas especiales – producción; Malta Pilsen – producción y calidad final. Se enlazó a cada batch de malta caramelo con una malta Pilsen, esto pues las maltas caramelo son una salida paralela de la materia prima usada para malta Pilsen.

Se realizó un análisis estadístico descriptivo de la calidad de las maltas caramelo y el desempeño de las máquinas tostadoras versus el color de las maltas caramelo. Se emplearon datos de calidad de malta caramelo nivel de contenedor intermedio por tener menor mezcla de productos.

Para seleccionar las maltas caramelo a evaluar en las etapas de Análisis Sensorial y Análisis Cromatográfico se realizó un análisis de componentes principales (PCA) sobre los indicadores de calidad y proceso. La comparación necesitó de un rango de color acotado. Se propuso evaluar maltas de un mismo color que tuvieran características de proceso y calidad distintas. Para el trabajo descrito anteriormente se utilizó el software gráfico y estadístico Statgraphics Centurion VXi.

Se seleccionó un color específico de malta caramelo a estudiar de acuerdo a información de los niveles de producción y ventas. Las maltas seleccionadas estuvieron en el rango de 130-140 EBC. El método RGB Color Analyzer fue utilizado para encontrar en bodega de Laboratorio de Calidad maltas de ese rango de color que tuvieran valores máximo y mínimo de las características seleccionadas (índice de Kolbach, Friabilidad, Nivel de extracto y nivel de proteína, Temperatura final y tiempo de proceso).

4.3. Elaboración de cervezas

Distintas proporciones de maltas caramelo seleccionadas (130-140 EBC) fueron utilizadas para la elaboración de cervezas. Mostos de 10, 15, 20, 50 y 80% se realizaron con los equipos de mosto congreso (80g de malta para 300-400 ml de mosto filtrado – volumen pequeño) y usando un filtro a presión para mayor escala (500g de malta 2800 ml de mosto filtrado).

La densidad a través de todo el proceso fue medida en grados Brix con la utilización de un refractómetro. El grado Brix es una medida de la sacarosa presente en una solución. Un grado Brix (1°Brix) representa a 1 gramo de sacarosa en 99 g de solución, es por tanto una concentración porcentual peso-peso (% w/w).

Para la elaboración de las cervezas se siguió el diagrama de bloques de la Figura 6 y las etapas descritas una a una en el anexo c. **Maceración:** Se utilizó la curva de maceración tipo congreso para volúmenes pequeños: 45°C por 30 min, subida de 1°C/min, 70°C por 60 min. Para volúmenes de 2800 ml se usó una maceración con la siguiente curva de temperatura: 45°C por 10 min, subida de $1,7 \pm 0,6$ °C/min, 68°C por 60 min. **Filtración:** Se realizó la filtración sin enfriar el mosto. Para volúmenes pequeños se utilizó una filtración por gravedad en filtro de papel (300-200 mm de diámetro, tipo Schleider & Schuell N°597). Se utilizó un filtro a presión y compresor de aire para volúmenes de 2800 ml. El compresor no era utilizado a menos que la filtración pasara de 1 hora de proceso. **Recirculación:** Para volúmenes pequeños se recircularon los primeros 200 ml de cada recolección y luego se dejaba transcurrir el tiempo hasta recolectar 300 a 400 ml. Para volúmenes grandes se recirculaban los primeros 1000 ml o hasta que el líquido dejara de mostrar turbidez evidente. **Lavado:** se adicionó agua caliente (<80°C) en ambos volúmenes de filtración hasta obtener el volumen de recolección adecuados (300-400 ml para volúmenes pequeños y sobre 2800 ml para volúmenes grandes) o la densidad adecuada. Para volúmenes pequeños se lavó con adición de volúmenes fijos de 100 ml sin dejar nunca la torta expuesta al aire. Se apuntó a una densidad de 11°Brix. Para volúmenes grandes se adicionaban 1500 ml total en volúmenes de 500 ml y se recolectaban los primeros 2800 ml obteniéndose densidades de $10 \pm 0,9$ °Brix. **Cocción:** 4 recolecciones de volúmenes pequeños se mezclaban (volumen total de 1200-1600 ml) y se hacían hervir por intervalo de 30 min. Mismo tiempo para volúmenes grandes (2800 ml). No se adicionó lúpulo en ningún caso. **Enfriamiento:** por medio de baño con agua fría (temperatura ambiente) y luego traspaso a refrigerador. **Fermentación:** Para separar proteínas insolubilizadas en la cocción (trub frío y trub caliente), a costa de mantener condiciones de esterilidad, se filtró el mosto hervido y frío (15°C) utilizando papel filtro (Schleider & Schuell N°597). Para esterilizar nuevamente el mosto este se trasvasió a matraces de 2000 ml y se hizo hervir por 15 min mínimo. Se dejó enfriar, tapado, en baño de agua fría y se traspasó a refrigerador (0°C). Se utilizaron levaduras comerciales para cervecería Nottingham (Lallemand Inc., Canadá) en proporción 1:1 gramos de levadura por litro de mosto. Luego de 10 días de fermentación a temperatura controlada a 20 ± 2 °C se embotelló la cerveza en botellas de 330 ml con adición de glucosa para la segunda fermentación (5g de glucosa por litro de cerveza diluidos en 10 ml de agua y hervido por 5 min. Adición de 10 ml de solución azucarada por botella). Para la desinfección de las botellas se utilizó ácido per-acético. **Maduración:** La segunda fermentación se realizó en 3 días a temperatura ambiente y oscuridad, luego las botellas fueron conservadas a 0 ± 5 °C. Durante todo el proceso se midió el pH y la densidad con pHmetro digital y refractómetro respectivamente.

4.4. Medición rápida de color en maltas caramelo.

Se ideó una forma de poder usar el equipo RGB Color Analyzer (Anaheim Scientific's modelo H500) para medir color directamente sobre granos de malta caramelo, dado que sólo indica una medición correcta sobre una superficie plana y homogénea. Se definió la elaboración de una harina fina presionada sobre dos placas de cultivo. Se contó con el uso de un molino de cuchillas para café (Fagor ML2006X) para producir una harina con granulometría menor a la proporcionada por los molinos de rodillo estándar utilizados en la metodología EBC. La harina se dispuso sobre placas de cultivo Petri y fue presionada con la tapa invertida de forma de disminuir el volumen interior. Cuidando que la harina quede distribuida de manera homogénea, la pistola del RGB Color Analyzer se presiona contra la placa. Usando el gatillo, luego de pocos segundos, la pantalla muestra los valores RGB o HSL según sea la configuración. Aquellos valores se registraron para más de 78 muestras distintas de malta caramelo abarcando un rango de color desde 43 a 859 EBC. Los resultados fueron analizados con la utilización del software Statgraphics Centurion XVI. Se realizó una eliminación de outliers y se probaron modelos lineales y no lineales para encontrar un ajuste de parámetros factible.

4.5. Análisis sensorial para la evaluación de cervezas con maltas

Se realizaron tres etapas:

- Identificación de personas con mayor capacidad de discriminación de sabores.
- Caracterización de cervezas con malta caramelo/entrenamiento de panel/mejoramiento de la herramienta de evaluación.
- Evaluación de maltas caramelo aplicadas en cervezas.

Las maltas caramelo fueron seleccionadas según los resultados de la metodología planteada en la sección 4.2 y sometidas a una elaboración de cerveza de la forma planteada en la sección 4.3. Cada una de las anteriores etapas se realizó basándose en el esquema de la Figura 15 b) y los detalles planteados en anexo G.

4.5.1. Planteamiento

Objetivo general: Detectar diferencias en el perfil organoléptico de cervezas elaboradas con una selección de maltas especiales fabricadas por Malterías Unidas S.A. Parámetros a medir: Sabores predeterminados por pautas de evaluación cervecera y que sean significativos para los jueces según pruebas sensoriales descriptivas. La discriminación de qué aspectos organolépticos evaluar se inició con una lista de 15 sabores (caramelo, dulce, tostado, amargo, grano, nuez-almendra, frutal, chocolate, ácido, avinagrado, agrio, vegetales cocidos, papel-cartón, grasa-mantequilla, alcohol) y 3 sensaciones en boca (cuerpo, astringencia, carbonatación). Muestras: Debido al contenido alcohólico de las muestras, y a que no está permitido ingerir bebidas alcohólicas al interior de Malterías Unidas S.A., se autorizó a la ingesta de máximo 300

ml por persona por sesión. Para maltas caramelo de un determinado color se eligieron 4 parámetros a evaluar: temperatura/tiempo de proceso; friabilidad; índice de Kolbach; Extracto fino/proteína.

4.5.2. Planificación

Selección de pruebas: Se utilizaron pruebas discriminatorias y descriptivas a detallarse en los párrafos siguientes para la selección y adiestramiento de jueces y para la realización de la evaluación de las muestras. Selección y adiestramiento de jueces: Se hizo un llamado desde la gerencia general hasta los cargos operarios para la participación voluntaria en los análisis sensoriales. Participaron 21 personas de las cuales se seleccionaron las con el mejor desempeño en 2 sesiones de pruebas. Para la selección de los jueces no se utilizó cerveza sino soluciones saborizadas con sacarosa y un producto sustituto del café a base de cebada tostada (Café Italiano Orzo). Las concentraciones fueron 6 g/lt de sacarosa y 0,2 g/l de cebada tostada en agua semidestilada, cercanas a los Umbrales de Reconocimiento de cada uno.

Prueba de Selección 1 (Prueba Dúo-Trío): A cada persona se le presentaron 3 muestras y se le indicó que una de ellas es diferente a las otras dos. La persona debió identificarla. La prueba se realizó para sabores DULCE y AMARGO por separado y en duplicado para cada sabor. Total: 4 degustaciones por persona por sesión.

Prueba de Selección 2 (Prueba de Ordenación): A cada persona se le pidió que ordenara 5 muestras por intensidad de un atributo en particular (DULCE o AMARGO) dentro de la escala indicada en la Figura 1717. Se realizó la prueba de selección 2 para DULCE y AMARGO, cada uno por sí solo, y luego mezclas en donde un carácter se dejó constante y el otro se varió en escala. Total: 4 degustaciones por persona por sesión.



Figura 17 – Escala de intervalo unipolar no estructurada para determinación de intensidad de sabor

4.5.3. Realización

Aspectos ambientales: La sesiones se realizaron en el casino de la empresa Malterías Unidas S.A. entre las 16 y 18 hrs a grupos de no más de 4 personas simultáneamente. La temperatura fue controlada con aire acondicionado y mantenida a 20°C aproximadamente. Las muestras se mantuvieron refrigeradas en el lugar hasta justo antes de presentárselas a los jueces. Aspectos informativos: Al inicio de cada prueba se informó a los participantes la ubicación de los receptores de los sabores básicos en la lengua (Figura 15 a)) de manera que pudieran concentrarse en esos sectores para distinguir los sabores particulares lo más posible. El contenido de las muestras era aclarado (cervezas no lupuladas con baja carbonatación) y se explicó el cómo llenar la hoja de la prueba. Para limpiar los sabores residuales de la boca y el paladar entre

muestras se mantuvo agua purificada fría y galletas neutras para cada juez. Aspectos prácticos: Se utilizó un diseño de bloques equilibrado completo con repetición y muestra de referencia como el mostrado en la Figura 18.

Juez	Bloques				
1	A	B	A	B	Ref.
	B	A	B	A	

Figura 18 – Diseño de bloques completos equilibrados con muestra de referencia

Para camuflar el color propio de las muestras se utilizaron vasos desechables de 120 ml de color café claro y opaco. Cada vaso contuvo como máximo 40 ml de muestra.

4.6. Análisis mediante cromatografía de gases

4.6.1. Reactivos

5 patrones fueron obtenidos de SigmaAldrich: 2,3,5-Trimetilpirazina ($\geq 99\%$, FCC, FG; W324418); Maltol (FCC, FG; W265608); 3-metilbutanal ($\geq 97\%$; W269204); 2,5-Dimetilpirazina ($\geq 98\%$, FCC, FG; W327204); 2-etil-3,5-dimetilpirazina (W314900). Sus temperaturas de ebullición ordenadas en forma creciente se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5 – Temperaturas de ebullición de los compuestos de interés

Compuesto	Temperatura de ebullición
3-metilbutanal ^a	90 °C
2,5-dimetilpirazina ^a	155 °C
Maltol ^b	170 °C
2,3,5-trimetilpirazina ^a	171 - 172 °C
2-etil-3(5 o 6)-dimetilpirazina (mezcla de isómeros) ^a	180 - 181 °C

a – Datos obtenidos de las fichas de seguridad del proveedor.

b – Fuente: Base de datos Chemblenk.

4.6.2. Equipos y procedimiento

Para la separación de los componentes de mostos y cervezas se utilizó un cromatógrafo de gases Clarus 500 (PerkinElmer, EE.UU.) con una columna GS-Q (J&W Scientific Inc., N°1153432; 30m, 0,53 mm, 60 a 250°C) equipado con un detector FID. 3 µl de muestra se inyectaron con microjeringa (10 µl de capacidad). El programa de temperaturas seguido y las condiciones de operación establecidas se detallan en la Tabla 6.

Los patrones fueron inyectados con distintos factores de dilución para obtener simetría de peaks e identificar su tiempo de retención. Para la integración y determinación de las áreas de los peaks se utilizó el software TotalChrom 6.3 (PerkinElmer, EE.UU.).

Tabla 6 – Condiciones de operación definidas para GC Clarus 500

Flujos		Inyección		Programa de temperatura	
Helio	5 ml/min	Split	1:100	70°C	1,5 min
Hidrógeno	45 ml/min	Temperaturas		Rampa 1	25°C/min
Aire	450 ml/min	Inyector	200°C	Rampa 2	5°C/min
		Detector	200°C	Rampa 3	0,5°C/min
				190°C	10 min

5. Resultados y discusión

5.1. Influencia de parámetros productivos y de calidad maltera en el desarrollo de color de maltas caramelo.

5.1.1. Caracterización de los parámetros de calidad de malta caramelo

Análisis multivariable

Para determinar la relación entre las variables finales de una malta caramelo terminada a medida que cambia su color se realizó un análisis multivariable con datos obtenidos del registro de Control de Calidad de Malterías Unidas. Se consideró el color de la malta caramelo (*Color MC*), porcentaje de Humedad final (*% Hum MC*), porcentaje de extracto fino en peso seco (*% Ext. Fino MC*), pH (*pH MC*), grado Plato tal cual (*°P tc MC*), peso específico (*P. Esp. MC*) y porcentaje de granos bajo 22 mm (*Bajo 22 MC*). Sus resultados se muestran en la Figura 19 y en la Tabla 7. El porcentaje de extracto grueso tal cual (tc) no se incorporó en el análisis puesto que es transformado en función de la humedad al extracto en sustancia seca. Variables como la cantidad producida, granulometría, porcentaje de fallas, granos partidos e impurezas no se incorporaron en estos resultados debido a análisis exploratorios en una primera etapa los que permite establecer independencia de estos parámetros respecto al color.

Los resultados muestran comportamientos esperados y congruentes como la relación inversamente proporcional entre humedad y color (sección 2.1). La humedad disminuye a medida que el color de la malta caramelo aumenta (Coef. de correlación de -0,78) debido a que el régimen de tostado más extremo (temperaturas más altas y tiempos de proceso más extendidos) necesario para lograr un color más elevado en la malta significa a la vez una evaporación mayor de agua. El peso específico disminuye debido a la pérdida de humedad del grano. Así mismo el porcentaje de extracto fino y el grado plato están fuertemente relacionados entre sí (coeficiente de correlación lineal igual a 0,93) y medianamente relacionados de forma decreciente con el desarrollo del color (coeficientes de correlación lineal de -0,72 y -0,58 respectivamente). Las variables de extracto fino y grado plato se refieren ambas a la cantidad de sólidos solubles en el mosto, sobretodo azúcares fermentables. Se corrobora que a mayor color el porcentaje de extracto fino disminuye posiblemente debido al consumo de los azúcares en la Reacción de Maillard y la quema de otras sustancias solubles. Al existir menores sustancias solubles, el grado plato, que es una medida de la densidad del mosto correspondiente a esa malta, también disminuye. Esto puede tener impacto en el grado de fermentabilidad del mosto pues el ocupar malta caramelo en exceso y/o malta caramelo de colores muy altos (muy oscuras) puede ir en desmedro de la proporción de azúcares fermentables en el mosto. Para el caso del calibre de los granos bajo 22 mm, el coeficiente de correlación lineal con el color de la malta caramelo correspondió a -0,0526, indicando no tan sólo que no existe una linealidad con el color, sino que existe

una independencia pues su p-valor, medido por un test de significancia estadística, fue de 0,28, rechazando la hipótesis nula de tener una correlación distinta de cero. La matriz de correlaciones se observa en la Tabla 7. Se marcan los p-valor de los pares de variables donde se descarta una relación lineal estadísticamente significativa. En general, el porcentaje de grano de tamaños pequeños es independiente del resto de los parámetros de la malta caramelo mostrándose entonces como una característica de la materia prima y no modificable por el proceso de producción de malta caramelo.

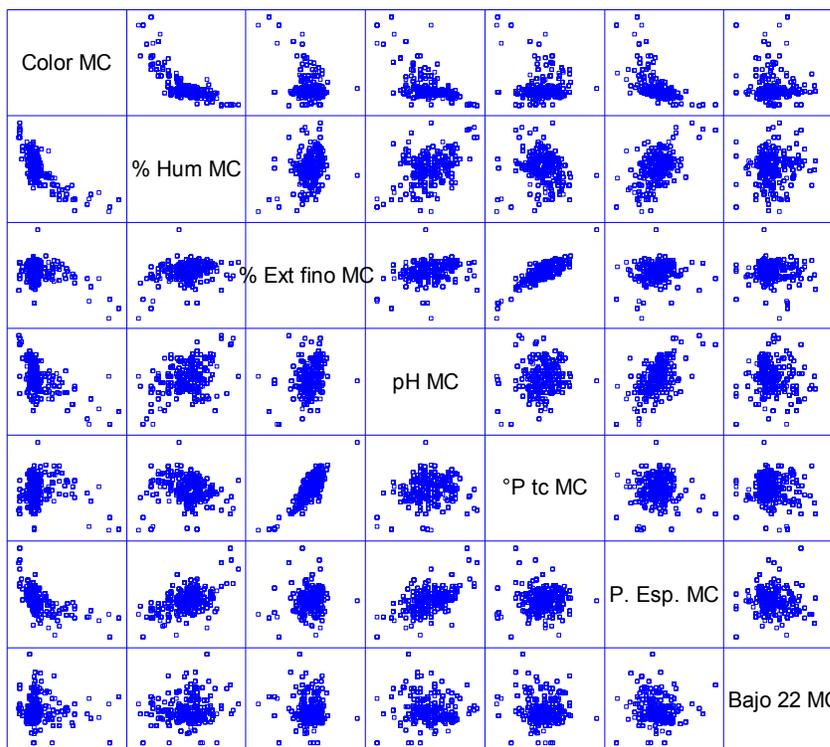


Figura 19 – Análisis multivariable de parámetros de calidad de malta caramelo. N = 416. Cada cuadrante corresponde a un gráfico Y vs X donde Y corresponde a la variable indicada en la columna del mismo cuadrante y X corresponde a la variable indicada en la fila del mismo cuadrante.

Tabla 7 – Matriz de correlaciones entre parámetros de calidad de malta caramelo. N= 416. Por cada parámetro se indican 2 filas correspondientes al nombre de la variable y su coeficiente de correlación lineal y el p-valor resultado de un test de hipótesis. Valores menores a 0,05 implican significancia en la correlación lineal.

	Color MC	% Humedad	% Ext. fino ss	pH	Grado Plato tc	Peso específico	Bajo 22
Color MC		-0,7765	-0,7172	-0,6555	-0,5773	-0,671	-0,0526
p-valor		0	0	0	0	0	0,2841
% Humedad	-0,7765		0,4999	0,5391	0,2385	0,6018	0,1078
p-valor	0		0	0	0	0	0,0279
% Ext. fino ss	-0,7172	0,4999		0,4235	0,9256	0,4501	0,0037
p-valor	0	0		0	0	0	0,9395
pH	-0,6555	0,5391	0,4235		0,3244	0,569	-0,097
p-valor	0	0	0		0	0	0,048
° Plato tc	-0,5773	0,2385	0,9256	0,3244		0,346	0,0011
p-valor ^a	0	0	0	0		0	0,9821
Peso especif.	-0,671	0,6018	0,4501	0,569	0,346		0,0358
p-valor	0	0	0	0	0		0,4667
Bajo 22	-0,0526	0,1078	0,0037	-0,097	0,0011	0,0358	
p-valor	0,2841	0,0279	0,9395	0,048	0,9821	0,4667	

Una relación medianamente fuerte también se observa entre el color y el pH de la malta caramelo (Coef. correlación lineal = -0,66). Maltas más coloreadas tienen a ser levemente más ácidas. Esta observación tiene importancia en la cinética y tipo de reacciones que se producen en el pardeamiento no enzimático del grano (iniciando con la Reacción de Maillard) pues el medio más ácido o alcalino define rutas distintas de reacción. Así maltas caramelo de colores bajos y altos no tan solo se diferencian por la cantidad de compuestos moleculares presentes, sino también como el tipo de compuestos, como lo sugiere Davies (1996) en su análisis de color. La aplicación en cervecería también se ve influenciada ya que el conocimiento del pH de la malta caramelo y su comportamiento con el color se puede usar para establecer el tipo de agua a utilizar en la elaboración de la cerveza para que en conjunto se favorezca la actividad enzimática en la maceración sin control de pH.

5.1.2. Caracterización de los parámetros de la malta verde y proceso de elaboración de malta caramelo

Análisis multivariable

La Figura 20 y Tabla 8 muestran las relaciones X vs Y entre las variables días de germinación de la malta verde (*Días germin.*), porcentaje de humedad de la malta verde (*% Hum. MV*), duración del proceso de caramelizado y tostado en minutos (*Duración*), temperatura final y temperatura máxima alcanzada (*T °C final* y *T °C máx*) respecto al color de malta caramelo (*Color MC*).

En la Tabla 8 están marcados los p-valor de aquellas relaciones de variables que no muestran correlación alguna y los coeficientes de correlación más altos. Las temperaturas final y máxima muestran una alta linealidad (coeficiente de correlación lineal de 0,9998). Esto se debe a que la temperatura final es aquella que se registra cuando se decide poner fin al proceso mientras que la temperatura máxima se produce cuando, al finalizar el proceso, se vierte agua para enfriar rápidamente el tambor de granos al interior de la tostadora. La acción produce vapor de agua que eleva en 1 o 2 grados la temperatura registrada por las termocuplas, así la temperatura máxima es siempre 1 o 2 grados mayor la temperatura final, aportando esta variables básicamente la misma información.

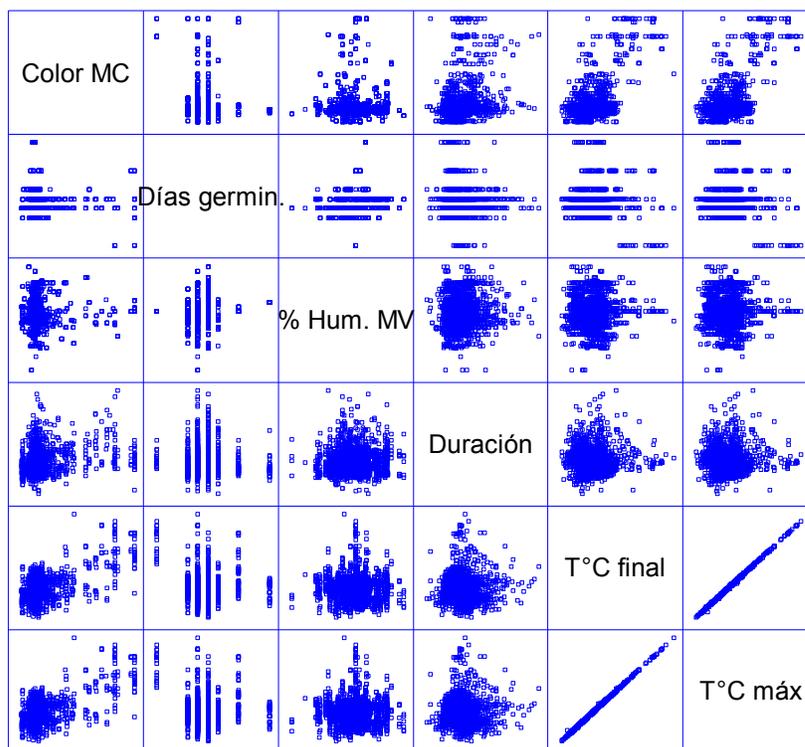


Figura 20 – Análisis multivariable de variables del proceso en tostadoras. N=2054. . Cada cuadrante corresponde a un gráfico Y vs X donde Y corresponde a la variable indicada en la columna del mismo cuadrante y X corresponde a la variable indicada en la fila del mismo cuadrante.

Tabla 8 – Matriz de correlaciones entre parámetros de proceso de malta caramelo. N= 2054. Por cada parámetro se indican 2 filas correspondientes al nombre de la variable y su coeficiente de correlación lineal y el p-valor resultado de un test de hipótesis. Valores menores a 0,05 implican significancia en la correlación lineal.

	Color MC	Días de germin.	% Hum. MV	Duración Proc.	Temp. final °C	Temp. max. °C
Color MC		-0,0903	0,0069	0,251	0,5458	0,5468
p-valor		0	0,7549	0	0	0
Días germinación	-0,0903		0,1258	-0,0063	-0,0913	-0,0918
p-valor	0		0	0,7748	0	0
% Hum. MV	0,0069	0,1258		0,0396	0,0096	0,0097
p-valor	0,7549	0		0,0728	0,6639	0,6604
Duración proceso	0,251	-0,0063	0,0396		-0,071	-0,0712
p-valor	0	0,7748	0,0728		0,0013	0,0012
Temp. final °C	0,5458	-0,0913	0,0096	-0,071		0,9998
p-valor	0	0	0,6639	0,0013		0
Temp. max. °C	0,5468	-0,0918	0,0097	-0,0712	0,9998	
p-valor	0	0	0,6604	0,0012	0	

Los días de germinación de la malta verde con la duración del proceso de caramelizado y tostado de la malta caramelo (*Días germin. vs Duración*) muestran una relación lineal nula (p-valor = 0,7748), se puede decir entonces que los cambios fisiológicos ocurridos en el grano (medidos sólo por el número de días transcurridos en la germinación) no impactan en el proceso de elaboración de maltas caramelo. Esto se debe a que con las distintas velocidades u homogeneidades en la germinación de la malta verde no se puede asegurar que maltas con, por ejemplo, 6 días de germinación posean el mismo grado de desagregación del grano. Para determinar entonces si es que los distintos niveles de desagregación del grano impactan el proceso de producción de la malta Pilsen se deben buscar otros indicadores, distintos a los días de germinación. En análisis de esas variables se muestra en la sección 5.1.3 más adelante.

La duración del proceso muestra muy bajos valores de correlación lineal con las temperaturas (-0,071), pero con p-valor muy bajos también (0,001) por lo que no se puede descartar una relación lineal significativa entre estas dos variables aunque la linealidad es débil. Con esto queda manifestado que procesos de elaboración de malta caramelo cortos necesitan temperaturas levemente más altas como lo indicado en la sección 2.1.

En cuanto al color la única variable donde se descarta una relación significativa es la humedad inicial del grano antes de entrar al proceso (*Color MC vs % Hum. MV*) debido a que su p-valor es mayor a 0,05 (0,7549). Para el resto de las variables se puede decir que existe, al menos, una correlación débil con el desarrollo de color. Las temperaturas son las que mejor comportamiento tienen (0,55 para ambas) seguida de la duración del proceso (0,25). La Figura 21 y Figura 22 muestran estas relaciones en particular.

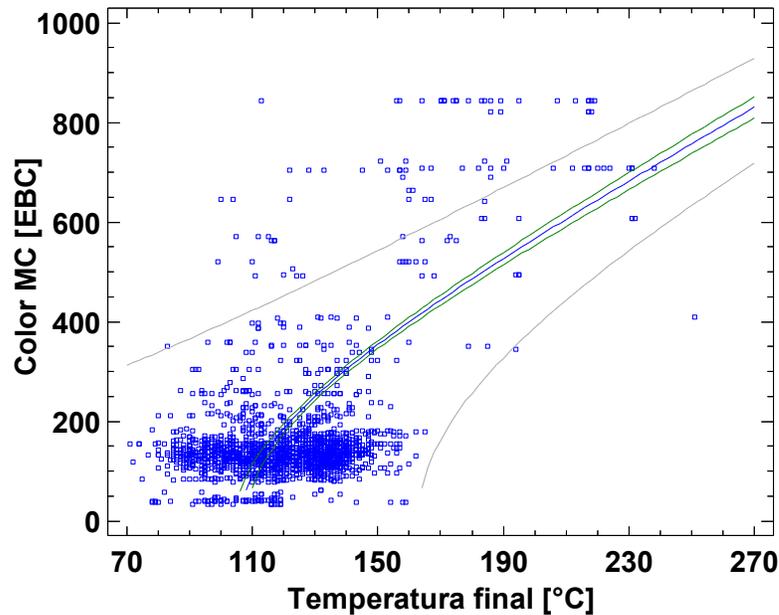


Figura 21 – Relación del color respecto a la temperatura final del proceso. Modelo de dobles cuadrados; $y = \sqrt{-126891 + 11,2022 \cdot x^2}$; $R^2 = 39,7\%$. La alta densidad de datos bajo 200 EBC no permite ajustar modelos convencionales por su variabilidad.

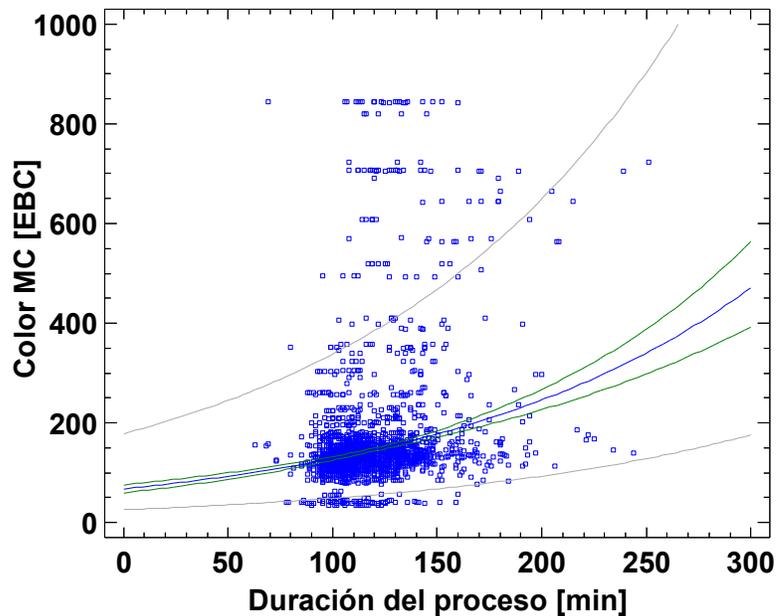


Figura 22 – Relación del color respecto a los tiempos de proceso de caramelizado y tostado. Modelo exponencial: $y = \exp(4,20614 + 0,00649371 \cdot x)$; $R^2 = 7,31\%$. La alta densidad de datos bajo 200 EBC no permite ajustar modelos convencionales por la alta variabilidad.

En las dos Figuras anteriores se aprecia una alta densidad para los valores bajo los 200 EBC. Esta mayor densidad responde a decisiones productivas y de ventas ya que en ese rango de color está el mayor volumen de producto vendido y es donde se encuentran incluso diferencias mayores al 54% en la duración del proceso (respecto a la duración mayor) para un mismo color (maltas de 155 EBC y procesos de producción de 71 min a 157 min). Para el caso de la temperatura, se observa una tendencia

creciente levemente superior que para el caso de la duración del proceso, pero la alta densidad de datos bajo los 200 EBC, y su alta variabilidad, distorsiona cualquier posible modelo a ajustar, por lo que los coeficientes de determinación (R^2) son muy bajos. Teniendo los antecedentes de la influencia de estos parámetros, los resultados presentes sólo muestran la poca estandarización del proceso. Así, en Malterías Unidas S.A., para la fabricación de una malta caramelo de un color determinado, se requieren condiciones de operación temperatura vs tiempo significativamente distintas entre batch y batch.

Por su parte la humedad sólo muestra una muy débil correlación con los días de germinación (*% Hum. MV vs Días germin.* - Coef. Corr. = 0,13) y ninguna con el color de la malta caramelo ni con la duración del proceso ni con la temperatura del proceso (todos con p-valor mayor a 0,05 en Tabla 8). Se esperaba que a mayor humedad de la malta verde al inicio del proceso mayor fuera el tiempo del proceso con tal de extraer el agua y llegar a la humedad final del producto, pero lo que se observa es que, sin importar la humedad inicial de la materia prima, el proceso opera a temperaturas y tiempos independientes para obtener un color determinado de malta caramelo. Esto es evidencia también de la no estandarización del proceso. Color y humedad inicial de la malta verde son independientes y su relación de muestra en la Figura 23.

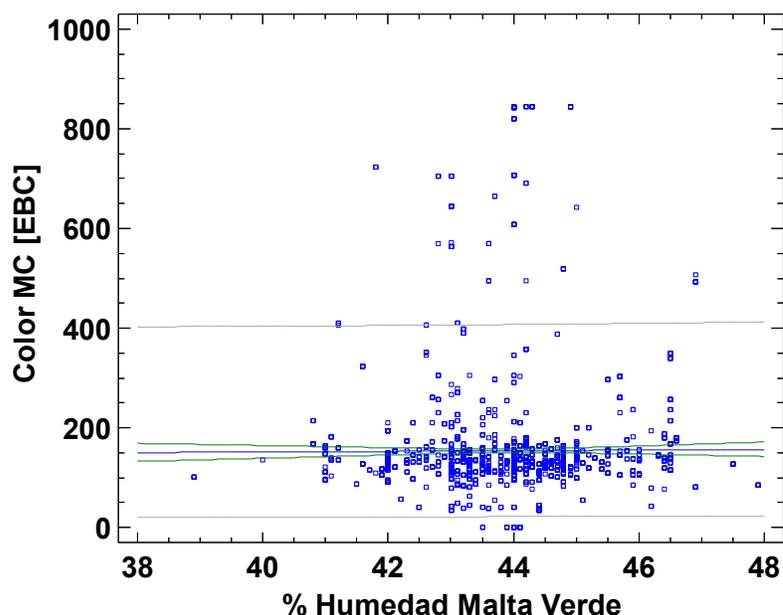


Figura 23 – Relación del color respecto a la humedad de la materia prima a la entrada. Modelo no lineal; $y = (11,8237 + 0,000296978 \cdot x^2)^2$; $R^2 = 0,12\%$. No se muestra una relación de dependencia.

Una razón que explica este comportamiento es que la medida de la humedad registrada no es la medida de la humedad real con la cual la malta verde entra a la tostadora. Una vez el grado de germinación es el indicado para poder procesarla, la malta verde llega a una tolva de almacenamiento pulmón, sin condiciones de temperatura ni humedad controlada, luego pasa a las tostadoras. El tiempo de almacenamiento en la tolva puede llegar a 8 u 12 horas, es decir la duración de un turno de trabajo dependiendo del

esquema que se esté utilizando, lo que implica que eventualmente las condiciones registradas al momento de salir del cajón de germinación, como la humedad, pueden cambiar para el momento en que se inicia el proceso de caramelizado y tostado.

Análisis de componentes principales (PCA, *principal components analysis*)

Un camino formal para determinar qué factores de los analizados antes está mayormente relacionados con el color se puede hacer por medio de un análisis de componentes principales.

Si se tienen p variables cuantitativas, mediante un PCA se pueden extraer k combinaciones lineales de las p variables independientes ($k \leq p$). Estas combinaciones lineales se denominan Componentes Principales – CP – (Ganzo, 2004). El total de componentes generados representa el la variabilidad total de los datos, y el número de componentes puede ser a lo más el mismo número de variables originales. Sin embargo uno de los objetivos del PCA es justamente reducir el número de variables a analizar (dimensionalidad de los datos) para la simplificación de un problema en específico: si las p variables están altamente correlacionadas, se puede establecer una dimensión k , menor que p , como una dimensión real de los datos (Villardón, 2006). Cuando no necesariamente están altamente correlacionadas, los CP se pueden ordenar por importancia de acuerdo a la representación de la variabilidad que cada uno de ellos posee y luego seleccionar sólo algunos CP para el estudio del problema. La variabilidad de los datos se entiende como la información que el conjunto puede entregar, datos con alta variabilidad pueden aportar más información que datos que permanecen constantes para la mayor parte de las observaciones.

Cuando los datos tienen diferencias en sus magnitudes, la generación de los CP puede dejar de manifiesto simplemente esta diferencia de magnitud, siendo el CP1 la combinación lineal de todas las variables con ponderación mayor de aquellas que poseen mayor magnitud (Carrasco, 1995). Para evitar esto los datos deben ser estandarizados (tipificados⁶), con ellos obtener la matriz de correlaciones de los datos tipificados, que se diagonaliza para obtener los valores propios. Valores propios nulos muestran dependencia lineal entre las variables (Carrasco, 1995). Descartando estos valores propios se generan las p combinaciones linealmente independientes (p componente principales). La varianza asociada a cada componente se expresa en su valor propio, así los k componentes se ordenan de forma decreciente según los valores propios, es decir, de acuerdo a la variabilidad que explica cada uno (StatPoint Technologies, 2009). Se generará el número de componentes suficientes para explicar el 100% de la variabilidad de los datos.

⁶ Restar la media y dividir el resultado por la desviación estándar

Para el caso de las variables de temperatura (final y máxima, humedad de la malta verde, días de germinación y duración del proceso), el total de CP se muestra en el anexo H. 5 componentes fueron generados ordenados según la varianza explicada por cada uno. La selección (extracción) de ellos depende del criterio que se ocupe. Se puede extraer un número fijo de componentes, se pueden extraer tantos CP como para explicar una varianza total fija, o se pueden extraer CP hasta cuando la contribución marginal de cada componente deja de ser significativa, en general esto ocurre cuando el valor propio es menor que 1 (StatPoint Technologies, 2009; Carmona, 2002; Carrasco 1995). Se utilizó este último criterio y los componentes extraídos para este análisis se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9 – Componentes principales del proceso de caramelizado y tostado.

Parámetro	Componentes principales		
	CP1	CP2	CP3
Temperatura final	0,6982	0,0687	-0,0399
Temperatura máxima	0,6982	0,0684	-0,0398
Humedad inicial MV	-0,0030	0,7373	-0,1047
Días germinación	-0,1237	0,6569	0,3046
Duración proceso	-0,0984	0,1243	-0,9450
<i>Valor propio (λ)</i>	<i>2,03</i>	<i>1,12</i>	<i>1,00</i>
% de varianza que explica	40,52%	22,42%	20,01%
% de varianza que explica (acumulada)	40,52%	62,94%	82,92%

El componente principal 1 explica casi el doble de la varianza que el componente 2 y el doble que el componente 3. En conjunto, el total de varianza explicada por estos 3 componentes es del 82,92%.

Los valores asociados en una fila a las variables son la contribución que hace cada variable a cada componente. Este valor se denomina “carga de los factores” está acotado entre -1 y 1, como restricción en el método, y corresponde a la correlación entre la componente principal y la variable original tipificada (Carrasco, 2002; Villardón, 2006, Carmona, 2002). Se pueden interpretar de forma geométrica. Como se extrajeron 3 componentes es posible representar un espacio tridimensional donde proyectar las variables (anexo H). El coseno del ángulo generado que forma el vector de cada variable con el eje del componente principal es una medida, aproximada, de la correlación entre la variable y el CP y es el valor del factor de carga. Una variable está muy correlacionada con el componente cuando su ponderación sea cercana a 1 o -1, así, estos puntos son los que más contribuyen a la formación del eje y gráficamente se ven más alejados del eje del componente (Carrasco, 2002). También a cada variable se le puede calcular la “contribución relativa del factor al componente” elevándolo al cuadrado (Villardón, 2006) de donde se obtiene la Tabla 10.

Tabla 10 – Contribución de las variables de proceso para cada componente principal generado.

Parámetro	CP1	CP2	CP3
Temperatura final	0,4875	0,0047	0,0016
Temperatura máxima	0,4875	0,0047	0,0016
Humedad inicial MV	0,0000	0,5436	0,0110
Días germinación	0,0153	0,4315	0,0928
Duración proceso	0,0097	0,0155	0,8930
Suma	1,000	1,000	1,000

La ganancia es que ahora todos los valores suman 1 y se ve de manera más clara la contribución de cada variable a cada uno de los ejes. El conocimiento del proceso de elaboración de malta caramelo permite también nominar a cada componente (Carrasco, 2002): el CP1 corresponde específicamente a la temperatura; CP2 a la materia prima (humedad y tiempo de proceso de la malta verde justo antes de entrar a las tostadoras); y CP3 a la duración del proceso.

Estos tres aspectos se manifiestan entonces de manera independiente. A destacar es el caso que las temperaturas y la duración del proceso se manifiesten de manera independiente, puesto que lo esperado es que a mayor temperatura final, menor sea la duración del proceso para desarrollar un color determinado. Esto se puede deber a la gran variedad de colores producidos por ambas máquinas, donde las condiciones de operación para colores de los extremos del rango son muy distintas. Probablemente también tenga influencia el criterio para la finalización del proceso, el cual, como se explicó, depende del operador de turno en base a la comparación visual que hace del grano en proceso con una muestra de grano patrón, disminuyendo al correlación entre la temperatura y la duración del proceso. Tomando este aspecto en cuenta se realizó un estudio de las máquinas tostadoras donde se elabora la malta caramelo.

5.1.3. Comparación de tostadoras

Las dos tostadoras fueron comparadas según colores producidos, tiempos de proceso y temperaturas finales alcanzadas. Ambas tostadoras producen una distribución similar de colores, es decir que, definiendo sólo a la malta caramelo por su color, pueden fabricar los mismos productos. La Figura 24 muestra un histograma comparativo de las dos máquinas tostadoras, el cual permite observar que la distribución de colores en cada máquina es similar.

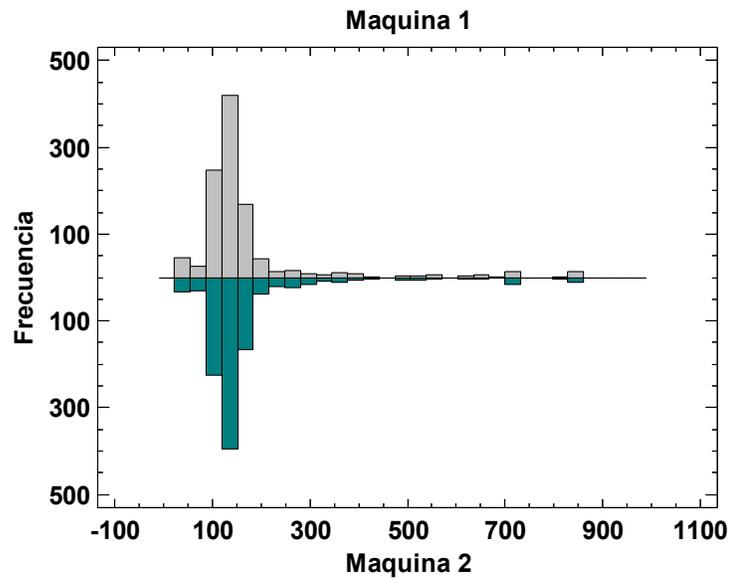


Figura 24 – Histograma comparativo de la frecuencia de producción de cada color de malta por máquina tostadora. El eje X indica el rango de colores cubiertos y el eje Y la frecuencia de producción durante el año 2011. La producción de maltas caramelo posee similar distribución de color en ambas máquinas, por lo que ambas máquinas son capaces de fabricar los mismos productos.

Realizando un análisis de cada máquina por separado se encuentra que el color promedio producido por la máquina 1 fue 167 ± 130 EBC mientras que para la máquina 2 fue de 175 ± 137 EBC, es decir, prácticamente los mismos colores, pero un análisis comparativo de los tiempos de proceso y temperaturas finales demostró que las máquinas se comportan de manera distinta. La Figura 25 da cuenta de aquello.

Para la duración del proceso y la temperatura final alcanzada se encuentra que tanto máquina 1 como máquina 2 muestran valores atípicos (marcados como puntos más allá de los “bigotes” del gráfico). Se puede considerar que estos valores no provienen de la misma distribución de la muestra, pero a la vez la Figura 24 muestra que existieron producciones de colores muy altos que se escapan de una distribución normal, por lo tanto, los valores atípicos de la Figura 25 probablemente correspondan a las condiciones de operación necesarias para elaborar los colores más altos de la distribución de color (sobre 500 EBC).

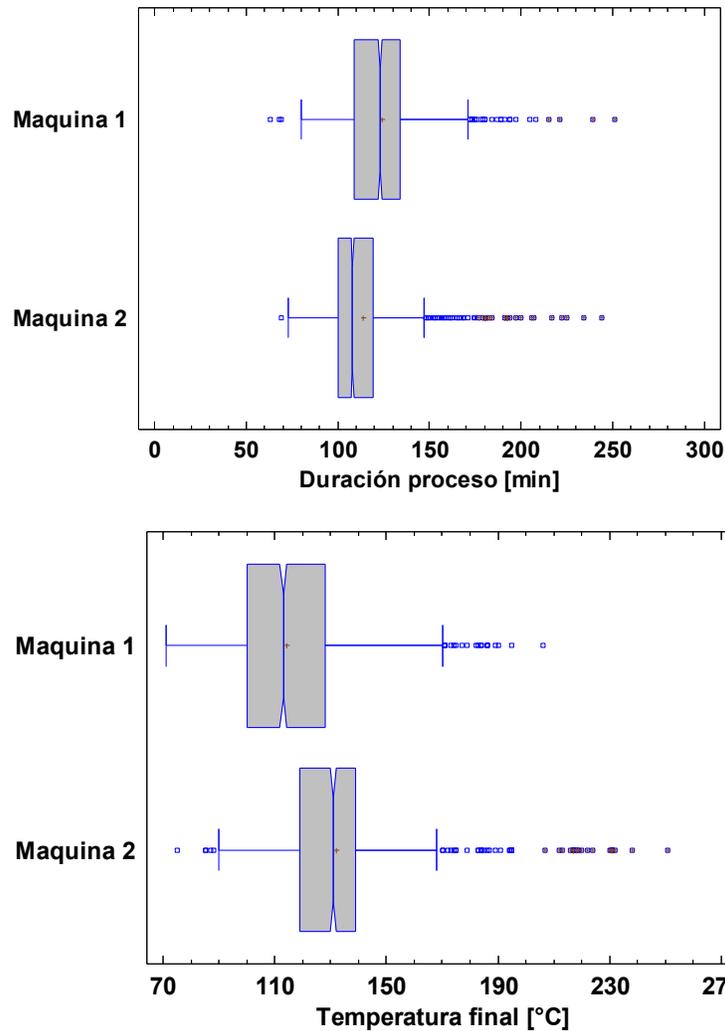


Figura 25 – Diagrama de cajas y bigotes para la comparación de la duración del proceso de producción de malta caramelo por tostadora (N=1066) (a) y para la comparación de la temperatura final alcanzada en el proceso de producción de malta caramelo por tostadora (N=1039) (b). La caja de color sólido muestra el recorrido intercuartílico (borde izquierdo Q1 y borde derecho Q3). La línea vertical dentro de la “caja” corresponde al valor de la mediana (que a la vez corresponde al segundo cuartil Q2). La media es indicada con un signo “+”. La línea horizontal recta que se extiende desde los bordes verticales de las cajas marca el valor mínimo (izquierda) y máximo (derecha) de la distribución a menos que existan valores atípicos (*outliers points*), los cuales son definidos como valores alejados más que 1,5 veces el rango intercuartil (largo de la caja) bajo Q1 o sobre Q3 (son marcados como un cuadrado). Valores que se alejen más de 3 veces el rango intercuartil son denominados valores atípicos lejanos (*far outliers points*) (marcados como un cuadrado con un “+” en el interior). La muesca en el borde horizontal de la caja superior e inferior muestra el intervalo de confianza de la mediana al 95% de confianza (StatPoint Technologies, 2009).

En la Figura 25 el desplazamiento que muestra una caja de la otra indica la diferencia que existe entre las dos máquinas cuando se distribuye el 50% de los datos centrales de la muestra. Analizando la duración del proceso, ambas máquinas presentan rangos intercuartílicos similares (largo de la caja), lo que implica una distribución similar, pero desplazada, siendo los valores de la máquina 1 más elevados que en la máquina 2 (procesos en máquina 1 demoran más que en máquina 2). Lo inverso se observa para el análisis de las temperaturas finales en cada máquina, donde la máquina 1 posee el 50% central de la distribución de las temperaturas finales menores que la máquina 2

(temperatura final en máquina 1 tiende a ser menor que en máquina 2). Para estos casos, en que existen valores extremos muy altos es mejor comparar la mediana de los datos dado que es menos sensible a los datos extremos. El test de hipótesis (Mann-Whitney (Wilcoxon) W-test, 95% de confianza) comprobó que el valor de la mediana de la duración del proceso y de la mediana de la temperatura final alcanzada es significativamente distinta entre ambas máquinas. Esto también se puede ver de manera gráfica mediante la interpretación de las “muestras” de las cajas. Estas muestras corresponden al intervalo de confianza (al 95%) de la mediana, el promedio (media) por su parte es marcado con un signo “+” al interior de la caja.

Para verificar la diferencia entre las medias de las dos máquinas para ambos parámetros, se realizó un test de hipótesis (t-test) con hipótesis nula de “medias iguales”. Para la duración del proceso y para la temperatura final el p-valor fue 0, rechazando la hipótesis nula y confirmando (con un 95% de confianza) que las medias entre ambas máquinas son distintas tanto para temperatura como para duración. Como ambas máquinas son capaces de producir un mismo color, los resultados sugieren entonces que aquella máquina que alcance temperaturas mayores, hará la producción de una malta de determinado color en un tiempo menor y viceversa. Esta compensación Temperatura-Tiempo también puede apreciarse en la Figura 25. La máquina 1 tiende a tener procesos más largos por alcanzar temperaturas finales menores comparada con la máquina 2.

De forma análoga a la sección 5.1.2, se estudió la relación del tiempo de proceso y la temperatura final con el desarrollo de color por cada máquina y los resultados se muestran en el anexo I. El mismo comportamiento observado en la sección 5.1.2 se observa para cada máquina por separado. Esto es indicador de que si bien ambas máquinas en promedio trabajan distinto, cada una por si sola tiene gran variabilidad, lo que impide ajustar, mediante métodos de regresión y minimización de cuadrados, algún modelo predictivo del color basado en estos parámetros de proceso y disminuye considerablemente su correlación.

5.1.4. Elección de variables de proceso

La temperatura final y la duración del proceso fueron elegidas para su estudio en maltas. Los resultados del PCA mostraron que ambos parámetros se comportan de forma independiente. La temperatura en particular contribuye significativamente a la explicación de más del 40% de la variabilidad de los datos, y dado que tanto el componente 2 como el 3 explican cada uno el 20% de la variabilidad, se priorizó a la duración del proceso como elemento importante de estudiar, teniendo por cierto una contribución al CP3 de 0,89, muy similar a lo contribuido por el par de variables “días de germinación” y “humedad de malta verde” (0,97) (Tabla 10).

Con esto se decidió evaluar la “intensidad del proceso de tostado” de la malta caramelo. Se estudió la relación (Temperatura final/duración de proceso) en las maltas caramelo

para un color fijo. La Figura 26 muestra cómo se dispersan estos valores en todo el rango de temperaturas indicando una alta densidad de valores bajo los 200 EBC y mostrando a la vez gran dispersión de esta nueva variable respecto a un color fijo. Es de interés entonces evaluar qué impacto pueden provocar las diferencias detectadas en la relación temperatura/tiempo en las cualidades de una malta caramelo.

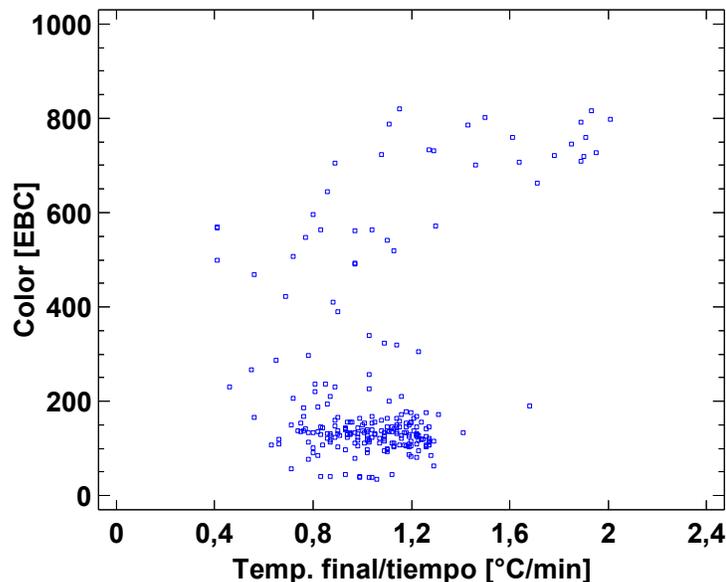


Figura 26– Gráfico Color malta caramelo versus la relación de temperatura final de proceso sobre el tiempo de proceso.

5.1.5. Relación de los parámetros de calidad de malta Pilsen con el color de maltas caramelo

Se estudiaron los parámetros de Calidad de malta Pilsen como una medida indirecta de los parámetros de calidad de la malta verde que se utilizó antes de ser transformada en malta caramelo. Esto se puede hacer puesto que los productos malta caramelo y malta Pilsen tienen una línea del proceso común, como se indica en la Figura 5.

Análisis multivariable y PCA

27 parámetros de calidad de malta Pilsen fueron sometidos a un análisis multivariable, estas variables y su descripción puede encontrarse en el anexo J. Se descartaron aquellos parámetros que no mostraban correlación con el color de la malta Pilsen o que estaban incompletos, también se descartaron los parámetros cualitativos, como la variedad de la malta o el horno donde se elaboró la malta Pilsen. Se eligieron sólo 16 variables numéricas para realizar un análisis de componentes principales. Se extrajeron 5 componentes que en conjunto explican el 74,1% de la variabilidad de los datos. La

Tabla 11 muestra las contribuciones (cuadrado del factor de carga) de cada variable en cada componente, el valor propio del componente (λ) y el porcentaje de variabilidad que explica cada uno.

Tabla 11 – Contribución de variables a los componentes principales extraídos para parámetros de calidad de malta Pilsen.

Variables	Contribución de variables				
	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
VZ 45 C° MP	0,1406	0,0000	0,0524	0,0038	0,0029
Ext. fino – Índ. Hartong	0,1369	0,0207	0,0324	0,0072	0,0026
N. soluble MP	0,1340	0,0310	0,0324	0,0888	0,0025
Índice de Kolbach MP	0,1204	0,0562	0,0053	0,1089	0,0050
F.A.N MP	0,1005	0,0005	0,0117	0,1648	0,0027
Friabilidad MP	0,0980	0,0328	0,0471	0,0408	0,0870
Dif. extracto MP	0,0645	0,0003	0,0210	0,1936	0,0365
Color Mosto hervido MP	0,0497	0,0210	0,1998	0,0026	0,0237
Sacarificación MP	0,0475	0,0035	0,0625	0,0000	0,1537
Color EBC MP	0,0331	0,0259	0,2333	0,0008	0,0008
Viscosidad MP	0,0272	0,0027	0,1303	0,1190	0,0240
% Ext. grueso MP	0,0269	0,2520	0,0067	0,0350	0,0159
% Humedad MP	0,0112	0,0001	0,0000	0,1568	0,4147
Proteína MP	0,0085	0,2611	0,0269	0,0012	0,0000
pH MP	0,0003	0,0081	0,1069	0,0681	0,2285
% Ext.fino MP	0,0000	0,2841	0,0320	0,0083	0,0000
Valor propio (λ)	4,45	2,81	2,17	1,31	1,11
% de varianza que explica	27,80%	17,60%	13,60%	8,20%	6,90%
% de varianza que explica acumulada	27,80%	45,40%	59,00%	67,20%	74,10%

La lectura de estos componentes, según la contribución de las variables en cada uno, permite ver 5 grupos (Tabla 12). El CP1 muestra variables que tienen relación prioritariamente con la actividad proteolítica, el contenido de aminoácidos libres y nitrógeno soluble (producto de esa actividad) y el nivel de desagregación de la malta, es decir su friabilidad. Estos parámetros son indicadores justamente de la disponibilidad de reactivos para la generación de compuestos coloreados según la reacción de Maillard (anexo 0). Lo anterior se debe a que mientras mayor sea la actividad proteolítica y amilolítica de una malta Pilsen, mayor será la cantidad aminoácidos derivados de la proteólisis de las reservas del grano y de azúcares reductores provenientes de la hidrólisis del almidón. Con ello se obtiene una malta potencialmente más susceptible a la generación de color si es que se somete a las condiciones de calor, tiempo y pH adecuadas. El CP2 está compuesto por el porcentaje de extracto (fino y grueso), el cual es medida de los sólidos solubles en el mosto, principalmente azúcares, y del contenido de proteína, parámetros indicadores a una escala mayor de la presencia de grupos carboxilos y aminos para la Reacción de Maillard. El CP3 se refiere al color de la malta Pilsen en mosto y mosto hervido. Estas variables están correlacionadas entre si ya que el color del mosto tiene a subir 2 a 3 unidades EBC cuando se hierve (MEBAK, método 4.1.4.2.9), esto les confiere contribuciones similares en el CP3. La principal variable del

CP4 es la diferencia de extracto. Cuando este valor es pequeño (nivel de extracto con molienda gruesa se acerca a nivel de extracto con molienda fina) existe un alto grado de desagregación proteolítica y a la vez del endorpermo amiolítico. El CP5 habla de la salida del proceso de secado de la propia malta Pilsen, la humedad final, y no muestra relación directa con el proceso de obtención de color de la malta caramelo.

Tabla 12 – Agrupación de variables más importantes (con mayor contribución relativa) en cada componente principal.

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
VZ 45 C° MP	% Ext. fino MP	Color MP	Dif. extracto MP	% Hum MP
Ext. fino – Índ. Hartong	Proteína MP	Color Mosto herv. MP		
N. soluble MP	% Ext. grueso MP			
Índice de Kolbach MP				
F.A.N MP				
Friabilidad MP				

Ni el pH, ni el tiempo de sacarificación ni la viscosidad contribuyen de forma importante a ninguno de los componentes extraídos. Estos parámetro no poseen gran variabilidad en las maltas Pilsen, por lo que se puede decir que están bien estandarizados en Malterías Unidas S.A.

El conjunto de variables mostradas en la Tabla 12 aporta el 73% de contribución en el CP1, 80% en el CP2, 43% en el CP3, 19% en CP4 y 42% en CP5. Teniendo en cuenta de que la elección de un determinado grupo de variables lleva la pérdida de información de los datos, los valores anteriores permiten distinguir las variables que tiene relación con el nivel de desagregación de la malta Pilsen, y por consiguiente de la malta verde antes de ser transformada en caramelo, son los parámetros que poseen la mayor parte de la información (variabilidad). Esta variación de valores eventualmente puede impactar en las reacciones y compuestos finales que se desarrollen en la malta caramelo cuando se procesen. Con el objeto de analizar unos pocos parámetros y su impacto en la malta caramelo se eligieron las variables más importantes de los dos primeros componentes.

Los parámetros de índice de Hartong (VZ 45 C° MP), Nitógeno soluble (N. soluble MP), Índice de Kolbach, Compuestos aminonitrogenados libres (F.A.N MP) y Friabilidad, al tener contribuciones similares en el CP1 implica que están correlacionados y que por tanto es factible obtener una que represente a las demás. Dado que la desagregación se puede medir según la actividad amiolítica (degradación del almidón) como proteolítica (degradación de estructuras protéicas) una variable para cada una fue elegida, representando la disponibilidad de grupos aminos y disponibilidad de los azúcares reductores respectivamente.

El nivel de desagregación total de la malta se puede medir con la Friabilidad, y dado que el grano está compuesto en mayor proporción por almidón, la friabilidad por si sola

indica el nivel de avance de la hidrólisis del almidón. Para la variable que represente a los compuestos derivados de la proteólisis (liberando compuestos nitrogenados) se elaboró una matriz de coeficientes de correlación mostrada en Tabla 13. De ella se obtiene que la variable con mayor correlación lineal con las demás es el Índice de Kolbach (relación proteína soluble/proteína total; evalúa la desagregación protéica), por lo que fue elegido para el posterior estudio de impacto en las cervezas representando una medida de la desagregación proteolítica del grano.

Tabla 13 – Matriz de correlación lineal para variables del componente principal 1

	VZ 45 C°	N soluble	Índice Kolbach	F.A.N.	Friabilidad
VZ 45 C°		0,422	0,446	0,402	0,374
N. soluble	0,422		0,691	0,625	0,402
Índice Kolbach	0,446	0,691		0,653	0,490
F.A.N.	0,402	0,625	0,653		0,362
Friabilidad	0,374	0,402	0,490	0,362	

Del grupo 2 se seleccionaron el nivel de proteína y el extracto fino como indicadores de grupos amino y polisacáridos disponibles respectivamente. No se eligió el extracto grueso por ser una medida que depende del nivel de molienda, la que por si sola constituye el mejor caso para extraer los componentes de la malta en la maceración. Extracto fino y proteína, al contribuir de igual manera en el CP2 están correlacionados. El análisis del contenido de proteína versus el extracto (Figura 27) refleja la relación esperada, es decir, a mayor cantidad de proteína, menor es el contenido de extracto.

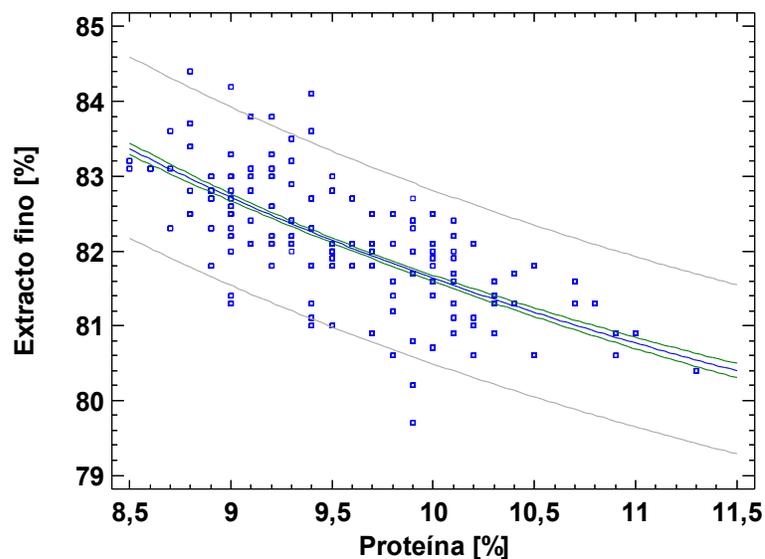


Figura 27 – Cantidad de extracto con molienda fina versus contenido de proteína para malta Pilsen. Modelo de dobles recíprocos; $y = 1/(0,0136927 - 0,0144288/x)$; $R^2 = 51,1\%$

La Figura 27 muestra la relación entre el nivel de extracto fino y el de proteína en una malta Pilsen terminada. Se ve que son inversamente proporcionales. Esta relación justifica los criterios de selección que se tienen al hacer ingreso de cebada con bajo contenido protéico (véase sección 1.3 y anexo B) ya que así se puede obtener un producto final con mayor nivel de extracto, que es de interés para el productor cervecero. Debido a esta correlación, finalmente se tomó la relación Extracto fino/proteína para realizar el estudio de su impacto de manera sensorial y cromatográfica en cervezas. Su relación con el color de maltas caramelo elaboradas de la misma materia prima se muestra en la Figura 28.

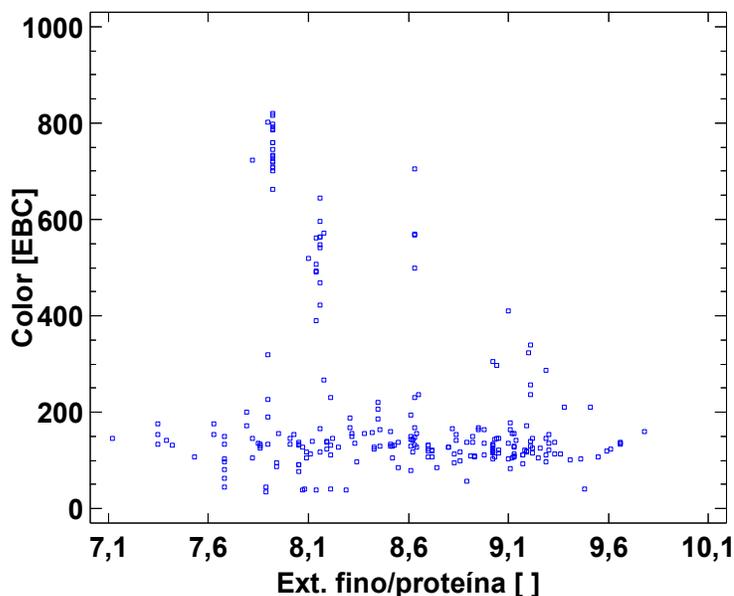


Figura 28 - Gráfico Color malta caramelo versus la relación de extracto fino sobre el nivel de proteína de la malta Pilsen proveniente del mismo cajón de malta verde base para la malta caramelo

Es clara la dispersión existente para un mismo color, especialmente bajo los 200 EBC, al igual que en la Figura 26, ya que bajo este color se encuentran los mayores niveles de producción como lo indican las distribuciones mostradas en la Figura 24. La gran dispersión comprueba nuevamente la no estandarización del proceso, dado que una malta caramelo de un color determinado se ha de elaborar con maltas verdes que poseen una relación Extracto fino/proteína muy variable, midiéndose este valor a través de la malta Pilsen. El impacto fue estudiado en lo que sigue de este trabajo.

5.1.6. Elección de color de maltas caramelo a evaluar

Los resultados de las secciones anteriores (5.1.2 a 5.1.5) definieron como importantes ciertos parámetros puesto que presentan gran variabilidad como indicadores de calidad de la materia prima utilizada para elaborar malta caramelo y como parámetros del proceso de elaboración de malta caramelo. Es de interés estudiar entonces qué impacto tienen las diferencias detectadas para maltas caramelo de un color específico. Los parámetros son los siguientes:

- Temperatura final/tiempo de proceso
- Friabilidad
- Índice de Kolbach
- % Extracto fino/% Proteína

La relación de temperatura y tiempo de proceso representa no estandarizaciones a nivel de condiciones de operación del proceso, mientras que los parámetros de Friabilidad, Índice de Kobach y relación entre extracto fino y proteína, representan no estandarizaciones a nivel de la materia prima utilizada para elaborar una malta caramelo, medidos estos valores a través de la malta Pilsen producida de la malta verde. Este último punto es importante ya que los parámetros de desagregación de la malta verde antes de ser procesada como malta caramelo se midieron indirectamente a través de los parámetros de calidad de la malta Pilsen, sustentándose en que los regímenes de secado de la malta Pilsen en efecto no cambian sustancialmente las propiedades de la malta verde (sección 1.3 y anexo B).

Se eligió un solo color de malta caramelo a estudiar dado que se observaron grandes diferencias para los parámetros arriba indicados a un mismo color. Para decidir sobre qué color trabajar se consultó al área comercial cual era la malta caramelo de mayor salida al mercado. Para Estados Unidos la malta caramelo es la de color 120 y 150 EBC los cuales comprenden los rangos de color [110, 130 EBC] y [130,170 EBC] respectivamente. Esto concuerda con los niveles de producción de cada color observados en la Figura 24 y que se muestra para ambas máquinas combinadas en la Figura 29.

DISTRIBUCIÓN DE PRODUCCIÓN DE MALTAS CARAMELO POR COLOR

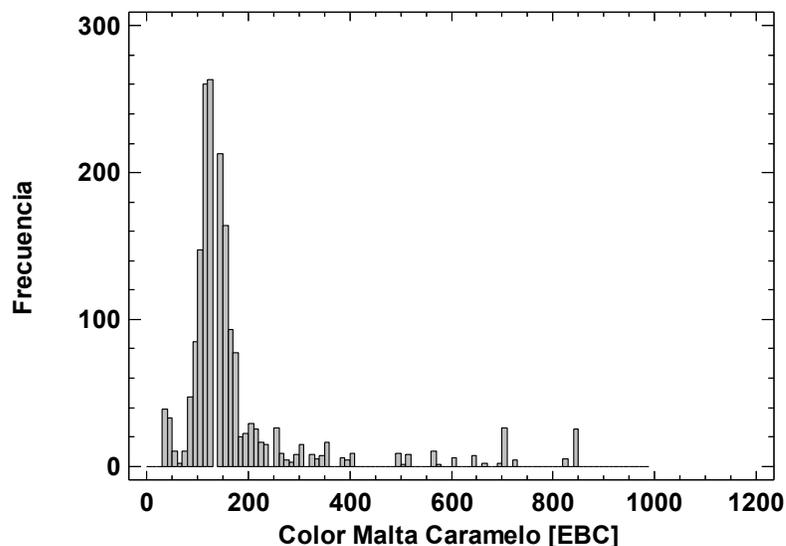


Figura 29– Distribución de la producción para las maltas caramelo según su color

Las medidas de tendencia central de los datos mostrados en la Figura 29 para el rango de color 110-170 EBC se muestran en la Tabla 14. Se puede decir que las muestras obtenidas en ese rango de color provienen de una distribución normal, por lo que la media es representativa de este subconjunto de color de malta caramelo.

Tabla 14 – Medidas de tendencia central para la producción de maltas caramelo en el rango de color 110-170 EBC. La asimetría estándar y la Curtosis estándar están dentro de los valores esperados para una distribución normal (-2,+2).

Promedio	135,16
Mediana	133,00
Desviación estándar (σ)	15,06
Coefficiente de variación	11%
Asimetría estándar	1,69
Curtosis estándar	- 1,55
N	129,00

Se decidió someter a evaluación maltas caramelo de colores cercanos a 135 ± 15 EBC (media $\pm \sigma$, donde se encuentra el aproximadamente el 68% de las observaciones) y que tengan diferencias significativas en los parámetros arriba mencionados (Temperatura final/tiempo de proceso; Friabilidad; Índice de Kolbach; % Extracto fino/% Proteína).

5.1.7. Maltas especiales seleccionadas para análisis

Dentro del rango de color 110-170 EBC se encontraron maltas de colores similares que representaban valores extremos (mínimos y máximos locales) para cada uno de los parámetros enlistados en la sección 5.1.6. Se determinaron dos muestras de malta que representan valores mínimos y máximos de cada parámetro para un color aproximado de 135 EBC. Para los parámetros de Índice de Kolbach, Friabilidad y %Extracto

fino/%proteína se denominaron las maltas A y B como mínimo y máximo local de estas variables respectivamente, mientras que para el parámetro temperatura final/tiempo de proceso se denominaron las maltas caramelo C y D como mínimo y máximo local respectivamente. Los valores de cada malta y el rango en el cual se encuentran (acotado este para colores 110-170 EBC) se muestran en la Tabla 15 y Tabla 16.

Tabla 15 – Maltas caramelo seleccionadas para análisis de índice de Kolbach, Friabilidad y Extracto fino/proteína. La malta A representa valores mínimos y la malta B representa valores máximos para el rango de valores encontrados en maltas caramelo 110-170 EBC.

	Malta A	Malta B	Rango en 110-170 EBC	
			mínimo	máximo
Índice de Kolbach (%)	41,30	48,40	36,10	49,20
Friabilidad (%)	70,80	89,20	70,80	96,20
E. fino/prot	7,85	9,51	7,12	9,78
Extracto Fino (%)	80,90	83,20	80,40	84,40
Proteína (%)	10,30	8,75	8,50	11,30
Color (EBC)	140,00	137,00	110,00	168,00

Tabla 16 – Maltas caramelo seleccionadas para análisis de Temperatura final/tiempo de proceso. La malta C representa valores mínimos y la malta D representa valores máximos para el rango de valores encontrados en maltas caramelo 110-170 EBC.

	Malta C	Malta D	Rango en 110-170 EBC	
			mínimo	máximo
Temp./tiempo (°C/min)	0,82	1,56	0,56	1,56
Temperatura final (°C)	113,13	157,13	88,30	157,13
Duración proceso (min)	140,50	102,63	91,33	169,00
Color (EBC)	117,42	120,22	110,00	168,00

Las maltas mostradas en la Tabla 15 y Tabla 16 fueron seleccionadas comprobando que el color fuera lo más similar posible. Para ello se utilizó un sistema de predicción de color sobre el grano seco de malta caramelo con la utilización del dispositivo RGB Color Analyzer. El desarrollo del modelo predictivo se plantea en el capítulo siguiente.

El anexo κ muestra los datos de las 4 variables seleccionadas para todas las maltas. Se observa que la malta D posee menor índice de Kolbach que la malta A (siendo que esta última se eligió como representativa del mínimo de este parámetro). La elección se debe que las maltas A y D poseen colores distintos (140 y 117 EBC respectivamente) lo que no permitiría evaluar la diferencia de este parámetro para un color fijo. Si se analizan de esta forma todos los parámetros de todas las maltas se puede decir entonces que:

- Todas las maltas son mínimos y máximos locales, excepto la malta D, la cual es máximo absoluto para la razón Temp./tiempo

- Malta A y malta B representan las mayores diferencias encontradas para el nivel de desagregación a un color fijo (138 EBC aproximadamente).
- Malta C y D representan las mayores diferencias encontradas para la intensidad del régimen de tostado a un color fijo (119 EBC aproximadamente).
- La malta A poseen una intensidad de tostado (razón Temp./tiempo) menor que C debido principalmente a un mayor tiempo de proceso.
- La malta B posee una intensidad de tostado media.
- La malta C no posee datos de la calidad de la malta verde desde donde fue realizada, por lo que no se sabe su nivel de desagregación.
- La malta D posee un nivel de desagregación medianamente bajo. En particular su índice de Kolbach es menor que A, y dado que tienen un nivel de proteína similar, la malta D posee menor cantidad de compuestos nitrogenados soluble.

Estos aspectos fueron considerados en cuenta para la interpretación de los resultados sensoriales y cromatográficos.

5.2. Medición de color en maltas caramelo

Con el objetivo de disminuir los tiempos de análisis de color y poder hacer comparaciones al instante de distintas muestras con el grano directamente se estandarizó una metodología de medición rápida de color en maltas caramelo con el uso del equipo RGB Color Analyzer. Uno de los fines prácticos es que el operador de las tostadoras posea un método objetivo con el cual comparar el color del producto que se está elaborando con el patrón que esté utilizando. La elaboración de una tabla donde el operador busque un valor para dar con el color es perfilado como un método sencillo que cumple este fin.

5.2.1. Evolución de los parámetros RGB y HSL medidos con el dispositivo RGB Color Analyzer respecto al color de malta caramelo

La Figura 30 y la Figura 31 revelan la evolución de los parámetros de los modelos RGB y HSL respectivamente a medida que las maltas caramelo aumentan su color en unidades EBC. El rango de valores que pueden tomar es de 0 a 1023 para RGB y 0 a 1000 para HSL (sección 2.2.3). El modelo RGB muestra que a medida que aumenta el color en las maltas caramelo sus valores de R, G y B van decreciendo y acercándose a 0, pasando al mismo tiempo los granos de malta caramelo de colores amarillos y anaranjados a rojos oscuros, pardos y negros por carbonización. Los tres parámetros tienen una evolución similar hasta alrededor de los 670 EBC, donde la cantidad de rojo (R) muestra una discontinuidad. Por su parte también, el valor de R siempre se muestra superior, siendo el rojo siempre el color más intenso. Esto es propio de la caramelización del almidón, que genera compuestos rojos y pardos como el HMF (5-hidroximetilfurfural) (Quintas, Brandão y Silva, 2002). La importancia que también muestra el verde (G) se puede asociar a las estructuras vegetales de la semilla (cáscara

y residuos del embrión) y a la evolución de la presencia de color café, el cual es combinación de los tonos rojo y verde.

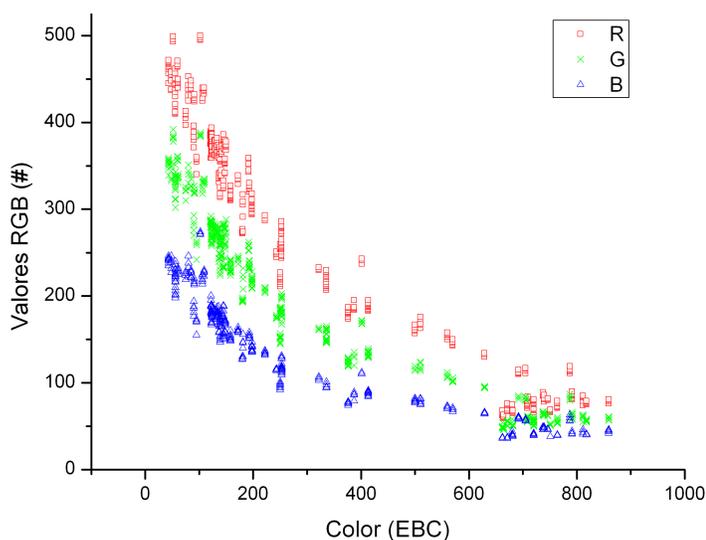


Figura 30 – Evolución de los parámetro del modelo RGB con el aumento de color de maltas

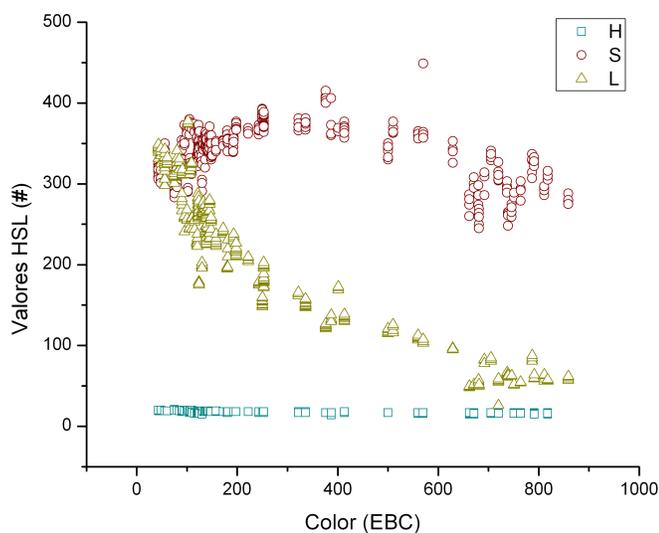


Figura 31 – Evolución de los parámetro del modelo HSL con el aumento de color de maltas

En la Figura 31 se ve cómo el valor de L (luminiscencia) tiene un comportamiento similar a los parámetros mostrados en la Figura 30, su disminución de color indica su camino hacia el negro. El nivel de saturación describe una curva con un máximo alrededor de los 376 EBC y disminuye parcialmente hacia los extremos del rango EBC llegando a un valor de intensidad de 245, por lo que se mantiene en un nivel medio-bajo, es decir más cercano al gris de igual luminosidad. El valor de H se mantiene prácticamente constante a una intensidad promedio de 17,8 y una desviación estándar de 1,1. Este valor de Matiz está muy cercano a la cota mínima del equipo y por ende cercano al rojo, manteniéndose así para todos los tipos de maltas evaluadas. De manera cualitativa se puede decir entonces que una de las componentes cromáticas

más importantes en el parámetro de color es el valor del Rojo y que la principal diferencia es la luminosidad, es decir, cuan negras o blancas son, información que entregan claramente ambos modelos.

5.2.2. Determinación de variables predominantes

Para la determinación de un modelo predictivo del color del mosto de las maltas caramelo se realizó un análisis multivariable. La Tabla 17 muestra los coeficientes de correlación lineal de las variables con el color EBC.

Tabla 17 – Coeficiente de correlación lineal de Pearson de las variables de cada modelo de color con la variable Color EBC para maltas caramelo.

Variabes del modelo	R	G	B	H	S	L
Coef. Correlación lineal con el color de malta caramelo	-0,944	-0,926	-0,906	-0,795	-0,154	-0,933

El p-valor para cada una de los coeficientes fue menor a 0,05 lo que indica correlaciones significativas con un 95% de confianza. Es claro además que la variable con mayor correlación lineal es R, es decir el nivel de Rojo como componente cromático más importante en el grano de malta. Esto refuerza el análisis cualitativo de las Figura 30 y Figura 31.

Se recurrió a un Análisis de Componentes Principales (PCA) para reducir la dimensionalidad del modelo. Sometiendo a PCA ambos modelos de color (RGB y HSL) en conjunto se extrajeron dos componentes principales. La contribución de cada variable es mostrada en la Tabla 18.

Tabla 18 – Contribución de cada variable para los componentes principales extraídos de un PCA para la totalidad de los datos obtenidos de color de malta caramelo en el rango 43 a 859 EBC

Variabes	Componente 1	Componente 2
G	0,208	0,001
B	0,208	0,000
R	0,207	0,006
L	0,203	0,007
H	0,172	0,109
S	0,003	0,876
Valor propio (λ)	4,8017	1,1151
% de varianza que explica	79,978	18,560
% de varianza que explica (acumulada)	79,978	98,537

El componente principal 1 explica el 79,91% de la variabilidad de los datos obtenidos (valor propio igual a 4,8) mientras que el componente principal 2 explica el 18,54% de la variabilidad (valor propio = 1,1). La tabla del anexo L da cuenta de todos los componentes generados, del porcentaje de variabilidad que explica cada uno y del valor

propio de los mismos. La interpretación de las ponderación de cada variable dentro de cada componente indica que tanto R,G,B y L son sustancialmente importantes para explicar el comportamiento de los datos (mayor ponderación dentro del componente 1), mientras que en el segundo componente principal se da importancia a la saturación (S) principalmente y en segundo lugar al matiz (H). Este comportamiento se puede ver también como una separación parcial de los modelos RGB y HSL. Como se mostró en las Figura 30 y Figura 31, la mayor variabilidad se da cuando la malta se acerca al color negro, es decir cuando R, G y B disminuyen (en el modelo RGB) lo que es equivalente a perder luminosidad (L), también acercándose a negro (en el modelo HSL), razón por la cual estos parámetros se ponderan con valores relativamente altos dentro de la componente principal 1.

Dados los fines prácticos de la predicción de color de mosto en maltas caramelo, es que se hizo necesaria la confección de una tabla para que para el personal pueda utilizar un solo valor, encontrarlo en la tabla y dar con una predicción del color como para tomar decisiones productivas, en particular decidir el momento de la finalización del proceso . Es así que se optó por ocupar un modelo de univariable y determinar un rango de operación más acotado para el equipo. Ocupando los resultados de la en la Tabla 18.

Tabla 18 la elección de la variable se hizo comparando uno a uno modelos no lineales para R, G, B y L dado que estos son los con mayor contribución en el componente principal 1. El anexo M muestra los gráficos del color versus cada variable (R, G, B y L) de forma independiente. La Figura 32 muestra sólo el caso del color de la malta caramelo en función de la luminosidad (L) donde se observa una acumulación de datos antes del valor $L = 100$ (entre 600 y 800 EBC), denotado por un círculo. Este comportamiento también se observa en el color respecto a las otras variables (anexo M).

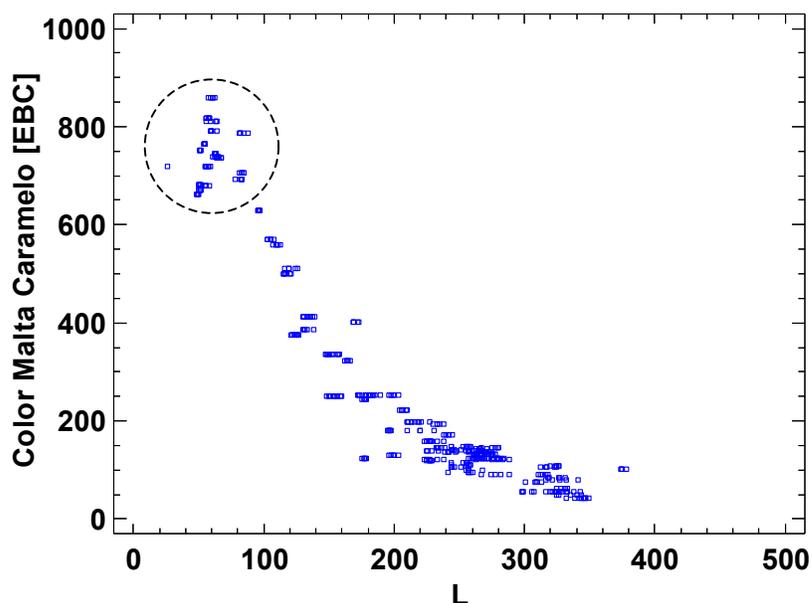


Figura 32 – Color EBC de mosto versus la luminosidad de los granos. Se marca una acumulación de puntos probablemente resultado de errores experimentales.

La multiplicidad de valores en el eje x para colores sobre los 600 EBC puede deberse a errores experimentales. Una malta sobre los 600 EBC es de color muy oscuro entonces es probable que corresponda a una menor sensibilidad del dispositivo para maltas de color muy alto por trabajar cercano a la cota inferior de su rango de operación. Se decidió por esta razón acotar el rango de predicción a valores de EBC menores o iguales a 570, que es el máximo valor medido que no representa el comportamiento descrito anteriormente.

Para las variables R, G, B y L, cada una por separado, se ajustó un modelo lineal (regresión lineal) de la forma $y = a + bx$ para luego discriminar entre una serie de 27 modelos alternativos, lineales y no lineales, usando el método de mínimos cuadrados. El criterio para la selección fue el coeficiente de determinación de cada uno (R^2). El modelo que mejor coeficiente de determinación obtuvo fue basado en el recíproco de la variable x de la forma $y = a + b/x$, donde y es el color en unidades EBC y x la variable R, G, B o L. La Tabla 19 muestra los coeficientes de determinación (R^2) para cada uno de ellos.

Tabla 19 – Resumen de los coeficientes de determinación de un modelo basado en los recíprocos de la variable x (R, G, B o L) para la predicción de color de mosto de malta caramelo en el rango entre 43 y 570 EBC.

Variable	Coef. de determinación (R^2)
R	94,56%
G	93,31%
B	92,26%
L	91,61%

La variable que mejor explica la variabilidad del color de los mostos con un modelo sencillo, sin mayores procedimientos sobre los datos originales (sin eliminación de datos) es R. Así fue seleccionado para la obtención del modelo final con la utilización de un modelo basado en el recíproco de x .

5.2.3. Identificación de outliers

Para el modelo basado en el recíproco de R ($y = a + b/x$) generado con la totalidad de los datos para el rango de color elegido [43-570 EBC], con un $R^2=94,56\%$, se realizó una identificación de outliers. La Figura 33 muestra la curva producto del ajuste de parámetros, su intervalo de estimación y su intervalo de predicción. La banda interna corresponde al intervalo de la estimación (o intervalo de confianza) al 95% de confianza. La banda externa corresponde al intervalo de la predicción. La diferencia entre uno y otro se debe a que el primero es construido de forma que para cada valor de R nuevo, se estime el valor del color de dónde provino considerando la variabilidad debida a que la curva estimada no representa exactamente la media verdadera del color, mientras que el intervalo de la predicción incluye en su cálculo la variabilidad

individual del color alrededor de la media verdadera y por ello es de mayo amplitud (Anderson y Bancroft, 1952; Kelmansky, 2005).

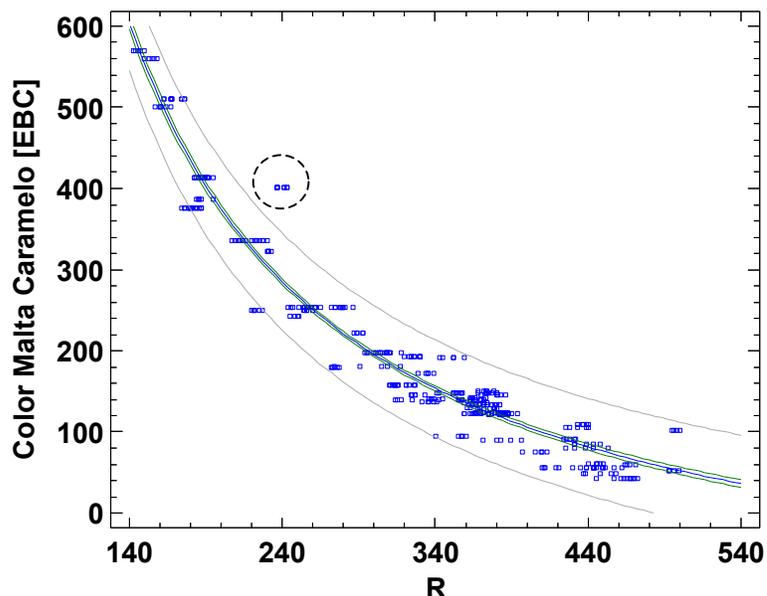


Figura 33 – Identificación de puntos no representativos de la curva de R para la confección de un modelo predictivo del color. Estos corresponden al color de malta caramelo 401 EBC, los que fueron eliminados. Modelo recíproco de x ; $y = -163,205 + 107630/x$; $R^2=94,6\%$. La banda interna corresponde al intervalo de la estimación y la banda externa al intervalo de la predicción.

Por inspección gráfica se observa que existe un conjunto de puntos que está fuera de la banda de predicción correspondientes todos al color de malta caramelo 401 EBC. Todos estos valores provienen de una misma muestra de malta caramelo, por lo que se consideró que es un error experimental. Se optó por su eliminación para la construcción de la curva ajustada.

Luego, fueron analizados indicadores robustos para outliers como las medidas de tendencia central (media, mediana, media truncada (15%), media winzorizada (15%)) o estimadores de escala (Desviación estándar, MAD/0,6745, Sbi, Desviación estándar winzorizada). Sus valores están en Tabla 20. Estos indicadores proveen información acerca del impacto que tienen los datos del extremo del rango de color elegido.

Tabla 20 – Estadísticos robustos a outliers. Los valores mostrados son calculados para todos los datos de R obtenidos con las mediciones de color de maltas caramelo. El truncamiento y winzorizado se realizó con el 15% de los datos mayores y menores de R.

Medidas de tendencia central	#	Estimadores de escala	#
Media de la muestra	328,145	Desviación estándar	90,3638
Mediana de la muestra	352,000	MAD/0.6745	87,4722
Media truncada	333,548	Sbi	96,0099
Media winzorizada	329,783	Desviación winzorizada	108,667

Tabla 21 – Intervalos 95% de confianza para la estimación de la media para los casos estándar y para cuando los datos son winzorizados

Intervalo 95% de confianza para estimación de media de Color Malta Caramelo		
	Límite inferior	Límite superior
Caso estándar	319,478	336,812
Caso winsorizado	317,310	342,256

Cuando no existen valores atípicos que causen distorsiones en los estadísticos de la Tabla 20, los valores de la columna izquierda (medidas de tendencia central) deberían ser similares entre sí, lo mismo debe ocurrir con los de la derecha (estimadores de escala). Esto se cumple si es que los datos pertenecen a una distribución normal. Se realizó un test de normalidad y se rechazó, con 95% de confianza, la hipótesis de que los datos provinieran de una distribución normal (Test Shapiro-Wilk, $W = 0,932853$; $p\text{-valor} = 0,0$). Cuando los datos son winzorizados se causa un leve impacto en los intervalos de confianza para la media (Tabla 21) - en específico para el límite superior (que cambia 5,444 unidades (1,6%) mientras que el límite inferior cambia 2,168 unidades (0,68%)). Según esto no se puede determinar con certeza si los datos de los extremos son o no outliers, puesto que a pesar que el cambio en la media es pequeño cuando se winzorizan los datos, el cálculo está basado en una distribución normal, la que fue rechazada. No se realizó otro test para determinar que los valores extremos fueran outliers, ya que los test disponibles basan su cálculo en una distribución normal. Sin embargo la Figura 34 muestra que ningún valor de R está más alejado que 2 desviaciones estándar de la media, comportamiento análogo al de una distribución normal, en donde el 95% de los datos se encuentran en el rango $[\mu + 2\sigma, \mu - 2\sigma]$.

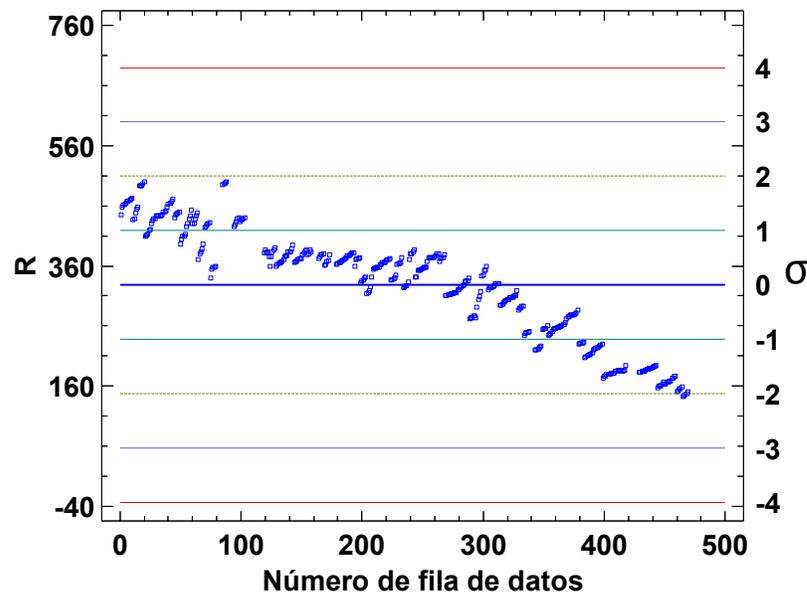


Figura 34 – Gráfico de outliers con límites Sigma (σ). Media: 328,145; Desviación estándar: 90,36; $n = 424$. Ningún valor de R está alejado más de 2 desviaciones estándar de la media.

Según esto último no se consideró la eliminación de más puntos. En síntesis no se encontró ningún outlier después de haber eliminado los valores de color 401 EBC. Se decidió finalmente realizar un modelo con todos los datos de R recolectados para un rango de color entre 43 y 570 EBC excluyendo a los de 401 EBC (5 puntos). Total de datos: 419 valores.

5.2.4. Validación del modelo

Con un total de 419 valores de R obtenidos a través del dispositivo RGB Color Anayzer sobre harina fina de maltas caramelo producidas en Malterías Unidas S.A. durante el año 2011 se realizó un modelo para la predicción del color dentro del rango 43-570 EBC. El modelo se especifica en la Ecuación 2 y el detalle de la estimación de sus parámetros con el método de mínimos cuadrados se muestra en la Tabla 22.

Ecuación 2

$$Color [EBC] = -160,506 + \frac{106019}{R}$$

Tabla 22 – Estimación de parámetros para modelo recíproco de x ($y = a + b/x$) del color en función de R.

Parámetro	Estimación por minimización de cuadrados	Error estándar [± Unid.]
Intercepto	-160,506	3,6645
Pendiente	106019	1.030,05
R ²	96,2041 %	
Error estándar de la estimación	24,8817	

El modelo de la Ecuación 2 explica de esta forma el 96,2% de la variabilidad de los datos, mejorando significativamente del utilizado con el total de datos (Figura 33). El error estándar de la estimación muestra que la desviación estándar de los residuos es 24,88. El scatter plot se muestra en la Figura 35 donde se ve que los puntos se dispersan en todo el rango y no representan patrones especiales alrededor de la diagonal, lo que permite asegurar que el modelo provee de una curva adecuada. De todas formas existen puntos que no se encuentran cerca de diagonal, indicando cierta deficiencia en el modelo predictivo.

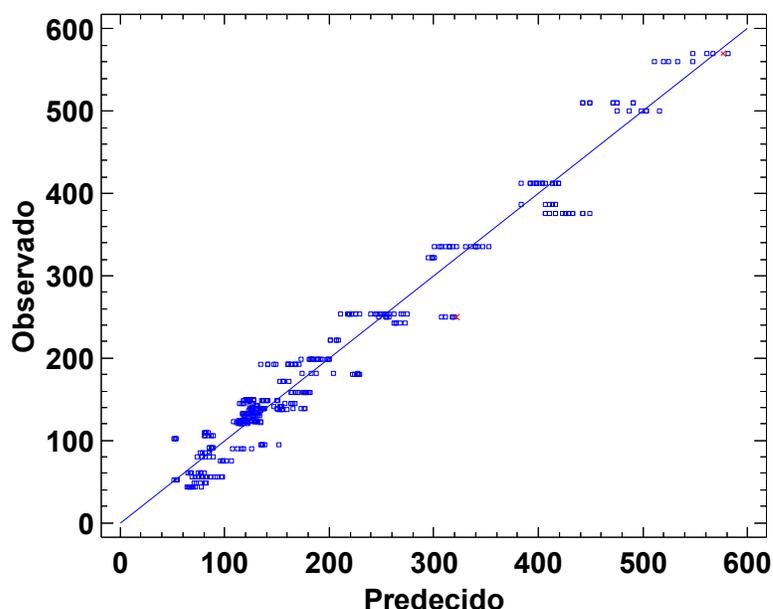


Figura 35 – Scatter plot de modelo para la estimación de color en maltas caramelo

La Tabla 23 muestra un análisis de varianza (ANOVA) con un análisis de falta de ajuste (lack-of-fit).

Tabla 23 – Análisis de varianza y lack-of-fit para modelo de predicción de color EBC en función del recíproco de R

Análisis de varianza con lack-of-fit					
Fuente de varianza	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	P-valor
Model	6.558.590	1	6.558.590,000	10.593,78	0,0000
Residual	258.783	418	619,098		
Lack-of-Fit ^a	165.616	213	777,540	1,71	0,0001
Error puro ^b	93.167	205	454,473		
Total	6.817.380	419			

^a Variabilidad del promedio de Y alrededor del modelo ajustado

^b Variabilidad de Y para un mismo valor de X

El análisis de lack-of-fit descompone la variabilidad de los residuos en dos componentes: Lack of Fit y Error puro. El p-valor de la falta de ajuste (lack of fit) (p -valor < 0,05) sugiere (con un 95% de confianza) que el modelo no es adecuado para representar la relación de las variables observada y que uno más complejo debería ser utilizado (StatPoint Technologies, 2009). Este resultado puede deberse a que, si bien el coeficiente de determinación es elevado (96,2%), éste no es la única medida de la bondad de ajuste de un modelo. El coeficiente de determinación (R^2) es una medida de la proporción de la variación de los datos estimados respecto a la media muestral ($\hat{y} - \bar{y}$) sobre la variación de los valores reales respecto a la media muestral ($y - \bar{y}$) y es altamente influenciada por el número de observaciones utilizadas. Un número elevado de variables independientes x distribuidas a lo largo de todo el dominio eleva el

coeficiente de determinación (Martínez, 2005) como puede ser en este caso. El anexo N muestra los residuos ($\hat{y} - y$) como el error que se comete al sustituir un valor observado (y) con el estimado (\hat{y}). Se observa en él que existe gran dispersión de los residuos, lo que puede influir en la estimación de la bondad de ajuste aún cuando el coeficiente de determinación es elevado.

Un factor que explica este comportamiento es que el color de las maltas caramelo que fueron utilizadas es también una estimación usando el método EBC del color real de la malta caramelo, por lo que tiene asociado un error experimental. La Ecuación 1 (sección 2.2.1) muestra el cálculo del color. Esta fórmula es válida para colores de hasta aproximadamente 500 EBC (si se toma el máximo valor de absorbancia para que la medición de color del mosto diluido sea 25,3 EBC13) y la medición del color se suele hacer para colores más elevados. Por otro lado los implementos para la medición de color no son los adecuados según el método EBC: en espectrofotómetro se ocupan cubetas de cuarzo de 20mm de ancho, cuando el método indica 25mm. Si bien esto se puede hacer, la Ecuación 1 necesita una corrección (multiplicación por factor de $25/20=1,25$) la cual no es realizada. Esto implica que los colores de las maltas caramelo que son informados están desviados aproximadamente 1,25 unidades (hacia abajo) de lo que el método oficial informaría. La expresión de estos resultados a la vez se realiza sólo con un decimal, por lo que se pudiera considerar como iguales maltas que el RGB Color Analyzer si pudiera distinguir. Esto explica las variaciones del Color para un mismo R que son observadas en el anexo o.

Aun cuando los problemas de la medición de color EBC no se solucionen, es importante considerar entonces que, para los fines del método de estimación rápida de color, los valores obtenidos a través de este método son tan sólo una guía y que los métodos estándar (EBC) se deben realizar para el cálculo del valor oficial del color. Así, los límites de predicción de color son amplios para un mismo R, como se indica en el anexo o. Sin embargo lo anterior, el modelo permite tener valores que permiten comparar maltas caramelos y tomar decisiones en el proceso de forma más objetiva de lo que se estaba haciendo antes de la implementación del método y es una poderosa herramienta para la comparación de maltas en términos relativos.

5.3.Análisis sensorial para la evaluación de cervezas con maltas caramelo seleccionadas

Para evaluar el perfil organoléptico de las muestras de malta seleccionadas y utilizadas para elaborar cerveza se estableció un panel degustador y pruebas sensoriales específicas.

5.3.1. Selección y entrenamiento de jueces

En la prueba de selección 1 (dúo-trío) y de selección 2 (ordenación) se atribuyó un puntaje unitario para cada una de las respuestas correctas. Las dos pruebas tuvieron 4 repeticiones por lo que el puntaje máximo total a alcanzar por cada juez fue de 8. De las 21 personas que participaron voluntariamente solo dos alcanzaron el máximo. La Tabla 24 muestra los puntajes atribuidos por juez ordenados según su desempeño de mayor a menor. El formato va de amarillo para el mejor desempeño a rojo para el peor desempeño.

Tabla 24 – Desempeño juez para cada prueba de selección. Amarillo: mejor desempeño; Rojo: peor desempeño.

juez	Dúo-trío	Ordenación	Total
1	4	4	8
2	4	4	8
3	4	3	7
4	4	3	7
5	4	3	7
6	4	3	7
7	3	3	6
8	3	3	6
9	3	3	6
10	2	4	6
11	2	4	6
12	2	4	6
13	2	2	4
14	3	1	4
15	3	0	3
16	1	2	3
17	0	3	3
18	1	1	2
19	2	0	2
20	1	0	1
21	1	0	1

Los resultados entre las pruebas 1 y 2 fueron consistentes dado que las personas que tuvieron mejor desempeño en la primera disminuyeron sólo un punto, mantuvieron, o mejoraron, su nivel de respuesta en la segunda prueba. Estas 12 personas son el 57,1% de la muestra y concentran 75% de los mejores resultados. En general los individuos con este desempeño pertenecen a las áreas de Producción de maltas caramelo, Control de Calidad, Desarrollo de productos y Comercialización, es decir, personas que tienen contacto directo con los granos de malta en distintos puntos de su proceso y comercialización y que poseen, dado su cargo, conocimientos específicos de algún aspecto del grano. Personas pertenecientes a las áreas Informática,

Administración, Gestión de personas o Adquisiciones no mostraron, en general, un mejor desempeño. Esto está acorde con los antecedentes expuestos sobre la influencia que tiene el entorno, el conocimiento y las características de las personas en una prueba sensorial (Saens, 1985). Se puede decir que los resultados que entreguen las personas que obtuvieron mayor puntaje, no representarán a un consumidor promedio chileno de cerveza, en cuanto a que el consumidor promedio no es un gran conocedor de la cerveza ni de la terminología empleada en su descripción, pero sí podrán dar información sobre aspectos más detallados de la calidad sensorial del producto. El panel final fue conformado por las 12 personas que obtuvieron el puntaje más grande, 6 hombres y 6 mujeres de entre 23 y 45 años. En cada una de las pruebas realizadas en el desarrollo de la tesis participaron aproximadamente 9 distintas personas.

5.3.2. Caracterización de parámetros organolépticos en las cervezas con malta caramelo

Existen 42 aspectos organolépticos evaluables sensorialmente en una cerveza, que se pueden dividir 14 categorías generales mostrados en anexo P (Gruber, 2001). Ellas comprenden parámetros de aspecto, aroma, sabor y sensación en boca (Beer Judge Certification Program, BJCP). Se seleccionaron 18 parámetros, 15 sabores y 3 sensaciones en boca, potenciales a ser desarrollados en cervezas con malta caramelo según lo expuesto por Gruber (2001), Álvarez (2011) y análisis sensoriales realizados por AndesWine (2011) tratando de abordar las 14 categorías expuestas. Los aspectos organolépticos se indican en la Tabla 25.

Tabla 25 – Sabores y sensaciones en boca potenciales a ser desarrollados en cervezas con malta caramelo.

Sabores		
Caramelo	Nuez, almendra	Agrio
Dulce	Frutal	Vegetales cocidos
Tostado	Chocolate	Papel, cartón
Amargo	Ácido	Grasa, mantequilla
Grano	Avinagrado	Alcohol
Sensación en boca		
Cuerpo	Astringencia	Carbonatación

Para evaluar el impacto de la malta caramelo se utilizaron concentraciones relativamente altas respecto a las ocupadas normalmente en cervecería. Este impacto se contrastó con cervezas que no tuvieran malta caramelo, así se elaboraron cervezas con 0%, 15% y 20% de malta caramelo. La cerveza con 0% se usó como muestra de referencia elaborada sólo con malta Pilsen. A cada juez se le dio de probar una cerveza con cierto porcentaje de malta caramelo y se le pidió indicar si, para un parámetro particular (Tabla 25) existía diferencia entre esa cerveza y la referencia. Para aquellos parámetros en que si se percibía diferencia, según el juez, se pidió dar un puntaje en una escala unipolar no estructurada como la de la Figura 17 numerada del 0 al 10.

Cada parámetro obtuvo una puntuación por cada juez y con ello se obtuvo un promedio y una desviación estándar. Los resultados del promedio de cada parámetro se muestran en el Figura 36 y de la variabilidad por parámetro en la Figura 38.

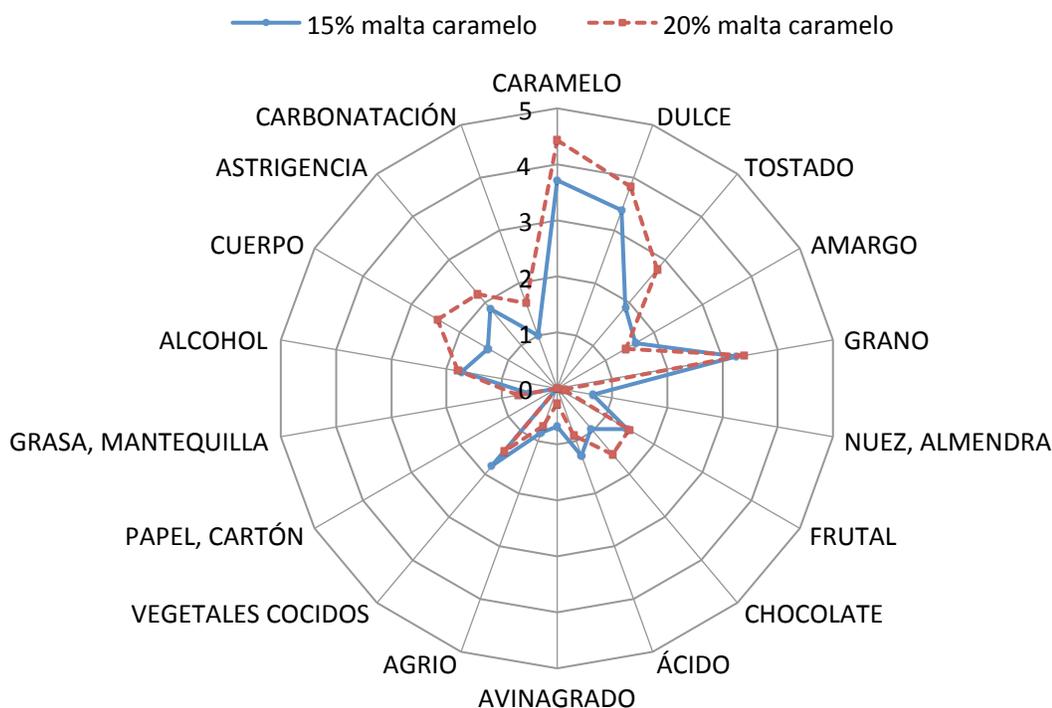


Figura 36 – Evaluación de 18 parámetros organolépticos en cervezas con 15 y 20% de malta caramelo. Cada valor es el promedio simple de 10 evaluaciones. Número de jueces: 10.

La Figura 36 muestra que en promedio se aprecia más impacto de los atributos de caramelo, dulce, tostado y grano pero ninguno de ellos es evidentemente importante en términos absolutos para la cerveza pues no se sobrepasa el valor 4,5 en una escala que va de 0 a 10. Las Figura 37 y Figura 38 muestran los valores promedios de la evaluación para cada parámetro por cerveza y los coeficientes de variación (desviación estándar sobre el promedio) para cada parámetro por tipo de cerveza evaluada respectivamente.

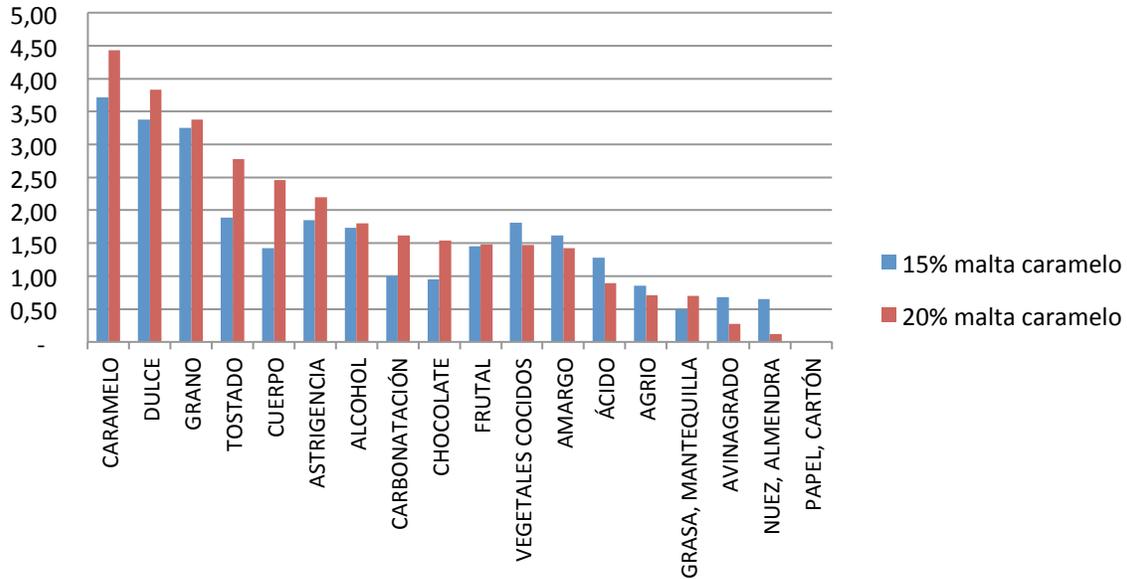


Figura 37 – Valor promedio de cada atributo organoléptico por tipo de cerveza. De izquierda a derecha se ordena de mayor a menor según los resultados de la cerveza con 20% de malta caramelo (N=10)

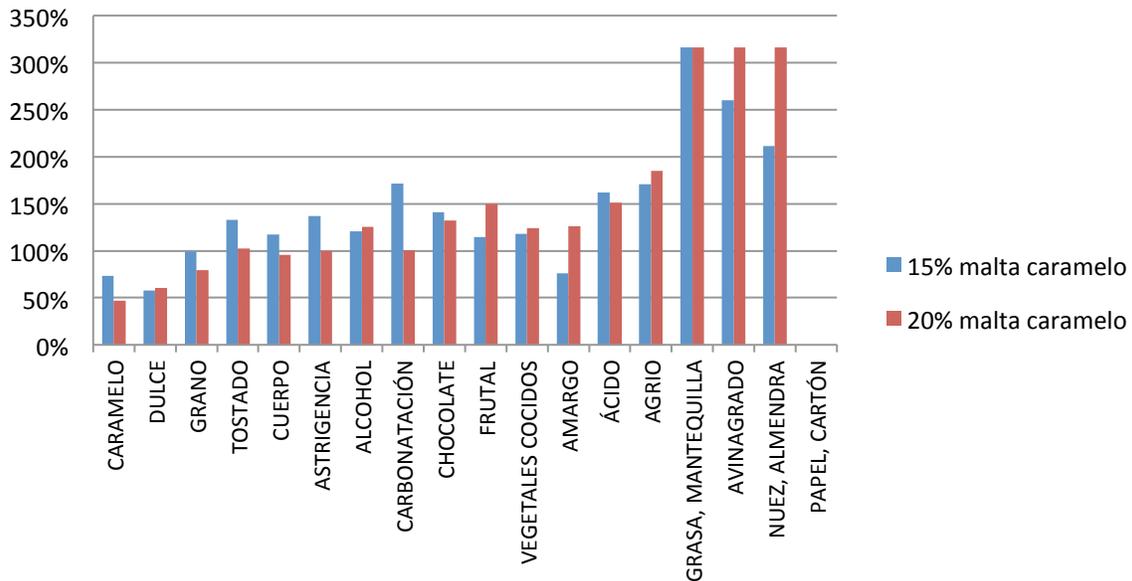


Figura 38 – Coeficientes de variación (desviación estándar/promedio) para cada atributo. Los parámetros de mayor valor absoluto obtuvieron menor variación entre los jueces.

Se seleccionaron aquellos parámetros que presentaron mayor intensidad en ambas cervezas: Caramelo, Dulce, Grano, Tostado. También se incluyó el parámetro Amargo puesto que tiene un coeficiente de variación relativamente bajo en cervezas al 15% de malta caramelo y es interesante de correlacionar con el tostado. Si bien se pudieron seleccionar más parámetros, ya que no se muestran diferencias significativas en muchos de ellos, se limitó la elección para poder realizar luego un análisis más preciso

de los parámetros seleccionados. Una mayor cantidad de aspectos a evaluar puede fatigar al juez y hacer que este disminuya su desempeño.

Esta etapa del procedimiento también cumplió los objetivos de entrenamiento produciendo una familiarización con las pruebas, con las muestras y con el ambiente. Mejoramiento de la concentración y estimación del tiempo requerido para la evaluación. A la vez la propia herramienta de evaluación (hoja con escala) fue puesta a prueba en claridad y eficiencia.

5.3.3. Evaluación de cervezas elaboradas con 15% de malta caramelo.

Se elaboraron cerveza con 0%, 15% y 20% de malta caramelo, en duplicado para cada una. El seguimiento de la densidad en el proceso cervecero mostró que una concentración de 20% de malta caramelo disminuye la atenuación durante la fermentación. La Figura 39 muestra la densidad en grados brix del mosto en las etapas de filtración, cocción y fermentación.

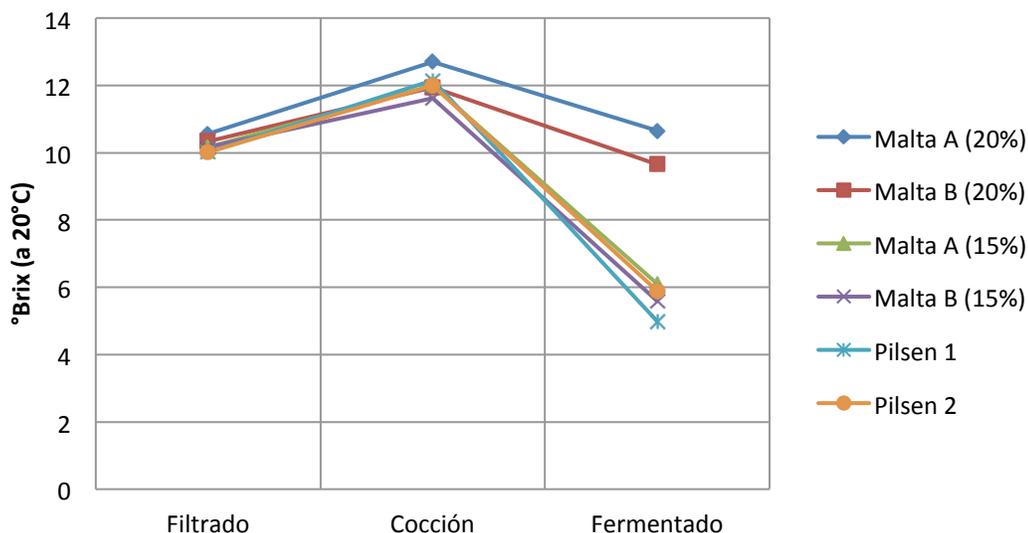


Figura 39 – Densidad de mosto y cerveza en las etapas de filtración, cocción y fermentación para elaboraciones con 20, 15 y 0% de malta caramelo. Las cervezas con 20% de malta caramelo mostraron una densidad mayor al final del proceso.

La Figura 39 muestra el comportamiento típico de la densidad durante el proceso cervecero. Dada una densidad luego de la filtración, durante la etapa de cocción se produce la evaporación del agua y la concentración de los componentes del mosto, con ello la densidad sube. En la fermentación se produce el consumo de azúcares y aminoácidos por la actividad de las levaduras y con ello la densidad baja. La diferencia de densidad antes y después de la fermentación se denomina atenuación y se utiliza para el cálculo de la cantidad de etanol de la cerveza. El grado Brix es una medida de la sacarosa presente en una solución: Un grado Brix (1°Brix) representa a 1 gramo de sacarosa en 99 g de solución. Su medición se hace con un refractómetro y su utilización en cervecería se basa en que el mayor porcentaje de azúcares en el mosto es la maltosa (Tabla 2). La maltosa es un dímero de glucosa, el cual tiene una refracción

similar a la sacarosa, que es un dímero glucosa-fructosa, y se extrapola que maltotriosa y otros oligosacáridos de glucosa refractarán con un índice similar. Así el grado Brix es frecuentemente utilizado en cervecería como una buena aproximación de la cantidad de azúcares disueltos en mosto y cerveza.

La mayor densidad mostrada en cervezas con 20% indica que hubo un menor consumo de azúcar al final del proceso de fermentación y por ende una menor producción con etanol. Esto sugiere que maltas caramelo usadas en altas concentraciones (20% en este caso) afectan la velocidad de fermentación debido a la inhibición del metabolismo de las levaduras por la presencia de componentes de la reacción de Maillard como fue indicado en el trabajo de Coghe *et al.* (2005). De ser así, maltas más oscuras, con compuestos de Maillard en mayores concentraciones, podrían provocar efectos similares a porcentajes de utilización más bajos que 20%. Siendo que las cervezas con 15% se comportaron de forma muy similar a las cervezas Pilsen, se decidió evaluarlas a ellas para que con la referencia (pilsen) fueran comparables.

Las maltas seleccionadas (A y B) en el capítulo 5.1.7 fueron sometidas a un análisis sensorial por parte del panel seleccionado y semientrenado. Se elaboraron cervezas al 15% de malta caramelo para el análisis. La prueba correspondió a la ordenación de 5 parámetros de sabor en una escala de 0 (nada intenso) a 10 (muy intenso) no estructurada. Los resultados (valores promedio) se muestran en la Figura 40.

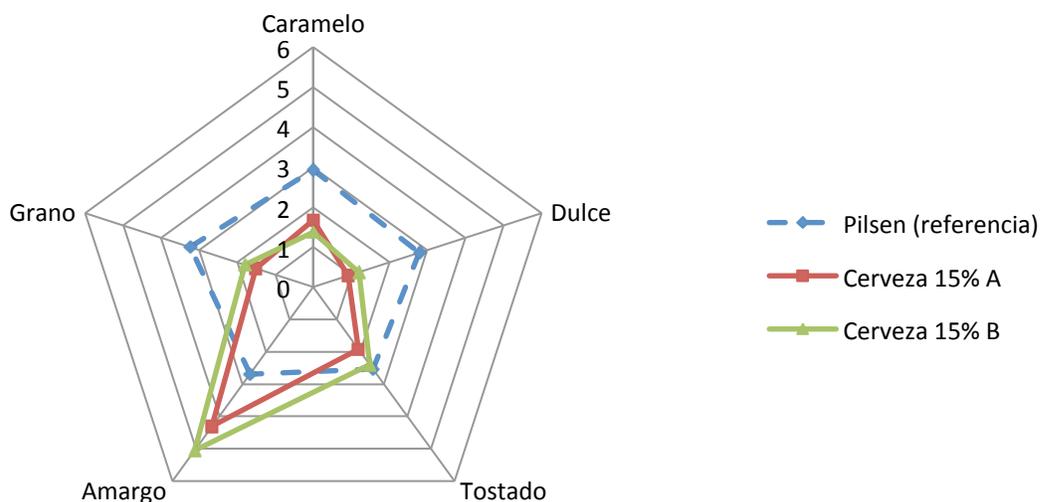


Figura 40 – Análisis sensorial (valores promedio) de cervezas elaboradas con 15% de maltas caramelo A y B. Número de jueces: 6.

Los resultados mostrados no fueron los esperados puesto que las cervezas en las cuales se utilizó malta caramelo mostraron sabores disminuidos respecto a la cerveza referencia 100% malta Pilsen, a excepción del amargor. La razón de estos resultados se debe al nivel de acidez de las cervezas. Las pruebas sensoriales se realizaron en 2 sesiones separadas por 72 horas por razones de disponibilidad de jueces. Los jueces de la segunda sesión son causa de la desviación encontrada en los datos pues el nivel

de acidez era tal que no permitía distinguir una gama amplia de sabores. El pH medido luego de la fermentación en botella fue de 3,6 para las elaboraciones con malta caramelo, por debajo de lo esperado en cervezas normales (pH = 4,2-4,5). Esto pudo haber sido causa de contaminaciones en el proceso cervecero. Aun así, el parámetro de amargor se mostró superior en cervezas con malta caramelo respecto a las con sólo malta Pilsen. La razón de esto puede ser atribuida a la localización de los receptores de sabor en la lengua (Figura 15 a)). Si bien los receptores se reparten por toda la superficie de la lengua la mayor densidad para los de compuestos amargos se encuentra en la parte trasera, alejados de los receptores de dulzor y con menor interacción con los receptores de acidez. Estos últimos (los receptores de acidez) se encuentran en zonas compartidas con los de dulzor, razón que explica la supresión de los sabores dulces cuando existe interacción de estímulos dulces y ácidos. Así en cervezas ácidas se hace más difícil percibir compuestos dulces aunque estos estén presentes.

5.3.4. Evaluación de cervezas con 10% de malta caramelo

Las pruebas anteriores rescataron de las evaluaciones sensoriales que la concentración de malta caramelo utilizada (15 y 20%) producía sabores desagradables, y dada la premisa de que un juez que evalúa algo desagradable disminuye su desempeño (Saens, 1985) se decidió usar un porcentaje más cercano a lo que usualmente se utiliza en cervecería, es decir 10%. Como resultó también de la prueba anterior que la acidez puede ser importante en la percepción del sabor se decidió incorporar este parámetro a las pruebas. Las maltas A y B fueron evaluadas en cervezas con 10% de malta caramelo. Cada cerveza (A y B) se evaluó dos veces por cada juez en presencia de una referencia (Pilsen). 8 jueces participaron en una única sesión. Se muestran los valores relativos ($\frac{\text{cerveza caramelo} + 1}{\text{cerveza Pilsen} + 1}$) para cada parámetro en la Figura 41.

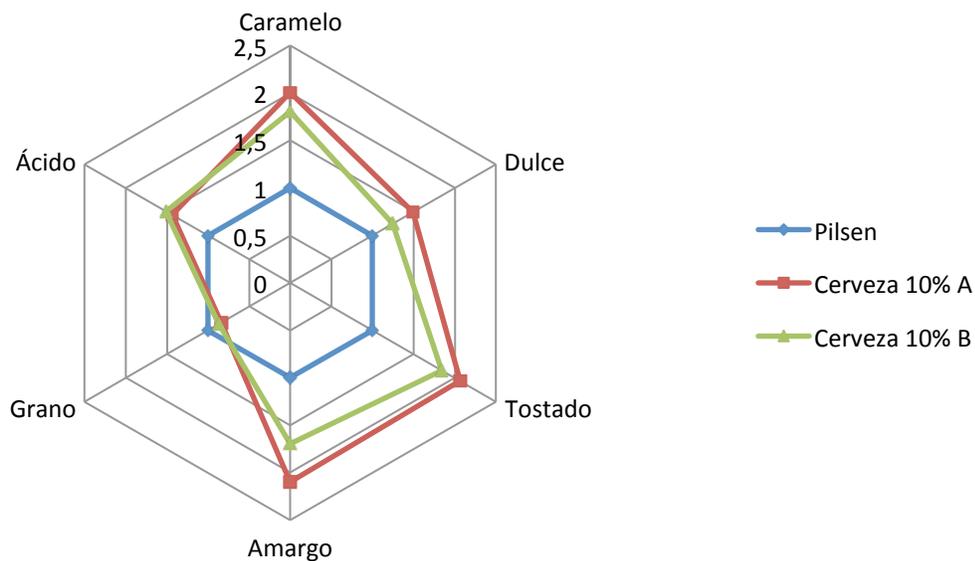


Figura 41 – Análisis sensorial de cervezas elaboradas con 10% de maltas caramelo A y B. Valores relativos a la cerveza Pilsen.

Los valores mostrados en la figura anterior se calcularon por cada juez como el valor atribuido al parámetro en la cerveza con malta caramelo dividido por el de la cerveza Pilsen, ambos valores desplazados en uno (+1) para evitar indefiniciones. La interpretación de los valores permite decir cuántas veces la cerveza con malta caramelo es más intensa que la malta Pilsen en cierto atributo organoléptico. Así los atributos con mayor diferencia con la malta Pilsen fueron el caramelo, tostado, amargo y ácido, seguido por el dulce y finalmente el grano, el cual prácticamente no presenta diferencia. Aparte de los parámetros que se esperaban que fueran potenciados (caramelo, tostado, dulce y amargo) la utilización de maltas caramelo produjo una leve acidificación de las cervezas (mayor sensación de ácido). Esta observación es importante para determinar el impacto de las maltas caramelo en la estabilidad de las cervezas en guarda, donde se ha encontrado evidencia de que el uso de maltas especiales, por un lado aporta componentes antioxidantes, mejorando la estabilidad, pero por otro favorece condiciones de acidificación. El resultado además está de acuerdo con lo expuesto en la sección 5.1.1, donde se mostró que maltas caramelo son más ácidas a medida que aumentan de color (Figura 19).

En vista de que la diferencia entre las maltas A y B en su impacto en la cerveza no es mayor (Figura 41) se realizó un análisis de diferencias significativas con el método LSD a un 95% de confianza (*Low Significant Difference*). No se detectó ninguna diferencia significativa del impacto que provocan las maltas caramelo A y B en cervezas elaboradas con el 10% de malta caramelo. El análisis de varianza (ANOVA) tampoco arrojó que las dos medias en cada parámetro fueran distintas, los p-valor de cada análisis se pueden observar en la Tabla 26. Si bien exhiben diferencias con la malta Pilsen, el nivel de desagregación de la malta verde antes de ser -procesada como malta caramelo 110-170 EBC no impacta en el perfil organoléptico de las cervezas con 10% de malta caramelo.

Tabla 26 – p-valor para la comparación de la medias de cada atributo entre cervezas con malta caramelo A y B a través de ANOVA

Atributo	p-valor (ANOVA)
Caramelo	0,59
Dulce	0,44
Tostado	0,68
Amargo	0,56
Grano	0,81
Ácido	0,88

El análisis sobre cervezas con las maltas C y D no pudo ser realizado por problemas de disponibilidad del panel cruzado con la disponibilidad de cervezas apropiadas para su evaluación.

5.4. Análisis cromatográficos

El uso de patrones requiere la caracterización de sus tiempos de retención para luego poder identificarlos en los perfiles cromatográficos de las muestras a evaluar. Con programas isotérmicos de temperatura se identificaron tiempos aproximados de retención para los compuestos patrones de la

Tabla 5. Con ello se discriminó qué patrones eran posibles de evaluar y qué factores de dilución se necesitaban para un buen rendimiento de la columna.

La Figura 13 muestra un perfil típico en cromatografía de gases usando un detector FID. Este se caracteriza por una gran cantidad de peaks ya que el detector no es específico. El anexo Q muestra un resultado de pruebas cromatográficas con cervezas. Se aprecia que existe un único peak en los cromatogramas, así, todas las pruebas con cerveza, no lograron multiplicidad de peaks como los de la Figura 13, lo que imposibilitó el análisis de los compuestos patrones seleccionados. Esto se comprobó también con cervezas comerciales con malta caramelo. La razón de esto es porque la cerveza está constituida en más de un 90% por agua (Álvarez, 2011), lo que sugiere que cualquier compuesto se encuentra en concentraciones muy bajas como para poder ser detectado por el FID (González, 1999; Oteiza, 2011). El peak visto probablemente corresponde a etanol (3 a 5% de la cerveza aproximadamente). Para la detección de más compuestos (identificación de más peaks) en las cervezas se hizo necesario probar procedimientos de extracción de manera de concentrar los componentes. Los procedimientos probados (concentración por evaporación simple y uso de rotavapor) explotaron el carácter volátil de los compuestos de interés y los distintos puntos de ebullición, pero no lograron la reproducibilidad ni la resolución deseada (datos no mostrados). Se optó por el análisis de mostos para un estudio comparativo de las maltas caramelo a evaluar.

La Figura 42 muestra los perfiles cromatográficos de mostos con distintas concentraciones de malta caramelo. Para la obtención de estos perfiles se utilizó un programa con una sola rampa de temperatura (2 min a 70°C; 25°C/min; 10 min a 190°C). A menor concentración de malta caramelo se observa una separación de peaks alrededor de los 12 min. La respuesta del perfil a las distintas concentraciones de malta caramelo dio pie a la determinación de un programa que mejorara el rendimiento de la separación de los peaks identificados, especialmente entre los 4 y 12 min.

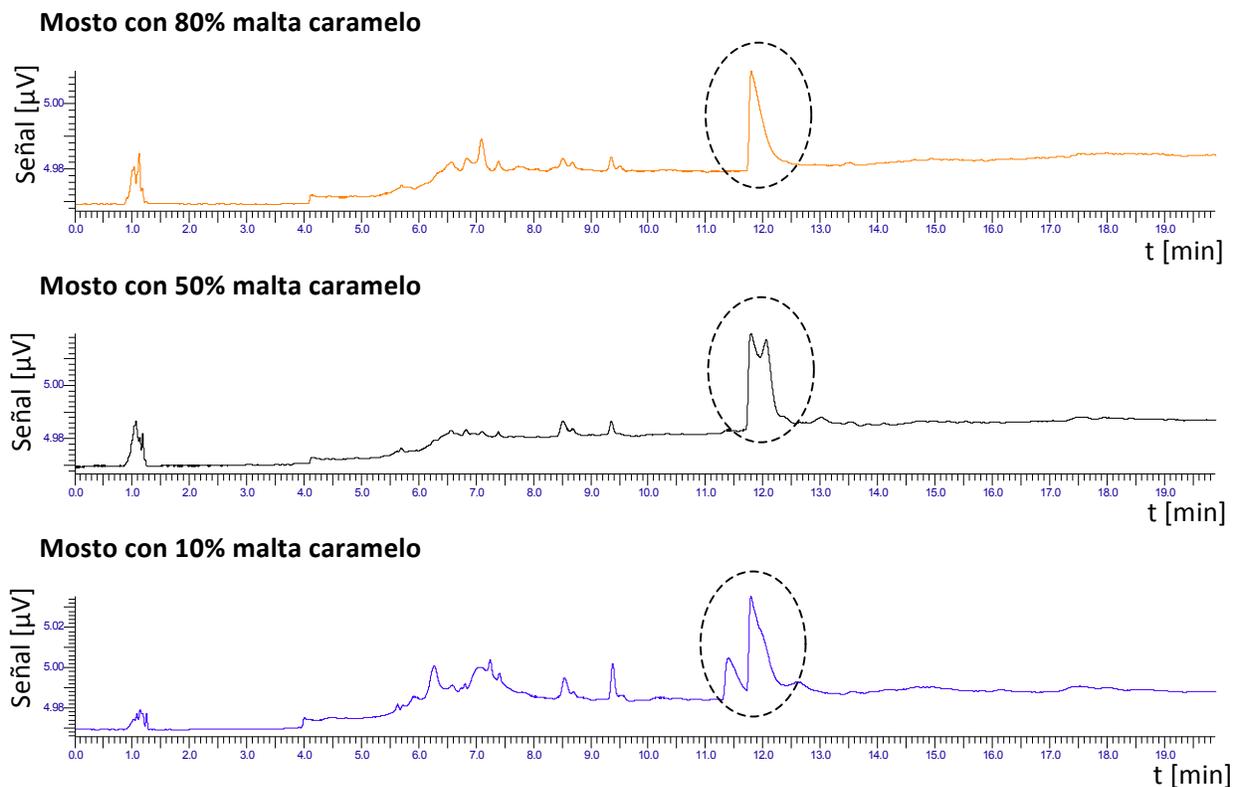


Figura 42 – Perfil cromatográfico para mostos con distintas concentraciones de malta caramelo. Columna GS-Q. Programa: 70°C (2 min), R=25°C/min, 190°C (10 min)

Se determinó analizar mostos con 10% de malta caramelo por la mejor resolución y selectividad mostrada.

5.4.1. Identificación de tiempos de residencia de patrones

Se usó un programa de temperaturas isotérmico para la identificación de los tiempos de residencia de los compuestos con miras a: determinar si estos patrones eran detectados por el detector FID; determinar factores de dilución apropiados para evitar saturaciones del detector; y predecir el orden de elución de estos patrones en mostos y cervezas. Para el patrón 3-metilbutanal se utilizó un programa isotérmico a 100°C, mientras que para 2,3,5-trimetilpirazina/2,5-dimetilpirazina y 2-etil-3(5o6)dimetilpirazina/maltol 180°C y 190°C respectivamente, es decir a lo menos 10°C por sobre su temperatura de ebullición en cada caso (Tabla 5). Los tiempos para los cuales se producía una señal (elución del patrón) se reportan en la Tabla 27.

Para la obtención de cada tiempo diluyeron los patrones hasta obtener peaks bien definidos, que fueran en lo posible simétricos y que no existiera ruido o multiplicidad de peaks. Para el caso de 3-metilbutanal y 2,3,5-trimetilpirazina esto se dio con un factor de dilución de 10, para 2-etil-3(5o6)dimetilpirazina de 50 y para 2,5-dimetilpirazina fue de 500. Para el caso de maltol, este es poco soluble en agua, llegando a concentraciones menores a 1 g/l. Su dilución dio con que pasado los 80 min de

cromatografía se logró detectar una señal en el detector FID. Estas señales no fueron bien definidas. No se siguió su caracterización debido a los largos tiempos de análisis.

Tabla 27 – Tiempos de retención aproximados para los patrones de compuestos volátiles bajo programa de temperaturas isotermos basados en sus temperaturas de ebullición

Patrón	Tiempo de retención aproximado [min]
3-metilbutanal	0,372
2,3,5-trimetilpirazina	1,424
2,5-dimetilpirazina	24,97
2-etil-3(5o6)dimetilpirazina	0,86
Maltol	> 80

Los patrones que finalmente se consideraron para el análisis cromatográfico fueron 3-metilbutanal y 2-etil-3(5o6)dimetilpirazina. Las otras pirazinas y maltol, debido al largo tiempo necesario para su detección, se descartaron como patrones que se trabajarían en la caracterización cromatográfica para invertir el tiempo en la elección de un programa de temperaturas adecuado para la separación de los compuestos en mosto.

5.4.2. Análisis de mostos

Para mostos con 0 y 10% de malta caramelo se realizó un análisis cromatográfico. Para la obtención de los resultados se seleccionó un programa adecuado de temperatura para la separación de los compuestos. El criterio de selección fue la mayor resolución posible en un tiempo moderado de análisis, logrando un programa de aproximadamente 36 min con pendientes de temperatura leves en los sectores con gran elución de compuestos: 70°C (1,5 min); R1=25°C/min (hasta 122°C); R2= 5°C/ min (hasta 185°C); R3=0,5°C/min (hasta 190°C); 190°C (10 min).

Para identificar los peaks del perfil cromatográfico se verificó cómo la temperatura influencia a la línea base, luego se determinaron aquellos peaks que se conservaron en mostos con 0 y 10% de malta caramelo para distintas maltas caramelo (A, B, C y D). Las mediciones se realizaron por triplicado para cada mosto. Finalmente se determinaron diferencias significativas con el método LSD (Mínimas Diferencias Significativas) y HSD de Tukey (Diferencias Honestamente Significativas) entre las áreas de los peaks conservados en los mostos.

5.4.3. Influencia de la temperatura y contaminantes

Temperatura

La Figura 42 muestra que los compuestos detectados en mostos poseen alturas muy pequeñas, entre 4,98 y 5,03 μ V, lo que hace importante la determinación de pequeñas fluctuaciones en la línea base. Para determinar esta línea base, agua destilada fue inyectada el cromatógrafo de gases bajo las condiciones de operación seleccionadas.

El anexo R muestra los cromatogramas resultados. Se observó un incremento del valor de la señal base registrada por el detector FID a medida que el tiempo transcurrió. La Figura 43 muestra uno de estos perfiles cromatográficos en comparación con el programa de temperaturas utilizado.



Figura 43 – Variación de la línea base del detector FID influenciada por el programa de temperatura del horno en cromatografía de gases

La escala en el eje Y (señal registrada) va aproximadamente de los 4,969 hasta los 4,981 μV . Se registra a los 3,74 min un salto en la línea base, el cual eleva el valor de la señal produciendo un peak que decae en forma progresiva hasta llegar a estabilizarse para luego subir conforme el aumento de temperatura ocurre. Esta perturbación coincide con el momento en que la tasa de incremento de temperatura pasa de $25^{\circ}\text{C}/\text{min}$ a $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$. La máxima capacidad de calentamiento que posee el equipo cromatográfico es precisamente $25^{\circ}/\text{C}$, razón que se mantiene por 2,08 min (de 70°C a 122°C). Este rápido aumento produce un pulso de calor a través de la columna. El gas fluye por su interior a $5\text{ml}/\text{min}$ y demora 1,3 min en recorrer toda la columna (tiempo teórico). La velocidad de transferencia de calor del exterior de la columna hasta el gas portador, atravesando las distintas capas (Figura 12) sumado al recorrido del gas a través de la columna, retrasa el pulso de calor produciendo una señal al final de la etapa de calentamiento a una tasa específica. Mismo fenómeno se observa alrededor de los 17,6 min pero en menor intensidad debido a que el aumento marginal de temperatura es menor.

Contaminantes

Tanto el anexo s como la Figura 44 (análisis para mostos Pilsen) muestran un conjunto de peaks muy aglomerados y de alturas dispares que eluyen antes de los 3 min. Estos peaks poseen tiempos de retención y áreas variables (anexo s). Debido a que no se repiten en los análisis fueron categorizados como contaminantes de la columna, posiblemente debido a residuos en la misma, remanentes de análisis anteriores que, dado el corto tiempo de análisis y la alta afinidad de aquellos compuestos con la fase estacionaria de la columna, permanecen retenidos, por lo menos, de una corrida a otra. La Figura 44 muestra el efecto que tienen estos peaks en el perfil cromatográfico.

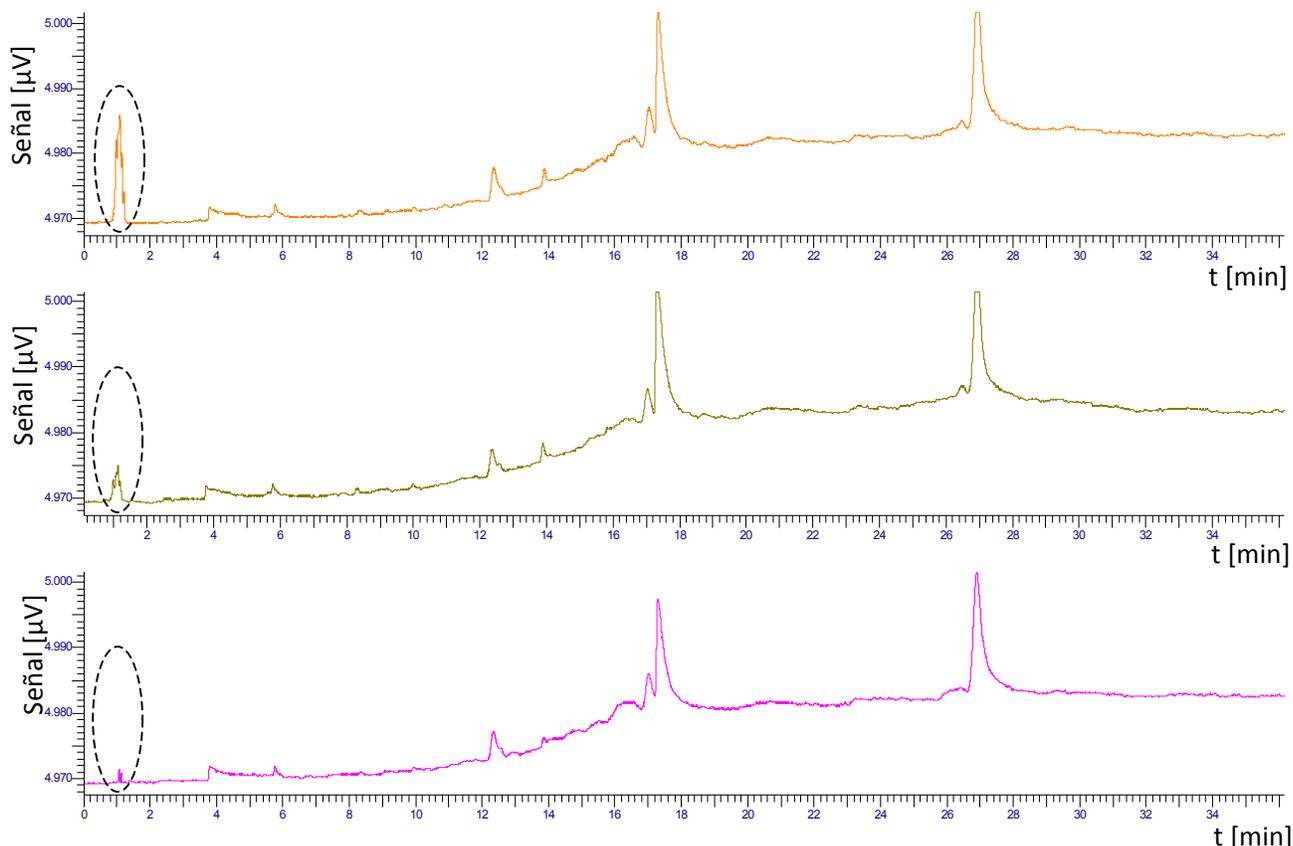


Figura 44 – Cromatogramas para mosto Pilsen (0% malta caramelo). El primer conjunto de peaks indica residuos en la columna, los cuales producen señales falsas entre los 0 y 2 min de análisis.

Sin embargo estos residuos no interfieren en ningún caso con los peaks que son conservados entre los mostos, es decir, con los peaks que eluyen luego de los 3,7 min y que se encuentran en cada una de las repeticiones de las pruebas. Como se verá más adelante, estos peaks conservados poseen desviaciones estándar pequeñas en su tiempo de retención (Tabla 28) lo que implica que el método muestra buena repetibilidad y que los compuestos que eluyen antes de los 3 min no interfieren con la elución de los demás compuestos.

5.4.4. Cromatografía de Mostos A y B (nivel de desagregación)

La Tabla 28 muestra el tiempo de retención promedio de los peaks en mosto 0% malta caramelo (mosto Pilsen), 10% malta caramelo A y 10% malta caramelo, su desviación estándar, coeficiente de variación (desviación estándar/promedio) y número de observaciones. El conjunto de peaks con tiempos de elución menores a 3,7 min corresponden a contaminantes y el peak a los 3,78 min es efecto de la temperatura sobre la línea base (sección 5.4.3).

Tabla 28 – Tiempos de retención promedio para cada tipo de mosto analizado: 0% malta caramelo (100% malta Pilsen) y 10% de malta caramelo para el tipo A y el tipo B. Casilleros en blanco en columna “tiempo de residencia promedio” (\bar{t}_r) implica que no se registró ningún peak cercano al tiempo indicado en cualquiera otra columna \bar{t}_r de la misma fila; en “desviación estándar” (σ^2) implica que sólo se tiene un único dato y por lo tanto no tiene desviación; en “coeficiente de variación” (Coef. Var.) pues ese mosto en la misma fila no posee desviación estándar (σ^2).

Mosto Pilsen				Mosto caramelo 10% A				Mosto caramelo 10% B			
\bar{t}_r	σ^2	Coef. Var.	N	\bar{t}_r	σ^2	Coef. Var.	N	\bar{t}_r	σ^2	Coef. Var.	N
[min]	[min]	%	#	[min]	[min]	%	#	[min]	[min]	%	#
				1,01			1				2
1,08	0,01	0,59%	2	1,10			1	1,08	0,02	1,89%	
1,13	0,01	0,50%	2								
				1,24			1	1,29			1
3,78	0,01	0,31%	3	3,78	0,01	0,13%	3	3,78	0,03	0,83%	3
5,77	0,01	0,11%	3	5,74	0,01	0,13%	3	5,75	0,00	0,03%	3
8,34	0,04	0,44%	3	8,30	0,02	0,21%	3	8,28	0,02	0,21%	3
9,98	0,01	0,06%	2	9,93	0,01	0,05%	3	9,92	0,02	0,24%	3
12,34	0,01	0,08%	3	12,33	0,01	0,12%	3	12,32	0,01	0,06%	3
13,87	0,02	0,14%	3	13,86	0,01	0,08%	3	13,85	0,01	0,09%	3
								16,04			1
17,02	0,01	0,08%	3	16,99	0,01	0,08%	3	16,99	0,01	0,06%	3
17,31	0,01	0,06%	3	17,18	0,03	0,18%	3	17,25	0,06	0,33%	3
								18,70			1
				23,16			1				
26,45	0,03	0,10%	2	26,41	0,02	0,08%	2	26,37	0,01	0,03%	2
26,91	0,01	0,05%	3	26,86	0,02	0,08%	3	26,86	0,00	0,02%	3

Los tiempos de retención de los peaks en las repeticiones de cada mosto son muy precisos y poseen una variabilidad muy pequeña. En ningún caso, para peaks que no correspondan a contaminantes o al por efecto de la temperatura, la variabilidad alcanza a ser mayor que un 1% respecto al promedio. El mayor valor es en los 8,3 min donde la desviación estándar corresponde a un 0,44% del promedio del tiempo de retención. Con esto se puede decir que, cualquiera sea el mosto (Pilsen o caramelo), se tiene un perfil altamente reproducible en cuanto al tiempo en que eluye cada analito. El valor de N indica cuantas veces, dentro de las tres repeticiones de cada mosto, se observó el peak con el tiempo de retención promedio (\bar{t}_r) de su misma fila. Para el caso del mosto caramelo B existen dos peaks ($\bar{t}_r = 16,04$ min y $\bar{t}_r = 18,70$) los cuales sólo fueron observados una única vez en las repeticiones, por lo que no se consideraron representativos del perfil de mosto caramelo B. Lo mismo ocurre en $\bar{t}_r = 23,16$ min en mosto caramelo A.

Peaks conservados existen entre los 3,78 y 13,9 min, intervalo en el cual se registran 5 compuestos compartidos entre los tres mostos, obviando el primero pues es efecto de la temperatura. Un peak a los 17 min es identificado como un compuesto altamente

conservado en los 3 mostos, seguido de otro peak alrededor de los 17,2 min aproximadamente. Luego viene un período donde no eluyen compuestos sino hasta los 26,4 y 26,9 min, donde eluyen dos que también son conservados en los tres mostos.

En total 9 peaks son compartidos entre los tres perfiles cromatográficos. Esto indica la presencia de a lo menos 9 compuestos que permanecen en el mosto para estas tres preparaciones. En consecuencia, la malta caramelo de 138 EBC (140 EBC en A y 137 EBC en B) a un 10% de utilización en mostos, no aporta compuestos nuevos al mosto cervecero que puedan ser identificados bajo este método. Este resultado indican que la diferencia del perfil organoléptico entre mosto Pilsen y mosto caramelo, y entonces entre cervezas Pilsen y cervezas con malta caramelo, se deba a una diferencia de concentración de compuestos volátiles y no la existencia de nuevos compuestos cuando se ocupa malta caramelo. Una de las diferencias entre malta Pilsen y malta caramelo es el nivel de extracto. Maltas caramelo aportan menos extracto (componentes solubles, principalmente azúcares) al mosto, pero ofrecen color, sabor y aroma que la malta Pilsen no entrega. Estos compuestos no son azúcares, puestos que estos no son volátiles y no pueden ser analizado en cromatografía gaseosa (Oteiza, 2011). Es importante entonces analizar las áreas de los peaks, las cuales son proporcionales a la concentración de cada compuesto. Cada uno de estos 9 peaks se identificó con una letra “P” y un número (P#). La Tabla 29 muestra el tiempo promedio de retención para cada peak P#.

Tabla 29 – Denominación para cada los peaks de compuestos conservados en mostos de malta caramelo A y B y malta Pilsen. Los valores están calculados sobre los datos totales y no como un promedio de promedios.

Peak	\bar{t}_r	σ^2	Coef. var.	N
P1	5,75	0,01	0,25%	9
P2	8,31	0,04	0,43%	9
P3	9,94	0,03	0,30%	8
P4	12,33	0,01	0,09%	9
P5	13,86	0,02	0,11%	9
P6	17,00	0,02	0,11%	9
P7	17,24	0,06	0,36%	9
P8	26,41	0,04	0,14%	6
P9	26,87	0,03	0,10%	9

La Tabla 30 muestra para cada mosto el área promedio de peak en cada uno de los tiempos de retención.

Tabla 30 – Área promedio de cada peak para cada tipo de mosto analizado: 0% malta caramelo (100% malta Pilsen) y 10% de malta caramelo para el tipo A y el tipo B.

Peak	Mosto Pilsen				Mosto caramelo 10% A				Mosto caramelo 10% B			
	Área	σ^2	Coef. Var.	N	Área	σ^2	Coef. Var.	N	Área	σ^2	Coef. Var.	N
	[μVs]	[μVs]	%	#	[μVs]	[μVs]	%	#	[μVs]	[μVs]	%	#
P1	5,05	0,62	12,22	3	17,41	4,58	26,32	3	10,22	1,60	15,66	3
P2	4,95	2,76	55,80	3	6,73	3,73	55,39	3	6,15	2,87	46,73	3
P3	2,80	0,88	31,31	2	4,33	0,45	10,49	3	7,88	5,02	63,71	3
P4	59,00	5,39	9,13	3	95,49	16,49	17,26	3	63,50	11,69	18,41	3
P5	11,72	5,27	44,94	3	16,41	3,72	22,66	3	32,69	37,04	113,31	3
P6	48,53	4,96	10,22	3	34,92	7,10	20,34	3	33,29	11,35	34,10	3
P7	290,84	60,82	20,91	3	398,75	55,42	13,90	3	319,45	114,21	35,75	3
P8	11,45	4,74	41,46	2	2,77	2,16	78,00	2	14,47	17,59	121,58	2
P9	362,40	33,83	9,33	3	586,40	69,22	11,80	3	321,92	126,08	39,17	3

Existen variabilidades importantes en las áreas de los peak a un mismo tiempo de retención en un mismo mosto. La Figura 45 a) muestra los valores de los coeficientes de variación para cada uno de ellos. El mosto caramelo B muestra variaciones importantes para los peaks P3, P5 y P8, le siguen el P6, P7 y P9, los cuales también poseen una variabilidad mayor que sus pares en los otros mostos. La revisión de cada repetición del mosto caramelo B dio cuenta de los valores que causaban la desviación encontrándose todos en la segunda repetición (anexo τ), por lo ésta se eliminó de los cálculos. Los valores corregidos se representan en la Figura 45 b) y en Tabla 31.

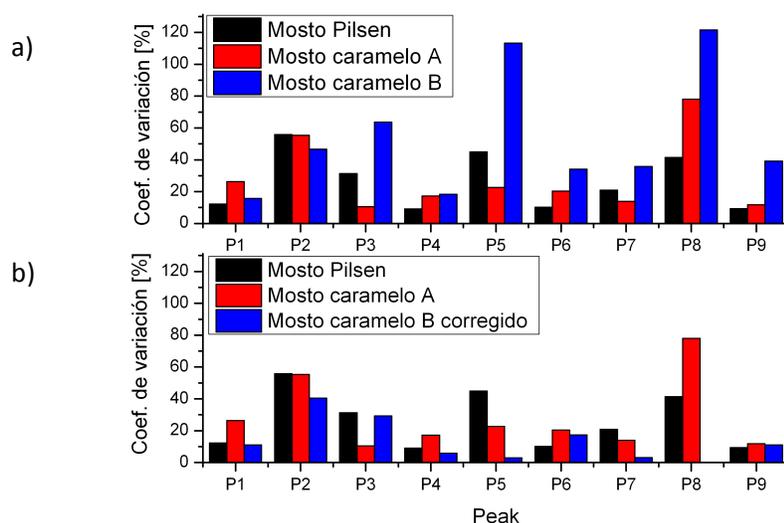


Figura 45 – Coeficientes de variación para las áreas de los peaks cromatográficos en mosto Pilsen, caramelo A y caramelo B. (a) El mosto caramelo B muestra variabilidades mucho más grandes. (b) La eliminación de una repetición en mosto caramelo B causó la disminución de la variabilidad en P3, P4, P5, P7, P8 y P9.

Tabla 31 – Área promedio de cada peak para cada tipo de mosto analizado: 0% malta caramelo (100% malta Pilsen) y 10% de malta caramelo para el tipo A y el tipo B. Valores de desviaciones corregidos para mosto caramelo B. El peak P8 en mosto caramelo B no posee desviación por eliminación de datos del conjunto de entrada, quedando sólo una observación.

Peak	Mosto Pilsen				Mosto caramelo 10% A				Mosto caramelo 10% B			
	Área	σ^2	Coef.	N	Área	σ^2	Coef.	N	Área	σ^2	Coef.	N
	[μ Vs]	[μ Vs]	Var.	#	[μ Vs]	[μ Vs]	Var.	#	[μ Vs]	[μ Vs]	Var.	#
P1	5,05	0,62	12,2%	3	17,41	4,58	26,3%	3	11,01	1,21	11,0%	2
P2	4,95	2,76	55,8%	3	6,73	3,73	55,4%	3	4,68	1,90	40,5%	2
P3	2,80	0,88	31,3%	2	4,33	0,45	10,5%	3	5,05	1,48	29,3%	2
P4	59,00	5,39	9,1%	3	95,49	16,49	17,3%	3	70,03	4,13	5,9%	2
P5	11,72	5,27	44,9%	3	16,41	3,72	22,7%	3	11,31	0,33	2,9%	2
P6	48,53	4,96	10,2%	3	34,92	7,10	20,3%	3	33,29	5,77	17,3%	2
P7	290,84	60,82	20,9%	3	398,75	55,42	13,9%	3	319,45	10,00	3,1%	2
P8	11,45	4,74	41,5%	2	2,77	2,16	78,0%	2	2,03			1
P9	362,40	33,83	9,3%	3	586,40	69,22	11,8%	3	392,52	43,49	11,1%	2

Los valores de la Tabla 31 pueden observarse en la Figura 46. El mosto con malta caramelo A posee mayor concentración del compuesto con peak en P7 y P9, es decir, del que eluye a los 17,2 y 26, 9 min, pero a la vez muestran una desviación estándar considerable.

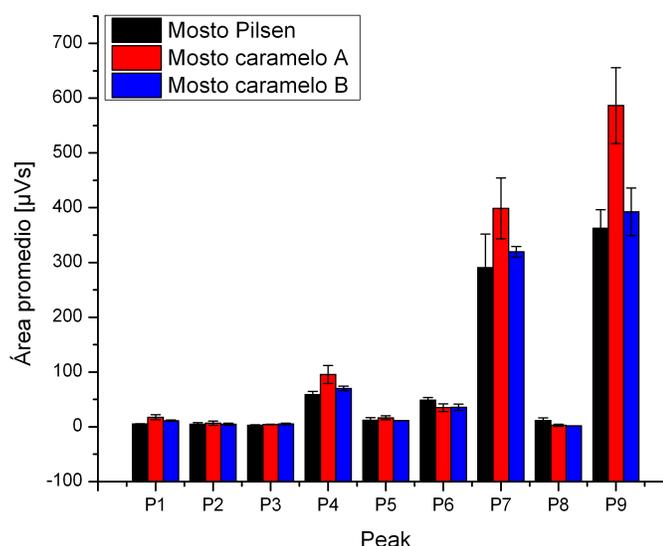


Figura 46 – Áreas promedio de cada peak en mosto Pilsen, mosto caramelo A y mosto caramelo B. Las barras representan la desviación estándar como un porcentaje del promedio.

Un análisis estadístico (HSD Tukey al 95% de confianza) se realizó para corroborar el nivel de significancia de las diferencias entre cada uno de los promedios de las áreas. Los gráficos de cajas y bigotes (box and whisker plots) se pueden observar en el anexo u. El anexo V muestra el valor de todas las diferencias. La Tabla 32 señala los peaks donde se encontraron diferencias significativas. El análisis realizado permite asegurar que los valores de las áreas de los mostos mostrados en la Tabla 32 son distintos con un 5 % de riesgo de que no lo sean.

Tabla 32 – Mostos y peaks que representan una diferencia significativa para las medias de sus áreas. Método: Tukey HSD (95%).

Comparación		Diferencia [μ Vs]
Área 1	Área 2	Área 1 - Área 2
P1 pilsen	P1 mosto A	-12,3600
P4 pilsen	P4 mosto A	-36,4933
P9 pilsen	P9 mosto A	-224,0000
P9 mosto A	P9 mosto B	193,8770

La interpretación de los resultados permite decir que no existe diferencia entre la concentración de ninguno de los compuestos separados entre el mosto Pilsen y el mosto caramelo B. Sin embargo el mosto caramelo A sí presenta concentraciones distintas en relación al mosto Pilsen para los compuestos P1, P4 y P9, a la vez presenta diferencias con el mosto caramelo B para el compuesto P9. Para los casos P1, P4 y P9 el mosto caramelo A tiene mayor concentración que el mosto Pilsen. En particular para el compuesto P9 también posee una concentración significativamente mayor con el mosto caramelo B. La malta A es la que tiene sus parámetros de desagregación de malta a un nivel bajo, mientras que la malta B posee mayor nivel de desagregación.

Los resultados indican que una malta verde con niveles de desagregación bajos, medidos a través del Índice de Kolbach, Friabilidad y la relación Extracto fino/Proteína, produce mayor cantidad de compuestos volátiles posibles de detectar con el método cromatográfico empleado cuando la malta verde es procesada como malta caramelo 138 EBC. Para la identificación de estos compuestos es necesaria la utilización de moléculas orgánicas distintas a las seleccionada (Tabla 5) que tengan el mismo tiempo de retención que P1, P4 y P9 para poder usarlas como patrones (procedimiento que podría implicar gran cantidad de pruebas para dar con el patrón correcto) o la utilización Espectrometría de Masas acoplada a la Cromatografía de Gases (GC/MS) para obtener de forma más certera y rápida la identidad de estas moléculas (Fickert y Schieberle, 1998).

5.4.5. Cromatografía de Mostos C y D (condiciones de proceso)

La Tabla 33 muestra para mosto 0% malta caramelo (Mosto Pilsen), 10% malta caramelo C y 10% malta caramelo D los valores promedio del tiempo de retención de los peaks, su desviación estándar, coeficiente de variación (desviación estándar/promedio) y número de observaciones.

Al igual que para los análisis anteriores, las desviaciones en el tiempo de retención son muy pequeñas, indicador del alto grado de reproducibilidad de la elución de los peaks. Esta característica se debe atribuir a la columna capilar empleada (GS-Q) (anexos D y F). Los efectos de la temperatura y de contaminantes nuevamente son apreciados, siendo perturbaciones sistemáticas en los análisis, pero que no afectan a los peaks de

interés. Todos los peaks (que no sean contaminantes) se observan más de una vez en las repeticiones. A lo menos dos veces fueron observados los peaks después de los 3,7 min, por lo que se consideraron característicos de perfil de los mostos. Estos peaks poseen mismo tiempo de retención que los casos analizados anteriormente (Tabla 28), por lo que se denominaron “Q”, más un número (Q#). La Tabla 34 muestra los valores promedio de los tiempos de retención de cada peak.

Tabla 33 – Tiempos de retención promedio para cada tipo de mosto analizado: 0% malta caramelo (100% malta Pilsen) y 10% de malta caramelo para el tipo C y el tipo D. Casilleros en blanco en columna “tiempo de retención promedio” (\bar{t}_r) implica que no se registró ningún peak cercano al tiempo indicado en cualquiera otra columna \bar{t}_r de la misma fila; en “desviación estándar” (σ^2) implica que sólo se tiene un único dato y por lo tanto no tiene desviación; en “coeficiente de variación” (Coef. Var.) pues ese mosto en la misma fila no posee desviación estándar (σ^2).

Mosto Pilsen				Mosto caramelo 10% C				Mosto caramelo 10% D			
\bar{t}_r	σ^2	Coef.	N	\bar{t}_r	σ^2	Coef.	N	\bar{t}_r	σ^2	Coef.	N
[min]	[min]	Var.	#	[min]	[min]	Var.	#	[min]	[min]	Var.	#
								1,00			1
1,08	0,01	0,59%	2	1,10			1	1,09			1
1,13	0,01	0,50%	2								
								1,16			1
3,78	0,01	0,31%	3	3,80	0,03	0,76%	3	3,79	0,02	0,54%	3
5,77	0,01	0,11%	3	5,74	0,00	0,08%	3	5,75	0,00	0,06%	3
8,34	0,04	0,44%	3	8,34	0,02	0,29%	2	8,32	0,00	0,03%	2
9,98	0,01	0,06%	2	9,94	0,01	0,13%	3	9,93	0,00	0,04%	3
12,34	0,01	0,08%	3	12,33	0,01	0,09%	3	12,33	0,01	0,05%	3
13,87	0,02	0,14%	3	13,86	0,01	0,10%	3	13,86	0,00	0,02%	3
17,02	0,01	0,08%	3	17,00	0,01	0,05%	3	17,00	0,01	0,04%	3
17,31	0,01	0,06%	3	17,24	0,04	0,24%	3	17,27	0,02	0,12%	3
26,45	0,03	0,10%	2	26,43	0,00	0,01%	2	26,45	0,02	0,07%	2
26,91	0,01	0,05%	3	26,87	0,01	0,05%	3	26,89	0,02	0,08%	3

Tabla 34 – Denominación para cada los peaks de compuestos conservados en mostos de malta caramelo A y B y malta Pilsen. Los valores están calculados sobre los datos totales y no como un promedio de promedios.

Peak	\bar{t}_r	σ^2	Coef. var.	N
Q1	5,76	0,01	0,23%	9
Q2	8,33	0,02	0,30%	7
Q3	9,95	0,02	0,20%	8
Q4	12,34	0,01	0,10%	9
Q5	13,86	0,01	0,09%	9
Q6	17,01	0,01	0,08%	9
Q7	17,27	0,04	0,21%	9
Q8	26,41	0,08	0,30%	6
Q9	26,90	0,03	0,11%	9

La Tabla 35 muestra para cada uno de los peaks conservados el área promedio y su desviación estándar.

Tabla 35 – Área promedio de cada peak para cada tipo de mosto analizado 0% malta caramelo (100% malta Pilsen) y 10% de malta caramelo para el tipo C y el tipo D.

Peak	Mosto Pilsen				Mosto caramelo 10% C				Mosto caramelo 10% D			
	Área	σ^2	Coef. Var.	N	Área	σ^2	Coef. Var.	N	Área	σ^2	Coef. Var.	N
	[μ Vs]	[μ V]		#	[μ Vs]	[μ V]		#	[μ Vs]	[μ V]		#
Q1	5,05	0,62	12,2%	3	13,32	7,35	55,2%	3	10,97	2,99	27,3%	3
Q2	4,95	2,76	55,8%	3	6,58	3,08	46,8%	2	4,31	1,46	34,0%	2
Q3	2,80	0,88	31,3%	2	2,81	1,42	50,6%	3	2,92	0,82	28,0%	3
Q4	59,00	5,39	9,1%	3	89,83	28,78	32,0%	3	48,20	7,76	16,1%	3
Q5	11,72	5,27	44,9%	3	13,40	5,64	42,1%	3	10,13	3,32	32,7%	3
Q6	48,53	4,96	10,2%	3	52,65	4,84	9,2%	3	34,73	1,62	4,7%	3
Q7	290,84	60,82	20,9%	3	359,10	89,47	24,9%	3	292,10	49,92	17,1%	3
Q8	11,45	4,74	41,5%	2	10,24	2,86	27,9%	2	6,69	2,71	40,5%	2
Q9	362,40	33,83	9,3%	3	543,04	267,07	49,2%	3	360,97	63,84	17,7%	3

La Figura 47 muestra la relación entre los coeficientes de variabilidad. Se observa que las áreas del mosto caramelo C poseen mayor variabilidad relativa en los casos Q3, Q4 y Q9. El análisis caso a caso del mosto caramelo C dio con los valores que causaban la desviación. Estos no se encontraron en sólo una repetición, si no que pertenecían a dos muestras como se indican marcadas en anexo w. Se decidió eliminar sólo esos valores de los cálculos y no la muestra completa pues se consideró que el resto de los valores sí eran representativos. El cambio de variabilidad relativa del mosto caramelo C se puede observar en la Figura 47.

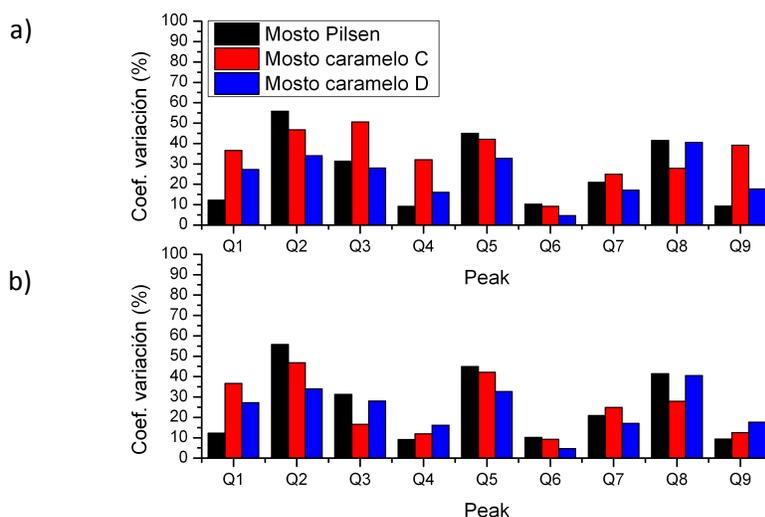


Figura 47 – Coeficientes de variación para las áreas de los peaks cromatográficos en mosto Pilsen, caramelo C y caramelo D. (a) El mosto caramelo C muestra variabilidades mayores para Q3, Q4 y Q9. (b) La eliminación de valores no representativos causó la disminución de la variabilidad en Q3, Q4 y Q9.

La Figura 48 muestra los valores promedio de las áreas. Para determinar la real significancia de las diferencias y poder establecer qué peaks poseen áreas sustancialmente distintas a los otros de su mismo grupo Q, se realizó la construcción de intervalos de confianza para cada media según el procedimiento HSD de Tukey. Los resultados se muestran en la Tabla 36..

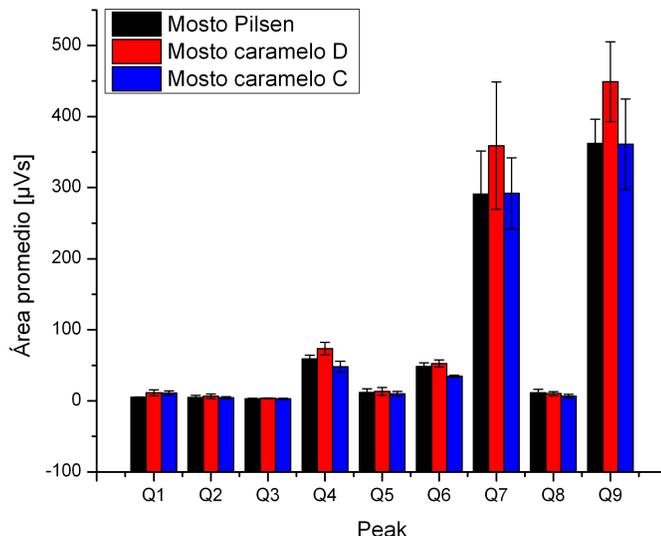


Figura 48 – Áreas promedio de cada peak en mosto Pilsen, mosto caramelo D y mosto caramelo C. Las barras representan la desviación estándar como un porcentaje del promedio.

Tabla 36 – Mostos y peaks que representan una diferencia significativa para las medias de sus áreas. Método: Tukey HSD (95%).

Comparación		Diferencia [µVs]
Área 1	Área 2	Área 1 - Área 2
Q4 mosto C	Q4 mosto D	25,4000
Q6 pilsen	Q6 mosto D	13,7967
Q6 mosto C	Q6 mosto D	17,9200

La comparación entre mosto caramelo C y D para el compuesto Q4 arrojó que el área del mosto caramelo D es menor que en C (25,4 [µVs] menor), de lo que se infiere que posee menor cantidad de la molécula Q4. Lo mismo ocurre para Q6 comparando mosto caramelo C y D. Un resultado no esperado es el de la comparación entre mosto caramelo D y mosto Pilsen, pues para Q6 el área en D es menor que en mosto Pilsen en 13,8 unidades ([µVs]). Este resultado contradice lo esperado. Dado que los peaks son conservados en mostos con malta Pilsen (50g en preparación de mosto) y 10% malta caramelo (5g caramelo + 45g pilsen en preparación de mosto), como ya se demostró, la preparación caramelo debería tener a lo menos la misma cantidad de compuestos que la Pilsen, si no, levemente inferior debido al reemplazo del 10% de malta Pilsen por malta caramelo. Una forma de comprobar esto es elaborando un mosto con menos malta Pilsen y sin malta caramelo. Las preparaciones evaluadas fueron realizadas con 45g de malta Pilsen y 5g de malta caramelo, completando su peso a

450g con agua después de la maceración. Para la verificación de esta hipótesis el mosto Pilsen “blanco” se deberá elaborar con 45g de malta Pilsen y completar a 450g después de la maceración (mayor proporción agua:malta). Con esto el mosto Pilsen debería aportar por tanto una concentración basal de estos componentes y las preparaciones con malta caramelo deberían, a lo menos, mantenerlas en el nivel, si no, aumentarlos. Asumiendo lo anterior no se consideró como representativo el resultado de la Tabla 36 para la comparación de mosto caramelo D y Pilsen. Recordar que existe un 5% de error en declarar distintas dos medias iguales, por lo que este caso podría ser una representación de aquello. Se rescata, sin embargo, que la malta caramelo D tiene menor presencia de los compuestos Q4 y Q6 ($\bar{t}_r = 12,3$ y $\bar{t}_r = 17,01$ min respectivamente).

Este resultado indica que maltas caramelo 119 EBC poseen mayor cantidad de volátiles cuando se procesan a una temperatura relativamente baja (113°C en C versus 141°C en D) y a tiempos largos (157 min en C versus 102 min en D) para los compuestos con tiempo de retención en 12,34 y 17,01 min.

Los resultados de la cromatografía de gases para ambos grupos de maltas muestran hasta el momento como peaks interesantes para maltas A y B los que eluyen a los 5,75 min; 12,33 min y 26,87 min; mientras que para maltas C y D son interesantes los peaks a los 12,34 min y 17,01 min. Notar que el compuesto que eluye a los 12,3 minutos muestra diferencias para los dos grupos de parámetros evaluados (desagregación y condiciones de proceso). Posiblemente su generación o consumo se vea influenciado por los factores vistos hasta el momento, aunque su impacto en el perfil organoléptico de cervezas no fue observado según los resultados del análisis sensorial, donde no se encontraron diferencias significativas entre las cervezas con malta A y B (que evalúan desagregación).

5.4.6. Identificación de peaks con uso de compuesto patrón

Para dilucidar la identidad de los compuestos correspondientes a los peaks que muestran diferencias se utilizó uno de los patrones adquiridos en Sigma Aldrich: 3-metilbutanal. Un análisis exploratorio dio con que 3-metilbutanal posee un tiempo de retención cercano a los $16,7 \pm 0,07$ min bajo el programa de temperaturas utilizando una columna GS-Q, posible de comparar entonces con los peaks P6 y Q6 de los análisis de los mostos, los cuales tiene tiempo de retención de 17 min (Tabla 29 y Tabla 34). El análisis se realizó con un factor de dilución de 10 en agua destilada y 100 en mosto Pilsen. La Tabla 37 indica los valores de las áreas calculadas del peak correspondiente a 3-metilbutanal y una corrección asumiendo linealidad entre el área y la concentración.

Tabla 37 – Valores de área de peak patrón (3-metilbutanal) en agua destilada (F=10) y mosto (F=100). Se muestran las áreas corregidas por el factor de dilución asumiendo linealidad con la concentración

Agua destilada + Patrón		Mosto + Patrón	
F	10	F	100
Tiempo	Área	Tiempo	Área
[min]	[μ Vs]	[min]	[μ Vs]
16,843	43.936,04	16,948	12.903,68
Áreas corregidas por F			
Agua destilada + Patrón		Mosto + Patrón	
Tiempo	Área	Tiempo	Área
[min]	[μ Vs]	[min]	[μ Vs]
16,843	439.360,40	16,948	1.290.368
Diferencia de áreas corregidas [μ Vs]			851.007,60

El valor del área corregida en el mosto “Pilsen + Patrón” es mayor que para el “Agua + Patrón”. Esto es indicador de que el propio mosto Pilsen posee 3-metilbutanal. El valor de la diferencia de área (851.008 μ Vs) debería ser proporcional a la concentración de 3-metilbutanal en mosto Pilsen, pero las pruebas realizadas en la comparación de mosto Pilsen y mostos caramelos A,B,C y D están lejos de ese orden de magnitud para el área de los peaks P6 y Q6, que tienen un tiempo de retención cercano a los mostrados en la Tabla 37.

Para dilucidar la identidad de los compuestos correspondientes a los peaks que muestran diferencias se utilizó uno de los patrones adquiridos en Sigma Aldrich: 3-metilbutanal. Un análisis exploratorio dio con que 3-metilbutanal posee un tiempo de retención cercano a los $16,7 \pm 0,07$ min bajo el programa de temperaturas utilizando una columna GS-Q, posible de comparar entonces con los peaks P6 y Q6 de los análisis de los mostos, los cuales tiene tiempo de retención de 17 min (Tabla 29 y Tabla 34). El análisis se realizó con un factor de dilución de 10 en agua destilada y 100 en mosto Pilsen. La Tabla 37 indica los valores de las áreas calculadas del peak correspondiente a 3-metilbutanal y una corrección asumiendo linealidad entre el área y la concentración.

Por otro lado los peaks P7 y Q7 poseen áreas más elevadas (Tabla 31 y Tabla 35), pero en tiempos levemente más distantes ($\bar{t}_r = 17,24$ y $\bar{t}_r = 17,27$ min respectivamente). Para estudiar la presencia de 3-metilbutanal en mosto Pilsen se realizó un análisis cromatográfico de mostos Pilsen sin adición de 3-metilbutanal y con adición a un F=100, los resultados se muestran en la Figura 49.

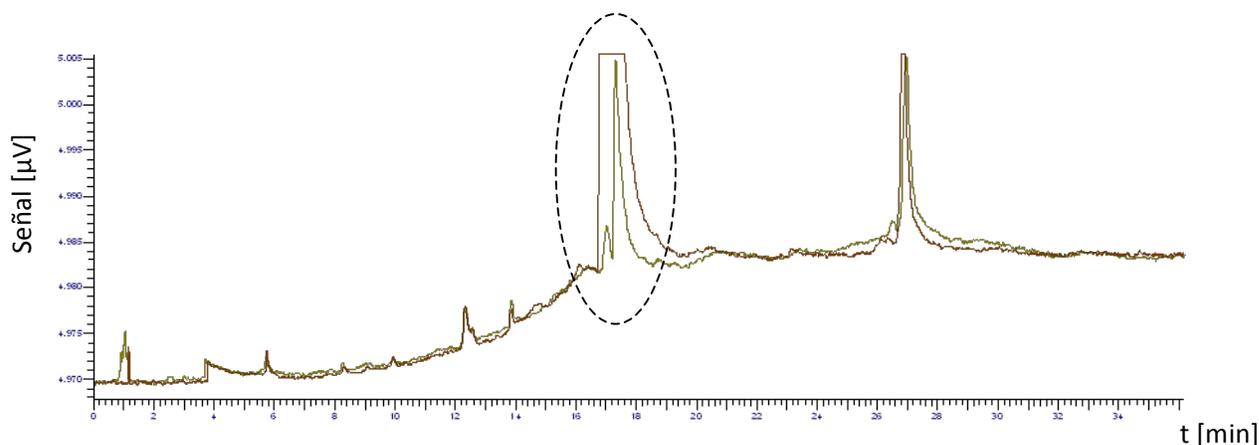


Figura 49 – Perfil mosto Pilsen con y sin adición de 3-metilbutanal. Al añadir patrón en mosto pilsen con un F=100 se forma una envoltura para los peaks que eluyen a los 17,02 y 17, 31 min en mosto Pilsen.

De la Figura 49 se infiere que la poca dilución del compuesto patrón en mosto Pilsen (F=100) hace que el peak, en su base, muestre un tailing que cubre o envuelve la aparición de otros peaks en el mismo tiempo. Para eliminar este efecto se realizaron pruebas en triplicado para agua destilada y mosto Pilsen diluyendo 1000 veces el patrón (F=1000) mostrando resultados sin este problema de interferencia.

Se identificó que el compuesto 3-metilbutanal produce dos peaks los cuales eluyen, en promedio a los 17,064 y 17,394 min respectivamente (R1 y R2 en Tabla 38). En el anexo x y y se encuentran los cromatogramas de las 3 pruebas para agua destilada y 3 pruebas para mosto Pilsen con adición de patrón. Se observó cómo se pierde resolución y selectividad cuando se ocupa el mosto Pilsen como base para la dilución del patrón (los peaks son más anchos y el punto el inflexión que los separa se encuentra más arriba). Debido a que el mosto posee una propia concentración de 3-metilbutanal, cada peak se ensancha y la separación entre ellos es de menor calidad.

Tabla 38 – Valores de tiempo de retención promedio para 3-metilbutanal en mosto y agua (F=1000)

Peak	\bar{t}_r	σ^2	Coef. Var.	N
	[min]	[min]	%	#
R1	17,064	0,02	0,123	6
R2	17,394	0,11	0,656	6

Los resultados sugieren que los peaks R1 y R2 corresponden a los identificados como P/Q6 y P/Q7 en mostos Pilsen y mostos caramelos evaluados anteriormente (Tabla 29 y Tabla 34). Los valores de las áreas promedio en cada caso (uso de agua o mosto para la dilución) se muestran en la Tabla 39.

Tabla 39 – Áreas promedio de 3-metilbutanal en agua y mosto Pilsen (F=1000)

Peak	Agua + patrón			Mosto Pilsen + patrón			Diferencia
	Área	σ^2	Coef. Var.	Área	σ^2	Coef. Var.	Δ Área
	[μ Vs]	[μ Vs]	%	[μ Vs]	[μ Vs]	%	[μ Vs]
R1	235,28	57,70	24,53	251,15	43,84	17,46	15,87
R2	68,71	12,54	18,24	194,84	57,75	29,64	126,13

El área del primer peak (R1) es mayor que en el segundo (R2). Este aspecto también se observa en los anexos x y y y es inverso a lo que ocurre con mostos Pilsen y caramelo puros (Figura 44 y Figura 49) donde el segundo peak (P/Q7) es mayor que el primero (P/Q6). También se observa que los valores de las áreas en el mosto “Mosto + Patrón” son mayores que en “Agua + Patrón”. Esto indica directamente la presencia de 3-metilbutanal en mosto Pilsen. Si para un R#, al área de “Mosto + Patrón” se le sustrae el área de “Agua + Patrón”, se obtendrá un estimado del área de 3-metilbutanal que es intrínseco al mosto Pilsen. En efecto, la columna Δ Área de la Tabla 39 muestra esta diferencia y la relación entre sus áreas ($\text{Área } \Delta R2/\Delta R1 = 7,9$) es similar a la razón entre las áreas del mosto Pilsen ($\text{Área Pilsen } P7/P6 = 6,0$) (Tabla 31 y Tabla 35). La diferencia entre estas razones probablemente se deba a efecto de Tailing y por tanto a que la relación Área vs Concentración no sea lineal (Oteiza, 2011).

Si bien un análisis estadístico comparando las diferencias entre los tiempos de retención R_i con P_j y Q_j ($i=1$ o 2 ; $j=6$ o 7) no permite asegurar que correspondan a los mismo compuestos (HSD de Tukey, 95%; anexo z). La forma y el comportamiento de las áreas de los peaks que eluyen aproximadamente en 17 min y 17,3 min en mostos sin adición de patrón comparado con las diferencias de áreas entre los peaks de 3-metilbutanal en mosto y agua destilada permiten sugerir que se trata del mismo compuesto.

Se logró identificar así un compuesto específico (3-metilbutanal) en mostos caramelo y Pilsen, logrando su medición para análisis sólo comparativos, y no cuantitativos en términos absolutos. Para su cuantificación se hace necesaria la realización de una curva de calibración usando el método de adición de estándar en cromatografía de gases para determinar la linealidad de la relación área-concentración o, en caso de que no sea lineal, ajustar la curva más adecuada.

6. Discusiones generales

La malta caramelo es un producto de alto interés comercial. El desarrollo de la industria cervecera, especialmente de la microcervecería o cervecería artesanal, la posiciona como un ingrediente muy valorado, por cuanto la calidad de este producto y su caracterización se hacen importantes. El principal atributo que es explotado es el aporte de color que hace en la preparación de cervezas, por ende la producción de colores estándar y homogéneos a escala industrial se vuelve un punto crítico. Sin embargo en Malterías Unidas S.A. la medición de color de maltas caramelo, y maltas especiales en general, posee etapas que no se condicen con lo expuesto anteriormente, existiendo problemas durante el proceso de fabricación de la malta caramelo y durante la medición del color que cataloga a la malta caramelo.

Problema en el proceso de elaboración de malta caramelo

Al fabricar una malta caramelo, uno de los parámetros que se selecciona en la tostadora es la curva de temperatura vs tiempo que seguirá el equipo. Existe multiplicidad de curvas para un mismo producto y curvas para rangos de color que se superponen. Los parámetros a controlar en ellas son el tiempo y temperatura de cada etapa (caramelizado y 3 fases de tostado). Durante el funcionamiento del equipo estos valores pueden ser modificados con libertad por el operador, quien ocupa su experiencia para alargar o acortar cada etapa y eventualmente cambiar las temperaturas. Por ser una acción subjetiva no se puede asegurar que los criterios de las modificaciones sean los mismos en cada ocasión por lo que no necesariamente maltas de un mismo color van a ser tratadas de forma pareja si es que son producidas en turnos distintos, aún cuando toda la producción tenga un mismo destino (cliente en específico). Además no existe un documento donde el operador pueda revisar las condiciones con las cuales opera la máquina, por lo que el conocimiento se entrega de forma oral. La finalización del proceso de tostado de la malta caramelo se basa principalmente en el criterio del operador y/o supervisor, independiente del programa de temperatura que se esté utilizando.

De forma subjetiva también, para discernir acciones a tomar antes y durante el proceso de la malta caramelo, se hacen apreciaciones respecto a la humedad inicial del grano como malta verde antes de entrar a los equipos de tostación, su tamaño de grano, la variedad y la máquina tostadora que se utilizará. Estos factores son ocupados para prever problemas que la experiencia ha dicho que suceden: humedad inicial alta requiere de tiempos de caramelización más cortos para evitar la sobrelicuefacción del almidón, provocando que el grano se reviente y se pegue a las paredes internas del tambor rotatorio para terminar quemándose; cargas de granos con tamaños pequeños producen un tostado dispar y por lo tanto hacen que el producto no sea homogéneo en su color; la variedad influye en el tamaño del grano, la presencia de cáscara (lo que dificulta, o no, la licuefacción), y esto impactaría como fue mencionado antes; y la

máquina que se utilice, ya que se sabe que no funcionan de forma pareja y por lo tanto hay que hacer modificaciones manualmente para poder igualar desempeño (se modifica la razón de aire puro y aire recirculado).

Por otro lado existe la no seguridad del estado en el que se encuentra la malta verde cuando ingresa a la línea de maltas caramelos: la carga de malta verde es una fracción del contenido total del lecho de germinación, por lo que cuando se extrae una cantidad específica para que sea procesada como malta caramelo se dejan de seguir los parámetros de germinación, en particular se deja de tener control sobre la temperatura y aireación del grano.

Estos factores son posibles causas de no homogeneidades en el color de la malta caramelo. Su impacto verdadero no fue medido antes de este trabajo, pero independiente de cuales sean las causas de la no homogeneidad de las producciones, el impacto se disminuye realizando mezcla de productos de distintos colores, altos y bajos, para lograr un color intermedio específico.

Parámetros representativos los factores aparentemente problemáticos fueron analizados para poder evaluar su impacto en la malta caramelo y cómo se traducen en cervezas confeccionadas con estas maltas.

Determinación del color de la malta caramelo

La implementación del sistema RGB Color Analyzer dio cuenta de faltas en los procesos de medición de color ya que no se sigue estrictamente el procedimiento estandarizado. En el método EBC, durante la medición espectrofotométrica, se utilizan cubetas de 20 mm para la medición de color en mostos congreso cuando el método indica cubetas de 25 mm de espesor. Esta desviación se puede corregir agregando un factor multiplicativo a la lectura del espectrofotómetro, pero esto no se realiza, implicando que los colores estimados están desviados (hacia abajo) por un factor aproximado de 1,25 tanto en maltas caramelo como en maltas tostadas (Ecuación 1). El impacto de esto debería ser apreciado en especial en maltas caramelo de muy bajo color (30-50 EBC) y es de esperar que decrezca conforme el color aumente debido a que esta desviación se vuelve marginalmente decreciente. Sin embargo para colores muy altos de malta caramelo existe otro problema ya que el método se utiliza para medir colores sobre el rango especificado, el cual llega hasta los 500 EBC aproximadamente ($25,3 \times 2 \times 10$ -Color Pilsen). Esto implica que las mediciones de maltas caramelo sobre este límite superior no se encuentran dentro de los parámetros estandarizados con los cuales se construyó el método oficial EBC. Esto explicaría el comportamiento de las medidas de R,G,B y L para valores sobre los 600 EBC (figura 33 y anexo M)

Teniendo presente los problemas anteriores y tomando maltas caramelos de la mayor cantidad de colores posibles, el método RGB fue construido para un rango de 43 a 570

EBC. La elección de una única variable (R) para predecir el color de las maltas posee ventajas y desventajas. El método es fácil de entender y operar para la gente que está en permanente contacto con el proceso, operadores y supervisores, ya que se debe poner atención en sólo un parámetro. Esto a la vez permite la confección de tablas donde los valores estimados puedan ser buscados dado un valor medido de R, lo que, dada la portabilidad del dispositivo, permite su uso no tan solo en las máquinas tostadoras si no también en cualquier punto de la planta donde se necesiten comparar maltas caramelo o derivados de ellos, como es en la producción de harinas, sin necesidad de software que procesen los datos. Esto se traduce en menores costos de implementación. La desventaja es que los análisis estadísticos sobre la bondad de ajuste arrojaron que el modelo construido no explica de la mejor manera el comportamiento de los datos, por lo tanto se debe tener en cuenta de que el modelo es sólo referencial y en ningún caso puede sustituir al método oficial EBC. Aún así, se propone como una muy buena herramienta para la comparación de dos maltas caramelo, por ejemplo, en batch consecutivos para asegurar una mayor homogeneidad del producto de salida. En su defecto, cuando haya que mezclar batch de maltas caramelo para llegar a un color específico, este método puede dar apoyo en la elección de los colores a mezclar (se pueden hacer varias mezclas de productos en cantidades pequeñas y estimar un color final). Si bien en su estado actual el método es específico para maltas caramelo, es de relativa facilidad construir una curva similar para maltas tostadas y así ampliar la aplicación de la herramienta.

Otros parámetros de calidad de la malta caramelo

Se estudiaron otros parámetros de calidad de la malta caramelo y su evolución con el color. Los parámetros de calidad de la malta caramelo a lo largo de todo el rango de color se comportaron como lo esperado durante el año 2011 y parte del 2012. En particular la humedad, la cantidad de sustancias solubles (extracto) y pH disminuyen conforme el color aumenta. Caracterizar el nivel de extracto de la malta caramelo según su color es fundamental para la elaboración de recetas a nivel microcervecero y diseño de nuevas cervezas (Álvarez, 2011, Daniels, 1996; Palmer, 1999). Un nivel de pH bien caracterizado por color también aportará al microcervecero, o a procesos cerveceros de mayor escala, cuando se realicen maceraciones con poco o nulo control de este parámetro, su conocimiento puede prever mayor o menor actividad enzimática (proteolítica o amiolítica) permitiendo ajustar las curvas de maceración.

Si bien todas estas variables se miden en mosto congreso, lo que permite su comparación con cualquier otro tipo de malta caramelo, el uso de métodos de elaboración de mostos y cervezas más acordes a lo utilizado en la industria permitiría la obtención de información específica de interés para los clientes de Malterías Unidas S.A. Para ello la implementación de una planta cervecera a escala piloto en la empresa podría entregar las condiciones apropiadas para reproducir aplicaciones específicas que sean solicitadas.

Cuantificación de las variabilidades en la materia prima y el proceso de la malta caramelo

La caracterización de las maltas caramelo verificó que Malterías Unidas S.A. posee un problema con la estandarización de la producción y el control en línea del color. Este problema sin embargo no ha sido dimensionado en términos comerciales y monetarios, por lo que sólo se puede hablar de problemas de materia prima y procesos.

Para detectar los factores que explicaban el mayor porcentaje de las variabilidades de los datos encontrados, las principales herramientas fueron análisis multivariantes y análisis de componentes principales (PCA). Se encontró que existe alta variabilidad en las condiciones y productos intermedios necesarios para producir maltas caramelo de un rango de color específico. El grado de desagregación de la malta verde utilizada, el nulo control sobre su humedad de entrada a las tostadoras y el desempeño dispar entre los equipos de tostación utilizados con este fin, destacan como variables no estandarizadas. Esta variabilidad no permite hacer un ajuste de parámetros adecuado para un modelo predictivo de color según estos parámetros de proceso a lo largo de su cadena de producción.

Para atacar el problema y dados los antecedentes de la importancia de los regímenes de temperatura en el proceso de caramelización y tostación, se evaluaron las máquinas tostadoras. Se corroboró un desempeño dispar mediante el análisis de los datos históricos de producción en los equipos de tostación durante el año 2011. A la vez, en cada una de ellas, los programas de temperaturas (set points) no eran alcanzados en el tiempo de proceso, revelando deficiencias en el control de la dinámica del proceso. Esto puede ser atribuido a sensores no calibrados, malas prácticas y softwares de control en formato de versión de prueba observados durante el desarrollo del trabajo. Para lograr mejoras se debe invertir en la estandarización por separado del desempeño de las máquinas tostadoras. Esto no es operar a los equipos con las mismas condiciones de operación, sino que, dado su funcionamiento, fallas intrínsecas y dinámica de transferencias de calor, ajustar las condiciones de operación de forma independiente para obtener un desempeño comparable en ambas máquinas. Existen trabajos de modelización al respecto que podrían ser ocupados como punto de partida (Llorca, 1999).

Además de estos parámetros de proceso, para estimar la calidad de la materia prima, malta verde, antes de ser procesada como malta caramelo se estudió a la malta Pilsen. Esta estimación se puede hacer basándose en que la propiedad del secado de la malta Pilsen es conservar de forma íntegra las características de la malta en germinación, especialmente su actividad enzimática, y limitar el nivel de DMS. Debido a que las enzimas no son fuertemente afectadas se puede decir que la estabilidad del resto de las proteínas, y luego, del resto los componentes de la malta son alterados en forma mínima. El análisis de componentes principales y el conocimiento de las variables de

calidad permitieron identificar que la mayor variabilidad era explicada por parámetros que tenían relación con el nivel de desintegración de la malta.

Así se seleccionaron los parámetros de Temperatura final/tiempo de proceso, Friabilidad, Índice de Kolbach y % Extracto fino/% Proteína. Todos estos parámetros mostraron una gran dispersión para un color de malta caramelo fijo. Se identificó un rango de color acotado para estudiar el impacto de la diferencia de estos parámetros. El rango [110-170 EBC] es el con mayor volúmenes de producción y venta por lo que se utilizaron maltas lo más cercana a la media del intervalo, 135 EBC.

Maltas seleccionadas para comparar las variables

Se buscaron, dentro de las producciones almacenadas en la empresa, maltas que representaran puntos extremos de las variables elegidas para un color cercano a los 135 EBC. Dado que se diagnosticaron problemas en el método de medición de color estándar, se utilizó también el modelo de estimación de color RGB Color Analyzer para asegurar similitud de colores. Se seleccionaron 4 tipos de malta identificadas como A, B, C y D.

El elegir valores mínimos y máximos de Friabilidad, Índice de Kolbach y % Extracto fino/% Proteína se traduce en elegir una malta con bajo grado de desagregación (Malta A – 140 EBC) y con alto grado de desagregación (Malta B – 137 EBC) respectivamente. Dadas las características del grano, la desagregación implica la biodisponibilidad de, particularmente, aminoácidos y azúcares reductores provenientes de la hidrólisis del almidón. Esta disponibilidad se esperaría que afectara al desarrollo de color según la reacción de Maillard y su cadena de reacciones río abajo, en especial la degradación de Strecker la cual produce aldehídos como el 3-metilbutanal, de interés por su reporte como compuesto principal que contribuye al aroma característico de maltas y maltas caramelo. El grado de desagregación de la malta caramelo puede afectar el nivel final de componentes de Maillard, pero la velocidad de la reacción se ve afectada por la aplicación de temperatura durante un tiempo determinado. La relación Temperatura final/tiempo también evaluó el impacto en la formación de productos intermedios y finales de la reacción de Maillard. El pH también influye en los caminos que la reacción toma, pero este aspecto no fue estudiado debido a en maltas Pilsen el pH está estandarizado, mostrando pocas variabilidades, lo que no lo hace ser un contribuidor importante en ninguno de los componentes principales extraídos en el estudio. Como el pH es levemente ácido implicaría que durante la caramelización y tostado de la malta caramelo, la reacción de Maillard estaría favorecida hacia la ruta que forma hidroximetilfurfural y furfural (Figura 9), lo que explicaría el incremento de este último compuesto en los resultados de análisis de volátiles para maltas caramelo que van de 5 a 300 EBC (Figura 10), donde a su vez, a mayor color, mayor acidez (Tabla 7) y aumento del nivel de furfural, así, maltas caramelo de colores más oscuros poseen mayor nivel de furfural. El análisis de este compuesto en función del pH de las maltas

verdes podría llevarse a cabo con las maltas caramelo de Malterías Unidas S.A. y se esperaría que su nivel fuera dependiente solo del color de la malta caramelo final.

Las maltas caramelo C (117 EBC) y D (120 EBC) reflejan distintos regímenes de proceso. Su valor mínimo y máximo se usó como reflejo de la intensidad del proceso de tostado de malta caramelo. Un valor alto implica una elevada intensidad de tostado, con altas temperaturas de curado y/o bajos tiempos de proceso. La malta D en particular posee la temperatura de proceso más elevada para la elaboración de una malta caramelo entre 110 y 170 EBC y una duración de proceso tan solo 10 min superior que el mínimo, (el rango para la duración del proceso – diferencia entre cortos y largos – es de 78 min). Esto hace que su valor Temperatura final/tiempo sea el máximo global para maltas caramelo 110-170 EBC, lo que permitió ver con mayor claridad el impacto de la intensidad del tostado.

Es importante tener claro que se eligieron dos grupos de maltas (A-B y C-D) para representar dos grupos de variables (Desagregación y Proceso respectivamente). El análisis podría ser directo si para la variable estudiada, todo el resto permaneciera constante para los dos grupos de maltas, pero esto no es así. Se detectó que la malta A, la utilizada para evaluar la menor desagregación, tuvo un régimen de tostación menos intenso que a malta C (malta C evalúa la menor intensidad de tostado), y sin embargo el color de A es mayor que el de C (anexo K). Esto podría indicar que una menor desagregación en la malta verde (Malta A) favorecería la formación de color necesitando una intensidad de tostado más baja a que si se ocupara una malta con mayor nivel de desagregación. Para poder sugerir esto con más propiedad son necesarias repeticiones del caso debido a la variabilidad del color respecto a la temperatura final y el tiempo. Por su parte se detectó también que la malta D (mayor intensidad de tostado) posee un Índice de Kolbach menor que A, (siendo A la estudiada para representar el mínimo de Índice de Kolbach), lo que implica menor cantidad de nitrógeno soluble en D (el nivel de proteínas en ambos es similar, 10,3% en A y 9,8% en D para un intervalo entre 8,5 y 11,3%). El color de A también es mayor que en D, por lo que la formación de color en D pudo haber estado limitada por la cantidad de compuestos con grupo amino disponible para llevar a cabo la cadena de reacciones implicadas en la Reacción de Maillard y la consecuente formación de color por melanoidinas (Figura 9). Si se asume que la temperatura en D es lo suficientemente alta como para consumir la mayor parte de los reactivos en el corto tiempo del proceso, se sugiere entonces que para una malta con bajo contenido de nitrógeno soluble se limita la formación de color ajustándose a las investigaciones sobre los mecanismos de la reacción de Maillard (Hodge, 1953). Si suposición realizada es incorrecta, a lo menos se puede sugerir que se limita la formación de color o por la corta duración del proceso o por la falta de reactivos intermediarios (grupos aminos de compuestos nitrogenados solubles). Cualquiera sea el caso, esta limitación de color implicaría que la malta D posee una mayor acumulación de compuestos intermedios, lo que ofrecería más sabor

y aroma basándose son los compuestos intermediarios y no finales (melanoidinas) las implicadas en el desarrollo de sabor y aroma (Coghe *et al.*, 2004).

La evaluación de mostos y cervezas elaboradas con maltas seleccionadas

El impacto de las variables seleccionadas a evaluar se estudió por medio de cromatografía de gases para mostos y por medio de análisis sensoriales para cervezas. No se pudo analizar cromatográficamente a las cervezas ya que para las pruebas realizadas el método cromatográfico implementado no mostró la capacidad de distinguir componentes distintos al etanol. Para esto es necesaria la implementación de un sistema de recuperación y concentración de los compuestos volátiles. Las técnicas más utilizadas para ello son (González, 1999): Extracción por solvente, extracción líquido-sólido, técnicas de espacio de cabeza (Headspace), destilación y desmixture.

En la extracción líquido-líquido se utiliza un solvente no miscible, como dietil éter, éter pentano o dicloropentano, para concentrar compuestos volátiles. Esto se ha utilizado en vinos y cervezas (Fickert y Schierberle, 1998; González, 1999). La extracción líquido-sólido es adecuada para extraer compuestos volátiles muy diluidos, donde se emplea un adsorbente a través del cual pasa la dilución. Una de estas técnicas más utilizadas para el estudio de mostos y cervezas es la Microextracción en Fase Sólida (SPME) (Saison *et al.*, 2001; Vandecan *et al.*, 2010; Saison *et al.*, 2009; Furukawa, 2011; Schutter *et al.*, 2008). Para el caso de la destilación la técnica más interesante es la Extracción-Destilación Simultánea (SDE), con precedentes en vinos y suspensiones acuosas de malta (Gonzalez, 1999; Beal *et al.*, 1994). La técnica de desmixture consiste en la adición de sal a la muestra líquida lo que aumenta la volatilidad de algunas sustancias. Se ha utilizado en vinos, whiskies y cervezas en combinación también con otras técnicas (Saison, 2008; González; 1999).

Por su parte los procedimientos con Headspace se dividen en dos: dinámico y estático. El primero (HS-dinámico) también se denomina sistema de Purga y Trampa y ha sido utilizado para la evaluación de volátiles en centeno (Heinniö *et al.*, 2003) y diluciones hechas con maltas especiales (Woffenden *et al.*, 2001; Beal *et al.*, 1994). HS-estático ha sido ocupado para la extracción de volátiles en cervezas lager rubias y cervezas ales con maltas especiales (Tian, 2010; Coghe *et al.*, 2005) mediante un equipo HS-40 (Perkin Elmer, EE.UU.) como el que posee el laboratorio de calidad de Malterías Unidas. Esto último hace factible la implementación de un método de análisis que si sea capaz de evaluar componentes moleculares de las cervezas en Malterías Unidas S.A., para ello hace falta acoplar un detector FID existente actualmente en la empresa al sistema cromatográfico que está en funcionamiento.

Evaluación cromatográfica de mostos con malta caramelo

Todos los tipos de mostos con malta caramelo (A, B, C y D) fueron contrastados con un mosto elaborado con malta Pilsen y su resultado fue que, bajo el método

cromatográfico utilizado, no se detectaron diferencias en los tipos de compuestos volátiles que poseen, por consiguiente esto sugiere que maltas caramelo en un rango acotado de color [120-140 EBC] no aportan nuevos componentes volátiles a las cervezas. La diferencia entre los mostos de cada uno entonces se debe principalmente al color (melanoidinas de alto peso molecular) y al nivel de componentes solubles (azúcares y aminoácidos/proteínas) en el mosto, cuyas moléculas no son volátiles (Oteiza, 2011). Para la cuantificación de estos parámetros un buen método sería la utilización de cromatografía líquida de alta performance (HPLC).

Dado que no existe la presencia de algún compuesto que sea distinto entre las maltas caramelo y las maltas Pilsen, se estudió la diferencia de concentración de los compuestos detectados por medio del análisis de sus áreas en los perfiles cromatográficos. El uso de un patrón puro permitió identificar la presencia de 3-metilbutanal en todos los mostos analizados.

El análisis sobre las maltas caramelo A y B arrojó que se puede asegurar que al menos un compuesto posee concentraciones distintas en cada una. Este compuesto fue identificado como P9 y posee el mayor tiempo de retención del total de compuestos separados en los mostos (Tabla 29). Por su parte para los compuestos P1, P4 y P9 el mosto con malta caramelo A (mosto A) muestra mayor concentración que el mosto Pilsen usado como referencia. Para el mosto B sin embargo no se encontraron diferencias entre la concentración de sus compuestos con el mosto Pilsen (Tabla 32). Esto implicaría que un menor nivel de desagregación en la malta verde permitiría la producción de mayor cantidad de compuestos volátiles en las maltas caramelo respecto a una malta caramelo que se elaboró de una malta verde más desagregada.

Si bien se identificó que 3-metilbutanal está presente en las maltas Pilsen y maltas caramelo, la diferencia de concentración entre los dos tipos de malta caramelo (A y B) no fue significativa. Se puede decir entonces que 3-metilbutanal no está directamente relacionado con el nivel de desagregación inicial de la malta verde. Tampoco se detectó diferencia significativa entre la concentración de ambos mostos caramelo y la del mosto Pilsen. Esto puede deberse a la no generación de 3-metilbutanal durante la producción de la malta caramelo 140 EBC o a la producción y posterior consumo de 3-metilbutanal en otras reacciones durante el proceso de malta caramelo.

Aquellos compuestos que sí presentaron significativamente diferencias de concentración entre las maltas A y B permanecen desconocidos, pero es posible realizar un análisis de sus propiedades de acuerdo a sus afinidades con la columna capilar (anexo F), utilización del índice de retención (anexo D) y/o la incorporación de más patrones en cromatografía de gases. Esto queda planteado para futuros desarrollos.

Las maltas C y D mostraron diferencia en uno de los peaks que representa a 3-metilbutanal (Q6) (Tabla 36). La malta D (mayor intensidad de tostado) mostró menor

concentración de 3-metilbutanal que la malta C. El compuesto Q4 mostró el mismo comportamiento. La malta D, además de ser la malta con mayor intensidad de tostado, posee una desagregación media (friabilidad 88% de un intervalo 70-96%; Extracto fino 83% de un intervalo 80,4-84,4%) por lo que la diferencia de concentraciones de 3-metilbutanal y Q4 con la malta C puede ser atribuida con mayor razón al régimen de tostado. Esto es indicador de que el régimen temperatura-tiempo utilizado en las máquinas tostadores sí produce diferencias aún cuando se obtenga un mismo color final de malta caramelo.

La identidad de Q4 es desconocida pero se pueden realizar análisis de sus propiedades de acuerdo a la afinidad con la columna capilar (anexo F), utilización del índice de retención (anexo D) y/o la incorporación de más patrones en la cromatografía de gases. En las maltas A y B (que tuvieron intensidades de tostado muy bajas y media respectivamente (anexo K)) permaneció constante e igual a la concentración de la malta Pilsen por lo que su menor presencia en D posiblemente se deba al consumo generado por el incremento de la cinética de alguna reacción donde esté implicado.

Se sugiere que 3-metilbutanal es afectado más por el régimen de temperatura empleado para la fabricación de maltas caramelo que por el nivel de desagregación de la malta verde. Dado los antecedentes de que 3-metilbutanal alcanza un máximo a colores cercanos a los 100 EBC (Coghe *et al.*, 2004; Beal y Donald 1994; Wonffenden *et al.*; 2001), el régimen usado en la malta D produjo un consumo de 3-metilbutanal en reacciones que conducen a la formación de color y su nivel decrece a medida de que el color aumenta. Los resultados de 3-metilbutanal para las maltas A y B también pueden ser explicados en términos de consumo dado que su color es incluso levemente más alto que C y D.

Considerando estos resultados se puede decir que controlando la temperatura de curado y tiempo del proceso de tostado se podrían realizar maltas caramelo que sólo aporten color (alta temperatura de curado y menor tiempo de proceso) o maltas caramelo que, aportando aproximadamente la misma cantidad de color, provean de aromas mucho más intensos (menor temperatura de curado en tiempos de proceso más largos) dados principalmente por 3-metilbutanal. Luego, variando el color se puede lograr una amplia gama de productos. El principal desafío de esto es el control de las máquinas de tostado dados los problemas discutidos anteriormente.

Como se mostró que el nivel de 3-metilbutanal es independiente del nivel de desagregación de la malta, entonces se hace factible tomar malta verde que, sin importar en demasía el nivel de germinación, podría ser explotada como malta caramelo, aromática o no. Con ello se podrían solucionar eventuales problemas de proceso, como el destino de cajones sobregerminados, liberar cajones de forma anticipada (con menor germinación) para cargar nuevos ranos que vienen de la etapa de remojo, destinar a productos comerciales batches de malta verde que estén fuera de especificación de ciertos clientes, etc.

El compuesto 3-metilbutanal ha sido reportado como uno de los mayores contribuidores de aromas en maltas, por lo que su diferencia eventualmente causará un impacto en el producto final. A la vez también juega un papel importante en productos como café, vino y quesos entre otros. Su determinación ha sido materia de estudio en los últimos años ocupando variedad de métodos para su extracción. Este trabajo muestra un método rápido de determinación de 3-metilbutanal que podría ser implementado también para otros productos de Malterías Unidas S.A u otras empresas.

El mejoramiento de la herramienta de cromatografía de gases es factible para realizar un análisis más acabado de estos compuestos. Durante el desarrollo de este trabajo existió la limitante de no poder utilizar a la columna capilar a su temperatura máxima (250°C). De ser posible, se podría implementar un método tal que los compuestos eluyan más rápido y se podría verificar la presencia de pirazinas y maltol en el mosto.

Evaluación sensorial de cervezas con malta caramelo

Para analizar el impacto final de las diferencias detectadas entre la concentración de volátiles de las maltas caramelo, se elaboraron cervezas con mostos con la misma concentración de malta caramelo que los mostos usados en cromatografía, 10%, acercándose por arriba al nivel utilizado en el mercado de las cervezas con malta caramelo.

La utilización de análisis sensoriales para la caracterización de la calidad sensorial no es una herramienta nueva en el ámbito de los alimentos y su desarrollo ha manifestado que existen muchos factores, internos y externos, que pueden afectar los resultados. La capacidad sensorial que tenga la persona que se utilizará como juez es importante, y dado que lo que se quiere realizar es la obtención de una información objetiva, es necesaria la utilización de muchas personas. Para este estudio se puso esfuerzo en seleccionar a personas que tuvieran una alta, si no la mejor encontrada, capacidad de discriminación organoléptica. Se trataron de controlar todos los demás aspectos (ambientales y prácticos) para disminuir los errores o malas interpretaciones que se pudieran cometer en la recolección de los resultado.

El desarrollo de análisis sensorial fue evolucionando conforme la información fue siendo recopilada. La disposición de las personas, herramientas utilizadas y muestras analizadas al inicio de las pruebas sensoriales fueron distintas a las utilizadas al final. Esto pudo tener un impacto en las etapas primeras del proceso, en específico en la caracterización de los principales aportes organolépticos de las maltas caramelo en las cervezas (evaluaciones con 20% y 15 % de malta caramelo). Aún así, los atributos organolépticos clasificados como importantes fueron los esperados.

Debido a que las personas que conformaron el panel degustador no poseían un entrenamiento previo respecto al análisis sensorial, se evaluaron sabores y no aromas, puesto que para ello se necesita gente con mayor grado de especialización (Saens,

1985; Kemp, 2009). Esto hace menos directa la relación con los resultados en cromatografía de gases.

Sabores dulces-caramelo, representando la etapa de caramelizado del proceso, y sabores amargos-tostados para representar a las etapas de tostado del proceso de elaboración de malta caramelo. El sabor a grano, considerado como a “cereal” o “cascara” pudo haber sido considerado como importante para los jueces debido posiblemente a que la etapa de selección de sabores fue realizada con cervezas con 15% y 20% (proporciones altas) de malta caramelo, proporción que luego se disminuyó para el análisis final.

Se lograron fabricar cervezas aptas para su evaluación con malta caramelo al 10%, pero también otras tantas cervezas sufrieron problemas de contaminación. Esto terminó por afectar la coordinación con los análisis sensoriales. Se logró evaluar a las maltas A y B en su aplicación cervecera, no así las maltas C y D.

Los resultados sensoriales no indicaron diferencias significativas entre las maltas A y B. Si bien existían diferencias significativas en el nivel de desagregación de la malta verde al ser procesada como malta caramelo, estas diferencias no se evidenciaron en las cervezas. El proceso de caramelizado y tostado pudo haber encubierto estos aspectos. Otra posible razón de que no se hayan encontrado diferencias significativas entre las cervezas con malta A (cerveza A) y cerveza B que es el nivel de concentración de los componentes traspasados de la malta a la cerveza no haya sido el suficiente como para alcanzar la concentración umbral y ser detectado por los receptores de sabor de los jueces (Saens, 1985). Esto se verificó con el análisis cromatográfico, el cual sí encontró diferencia entre las maltas A y B. Por lo tanto los compuestos generados en la malta A que poseen mayor concentración que en la malta B (P1, P4 y P9) no impactaron el perfil organoléptico de las cervezas. Sólo las cervezas con malta caramelo se destacaron sobre las cervezas con malta Pilsen sobre los valores de caramelo, tostado, amargo, dulce y ácido independiente de la malta caramelo color 120 EBC que se haya utilizado. Las maltas C y D no pudieron ser evaluadas en su aplicación cervecera.

La percepción de amargor en las cervezas fue importante aún cuando las cervezas estaban alteradas (bajos pH). Se rescató que el nivel de amargor de las cervezas era en muchos casos apropiado. Las cervezas fueron confeccionadas sin lúpulo, el cual atribuye importantes perfiles de amargor. Su ausencia no hizo desmedro del amargor en las cervezas ya que la malta caramelo aportó con este atributo. La causa del amargor se debe a la presencias de pirazinas, pero estas no pudieron ser cuantificadas en los mostos con malta caramelo. Se hace importante entonces el tener caracterizado los compuestos amargos en las maltas caramelo y con ello el aprovechar los recursos cromatográficos (HS/GC) disponibles en Malterías Unidas S.A. El desarrollo de las ideas propuestas en este trabajo también puede ser aplicado para la línea de productos de extracto de malta que posee Malterías Unidas en su planta Temuco, de gran interés comercial en la industria de los alimentos.

7. Conclusiones

El principal objetivo de este trabajo fue caracterizar a la malta caramelo producida en la empresa Malterías Unidas S.A. y evaluar su impacto cuando se utiliza para la elaboración de cervezas. El parámetro que diferencia a un producto de otro es el color y por tanto se elaboró un modelo de estimación rápida de color para maltas caramelo. La principal ventaja que posee es la simplicidad y el tiempo necesario para obtener valores referenciales de color y tomar decisiones de proceso. Es posible que se puedan construir modelos más complejos para obtener una mejor bondad de ajuste a los datos, pero el modelo explica gran porcentaje de la variabilidad de los datos, por lo que se concluye que es válido para la estimación de color según los fines para los que fue construido pero que no reemplaza del todo al método oficial. Su aplicación puede ser llevada fácilmente a otros productos de la empresa que no sean maltas caramelo. Para mejorar esta herramienta es posible realizar acciones como un ajuste de parámetros por rangos de color, de manera de que, en vez de abarcar el rango completo con una sola función, se ocupen modelos específicos para cada subconjuntos de color. La determinación de cómo dividir el rango de color y el planteamiento de las restricciones para producir continuidad para el rango completo de color, queda propuesto para trabajos posteriores. A la vez, la toma de datos a partir de muestras de malta caramelo con colores medidos tomando las correcciones para el método EBC también pueden contribuir a mejorar la bondad del ajuste.

Se caracterizaron las maltas caramelo producidas por Malterías Unidas S.A. de acuerdo a parámetros distintos al color. Esto es importante para la aplicación cervecera del producto, ya que a medida que se va desarrollando el mercado, es posible encontrar maltas especiales que tengan cualidades específicas y que sean requeridas por ello. Se concluye que las maltas caramelo siguen los comportamientos esperados a una malta caramelo estándar y que ello es la base para potenciar cualidades de valor agregado en el producto. A la vez su conocimiento permite evaluar la aplicación en alimentos o bebidas no alcohólicas como extensor de cacao, agregado o sustituto de café o colorante natural entre otros.

La caracterización de la malta caramelo dio cuenta de aspectos no estandarizados en su producción y este trabajo evaluó el impacto que tienen en la aplicación final del producto. Estos problemas también se pueden evaluar desde el punto de vista de costos y operación, cuantificando energía utilizada, consumibles como agua o combustible, tiempos de proceso, producción de riles, nivel de stock, etc.

Se detectaron principalmente variaciones en el nivel de germinación de las maltas verdes usadas para fabricar maltas caramelo y en los procesos de caramelizado y tostado a los cuales era sometida. La causa de lo primero puede ser atribuida al poco control que existe de la malta verde una vez que es extraída de los lechos de germinación a la espera de ser procesada como malta caramelo. Esto a su vez afecta a

la malta Pilsen también, porque la extracción de la porción de malta verde rompe con las condiciones de germinación de ella antes de ser ingresada al horno secador, en especial en su nivel de aireación ya que la extracción de una porción de malta verde puede dejar al descubierto las líneas de aire que se encuentran bajo el lecho, produciendo que el resto de la línea pierda presión y deje de oxigenar a la malta que queda. Esto puede favorecer condiciones anaeróbicas produciendo ácido acético en el grano. Se concluye que podría ser evaluada la construcción de lechos pequeños exclusivos para la malta que será procesada como malta caramelo. La evaluación de la necesidad de este proyecto puede ser estudiada a futuro.

Se demostró, a través de datos históricos, que una malta caramelo de un color determinado puede ser elaborada con condiciones de operación relativamente distintas: tiempos largos para temperaturas de curado bajas y viceversa. Sin embargo no se estudió la cinética de la formación de color en las máquinas tostadoras. Se propone para ello tomar muestras punto a punto a medida que el caramelizado y el tostado avanzan para muchas producciones en las tostadoras. El uso del modelo de estimación de color puede usarse para el seguimiento en línea de este parámetro. Con esto se podría realizar un estudio del comportamiento cinético de la reacción de Maillard en cada tostadora por separado.

Las diferencias de desagregación de una malta verde y de la intensidad del tostado cuando es procesada como malta caramelo sólo tuvieron impacto a nivel cromatográfico en mostos con 10% de malta caramelo 135 EBC. Los parámetros evaluados no produjeron diferencias perceptibles por el grupo de jueces seleccionados para el análisis sensorial, posiblemente a que si bien existían diferencias de concentración de ciertos compuestos, ninguno superó su umbral de reconocimiento, por lo que no eran perceptibles por los jueces.

Maltas caramelo 135 EBC con menor grado de desagregación y menor intensidad de tostado contienen una mayor cantidad de compuestos volátiles que maltas producidas a altas temperaturas y mayor grado de desagregación. Se concluye que los componentes responsables de estos perfiles son compuestos intermediarios de la reacción de Maillard ya que tanto la mayor temperatura como la mayor presencia de reactivo aumentarán la cinética de formación de estos compuestos para luego pasar a etapas posteriores de consumo o pérdida por volatilización, como ocurre con el DMS.

Se sugiere que 3-metilbutanal es consumido en maltas caramelo 120 EBC cuando estas fueron sometidas a temperaturas sobre los 157°C y tiempo de proceso de 102 min. A la vez, su producción/consumo es independiente del nivel de desagregación de la malta verde al inicio del proceso. Se puede decir que se puede potenciar la presencia de 3-metilbutanal en las maltas caramelo de la empresa si se logra un proceso controlado de caramelizado y tostado. Además, como este compuesto se considera uno de los más importantes en el aroma de las maltas de todo tipo, se considera oportuno poner atención en los parámetros que influyen en su concentración en las cervezas.

Para ello se necesitarían perfeccionar las técnicas y los implementos para elaborar cervezas, perfeccionar al panel de jueces seleccionado, implementar protocolos definitivos para cromatografía de gases y estudiar la influencia de la temperatura y el tiempo de proceso.

La primera acción se puede obtener mediante la especialización de un laboratorio, o sección laboratorio, para fabricar mostos y cervezas, y que no interfiera con los análisis que hace el laboratorio de Calidad. Se concluye que se podría instalar una microcervecería en el laboratorio de Desarrollo de Malterías Unidas S.A. para evaluar, no tan solo los productos de malta caramelo, sino también los de malta base, tostada y extracto de malta.

El panel degustador puede ser permanentemente entrenado y se podrían incorporar a más personas para obtener resultados estadísticamente más significativos. La elaboración de un programa de análisis sensorial sería lo adecuado para llevar un control interno de la calidad sensorial de los productos de la empresa, no tan solo malta caramelo.

Se debe acoplar el detector FID que existe en el laboratorio de Calidad al cromatógrafo de gases del lugar para poder evaluar compuestos específicos de mostos y de cervezas, ya que también se aprovecharía la reproducibilidad y la capacidad de extracción del Headspace estático que existe en la empresa. Todo esto permitiría aprovechar capital que tiene poco movimiento y que se ocupa con el fin exclusivo de determinación de DMS.

La modelación de los equipos de tostación y la implementación de un control de temperatura rápido y con pocas oscilaciones puede ser necesario para la explotación de los aspectos propios de las maltas caramelo de Malterías Unidas S.A.

La globalidad de todo permite ver desarrollo en el ámbito de la biotecnología aplicada a procesos industriales de importancia económica en el país, como es la agroindustria de los cereales en un país productor agrícola, donde, por ejemplo, se podría estudiar el efecto de la adición de enzimas exógenas a las etapas de remojo o germinación del malteo. Situación similar ya se está estudiando en la empresa en su línea de extracto de malta. También sobre el entendimiento de los procesos de secado, de donde se pueden aplicar conocimientos y experiencias locales nacionales como los de la industria de celulosa y de la industria del papel, con ello se aplicaría tecnología a procesos que parecen sencillos pero que a escala plantean desafíos de ingeniería. Por último, este trabajo puede contribuir al desarrollo de la cervecería nacional, especialmente de la microcervecería, sector que en el resto del mundo se ha desarrollado de forma exitosa y que Chile, teniendo las condiciones climáticas y estratégicamente geográficas como para desarrollar maltas de calidad, debe aprovechar, para ser no tan solo un país mundialmente conocido por sus vinos, sino también por sus cervezas.

Bibliografía

Agilent Technologies. GS-Q columns. [en línea] <<http://www.chem.agilent.com/en-US/Products/columns-supplies/gc-gc-mscolumns/jwgs-q/pages/default.aspx>> [consulta: 20 enero 2012]

Agilent Technologies. Guía para la selección de columnas Agilent J&W para GC. Alemania, 2007. 148 pp.

Ajandouz, E.H., Tchiakpe, L.S., Dalle Ore, F. Benajiba, A. y Puigserver A. Effects of pH on caramelization and Maillard Reaction kinetics in fructose-lysine model system. Journal of Food Science. 66(7), 2001.

Alma Cerveza. Guía de la Cerveza 2012. Edición N°6, diciembre 2011. [en línea] <<http://www.almacerveza.cl/guia-de-la-cerveza-2012-edicionn%C2%BA6-diciembre-2011/>> [consulta: 27 de mayo 2011]

Álvarez Hervia, Cristian, Mundocervezero. Curso de elaboración de cervezas nivel 1 y 2 (básico y avanzado). En: Curso de elaboración de cervezas (2011, Avenida Vicuña Mackenna 1448, Ñuñoa, Santiago, Chile). Cervecería Leyenda y Mundocervezero, 2010, 44p.

Anaheim Scientific. RGB Color Analyzer Model H500. [en línea] <<http://www.anaheimscientific.com/DataSheets/H500.PDF>> [Consulta: 20 noviembre 2011]

Anderson, R. L., Bancroft, T.A. Statistical Theory In Research. Nueva York, Toronto, Londres, McGraw-Hill, 1952. 399 p.

Azxoytia, Carlos. Historia de la cocina. 2010. [en línea] <<http://www.historiacocina.com/historia/cerveza/alemania.html>> [consulta: 28 de abril 2011]

Barreiro , José A., Sandoval B., Aleida J. Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. [en línea] <http://books.google.cl/books?id=r7y3XuFAB8UC&pg=PA36&lpg=PA36&dq=glicosilamina&source=bl&ots=VNNIyoAUhz&sig=JUwS_2ip97rVD5gd_omH-4BZyqQ&hl=es&ei=L4r1TbnND4S2tgeRvtnpBg&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=8&ved=0CD0Q6AEwBw#v=onepage&q=glicosilamina&f=false> [consulta: 16 de junio 2011]

Basanta Díaz, Antonio. Evaluación de la enterocina L50 (L50A y L50B) de *enterococcus faecium* L50 como bioconservante de la cerveza: producción y secreción heteróloga de las enterocinas L50A y L50B en *saccharomyces cerevisiae* y *pichia pastoris*. Tesis

doctoral. Madrid, 2007. Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Veterinaria, Departamento de nutrición, bromatología y tecnología de los alimentos, 2007. 389 p.

Baserga, Natalia. Área comercial Maltexco – Chile. Entrevista personal. Talagante, enero 2012.

Beal, Andrew D., Mottram, Donald S.. Compounds Contributing to the Characteristic Aroma of Malted Barley. Department of Food Science and Technology, University of Reading, 1994.

Brewer, Susan M. The chemistry of beef flavour – Executive Summary. [en línea] <<http://www.beefresearch.org/CMDocs/BeefResearch/The%20Chemistry%20of%20Beef%20Flavor.pdf>> [consulta: 10 enero 2012]

Brewers Supply Group, [en línea] <<http://www.brewerssupplygroup.com/>> [consulta: 7 de mayo 2011]

Briggs, Dennis E. Malts and Malting. Londres, Reino Unido. Editorial Blackie academic & profesional. 1998. 752p.

Briggs, Dennis E., Boulton, Chris A., Brookes, Peter A. Stevens, Roger. Brewing: Science and Practice. Abington Hall, Abington Cambridge, Inglaterra. Editorial Woodhead Publishing Limited. Estados Unidos. Editorial CRC Press LLC. 2004.885 p.

Buera, D.P., Chirife, J., Resnik, S.L., Wetzler, G. Nonenzymatic browning in liquid model systems of high water activity: kinetics of color changes due to Maillard reaction between different single sugars and glycine and comparison with caramelization browning. Journal of Food Science. 52 (4), 1987.

Carey, Francis A. Carbohidratos. En su: Química Orgánica. 6a edición, México, McGraw-Hill Interamericana, 2006. pp 1038-1079.

Carmona, Francesc. Estadística y análisis de datos. [en línea] <<http://www.ub.edu/stat/docencia/Mates/ejemploACP.PDF>> [consulta: 20 de mayo 2011]

Carrasco, Arroyo. Caso Práctico ACP. Universidad de Valencia. [en línea] <<http://www.uv.es/~carrascs/PDF/casoACPs.pdf>> [consulta: 20 de mayo 2011]

Cerveza Apóstol. Producción cervecera mundial. [en línea] <<http://www.apostol.com.co/ExperienciaCervecera/Estad%3ADsticasCerveceras/Produccion%3B3nCerveceraMundial/tabid/116/Default.aspx>> [consulta: 27 de mayo 2011]

Chang, Raymons. Química. 2002. México. McGraw-Hill Interamericana Editores, 2002. 943 pp.

Chemblink. 3-Hydroxy-2-methyl-4-pyrone. [en línea]
<<http://www.chemblink.com/products/118-71-8.htm>> [Consulta: 12 enero 2012]

Círculo del vino. Resultados Chilean Beer & Drinks Experience. [en línea]
<<http://www.andeswines.com/chilean-beer-experience/>> [consulta: 27 de mayo 2011]

Coghe, Stefan, D'Hollander, Hélène, Verachtert, Hubert, Delvaux, Freddy R.. Impact of Dark Specialty Malts on Extract Composition and Wort Fermentation. Journal of the Institute of Brewing. 111(1), 51–60, 2005.

Coghe, Stefan, Martens, Els, D'Hollander, Hélène, Dirinck, Patrick J., Delavaux, Freddy R. Sensory and Instrumental Flavour Analysis of Wort Brewed with Dark Specialty Malts. Journal of the Institute of Brewing. Institute & Guild of Brewing. 2004.

Copa Cervezas de América. [en línea] <<http://www.copacervezasdeamerica.com/>>
[consulta: 1 de septiembre 2011]

Daniels, Ray. Designing Great Beers. EE.UU. Brewers Publications, Division of Association of Brewers, 1996.

Davies, C.G.A., Labuza T.P.. The Maillard Reaction Application to Confectionery Products. Department of Food Science and Nutrition, University of Minnesota, 1995.

De Francesco, Virginia, González, Carlos. Embrión y semilla. [en línea]
<<http://www.botanica.cnba.uba.ar/Trabprac/Tp4/Emb-Plant.html>> [consulta: 22 de abril 2012]

De Schutter, David P. Saison, Daan, Delvaux, Filip, Derdelinckx, Guy, Rock, Jean-Marie, Neven, Hedwing, Delvaux, Freddy R. Characterization of volátiles in Unhopped Wort. Center for Malting and Brewing Science, Faculty of Bioscience Engineering, Catholic University of Leuven, 2008.

European Brewery Convention. Mission Statement. [En línea]
<<http://www.europeanbreweryconvention.org/>>. [Consulta: 20 octubre 2011]

Fickert, B., Schieberle, P.. Identification of the key odorants in barley malt (caramalt) using GC/MS techniques and odour dilution analyses. Forchunsbeiträge / Research Paper. 1998. [en línea] <<http://www.mendeley.com/research/identification-key-odorants-barley-malt-caramalt-using-gcms-techniques-odour-dilution-analyses/#>> [consulta: 21 diciembre 2011]

Ford, Adrian, Roberts, Alan. Colour Space Conversions. British Broadcasting Corporation, University of Westminster. 1998.

Ganzo, Angel. Análisis de componentes principales. Métodos Estadísticos para la Economía y Gestión. Universidad de Chile, 2004. 12 p.

Gruber, Mary Anne. The Flavor Contributions of Kilned and Roasted Products to Finished Beer Styles En: MBAA Guadalajara Convention, 2001. Briess Malting Company, Chilton, WI, USA.

Hammond, J.R.M., Waesberghe, J.W.N., Wheeler, R.E. Mashing and Mash Separation. Zoeterwoude, The Netherlands. Deutshe nationalbibliothek. 2007. 177 p. (Producido por Brewing Research International)

Herrera R, Carlos H., Bolaños V. Nuria, Lutz C., Giselle. Química de Alimentos: Manual de Laboratorio. [en línea] <http://books.google.cl/books?id=8VpJ8foydilC&pg=PA19&dq=pardeamiento+no+enzimatico+maillard&hl=es&ei=gTz1TfGBGs6EtfOnNn5Bg&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCoQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false> [consulta: 16 de junio 2011]

Hodge, John E. Chemistry of browning reactions in Model Systems. Agricultural and food chemistry. 15(1), 1953.

Hough, J.S.. Biotecnología de la cerveza y malta. Zaragoza, España. Editorial Acribia S.A. 1982. 185p (serie de obras sobre ciencia y tecnología de los alimentos)

Ibañez, Pascual. Guía de la Cerveza en Chile 2011. EUqbar Editores. 2011. 228p

Infocebada. Información sobre la cebada. [en línea] <<http://infocebada.galeon.com/botanica.htm>> [consulta: 26 de junio 2011]

Jaén Echeverría E., Román Gutiérrez A. Determinación de las características del mosto elaborado con malta caramelo para elaborar una cerveza artesanal. En: XII Congreso nacional de ciencia y tecnología de alimentos (Décimo segundo congreso, 2010, Guanajuato, México). Universidad de Guanajuato, Universidad Autónoma de Nuevo León. 2010, 8p.

Kelmansky, Diana. Regresión Lineal Simple. Curso de estadística. Departamento de Matemática, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, 2005.

Kemp, Sarah E., Hollowood, Tracey, Hort, Joanne. Sensory Evaluation, a practical handbook. Reino Unido, Wiley-Blackwell, 2009. 196 pp.

Llorca Marqués, Miguel. Modelización de la operación de secado de malta por aire caliente, en lecho fijo y en capa profunda. Alicante, España. Edición digital: Biblioteca Virtual Miguel de Cervantes, 1999. Universidad de Lleida. [en línea] <<http://www.lluisvives.com/FichaObra.html?Ref=2338&portal=1>> [consulta 20 abril 2012]

MacGrefor, A.W., MAcri, L. J., Schoeder, S.W., Bazin, S.L. Limit dextrinase from malted barley: Extraction, purification and characterizatio. Cereal Chemist. 71(6), 1994.

Maltexco Malterías Unidas S.A. Noticias. [en línea] “Copa Cervezas de América” entrega 64 medallas y se convierte en referencia en Latinoamérica. Santiago, septiembre 19, 2011 <<http://www.maltexco.com/component/content/article/139-copa-cervezas-de-america-.html>> [consulta: 27 de mayo 2011]

Maltexco Malterías Unidas S.A. Quienes Somos. [en línea] <<http://www.maltexco.com/empresa/historia.html>> [consulta: 22 de marzo 2011]

Maltexco Malterías Unidas. Determinación de precursores de DMS en mosto. (Documento interno). Laboratorio de Calidad.

Mash. El Hervor. Argentina. Revista Mash. 2010 [en línea] <<http://www.revistamash.com/detalle.php?id=364>> [consulta 20 abril 2012]

Mason, Richard L., Nottingham, Stephen M. Sensory evaluation manual. University of Queensland. 2002. [en línea] <[http://es.scribd.com/doc/8940001/Sensory-Evaluation-Manual->](http://es.scribd.com/doc/8940001/Sensory-Evaluation-Manual-) [Consulta: 27 enero 2012]

MEBAK. Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission eV (MEBAK). Editorial Alaface. Comisión de análisis técnicos cerveceros de Europa Central.

Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Madrid, España. Mateo Box, J. M. Prontuario de Agricultura. 2005. [en línea] <<http://books.google.cl/books?id=Glts8S4zuWAC&pg=PA82&lpg=PA82&dq=raquilla+cebada&source=bl&ots=COOzPGdc9w&sig=DZIn-YiaNFpU1pcOFIXAHVz35c&hl=es&sa=X&ei=osaWT--fEore9ASu15ybDg&ved=0CC8Q6AEwAg#v=onepage&q=raquilla%20cebada&f=false>> [consulta: 26 de junio 2011]

Nutrición personalizada. Variación genética en la percepción del gusto (III). [en línea] <http://nutricionpersonalizada.wordpress.com/2010/03/09/percepcion_gusto_3/> [consulta: 10 enero 2012]

Oteiza Torres, Fabián. Perkin Elmer. Cromatografía gaseosa y Headspace. En: Curso básico cromatografía de gases y headspace – Maltexco (2011, Bellavista 681, Talagante, Chile). Perkin Elmer, 2009. 90 pp.

Palmer, John J. How to Brew. 1999. [en línea] <<http://www.howtobrew.com/sitemap.html>> [consulta: 24 de marzo 2011]

Pasquel, Antonio. Gomas: Una aproximación a la industria de alimentos. Revista Amazónica de Investigación Alimentaria. 1(1):8, 2001.

Prieto B., Carlos J. El agua. Sus formas, efectos, abastecimientos, usos, daños, control y conservación. 2004. [en línea] <<http://books.google.com/books?id=9c-Bjue-cBsC&pg=PA23&dq=higrosc%C3%B3pico&hl=es&ei=ResJTpfuHaSo0AHRqOGIAQ&sa>>

=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCoQ6AEwAA#v=onepage&q=higrosco%C3%B3pico&f=false> [consulta: 26 de junio 2011]

Quintas, Mafalda A.C, Brandão, Teresa R.S., silva, Cristina L.M. Modelling colour changes during the caramelisation reaction. Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa. Portugal, 2002.

Rico, Yolanda. Producción, purificación y caracterización parcial de una glucoamilasa de *aspergillus niger*. Revista colombiana de química. 19 (1), 1990.

Saavedra M., Natalia. A 2012 chilenos habrán duplicado consumo de cerveza en 10 años. [en línea] Chile Potencia Alimentaria, 24 de diciembre 2007 <http://www.chilepotenciaalimentaria.cl/content/view/109896/A-2012-chilenos-habran-duplicado-consumo-de-cerveza-en-10-anos.html> [consulta: 27 de mayo 2011]

Sadek, Paul C. Illustrated Pocket Dictionary of Chromatography. New Jersey and Canada, Wiley-Interscience. 2004. 222 pp.

Saens, Carmen, Araya, Ester. El análisis sensorial en el control de calidad de los alimentos. Curso 21 y 22 de octubre 1985. Departamento de Agroindustria y Tecnología de los alimentos. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile.

Sánchez R. La ciencia detrás de la malta. En: Copa Cervezas de América (Nº1, 5 al 10 de septiembre 2011, Santiago, Chile). Prochile y DuocUC.

StatPoint Technologies, Inc. Multiple Sample Comparison, 2009.

Stewart, Graham G. The Horace Brown Medal lecture: forty years of brewing research. Journal of The Institute of Brewing. 115(1):88, 2009.

Swift, Karl A.D. Advances in flavour and fragrances: From sensation to the synthesis. Reino Unido. The Royal Society of Chemistry. 2002. 226 pp.

Terralia. Identificación varietal de cereales (2). [en línea] <<http://www.terralia.com/index.php?revista=22&articulo=135>> [consulta: 26 de junio 2011]

Todo Vinos. Consumo de cerveza en Chile crece 36% en cinco años. [en línea] Jueves, 16 de Octubre de 2008 <<http://www.todovinos.cl/noticias/674-consumo-de-cerveza-en-chile-crece-36-en-los-ultimos-cinco-anos>> [consulta: 27 de mayo 2011]

Trivelli, Daniel. Plan de Marketing - Maltas especiales en USA, 2011. Área Comercial Maltexco, Maltexco Malterías Unias S.A. 2010. 11p.

van Boekel, M.A.J.S.. Formation of flavour compounds in the maillard reaction. Department of Agrotechnology and Food Sciences, Wageningen University.. Elsevier. 2006.

Vandecan Sem M.G., Saison Daan, Schouppe Nina, Delvaux Filip, Delvaux Freddy R.. Optimisation of specialty malt volatile analysis by headspace solid-phase microextraction in combination with gas chromatography and mass spectrometry. Centre for Malting and Brewing Science, Faculty of Bioscience Engineering, K.U. Leuven, Bélgica. 2010.

Vandecan, Sem M.G., Saison, Daan, Schouppe, Nina, Delvaux, Filip, Delvaux, Freddy R.. Optimisation of specialty malt volatile analysis by headspace solid-phase microextraction in combination with gas chromatography and mass spectrometry. Centre for Malting and Brewing Science, Faculty of Bioscience Engineering, K.U. Leuven, Bélgica. 2010.

Villardón, Jose Luis Vicente. Análisis de componentes principales. Departamento de Estadística, Universidad de Salamanca. [en línea] <<http://biplot.usal.es/DOCTORADO/3CICLO/BIENIO-04-06/ACP/ACP.pdf>> [consulta: 20 de mayo 2011]

Vriesekoop, Frank, Rathband, Andrew, MacKinlay, Jim, Bryce, James H. The Evolution of Dextrins During the Mashing and Fermentation of All-malt Whisky Production. [en línea] <<http://www.scientificsocieties.org/jib/papers/2010/G-2010-1111-1097.pdf>> [consulta: 26 de mayo 2011]

Woffenden, Helen M., Ames, Jennifer M., Chandra, Sachin. Relationships between Antioxidant Activity, Color and Flavor Compounds of Crystal Malts Extracts. School of Food Biosciences, University of Readings and Brewing Research International. 2001.

8. Anexos

A. Esquema de la ciclación de una molécula de glucosa

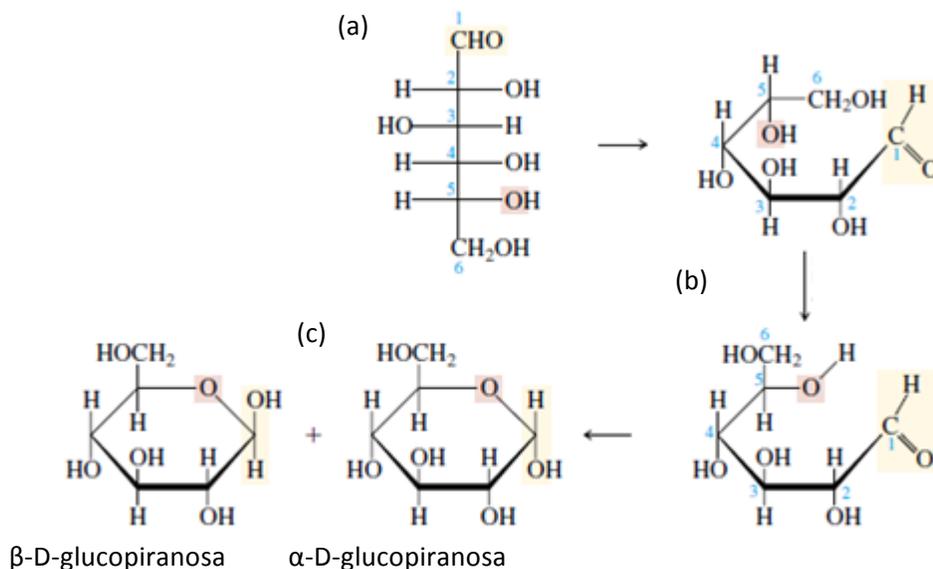


Figura 50 – Proyección de Harworth para α - y β - piranosas de la D-glucosa. Modificado de Carey, 2010. (a) El grupo hidroxilo C5 interviene en la formación del anillo. (b) Al no tener la orientación adecuada rota en dirección anti-horaria. (c) La posición del grupo hidroxilo en el carbono uno diferencia a la forma α de la β .

B. Proceso de elaboración de malta (malteo)

Recepción y almacenamiento de la cebada.

La cebada es un cereal que debido a su alto contenido de almidón y su bajo contenido proteico lo hacen apto para la producción de cervezas (Hough, 1982). Al llegar a las plantas de malteo, la cebada se somete a análisis de viabilidad o capacidad germinativa, nitrógeno total (TN), proteína total (TN·6,25)⁷, friabilidad, mallaje, densidad aparente⁸, humedad entre otros. El parámetro crítico en esta etapa es el contenido de proteína total el cual es un discriminante de la cebada apta para ser malteada (contenido proteico entre el 9 y 13%) de la que no. A menor contenido de proteína mayor es el de almidón y puede extenderse también a una menor presencia de cascarilla (Hough, 1982; Sánchez, 2011). Para la limpieza del grano existen detectores magnéticos que separan pequeños metales cuando el cargamento llega a la fábrica. También se descartan también granos muy grandes pues su tiempo de rehidratación es mayor lo que perjudica la germinación uniforme (Hough, 1982).

⁷ El factor 6,25 es un promedio del contenido de nitrógeno en las proteínas (MEBAK, método 2.5.2.1)

⁸ La friabilidad corresponde a una medida de dureza de grano; el mallaje al tamaño; la densidad aparente a la densidad del conjunto de granos en un volumen determinado.

La cebada se almacena en silos. En ese estado, y si es que existe humedad, la temperatura interior de silo tiende a aumentar localmente por efecto de la actividad de microorganismos e insectos, llegando incluso a niveles con peligro de incendio. La temperatura se mantiene por homogenización cambiando de uno a otro silo grandes cantidades de grano.

Remojo

El principal objetivo es la rehidratación del grano de cebada. Esta se vierte en tanques cilíndricos de fondo plano parcialmente llenos de agua. El contenido de agua de los granos aumenta rápidamente después de la inmersión pero disminuye progresivamente su velocidad en el tiempo. El proceso completo dura de 24 a 48 horas con interrupciones por drenaje del agua dos o tres veces para ofrecer un descanso al aire. El grano queda cubierto por una fina película de agua a través de la cual puede difundir más rápidamente el oxígeno del aire del entorno. Esto permite que el embrión se reactive y ponga en funcionamiento el metabolismo preparándose para la germinación. La humedad final del grano llega de 42 a 45%. El proceso permite controlar, a través del tiempo de residencia en las tinas de remojo, el nivel de humedad final del grano (Hough, 1982).

Germinación

Los granos húmedos son trasladados a lechos poco profundos de aproximadamente 1 metro de altura. En ellos la humedad y la temperatura permanece constante. Se provee de un ambiente para el desarrollo germinativo de la semilla desde la cual brotan las raicillas desde el micrópilo (Figura 3). Para mantener la temperatura constante se utilizan homogenizadores que trasladan los granos del fondo del lecho, más fríos (12°C aproximadamente), hacia la parte superior donde se encuentran los granos más calientes (17°C aproximadamente), con esto se pretende mantener la temperatura cercana a los 15°C, eliminar el dióxido de carbono producido por la respiración del embrión, proporcionar oxigenación a los embriones y evitar que las raicillas se entrelacen (Hough, 1982; Briggs, 1998).

El endospermo comienza su degradación debido a la acción de las enzimas provenientes de la capa aleurona. Degradan el almidón y las paredes celulares del endospermo. En caso de que la cebada tome más del tiempo estimado en germinar, se puede hacer una adición externa de ácido giberélico (giberelinas) (Hough, 1982; Briggs, 1998). Estas degradaciones bioquímicas en su conjunto son conocidas como desagregaciones. El proceso de germinación dura entre 4 a 7 días y el nivel de desagregación puede controlarse mediante la temperatura y el tiempo de germinación. Las enzimas que participan en la degradación del almidón son la α -amilasa, β -amilasa, glucosamilasa, dextrinasa límite, e invertasa además de proteasas que degradan las cubiertas protectoras y permiten el crecimiento de las raicillas (Vriesekoop, Rathband, MacKinlay y Bryce, 2010). El porcentaje de humedad del grano llega hasta el 40%.

Secado

El objetivo del secado es remover la humedad para detener la actividad enzimática y por tanto la desagregación del grano. La malta verde, granos de cebada germinados y húmedos provenientes de los lechos de germinación, es llevada a hornos que bajan su humedad hasta de un 5% aproximadamente. Deshidrataciones a bajas temperaturas y prolongadas en el tiempo favorecen la obtención de maltas con alto poder diastásico, mientras que una deshidratación rápida y altas temperaturas rinde maltas más

oscuras y con un poder enzimático disminuido por efecto de denaturación (Hough, 1982; Vandecan, Saison, Schoupe, Delvaux F. y Delvaux F.R., 2010).

Perfiles de temperaturas versus tiempo determinan las características finales de la malta. Se sopla aire caliente no saturado al horno. El proceso comienza con temperaturas entre 50 y 60°C. Cuando se ha eliminado la mayor parte del agua (60%), se debe aumentar la temperatura y disminuir el flujo de aire, esto permite la evaporación del agua residual que aún permanece en los granos y que es difícil de eliminar por su carácter hidroscópico⁹. Se puede seguir disminuyendo el flujo y aumentar la temperatura llegando incluso hasta los 100°C (Hough, 1982). En Maltexco la temperatura máxima alcanzada para su malta Pilsen es de 80°C aproximadamente.

Almacenado y transporte

Una vez seca, la malta pasa por un cernido que elimina restos desprendidos de las semillas y otras impurezas. Se lleva a silos de almacenamiento pasando por una desramificadora la cual corta el extremo del grano que tiene las raicillas secas. Luego, se envasa en sacos de polipropileno con bolsa interior de polietileno de 25 o 50 kilos netos. También se vende a granel en camión, contenedor o bodega de barco. Manteniendo condiciones de guarda en ambientes de baja humedad y temperaturas bajas, la malta conserva sus propiedades por meses.

C. Proceso de elaboración de cervezas

La información que se presenta es propia de un proceso cervecero artesanal y no de uno industrial. Una de las principales diferencias que se pueden distinguir en el proceso de elaboración a medida que aumenta la escala de producción es el uso de materias primas y tecnología. A niveles de producción altos se suelen ocupar, junto con la malta, otros cereales que aporten almidón, llamados adjuntos, como el arroz o el trigo, debido a que poseen menor costo que la cebada malteada. Es técnica y económicamente factible también reutilizar tanto los lechos filtrantes como las levaduras. En la microcervecería (o cervecería artesanal) se respetan los ingredientes originales de las recetas que se ajustan a las tradiciones cerveceras y la reutilización de insumos puede no darse por razones tecnológicas/económicas.

Molienda

La malta se somete a un proceso mecánico de molienda que cumple los objetivos de desintegrar o triturar en pequeñas fracciones el endospermo del grano, aumentando el área superficial para la extracción sólido-líquido que vendrá después, la maceración, y desprender la cascarilla del grano lo más entera posible para que luego actúe como lecho filtrante (Álvarez, 2011; Hough, 1982; Palmer, 1999).

El proceso de molienda es importante pues es un determinante de los rendimientos de extracto que se obtendrán. Desde el punto de vista de la transferencia de masa, debido a la acción enzimática, es

⁹ Agua que queda adherida por efecto de capilaridad (Prieto, 2004)

preferible que las partículas del endospermo se muelan lo más pequeñas posible (optimizando su razón área/volumen), pero esto produce problemas de aglomeración y compactación en la filtración, que termina en una lenta liberación de mosto (Hammond *et al.* 2007). Se utilizan molinos de rodillo y existen las opciones de molienda seca y húmeda, esta última flexibiliza la cascarilla haciéndola más resistente a la trituración (Hough, 1982).

Maceración

El objetivo de esta etapa es convertir el almidón en azúcares fermentables por las levaduras. Las fuentes de almidón pueden ser la malta base (Pilsen) o adjuntos. Los polímeros de almidón (amilosa y amilopectinas) son degradados por las enzimas presentes en la malta en pequeños oligosacáridos produciendo dextrinas, maltosa, fructosa y glucosa (Hough, 1982; Vriesekoop *et al.*, 2010; Jaén y Román, 2010), este proceso se denomina sacarificación. Las principales enzimas, que permanecen activas luego de la deshidratación de la malta, y que por tanto participan del proceso de sacarificación son la α -amilasa, la β -amilasa, la glucosamilasa, la dextrinasa límite y la invertasa (Vriesekoop *et al.*, 2010). Además también existe presencia de celulasas, hemicelulasas, y enzimas proteolíticas (Hammond *et al.*, 2007).

En la maceración se produce una gelatinización y licuefacción del almidón favoreciendo la acción enzimática sobre sus cadenas produciendo azúcares fermentables y dextrinas. Existe liberación de polipéptidos presolubilizados y aminoácidos además de la liberación e hidrólisis de β -glucanos, pentosanos y otras moléculas de pared celular del grano. La diferencia de temperaturas óptimas entre las distintas enzimas permite el uso de perfiles de temperatura versus tiempo para favorecer determinada acción enzimática, proteólisis o sacarificación.

Existen tres métodos de maceración: infusión simple, decocción y doble maceración (Hough, 1982; Álvarez, 2011). En todos ellos los perfiles de temperatura son incrementales. En cervecería casera y microcervecería se suele utilizar infusión simple, esto es la maceración por alrededor de una hora a 68°C. Esta temperatura se utiliza para favorecer la acción tanto de la α -amilasa como de la β -amilasa. Esta decisión favorece la actividad de sacarificación y permite que las proteínas no sean degradadas completamente reduciendo la extracción de β -glucanos y carbohidratos presentes en la cáscarilla del grano que tienden a formar compuestos tipo gel cuando están en solución (Hammond *et al.* 2007). La acción de la β -amilasa está en cierto grado supeditada a la de la α -amilasa pues esta última es la que genera extremos no reductores en donde puede actuar la β -amilasa.

Para detener la acción enzimática al final del proceso se adiciona agua a 78°C como máximo. Esta acción se denomina *mashout*. El aumento de temperatura tiene por objeto denaturar las enzimas y detener su acción. Un mashout a mayor temperatura puede producir la extracción de taninos de la cáscara (testa) (Palmer, 1999).

Del macerado se obtiene un mosto líquido con alto porcentaje de sustancias solubles y sólidos correspondientes a los granos agotados. Una composición típica del mosto dulce, luego de la filtración para separar los sólidos, puede observarse en la Tabla 2. En condiciones normales las levaduras son capaces de utilizar sacarosa, glucosa, fructosa, maltosa y maltotriosa (en este mismo orden) para su

desarrollo, aunque pueden ocurrir superposiciones. Maltotetraosa y otras dextrinas no son fermentadas debido a que la levaduras no poseen la capacidad para procesarlas (Stewart, 2009).

Filtrado

El objetivo es separar el extracto azucarado obtenido, mosto, de las cascarillas e impurezas alcanzando una claridad específica con un mínimo de dilución de sus componentes. El método ocupado en cervecería se denomina *lautering* y consiste en el mashout, recirculación y lavado (Hammond *et al.*, 2007). Generalmente el mismo contenedor donde se realizó la maceración posee un fondo falso (rejilla) y una válvula en su base. En la rejilla del fondo falso quedan retenidas las cascarillas mientras se abre la válvula de fondo. El flujo de mosto es liberado desde la parte baja del estanque de maceración y recirculado a su parte superior con el cuidado de no formar turbulencia. La recirculación permite compactar el material insoluble en el fondo y formar un lecho filtrante (torta). Luego de 10-20 min de recirculación se obtiene una compactación adecuada del lecho, el mosto se deja fluir y es recolectado. Para aumentar el rendimiento de la extracción se añade agua caliente no superior a 78°C para evitar la lixiviación de taninos. Durante el lavado se debe verificar que el lecho filtrante esté cubierto siempre por al menos 1 cm de agua para evitar contaminación por microorganismos aeróbicos y reacciones de oxidación, especialmente de lípidos (Álvarez, 2011).

Cocción y adición de lúpulo

El objetivo de esta etapa es la concentración, esterilización, precipitación de proteínas por denaturación térmica, formación de color, sabor y aromas en el mosto. Este se deja hervir por lo menos una hora y se adiciona lúpulo el que entrega los sabores amargos típicos de la cerveza, pero más importante aún, entrega componentes antioxidantes que permiten que la cerveza sea estable durante su guarda (Álvarez, 2011).

El lúpulo (*Humulus Lúpulus*), pertenece a la familia de las cannabaceas. Las plantas femeninas poseen un cono que posee glándulas de lupulina, las cuales son ricas en aceites esenciales y resinas amargas como humulonas o α -ácidos (isovaleril). Estos compuestos isomerizan por acción del calor a compuestos solubles y amargos. Los aceites esenciales tienen poco aporte en el sabor pues por su característica volátil son fácilmente arrastrados por el vapor durante la ebullición del mosto. También posee taninos que son extraídos en el proceso (Hough, 1982; Álvarez, 2007; Palmer, 1999).

La coagulación protéica es influenciada por la presencia de taninos, la temperatura, el pH (especialmente cuando está cerca de su punto isoeléctrico) e iones multivalentes. Las resinas del lúpulo tienden a absorberse en estos agregados moleculares y se pierden como componentes que permanezcan en el mosto líquido, por lo que existe la adición de lúpulo en distintos momentos de la cocción para producir diferentes tasas de liberación y pérdida de sus compuestos determinando características en el amargor, sabor y olor a lúpulo de la cerveza final. Se produce la clarificación del mosto y la formación del *trub* el cual es conformado por todas las turbiedades precipitadas.

El *trub* proteico es separado del resto del mosto mediante filtración¹⁰, *strainer*¹¹ o *whirlpool*, siendo este último el más utilizado a nivel artesanal y microcervecero. Consiste en una centrifugación en un estanque donde el mosto se ingresa a alta velocidad de forma tangencial produciendo que el sedimento llegue al centro. Se puede causar el mismo efecto con una agitación, continua y circular.

Fermentación

En esta etapa los azúcares presentes en el mosto hervido son metabolizados por las levaduras para producir etanol y la consecuente liberación de dióxido de carbono. Los aminoácidos y compuestos nitrogenados son consumidos como nutrientes en el crecimiento celular. En el mosto también están presentes iones zinc (provenientes del agua utilizada y de su pretratamiento), los cuales actúan como cofactores en las rutas metabólicas de las levaduras.

Para que las levaduras actúen el mosto caliente después de la cocción debe enfriarse hasta la temperatura de fermentación, alrededor de 20°C para levaduras tipo Ale (*Saccharomyces cerevisiae*) y 15°C para las tipo Lager (*Saccharomyces carlsbergensis*). Se utilizan serpentines de cobre sumergidos en el mosto (batch de 20 a 50 litros) o, para escalas mayores, intercambiadores de placas. Se necesita una oxigenación del mosto para permitir el crecimiento inicial de la levadura facilitando la formación de los ácidos grasos y esteroides de la membrana celular. Esta transferencia de oxígeno puede hacerse con las exposiciones en el trasvase de cocción a fermentación o inyectando O₂ puro o aire purificado y esterilizado para evitar contaminaciones.

La temperatura de la fermentación debe mantenerse constante en el proceso para no afectar el rendimiento de las levaduras. Según el grado alcohólico que se pretende obtener en la cerveza se puede hacer la elección entre las levaduras comerciales, según su actividad y grado de atenuación¹² que posean. Durante el proceso además de formarse etanol se forman otros compuestos que determinan los principales aromas y sabores de la cerveza final, como ésteres, isobutanol y diacetilo. Para finalizar el proceso se realiza un golpe de frío que inactiva las levaduras y que produce que sedimenten al fondo del fermentador. Estos fermentadores suelen ser cilíndricos de fondo cónico lo que permite una fácil extracción de las levaduras (Álvarez, 2011; Hough, 1982).

Maduración

En esta etapa tiene lugar la precipitación de proteínas inestables, polifenoles y otras sustancias no deseables. Se modifica el sabor y aroma, se estandariza el color y se estabiliza en términos de turbidez. Como complemento se produce la carbonatación, la cual puede ser llevada de forma natural con una

¹⁰ Se utiliza lecho filtrante de los residuos de lúpulo. Hoy es más masivo el uso de pellets de lúpulo por lo que la técnica no tiene aplicación.

¹¹ Se descarga el mosto a un tornillo inclinado y se lavan los lúpulos con agua caliente. No tiene aplicación por el uso de pellets de lúpulo.

¹² El grado de atenuación es una medida de los azúcares fermentables que fueron convertidos en alcohol. Se calcula como la diferencia relativa de las densidades antes y después de la fermentación

segunda fermentación llevada por la adición de glucosa y reactivación de la actividad de las levaduras reteniendo el CO₂ generado, o artificial, con la inyección de CO₂ puro.

D. Conceptos en cromatografía de gases

Para la interpretación de los resultados es necesario tener en cuenta los siguientes conceptos.

Tiempo de retención (t_r)

El tiempo de que demora un compuesto específico en salir de la columna y generar una señal se llama Tiempo de retención y depende de factores como analito, fase móvil, estacionaria y temperatura principalmente.

Tiempo de retención de compuesto no retenido (t_m)

Es el tiempo que demora un compuesto que no interactúa con la fase estacionaria en salir de la columna. Su velocidad es la misma que la del gas portador y es el mismo tiempo en que un volumen fijo del gas portador demora en recorrer la columna completa.

Factor de capacidad (k)

Es una medida de la retención de los analitos en la fase estacionaria. También se conoce como partición o factor de retención, se trata de la relación de la cantidad de tiempo que el analito pasa en la fase estacionaria y en la fase móvil. Un compuesto con $k=6$ posee tres veces más retención que uno con $k=2$. Un compuesto no retenido tiene $k=0$.

Ecuación 3

$$k = \frac{(t_r - t_m)}{t_m}$$

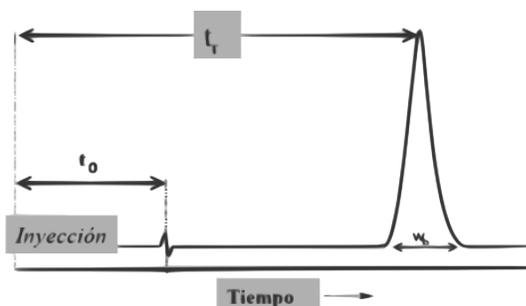


Figura 51 – Representación del tiempo de retención para un compuesto con retención (t_r) y sin retención (t_0) para el cálculo del factor de capacidad

Factor de separación o selectividad (α)

Es una medida del tiempo o distancia existente entre los valores máximos de dos peaks. Si $\alpha = 1$ existe coelución. Un valor de α mayor a 1 refleja una buena separación. La selectividad puede entenderse como la capacidad de la fase estacionaria de distinguir dos analitos distintos entre sí en función de sus propiedades químicas o físicas.

Ecuación 4

$$\alpha = \frac{k_1}{k_2}$$

Rendimiento de la columna (N)

O número de platos teóricos (haciendo la analogía a la separación en columnas de destilación). Es una medida indirecta del ancho de un peak a un tiempo de retención determinado.

Ecuación 5

$$N = 5,545 \left(\frac{t_r}{w_h} \right)^2$$

N : Número de platos teóricos

t_r : Tiempo de retención

w_h : Ancho de peak a la mitad de su altura

N elevado corresponde a una columna muy eficiente lo que significa un peak más estrecho a un determinado tiempo de retención que otra columna con un N menor. La eficiencia de la columna depende de la longitud, diámetro y film de la misma, así como también del tipo de gas portador, su velocidad de flujo y por último del compuesto y su retención. El número de platos por metro (N/m) se suele utilizar para comparar columnas con las mismas condiciones de temperatura y retención. El cálculo tiene como restricciones el uso de programas de temperatura isotérmicos y factores de capacidad (k) mayor que 5 (Agilent, 2007).

Índice de retención (I)

Este índice es una medida de la retención del analito respecto a la retención de hidrocarburos lineales (alcanos). El índice retención para un alcano es 100 veces su número de carbonos, así el n-decano posee $I = 1000$. La Ecuación 6 se utiliza para condiciones isotérmicas, mientras que la Ecuación 7 para condiciones variación en la temperatura (rampas de temperaturas). Si un compuesto posee $I=1150$ significa que su elución será después del n-decano pero antes del n-undecano. Esto sirve para comparar sistemas cromatográficos distintos.

Ecuación 6

$$I = 100_y + 100_{(z-y)} \frac{\log(t_r(x)) - \log(t_r(y))}{\log(t_r(z)) - \log(t_r(y))}$$

Ecuación 7

$$I_T = 100_y + 100_{(z-y)} \frac{t_r(x) - t_r(y)}{t_r(z) - t_r(y)}$$

t_r : Tiempo de retención

x : Analito de interés

y : Número de carbonos de un alcano lineal que eluya antes que x

z : Número de carbonos de un alcano lineal que eluya antes que x

Resolución (R_s)

Es una medida del grado de separación de dos peaks. Una resolución grande disminuye los solapamientos entre peaks. La selectividad (α) sólo mide la separación entre los máximos de los peaks, R_s considera también su ancho. El mejor caso es cuando los peaks están separados en su línea base. Esto se da para R_s mayores a 1,5 (aunque no se ve línea base entre las bases de los dos peaks consecutivos). R_s mayores a 1,5 indican mayor distancia entre los peaks (existe una visible línea base entre ellos) y R_s menores a 1,5 indica cierto grado de solapamiento (los peaks se juntan o superponen por encima de la línea base del cromatograma).

Ecuación 8

$$R_s = 2 \frac{t_{r2} - t_{r1}}{w_{b2} + w_{b1}}$$

t_{ri} : Tiempo de retención del peak i (primero o segundo)

w_{bi} : Ancho en la base del peak i (primero o segundo)

Factor de cola (T)

Es una medida de la asimetría de un peak. Es usual la aparición de colas debido a problemas de degradación de la fase estacionaria (sangramiento¹³). También es signo de empalmes mal instalados, lo que implica exposición al oxígeno y degradación prematura de la columna. También se puede producir por bases y ácidos inorgánicos o minerales en la columna o por acumulación de contaminación por compuesto no volátiles o semivolátiles, los cuales cubren la columna interfiriendo con la interacción entre la fase móvil y estacionaria. Una gran cantidad de analitos también puede dar como resultados colas por saturación de la columna.

Ecuación 9

$$T = \frac{w_b}{2f}$$

w_b : Ancho en la base del peak

f : Ancho del peak en su base desde el lado izquierdo hasta la vertical que llega al punto más alto

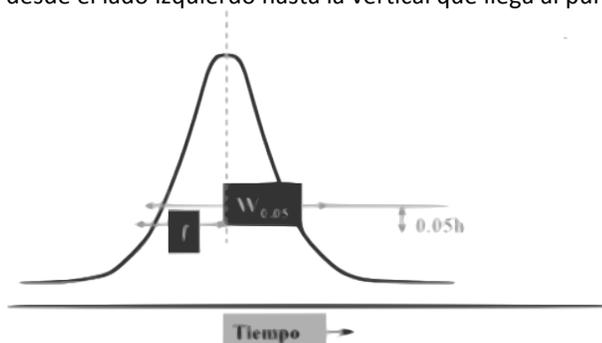


Figura 52 – Representación de los factores para el cálculo del factor de cola. a) Peak con $T=1$ (simétrico) b) peak con $T>1$ (tailing) c) peak con $T<1$ (fronting)

¹³ El sangramiento se refiere al desprendimiento de la fase estacionaria de su soporte. Generalmente se va produciendo en los extremos de la columna conforme avanza su uso.

E. Fundamento y funcionamiento de un Headspace (HS)

El fundamento es el coeficiente de partición (K) del analito, el cual es influenciado por la temperatura y por la concentración de sales disueltas en la muestra.

Ecuación 10

$$K = \frac{C_M}{C_g}$$

C_M corresponde a la concentración del analito en la muestra y C_g a la del analito en la fase gas. Cuando el sistema gas-líquido llega al equilibrio, cada uno de los analitos está en equilibrio según su propio coeficiente de partición, luego, el análisis del gas es representativo de las concentraciones de los compuestos en la muestra si se conocen los analitos. A mayor temperatura el K disminuye, lo que implica mayor presencia de los compuestos volátiles en la fase gas. La concentración de sal también es inversamente proporcional al coeficiente de partición.

La operación del HS está marcada por una serie de intervalos de tiempo. Durante el tiempo de *reposo* el vial está sellado con una septa en el interior del horno del HS. Hay una aguja que está calefaccionada y lista para extraer un volumen predeterminado del espacio de cabeza del vial (cuando está en equilibrio). La aguja es purgada constantemente con gas portador. En el tiempo de *presurización* la aguja atraviesa la septa, el gas portador ingresa al vial y se produce una presurización del sistema (vial, aguja y línea transportadora al GC). Esto mejora mucho la repetibilidad de los resultados. Durante el tiempo de *muestreo* mediante válvulas de corte el gas portador no entra al vial, la purga está cerrada y el volumen de la muestra gaseosa ingresa a la aguja por diferencia de presión. El tiempo de *retroceso* permite que el volumen adquirido del vial viaje por la línea de transferencia arrastrado por el gas portador mientras la aguja permanece en el interior del vial con flujo de gas portador. El análisis cromatográfico inicia en ese momento. Finalmente la aguja vuelve a la zona de calefacción en la posición de reposo quedando lista para un nuevo muestreo. La Figura 53 muestra la secuencia de pasos descritos (Oteiza, 2011).

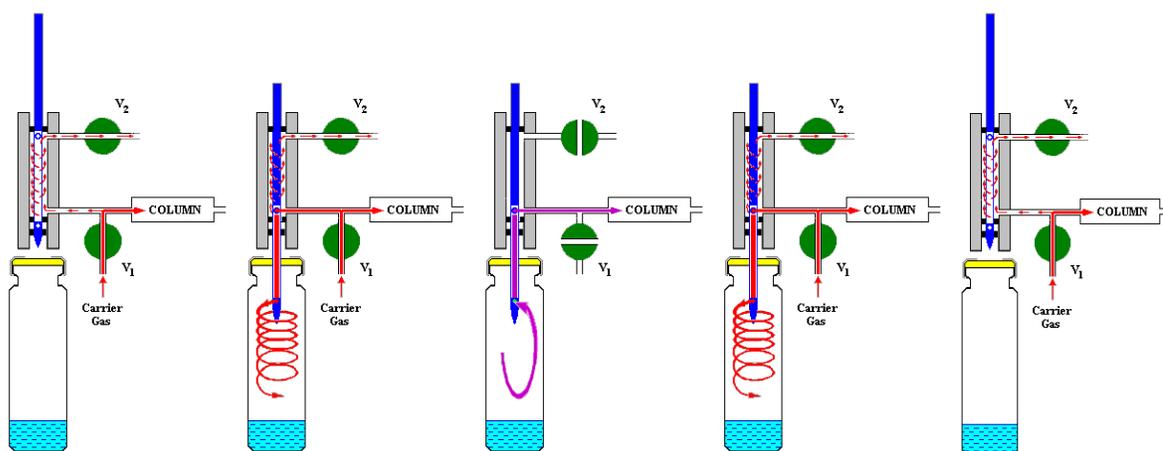


Figura 53 – Secuencia de muestreo con Headspace. De izquierda a derecha se muestra el reposo, presurización, muestreo, retroceso y nuevamente reposo. La automatización de este sistema permite altas reproducibilidades.

F. Columnas tipo PLOT: GS-Q

Columnas PLOT

Las columnas tubulares abiertas de capa porosa (porous layer open tubular; PLOT) son fabricadas para la separación de solutos muy volátiles siendo necesaria una temperatura menos fría para su separación que en el caso de ocupar otro tipo de columnas. Separaciones que necesitan temperaturas menores a los 30°C podrían realizarse a mayor temperatura. Son ideales para separar compuestos que son gases a temperatura ambiente.

Las fases estacionarias de las columnas PLOT son sólidas y consisten en partículas porosas pequeñas fijadas a la pared interna del tubo capilar por medio de un ligante (no se aplica el concepto de tamaño de film). Se produce un fenómeno de adsorción de los analitos en los poros diferenciándose por sus propiedades de adsorción, tamaño y forma. En el mercado existe gran variedad de ellas. GS-Alumina separan hidrocarburos C1-C10. HP-PLOT Q separa mejor hidrocarburos C1-C3, pero muestra tiempos de retención extremadamente largos y peaks muy anchos para aromáticos e hidrocarburos C6 y superiores. Esta columna separa gases de azufre. Para gases nobles la columna HP-PLOT tiene buen rendimiento. También existen columnas mixtas que combinan propiedades de varias columnas PLOT (Agilent, 2007; Oteiza, 2011).

Columna GS-Q

En Malterías Unidas S.A. se utiliza una columna GS-Q para la determinación de los precursores de DMS en malta. Esta columna es una del tipo PLOT similar a las HO-PLOT Q o PoraPLOT Q-HT. Este tipo de columnas se emplean para la separación de hidrocarburos C1-C7, metano, aire/CO, agua, disolventes polares y compuestos azufrados, en estos últimos es donde se encuentra el DMS. En específico la GS-Q es útil para separar distintos gases, como freones y sulfuros a excepción de SO₂. Inyecciones acuosas no dañan la columna, aunque no es lo más adecuado. Puede separar etano, eteno y etino (acetileno). Está compuesta de un homopolímero poroso de divinilbenceno. Su rango de temperaturas de operación va de -60 a 250°C (Agilent, 2007)

G. Metodología para un análisis sensorial

Planteamiento

En la etapa de Planteamiento se aborda el objetivo general del trabajo, la amplitud del estímulo que se quiere estudiar (parámetros a medir) y el número y características de las muestras. Los parámetros a medir pueden ser la calidad sensorial total, un atributo básico en particular o un conjunto de atributos dados por interacción de muchos estímulos.

Planificación

Selección de pruebas

Existe un variado número de pruebas sensoriales que sirven para fines específicos y que se clasifican según la información que pueden entregar. Se definen tres tipos de pruebas: pruebas discriminatorias,

pruebas descriptivas y pruebas de preferencia/aceptación. Las dos primeras suelen utilizarse para el control de calidad o el desarrollo de nuevos productos, mientras que la última para estudios de mercado. Un detalle de ellas se puede encontrar en la Tabla 40.

Tabla 40 – Clasificación de las pruebas sensoriales, función, aplicaciones y ejemplo (Saens, 1985).

Tipo de prueba	Objetivo	Aplicaciones	Ejemplos de pruebas
Discriminatoria	Detectar diferencias	- Influencia de variación en materia prima, proceso, almacenamiento, etc. - Selección y adiestramiento de jueces	Comparación pareada Dúo-trío Triangular
Descriptiva	Establecer la dirección de las diferencias	- Tipo de influencia de variación en materia prima, proceso, almacenamiento, etc. - Clasificación previa de muestras por grupos	Comparación pareada Ordenación
	Determinar la magnitud de las diferencias	- Estudio de parámetros que influyen en calidad sensorial - Relación estímulo-respuesta - Validez de métodos instrumentales - Selección y adiestramiento de jueces	Escala simple Escala múltiple
	Describir el producto	- Describir calidad del producto - Comparación de productos	Perfil Análisis descriptivo-cuantitativo
Preferencia-aceptación	Conocer la opinión del consumidor	- Estudios de mercado	Comparación pareada Ordenación hedónica

Selección y adiestramiento de jueces

El objetivo es aunar criterios, capacitar a la gente y estandarizar la forma en que la información se va a entregar. De esto depende la validez de los resultados que se obtengan. La información debe reflejar de manera objetiva las cualidades del producto.

Existen dos grupos de jueces, los jueces no entrenados, aquellos que no poseen mayor conocimiento sobre métodos de catas ni están familiarizados del todo con los sabores del producto, y los jueces entrenados o adiestrados, aquellos que poseen un amplio conocimiento sobre el producto y han desarrollado una capacidad superior para la distinción de sabores. La utilización de uno u otro grupo depende del objetivo del estudio. Grupos muy entrenados, bajo condiciones ambientales controladas, no pueden representar al consumidor promedio pero si pueden entregar información más detallada sobre un atributo en particular (pruebas discriminatorias y descriptivas), mientras que grupos no adiestrados, pero en mayor número, pueden hablar de la preferencia o aceptación de un producto por el consumidor promedio (pruebas de preferencia o aceptación). El grupo final seleccionado dependerá también de la disponibilidad de las personas, de la motivación que posean y de los incentivos que se entreguen, así como también de la cantidad de muestra disponible, del espacio donde se realizarán las pruebas y otros aspectos prácticos.

Diseño estadístico

La presentación de las muestras y su orden influye en los resultados de los análisis. El diseño estadístico se refiere a la determinación de la secuencia de presentación de determinado número de muestras a un grupo de jueces, también define el número de repeticiones en que una prueba debe hacerse. El objetivo es obtener alguna configuración sencilla que permita extraer la mayor cantidad de información. Existen cuatro modelos generales:

- Diseño de bloques completos equilibrados: En una sesión cada juez prueba todas las muestras. Además una muestra particular se presenta en todas las posibles permutaciones. Puede, o no, incluir repeticiones.
- Diseño de bloques completos-incompletos: Para números de muestra pequeños y/o con características de la muestra que la permitan evaluar varias veces en una misma sesión. Sirve para separar el error de juez por la posición de la muestra del error experimental.
- Diseño de bloques incompletos equilibrados: Para cuando la cantidad de las muestras, o las características de ellas, hacen que un juez no pueda analizar todas en una misma sesión (por ejemplo el grado alcohólico).
- Diseño de bloques incompletos equilibrados con muestra de referencia: Disminuye las desviaciones por la falta de uniformidad de las opiniones de los jueces, por ejemplo para un número elevado de muestras o repeticiones en sesiones muy distantes en el tiempo.

Realización

Aspectos ambientales

Son aspectos independientes del grado de entrenamiento de los jueces y de las pruebas seleccionadas. Las condiciones externas del análisis influyen directamente en él. La luz ambiental puede afectar la apariencia, la temperatura afecta la volatilización de aromas incluso el efecto en el tacto de los líquidos. Se deben tener las condiciones ambientales normalizadas y para ello la locación es determinante. En los análisis sensoriales de alta exigencia se construyen salas sólo para este fin.

Aspectos informativos

Antes de la realización de la prueba, los jueces deben recibir la información necesaria para facilitar la tarea, por ejemplo, la especificación de que si se debe masticar y/o tragar la muestra. También se especifica el tiempo disponible para el análisis, si se puede probar una muestra varias veces, el intervalo mínimo entre degustaciones y cómo eliminar el sabor residual.

Aspectos prácticos

Se deben considerar los aspectos que afectan a la presentación de la muestra, dada la importancia que ella tiene. Platos, vasos, su forma y material influyen en cómo se percibe la muestra, el lugar de cada elemento, la homogeneidad de las muestras, etc., todo debe estar planificado para que la realización de la prueba no tenga inconvenientes y, más importante aún, para que no se alteren las propiedades de las muestras.

Estudio e interpretación de datos

Dependiendo del tipo de prueba realizada (discriminatoria, descriptiva o de preferencia/aceptación) se deben realizar los análisis estadísticos apropiados para la interpretación de la información obtenida. Se realizan análisis de varianzas, análisis factorial, representaciones gráficas y test de hipótesis con este objetivo.

H. Total de componentes principales para la temperatura (final y máxima, humedad malta verde, días de germinación y duración del proceso)

Tabla 41 – Total de componentes principales generados para Temp. Máxima, Temp, final, Días de germinación, % humedad de la malta verde al inicio del proceso de caramelizado y tostado y duración del proceso.

Component Number	Eigenvalue	Percent of Variance	Cumulative Percentage
1	2,02592	40,518	40,518
2	1,12054	22,411	62,929
3	1,00051	20,010	82,939
4	0,852884	17,058	99,997
5	0,000151121	0,003	100,000

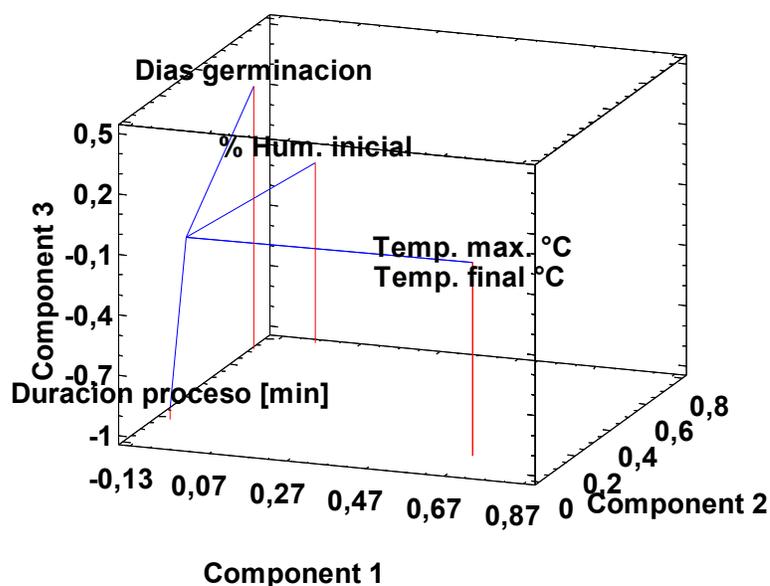


Figura 54 –Representación gráfica de las variables Temp. Máxima, Temp, final, Días de germinación, % humedad de la malta verde al inicio del proceso de caramelizado y tostado, y duración del proceso para el subespacio generado con los primeros 3 componentes principales extraídos de un PCA.

I. Relación de la temperatura final y duración de proceso con el color de la malta caramelo separado por máquina tostadora

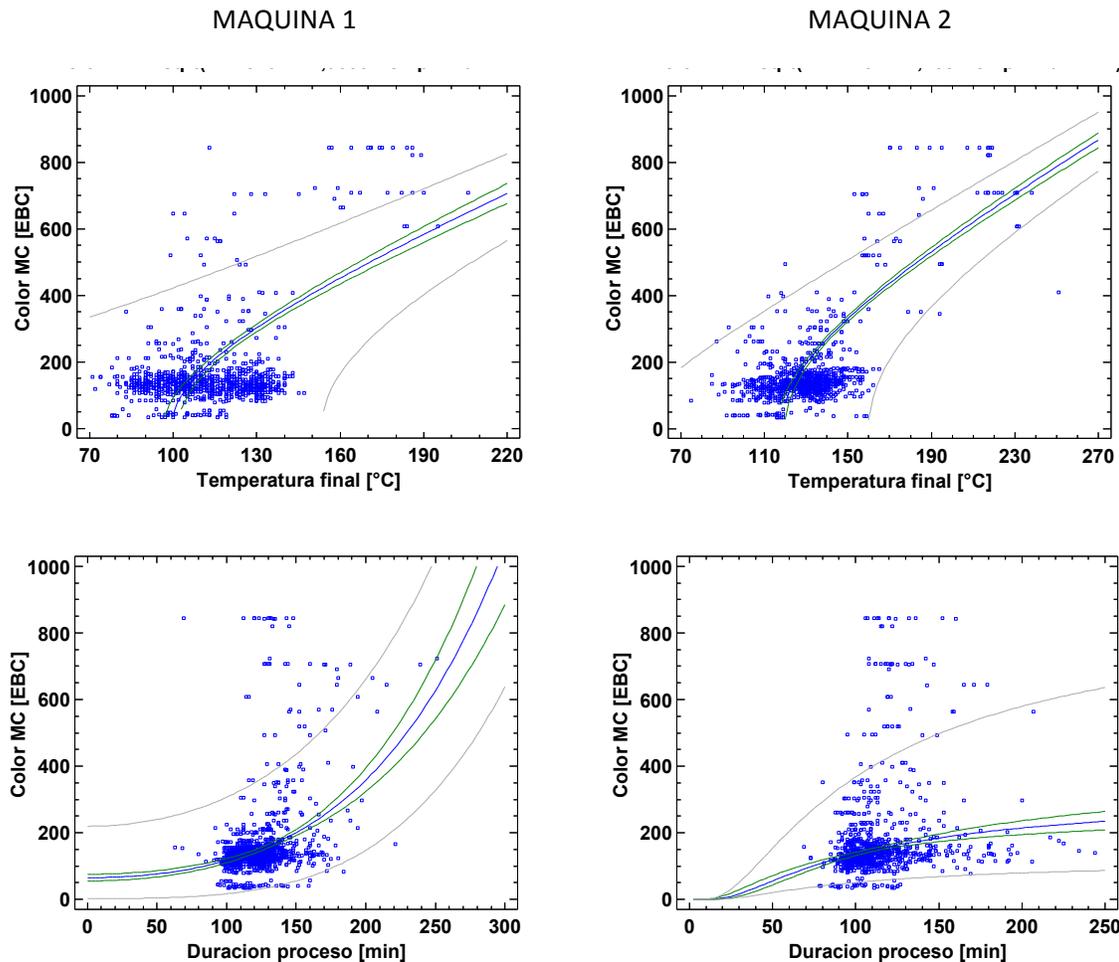


Figura 55 – Relación de los parámetros de proceso de malta caramelo (duración y temperatura final) por máquina tostadora

Tabla 42 – Modelo que minimiza el coeficiente de correlación (R^2) para la relación de color de malta caramelo vs temperatura final y duración del proceso separado por máquina tostadora.

MAQUINA 1	MAQUINA 2
Color vs temperatura final Modelo: $y = \sqrt{a + bx^2}$ $R^2 = 30,37\%$	Color vs temperatura final Modelo: $y = \sqrt{a + bx^2}$ $R^2 = 55,18\%$
Color vs duración del proceso Modelo: $y = (a + bx^2)^2$ $R^2 = 16,11\%$	Color vs duración del proceso Modelo: $y = e^{a+b/x}$ $R^2 = 5,67\%$

J. Parámetros productivos y de calidad maltera

Algunos de los parámetros más importantes son (basado en los métodos MEBAK):

- **Friabilidad:** Grado de disgregación de la malta o condición de cuerpo harinoso, esto es basado en el peso de la fracción de harina fina obtenida para granos de maltas que fueron friccionadas contra un tamiz cilíndrico (Friabilímetro Pfeuffer GmbH)
- **Extracto fino:** cantidad de componentes de la malta que se encuentran en solución durante el proceso de maceración estandarizado utilizando malta finamente molida (1 mm de separación de discos en molino DLFU Bühler GmbH)
- **Extracto grueso:** cantidad de componentes de la malta que se encuentran en solución durante el proceso de maceración estandarizado. Malta con molienda más gruesa que la molienda fina (10 mm de separación de discos en molino DLFU Bühler GmbH)
- **Diferencia de extracto:** (%Extracto fino en base seca) – (% Extracto grueso en base seca). Es indicador del nivel de desagregación de la malta. Valores menores a 2 indican alta desagregación.
- **Tiempo de sacarificación:** o Normalidad al yodo. Es un tiempo que da cuenta de la rapidez amilolítica o la velocidad de hidrólisis del almidón durante el curso de la maceración.
- **pH:** Influye en los procesos de desagregación enzimáticos durante la maceración y determina la solubilidad de proteínas, de los componentes amargos del lúpulo y la coloración durante la cocción del mosto. Tiene relación con el pH de la cerveza terminada. Cervezas de pH altos son consecuencia de coagulación deficiente de proteínas en el cocimiento y por tanto más sensibles a la turbidez.
- **Viscosidad:** Es una medida para la resistencia de un sistema líquido frente a fuerzas mecánicas de deformación. Es un indicador de la desagregación de la malta y da indicios del tiempo de filtración.
- **Nitrógeno Total:** o Proteína Cruda. Es importante para la fabricación de la cerveza dado que un aumento en las proteínas va acompañado de una reducción del contenido de extracto.
- **Nitrógeno soluble:** Cantidad de compuestos de nitrógeno que se solubilizan bajo las condiciones del mosto congreso
- **Índice de Kolbach:** Medida de la desagregación proteolítica de la malta y entrega información sobre el contenido de enzimas proteolíticas.
- **Aminonitrógeno libre (FAN):** Los aminoácidos (compuestos de nitrógeno de bajo peso molecular) influyen en el proceso de fermentación y formación de subproductos de la fermentación. Influyen en el potencial redox, color y aroma de la cerveza.
- **Poder diastásico:** Actividad enzimática que depende principalmente de la α -amilasa y β -amilasa.
- **Índice de Hartong:** Suministra indicios sobre el trabajo de remojo y final de malteado, actividades enzimáticas que no sean de la α -amilasa y desagregación de proteínas. Para su cálculo se requiere de una maceración de 1 hora a 45°C y determinar el extracto de ese mosto.

La Tabla 43 muestra los parámetros que se registran para malta caramelo y malta Pilsen en el laboratorio de control de calidad de la empresa. Ambas listas de parámetros son analizadas según los métodos de

análisis cerveceros (MEBAK) los cuales tienen especificaciones para cebada, maltas caramelo, maltas tostadas y maltas Pilsen, así como también para las cervezas elaboradas con estas maltas. Se da cuenta de que, los parámetros de calidad de la malta caramelo hablan sobre el color, porcentaje de extracto, granulometría y apariencia de los granos, aspectos importantes en una malta especial. No se indican parámetros como poder diastásico, F.A.N. u otros índices relacionados como nivel de proteínas, aminoácidos o poder proteolítico puesto que son nulos o poco significativos respecto a lo encontrado en una malta Pilsen, y dado que las maltas especiales se ocupan en cantidades pequeñas en la elaboración de cervezas (del 3 al 10 % del peso total de malta) no son de interés práctico para el cervecero.

Tabla 43 – Parámetros medidos y registrados para la producción de maltas especiales y para la calidad final de maltas especiales y base en Malterías Unidas S.A.

Parámetros Producción		Parámetros de calidad final del producto							
Parámetro	Unid.	Maltas caramelo				Maltas Pilsen			
Curva	s/u	Parámetro	Unid.	Parámetro	Unid.	Parámetro	Unid.	Parámetro	Unid.
A Producir	[kg}	Tipo Análisis	(a)	Sobre 2528	%	Batch	#	VZ 45°C	%
Batch	n	Fecha Pro.	fecha	Sobre 28	%	De Cajon N°	#	Proteína	%
Cajón	n	Pulmón(a)	#	Sobre 25	%	Horno	nombre	N. Soluble	%
Máquina	1 o 2	Color	[EBC]	Sobre 22	%	Toneladas	[ton]	Índ. Kolbach	%
Producido	[kg]	Cantidad	[kg]	Bajo 22	%	Variedad	nombre	F.A.N.	[mg/100g]
Humedad inicial	%	Humedad	%	Restos	%	Humedad final	%	Viscosidad	mPa*s
Elect. Inicial	KWh	pH	1 a 14	Suma	%	Sacarificación	[min]	Friabilidad	%
Elect. Final	KWh	Ext. Fino Tc	[%]	Falla	%	Rango Sacar.	[min]	Blancos	
Consumo Eléct.	KWh	Ext .Fino ss	[%]	Impurezas	%	Tiempo filtración	[min]	Amarillos	
Gas Inicial	m3	P.E. Fino	s/u	Partidos	%	pH	1 a 14	Peso Hectolitro	[gr]
Gas Final	m3	Grado Plato tc	°P	Aplastados	%	Color	[EBC]	Germin. 0 - 1/4	#
Consumo Gas	m3	P. Específico	s/u	Costras	%	Color Mosto hervido	[EBC]	Germin. 1/4 - 1/2	#
Duración Proceso	[min]	Sabor Quemado	si o no	Granos Pelados	%	Extracto fino	%	Germin. 1/2 - 3/4	#
Temp. Final	[°C]	Sabor extraño	si o no	Granos Blancos	%	Extracto grueso	%	L.Prom.Desa	#
Temp. Máx.	[°C]	Granos quemados	%	Granos Acaramelados	%	Dif. Ext.	%		

(a) Calidad en envasado final o en contenedores intermedios

K. Parámetros de calidad y proceso para cada una de las maltas seleccionadas

Tabla 44– Especificaciones de las 4 maltas seleccionadas para la evaluación de las diferencias de parámetros de calidad y proceso en cervezas.

Parámetro	Malta A	Malta B	Malta C	Malta D
Temperatura final [°C]	110,29	130,00	113,13	157,13
Duración del proceso [min]	147,57	109,00	140,50	102,63
Temp. final/Duración [C°/min]	0,76	1,19	0,82	1,56
Índice de Kolbach [%]	41,30	48,40	s/d	37,87
Friabilidad [%]	70,80	89,20	s/d	87,87
Extracto. Fino ss [%]	80,90	83,20	s/d	81,10
Proteína [%]	10,30	8,75	s/d	9,80
Ext. Fino/Proteína	7,85	9,51	s/d	8,28
Color [EBC]	140,00	137,00	117,42	120,22

s/d: Sin dato. Bases de datos incompletas.

Las maltas A y B representan, para un color similar, un mínimo y máximo respectivamente de los parámetros Índice de Kolbach, Friabilidad y Ext. Fino/proteína. Las maltas C y C representan, para un color similar, un mínimo y máximo del parámetro Temp. Final/Duración.

L. Componentes principales generados con las variables R (Red), G(Verde), B(Azul), H(Hue), S(Saturation) y L(Luminosidad).

Tabla 45 – Total de componentes principales generados mediante un PCA a las variables R, G, B, H, S y L. Se extrajo un total de 2 (valor propio mayor o igual a 1)

Componente Número	Valor propio	% de varianza que explica	% de varianza acumulativa
1	4,80517	79,978	79,978
2	1,1151	18,560	98,537
3	0,0869251	1,447	99,984
4	0,000952919	0,016	100,000

M. Color de malta caramelo versus R (Red), G(Verde), B(Azul) y L(Luminosidad).

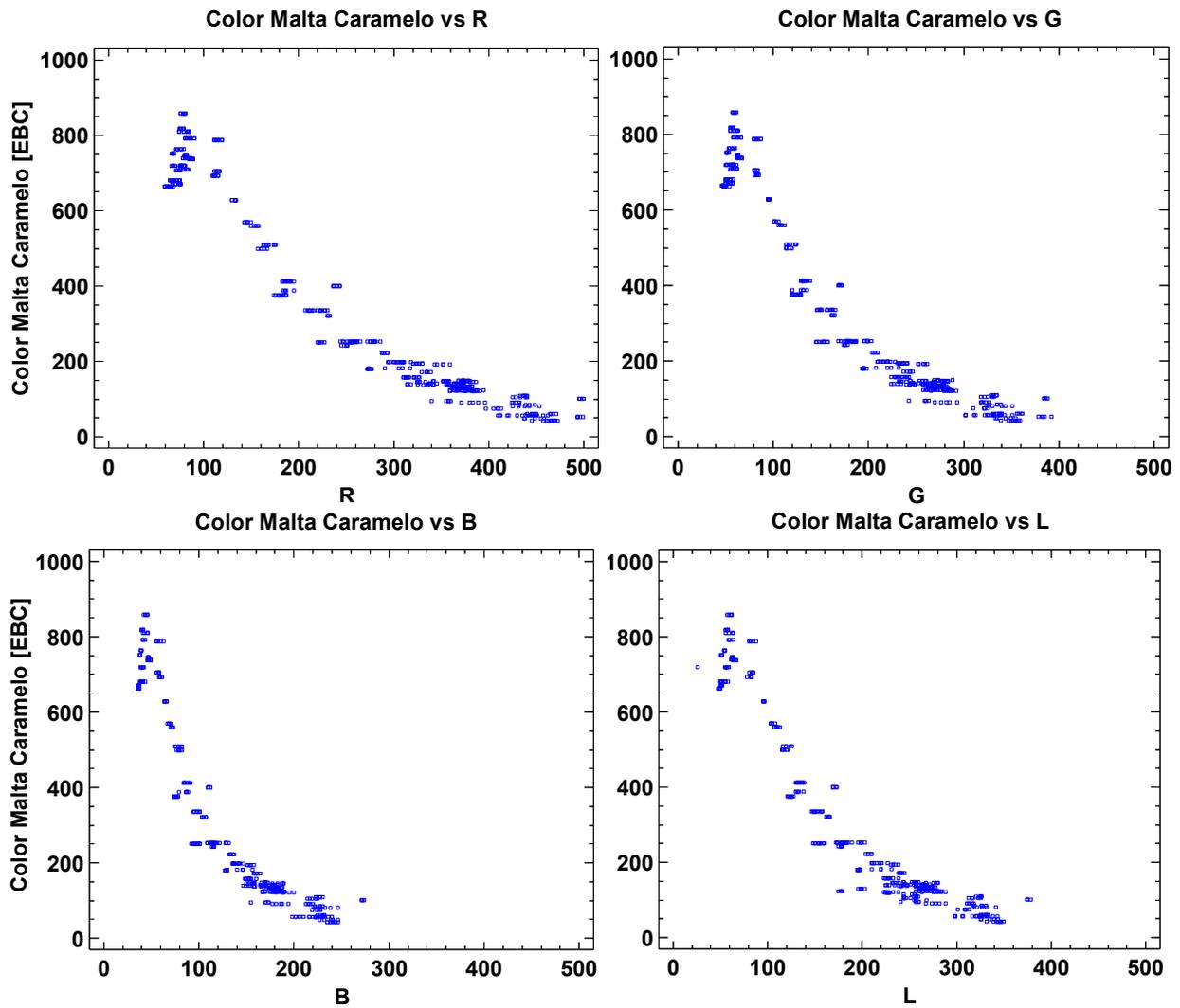


Figura 56 – Evolución del color de malta caramelo respecto a los parámetros R, G, B y L medidos con el dispositivo RGB Color Analyzer.

N. Residuos del modelo ajustado para la estimación de color

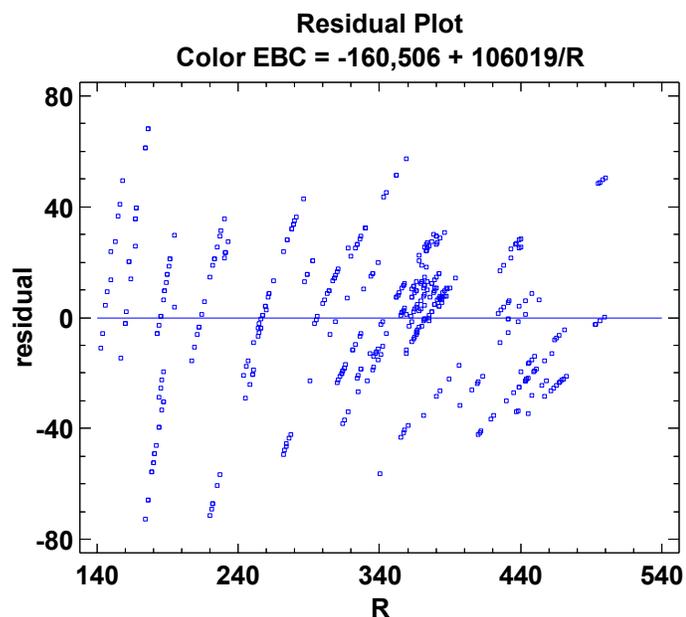


Figura 57 – Representación de los residuos del modelo elaborado para la predicción de color de maltas caramelo a partir del parámetro R

O. Modelo final del color de malta caramelo en función del valor de R

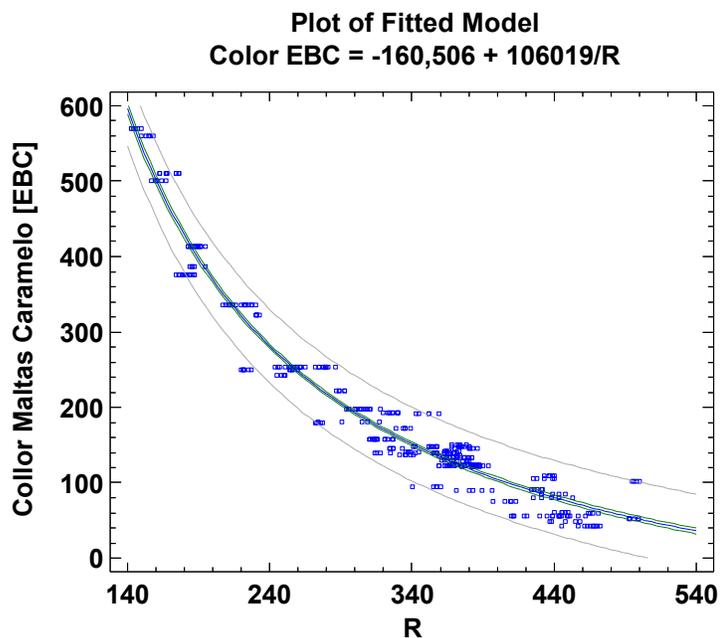


Figura 58 – Representación gráfica del modelo final para la predicción de color de malta caramelo a partir de R

P. Rueda de los sabores de las cervezas

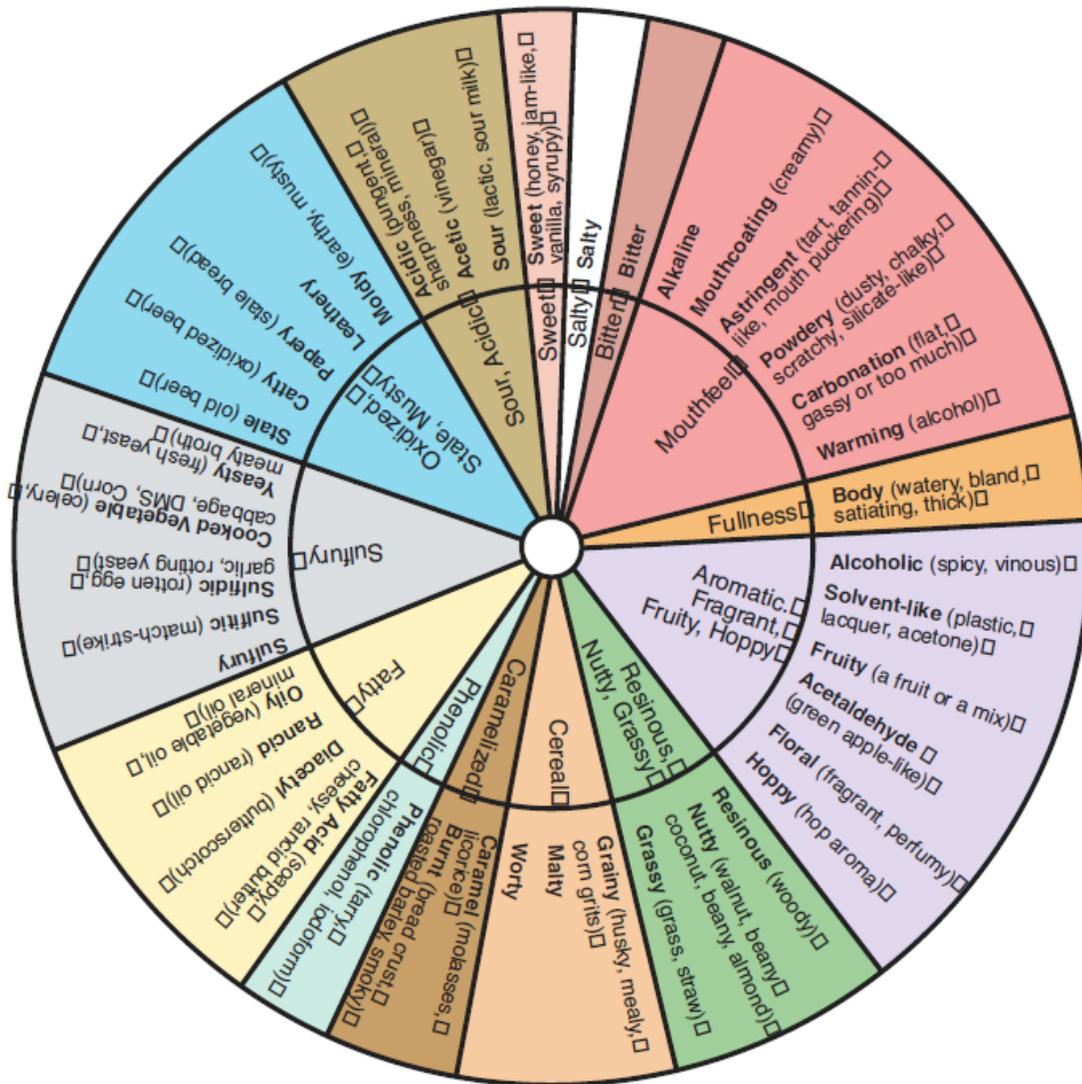


Figura 59 – Representación de la “Rueda de los sabores en cerveza”, basada en el trabajo de Morten Meilgaard (Gruber, 2001).

Q. Perfil cromatográfico de cervezas con malta caramelo

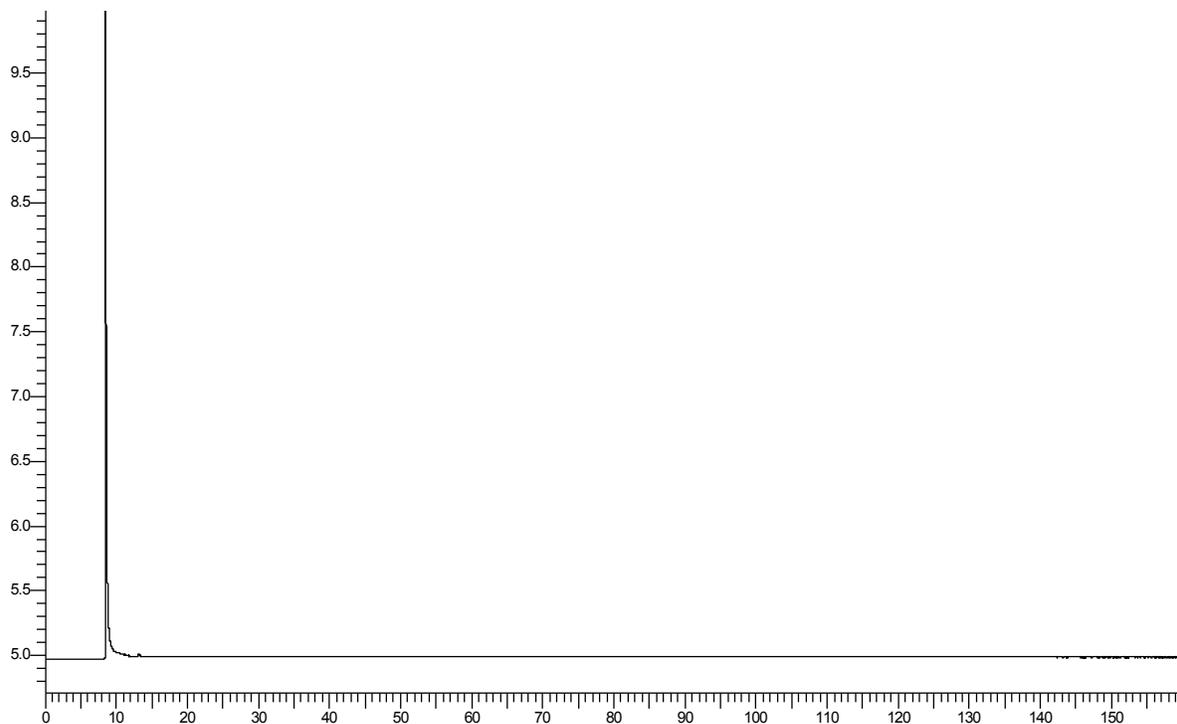


Figura 60 – Cromatograma de cerveza con 10% malta caramelo en programa isotérmico a 100°C

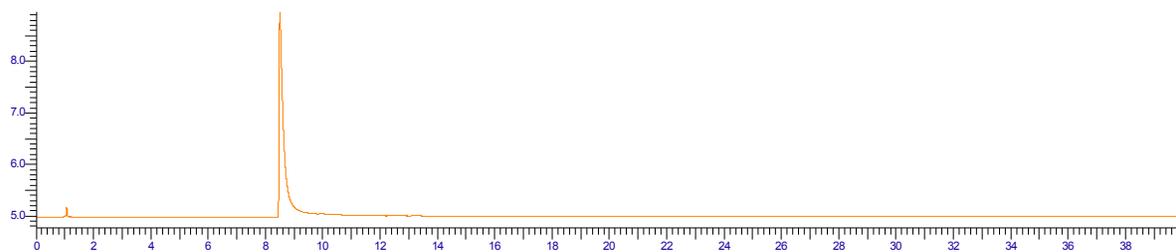


Figura 61 – Cromatograma de cerveza con 10% de malta caramelo en programa 70°C(2 min);R1=25°C/min; 190°C (10 min)

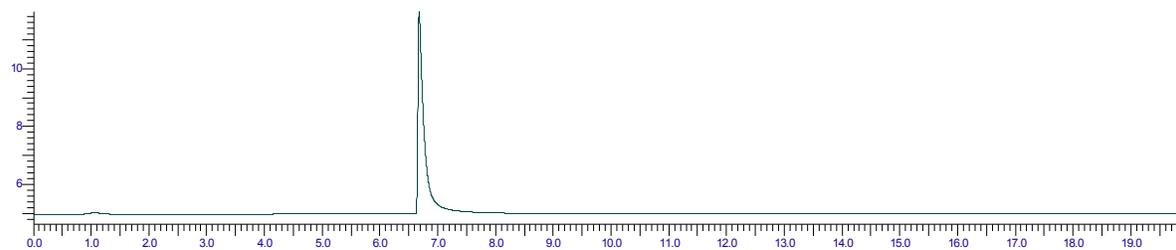
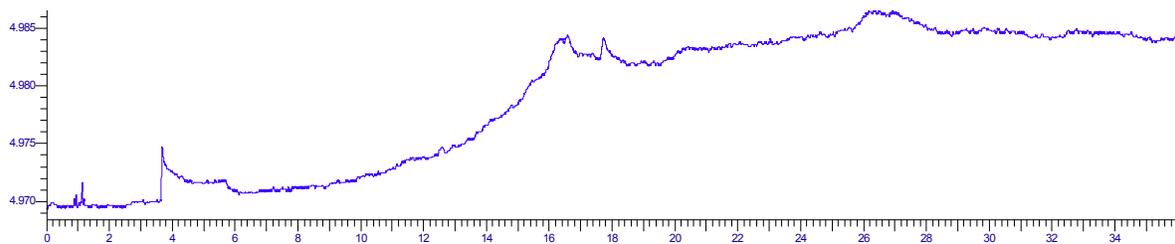


Figura 62 – Cromatograma de cerveza comercial (Austral Pale Ale) en programa 70°C (1,5 min); R1= 25°C/min hasta los 100°C ; R2=10°C/min; 190°C (10 min)

R. Cromatogramas de la línea base

Prueba 1



Prueba 2

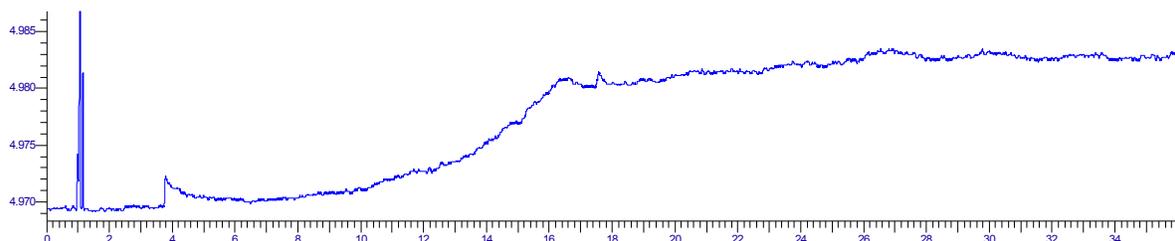


Figura 63 – Cromatogramas de la inyección de agua destilada (3 μ l) para la determinación de la línea base. Programa: 70°C (1,5 min); R1=25°C/min (hasta 122°C); R2= 5°C/ min (hasta 185°C); R3=0,5°C/min (hasta 190°C); 190°C (10 min)

S. Datos cromatográficos para evaluación de mostos Pilsen

Tabla 46 – Tiempo de retención, área y altura para los peaks detectados en cada repetición de análisis cromatográficos para mostos Pilsen.

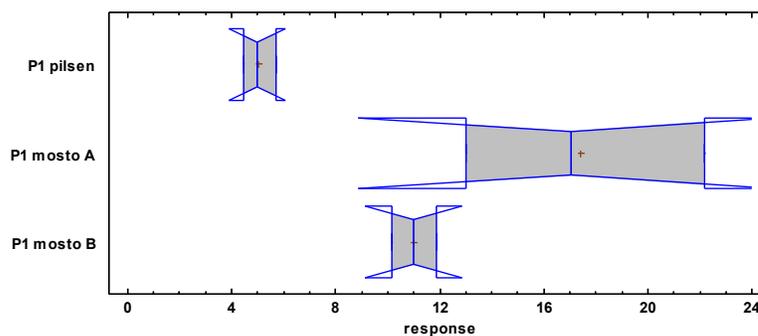
Mosto malta pilsen								
1			2			3		
t_r	Area	Altura	t_r	Area	Altura	t_r	Area	Altura
[min]	[μ Vs]	[μ V]	[min]	[μ Vs]	[μ V]	[min]	[μ Vs]	[μ V]
			1,084	178,66	16,24	1,075	3,46	1,97
1,124	54,50	5,39				1,132	2,23	1,31
3,771	25,78	1,87	3,791	15,31	1,77	3,792	24,22	1,83
5,777	4,46	1,16	5,764	5,69	1,43	5,772	4,99	1,22
8,297	7,65	0,99	8,361	5,07	0,60	8,360	2,13	0,37
9,975	3,42	0,61	9,984	2,18	0,47			
12,348	54,11	4,05	12,341	64,77	4,89	12,328	58,11	4,22
13,884	16,25	2,59	13,872	12,98	2,23	13,845	5,94	1,13
17,028	47,72	4,39	17,031	53,84	4,88	17,005	44,02	4,19
17,317	350,91	22,09	17,304	292,32	18,96	17,295	229,30	14,81
26,464	14,80	1,36	26,428	8,09	0,95			
26,917	323,83	19,15	26,911	387,05	21,28	26,892	376,31	18,11
	-----	-----		-----	-----		-----	-----
TOTAL	903,43	63,65		1.025,96	73,70		750,71	49,16

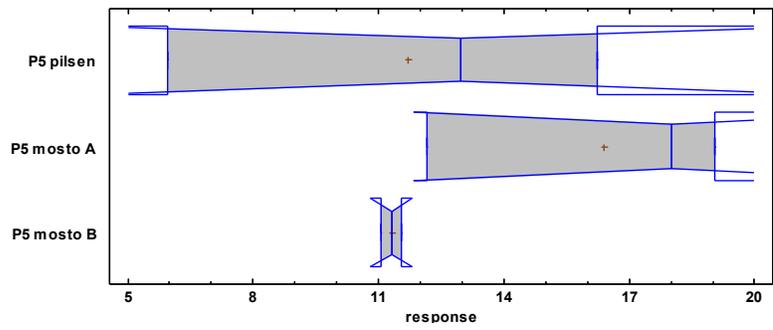
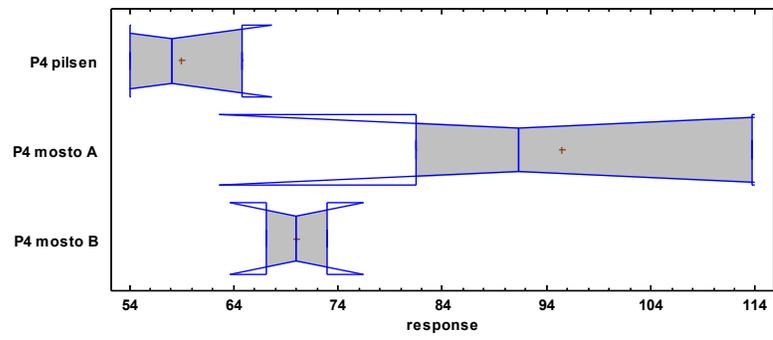
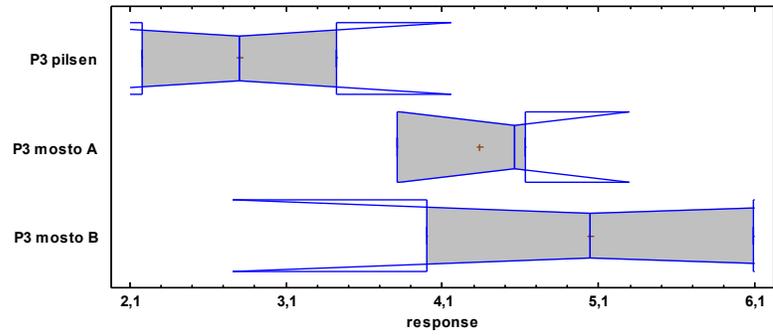
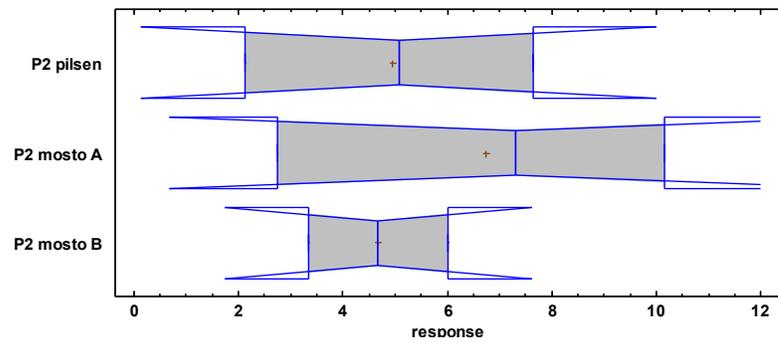
T. Datos cromatográficos para mosto caramelo B (10%)

Tabla 47 – Tiempo de retención, área y altura para los peaks detectados en cada repetición de análisis cromatográficos para mostos con 10% de malta caramelo B.

Mosto Caramelo 10% B								
1			2			3		
t_r	Área	Altura	t_r	Área	Altura	t_r	Área	Altura
[min]	[μ Vs]	[μ V]	[min]	[μ Vs]	[μ V]	[min]	[μ Vs]	[μ V]
1,097	7,42	2,37	1,068	482,34	44,95			
1,291	5,92	3,38						
3,777	39,01	2,06	3,748	12,8	1,62	3,811	13,88	1,6
5,751	11,86	2,35	5,748	8,66	2,18	5,751	10,15	2,34
8,271	6,02	0,74	8,261	9,08	1,7	8,295	3,34	0,6
9,911	6,09	0,72	9,944	13,55	2,57	9,897	4,00	0,71
12,331	67,11	4,83	12,324	50,43	2,98	12,317	72,95	4,61
13,861	11,54	2,02	13,851	75,46	12,14	13,837	11,07	1,74
						16,041	35,83	2,71
17,001	37,37	4,19	16,981	14,94	1,99	16,985	29,21	3,56
17,231	326,52	23,22	17,309	516,89	34,3	17,197	312,38	22,53
			18,701	8,61	0,88			
26,364	2,03	0,29	26,377	26,91	2,42			
26,857	361,77	22,53	26,864	180,73	12,11	26,857	423,27	22,03
	-----	-----		-----	-----		-----	-----
TOTAL	882,66	68,70		1.400,40	119,84		916,08	62,43

U. Diagramas de cajas y bigotes de cada peak conservado (P#) en mosto Pilsen, mosto caramelo A (10%) y mosto caramelo B (10%)





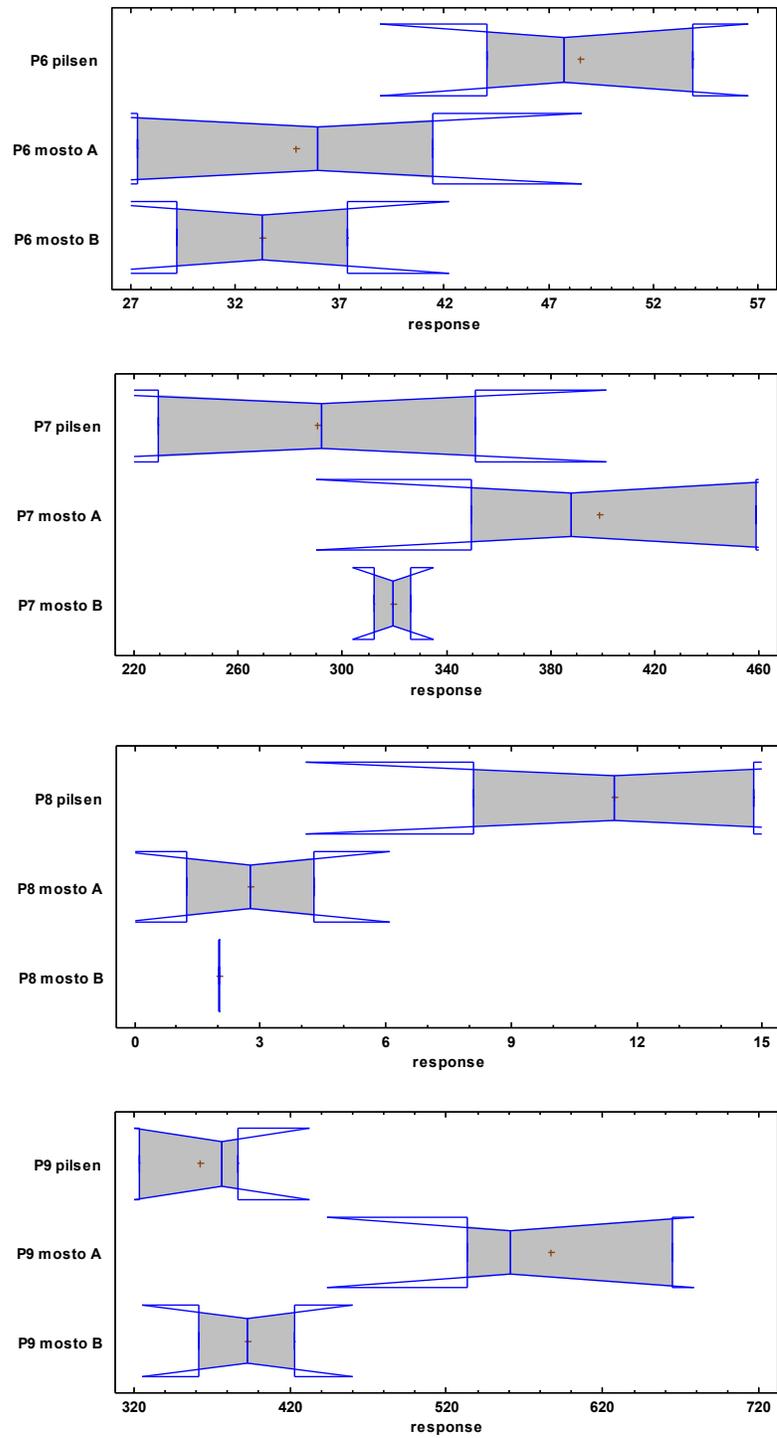


Figura 64 - Diagrama de cajas y bigotes de la comparación de cada uno de los peaks conservados en mosto Pilsen, mosto caramelo A (10%) y mosto caramelo B (10%)

V. Diferencias significativas para peaks conservados en mosto Pilsen, mosto caramelo A (10%) y mosto caramelo B (10%).

Tabla 48 – Determinación de diferencias significativas (HSD Tukey; 95%) para peaks conservados en mosto Pilsen, mosto caramelo A (10%) y mosto caramelo B (10%). Se marcan aquellos pares de peaks que si presentaron diferencias según el test realizado.

Comparación		Diferencia	Significativa
P1 pilsen	P1 mosto A	-12,3600	*
P1 pilsen	P1 mosto B	-5,9583	
P1 mosto A	P1 mosto B	6,4017	
P2 pilsen	P2 mosto A	-1,7800	
P2 pilsen	P2 mosto B	0,2700	
P2 mosto A	P2 mosto B	2,0500	
P3 pilsen	P3 mosto A	-1,5333	
P3 pilsen	P3 mosto B	-2,2450	
P3 mosto A	P3 mosto B	-0,7117	
P4 pilsen	P4 mosto A	-36,4933	*
P4 pilsen	P4 mosto B	-11,0333	
P4 mosto A	P4 mosto B	25,4600	
P5 pilsen	P5 mosto A	-4,6867	
P5 pilsen	P5 mosto B	0,4183	
P5 mosto A	P5 mosto B	5,1050	
P6 pilsen	P6 mosto A	13,6100	
P6 pilsen	P6 mosto B	15,2367	
P6 mosto A	P6 mosto B	1,6267	
P7 pilsen	P7 mosto A	-107,910	
P7 pilsen	P7 mosto B	-28,6067	
P7 mosto A	P7 mosto B	79,3033	
P8 pilsen	P8 mosto A	8,6800	
P8 pilsen	P8 mosto B	9,4150	
P8 mosto A	P8 mosto B	0,7350	
P9 pilsen	P9 mosto A	- 224,000	*
P9 pilsen	P9 mosto B	-30,1233	
P9 mosto A	P9 mosto B	193,8770	*
Metodo: Diferencias Honestamente Significativas de Tukey (Tukey HSD) (95%)			

W. Datos cromatográficos para mosto caramelo C (10%)

Tabla 49 – Tiempo de retención, área y altura para los peaks detectados en cada repetición de análisis cromatográficos para mostos con 10% de malta caramelo C.

Mosto caramelo 10% C								
1			2			3		
Tiempo	Área	Altura	Tiempo	Área	Altura	Tiempo	Área	Altura
[min]	[μ Vs]	[μ V]	[min]	[μ Vs]	[μ V]	[min]	[μ Vs]	[μ V]
			1,097	7,12	2,14			
3,832	21,02	1,51	3,797	22,43	1,69	3,775	19,06	1,48
5,739	16,08	4,50	5,748	7,89	2,27	5,741	10,39	2,29
8,321	8,75	1,05				8,355	4,40	0,48
9,955	4,01	0,87	9,931	1,24	0,42	9,935	3,17	0,60
12,339	122,29	9,62	12,321	79,78	5,86	12,341	67,42	4,91
13,872	19,28	3,22	13,844	8,04	1,49	13,864	12,88	2,08
17,000	53,60	6,62	17,004	56,94	5,57	16,989	47,41	4,82
17,192	453,98	32,44	17,271	276,27	18,28	17,255	347,04	23,01
26,432	12,26	1,21				26,437	8,22	0,38
26,875	834,07	47,99	26,857	488,67	25,10	26,881	409,36	23,15
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	1.545,34	109,03		948,38	62,82		929,35	63,20

X. Cromatograma: agua destilada + 3-metilbutanal

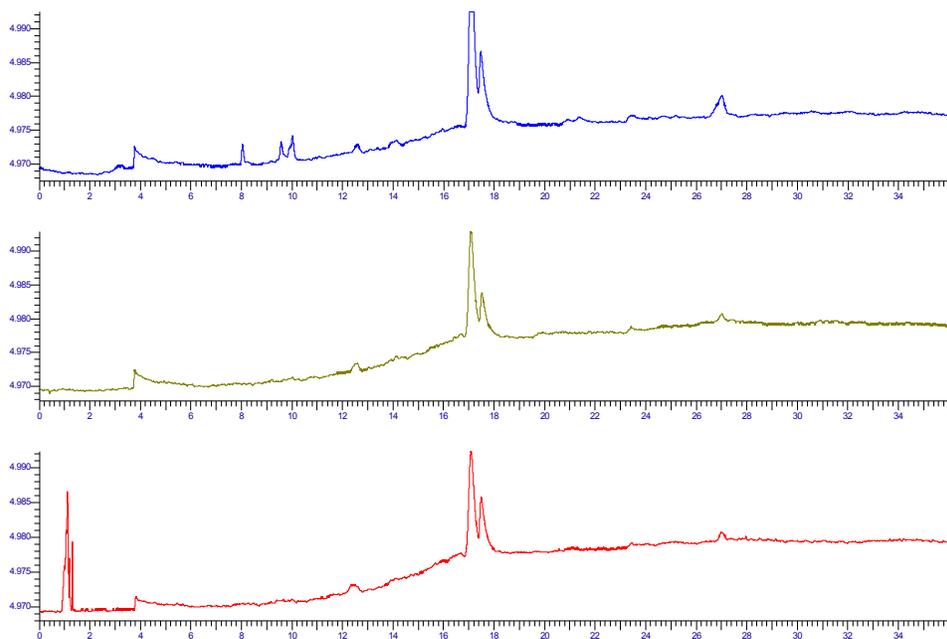


Figura 65 – Cromatogramas de tres repeticiones de la dilución de 3-metilbutanal en agua destilada (F=1000). Programa: 70°C (1,5 min); R1=25°C/min (hasta 122°C); R2= 5°C/ min (hasta 185°C); R3=0,5°C/min (hasta 190°C); 190°C (10 min). Los tres cromatogramas para una misma prueba poseen la misma escala entre sí, pero no necesariamente entre la prueba con agua y la prueba con mosto Pilsen.

Y. Cromatograma: mosto pilsen + 3-metilbutanal

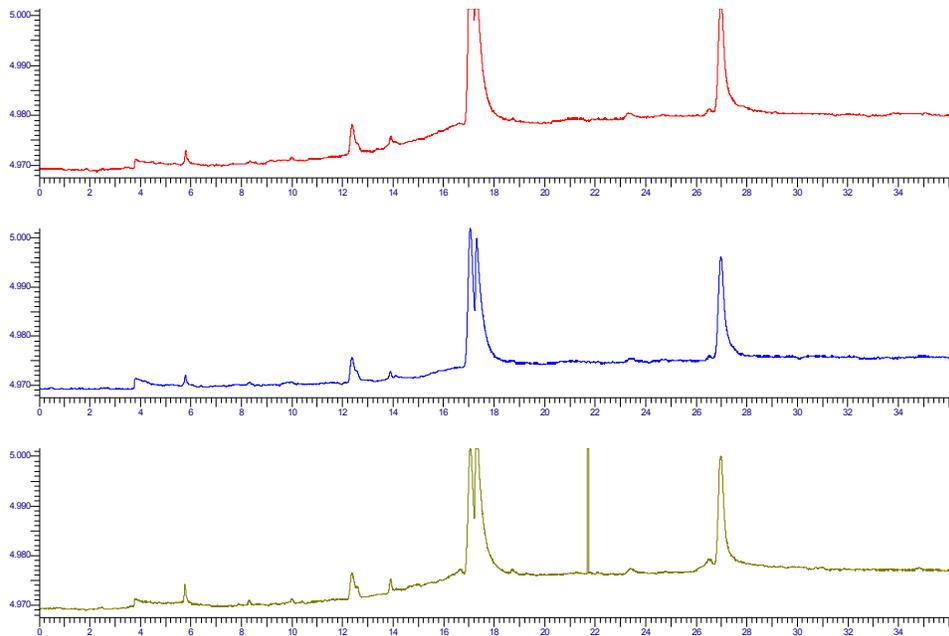


Figura 66 – Cromatogramas de tres repeticiones de la dilución de 3-metilbutanal en mosto pilsen (F=1000). Programa: 70°C (1,5 min); R1=25°C/min (hasta 122°C); R2= 5°C/ min (hasta 185°C); R3=0,5°C/min (hasta 190°C); 190°C (10 min). Los tres cromatogramas para una misma prueba poseen la misma escala entre sí, pero no necesariamente entre la prueba con agua y la prueba con mosto Pilsen.

Z. Análisis de diferencias significativas en tiempos de retención de peaks P/Q/R6 y P/Q/R7

Tabla 50 – Determinación de los tiempos promedio de los peaks en P6, Q6 y R1 junto con sus intervalos de confianza (HSD de Tukey, 95%).

Peak	N	Tiempo de retención promedio	Error estándar	Límite inferior	Límite superior
P6	9,00	17,00	0,005634	16,99	17,01
Q6	9,00	17,01	0,005634	17,00	17,02
R1	6,00	17,06	0,006901	17,05	17,08

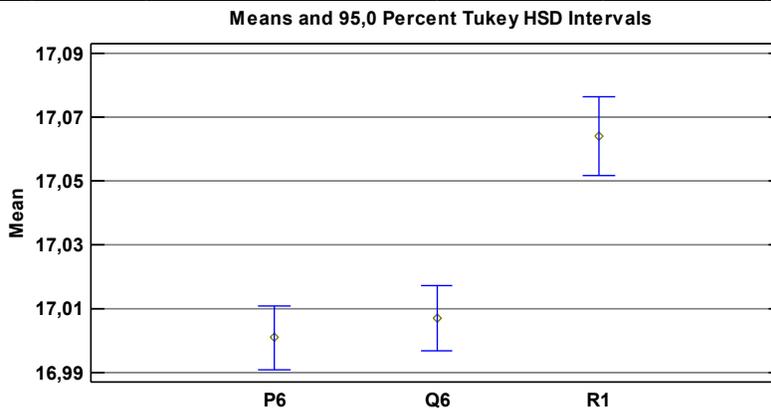


Figura 67 – Representación de los tiempos promedio de los peaks en P6, Q6 y R1 junto con sus intervalos de confianza (HSD de Tukey, 95%). Se observa que no se puede asegurar que R1 tenga el mismo tiempo de retención que P/Q6.

Tabla 51 – Determinación de los tiempos promedio de los peaks en P7, Q7 y R2 junto con sus intervalos de confianza (HSD de Tukey, 95%).

Peak	N	Tiempo de retención promedio	Error estándar	Límite inferior	Límite superior
P7	9	17,24	0,0232425	17,20	17,29
Q7	9	17,27	0,0232425	17,23	17,31
R2	6	17,39	0,0284661	17,34	17,44

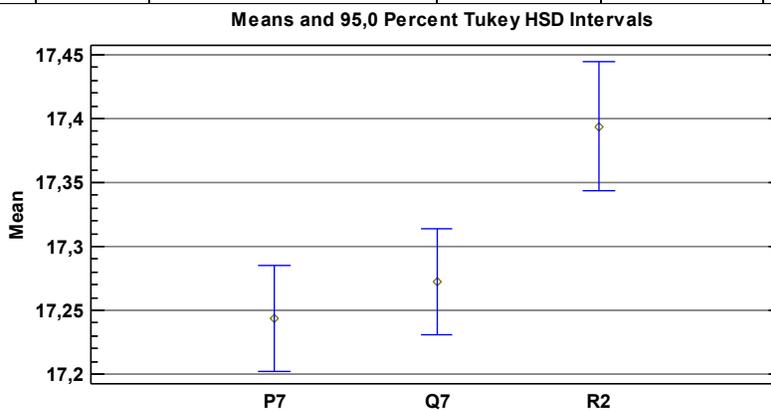


Figura 68 – Representación de los tiempos promedio de los peaks en P7, Q7 y R2 junto con sus intervalos de confianza (HSD de Tukey, 95%). Se observa que no se puede asegurar que R2 tenga el mismo tiempo de retención que P/Q6.