



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Química e Ingeniería Química
Escuela Profesional de Ingeniería Química

**Evaluar el efecto de la altura de llenado en el
rendimiento de un sistema de fermentación para la
obtención de una mayor concentración de acetato de
isoamilo en la cerveza lager de la empresa Heineken**

TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL

Para optar el Título Profesional de Ingeniera Química

AUTOR

Anyela Estefani CAMPOS ARMAS

ASESOR

Dr. José Orlando CALVAY CASTILLO

Lima, Perú

2024



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Campos, A. (2024). *Evaluar el efecto de la altura de llenado en el rendimiento de un sistema de fermentación para la obtención de una mayor concentración de acetato de isoamilo en la cerveza lager de la empresa Heineken*. [Trabajo de suficiencia profesional de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Química e Ingeniería Química, Escuela Profesional de Ingeniería Química]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Anyela Estefani Campos Armas
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	76461022
URL de ORCID	-
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	José Orlando Calvay Castillo
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	45152693
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-9816-0859
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Víctor Manuel Fernández Guzmán
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	06690674
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Jorge Luis Cárdenas Ruiz
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	06627695
Datos de investigación	

Línea de investigación	C.0.4.4. Tecnología de los alimentos
Grupo de investigación	No aplica.
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Química e Ingeniería Química - Universidad Nacional Mayor de San Marcos País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Cercado de Lima Latitud: -12.05586 Longitud: -77.08466
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Abril 2024 - diciembre 2024
URL de disciplinas OCDE	Ingeniería química https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.04.01 Ingeniería de procesos https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.04.02



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA

Central Telefónica: 619-7000

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL

Los suscritos miembros del Jurado Calificador nombrados por el señor Presidente del Comité Ejecutivo del "III Programa Ciclo Taller de Titulación Profesional por la Modalidad de Tesis y Trabajo de Suficiencia Profesional para la Facultad de Química e Ingeniería Química 2024-II", bajo la Presidencia del **Dr. VÍCTOR MANUEL FERNÁNDEZ GUZMÁN**; Ing. **JORGE LUIS CÁRDENAS RUIZ** (Miembro) y el **Dr. JOSÉ ORLANDO CALVAY CASTILLO** (Asesor); habiendo presentado para tal efecto el **TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL**, titulado **Evaluar el efecto de la altura de llenado en el rendimiento de un sistema de fermentación para la obtención de una mayor concentración de acetato de isoamilo en la cerveza lager de la empresa Heineken**, **SUSTENTADA Y APROBADA** el trabajo de suficiencia profesional elaborado por la bachiller en Ingeniería Química: **CAMPOS ARMAS, ANYELA ESTEFANI**; para optar el **TÍTULO PROFESIONAL** de **INGENIERA QUÍMICA**, acordaron calificarla con la **NOTA** de:

DIECINUEVE

(LETRAS)

Diecinueve (19)

(NÚMEROS).

Ciudad Universitaria, 21 de diciembre del 2024

Dr. VÍCTOR MANUEL FERNÁNDEZ GUZMÁN
Presidente

Ing. JORGE LUIS CÁRDENAS RUIZ

Miembro

Dr. JOSÉ ORLANDO CALVAY CASTILLO

Asesor

Dr. RUBÉN ALFREDO PALOMINO INFANTE
Director de la E.P. de Ingeniería Química





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE

SAN MARCOS

Universidad del Perú, Decana de América

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, JOSÉ ORLANDO CALVAY CASTILLO en mi condición de asesor acreditado con la Resolución Decanal N° 000027-2025-D-FQIQ/UNMSM del trabajo de suficiencia profesional, cuyo título es **Evaluar el efecto de la altura de llenado en el rendimiento de un sistema de fermentación para la obtención de una mayor concentración de acetato de isoamilo en la cerveza lager de la empresa Heineken**, presentado por la bachiller: **Campos Armas, Anyela Estefani** para optar el título Profesional de Ingeniera Química, CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el 8% de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional**.

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del título correspondiente.

Lima, 07 de enero de 2025

Firma del Asesor

Nombres y Apellidos del asesor: JOSÉ ORLANDO CALVAY CASTILLO

DNI 45152683

DEDICATORIA:

A Dios por ser mi guía,
a mi familia por su apoyo incondicional en
especial a mis padres por su amor que me dan.

Agradecimiento

Presento mi agradecimiento a mis mentores, por su paciencia, motivación y gran soporte durante el desarrollo del presente trabajo. A también a la empresa Heineken S.A., especialmente al equipo de la gerencia de Calidad y Producción, dirigida por la Ing. de área, la Ing. Vanessa Alvarez; por contribuir en mi desarrollo personal y profesional durante mi permanencia laboral en la empresa, de la misma manera agradezco al ingeniero de procesos, por asesorarme durante las pruebas experimentales de mi trabajo de investigación. Por último y no menos importante, también quiero agradecer a los operadores de área de elaboración de la planta Huachipa, por brindarme sus conocimientos y experiencias del proceso de elaboración de la cerveza durante mi estadía

Resumen

El presente Trabajo de Suficiencia Profesional (TSP) adopta un enfoque cuantitativo, con un diseño experimental y de carácter aplicativo. Su propósito es mejorar la concentración de acetato de isoamilo en la etapa de fermentación mediante la optimización de variables operacionales, como el tiempo de interfase entre cocimientos y la altura del mosto en el tanque de fermentación. Estas modificaciones buscan evitar el estrés en la levadura y, con ello, mejorar el perfil sensorial de la cerveza. La problemática principal radica en las inadecuadas condiciones durante la fermentación inducen estrés en la levadura, lo que afecta negativamente la generación de ésteres.

Se llevó a cabo un diseño experimental para evaluar las condiciones óptimas en la fermentación. En primer lugar, se determinó el tiempo adecuado de interfase entre cocimientos, considerando dos puntos de referencia: 4.5 horas y 9 horas. Además, se analizó la influencia de la altura del llenado del mosto en el tanque de fermentación, evaluando alturas de 5, 7 y 10 metros. Los análisis se realizaron mediante cromatografía de gases. Para ambos casos, se realizaron tres corridas experimentales bajo las mismas condiciones y utilizando la misma cepa de levadura.

Los resultados obtenidos indican que el tiempo óptimo de interfase entre cocimientos es de 9 horas, ya que este intervalo permite que la levadura entre en la fase anaeróbica de manera adecuada. En cuanto a la altura de llenado del mosto, se determinó que la altura ideal es de 5 metros o menor, ya que esto favorece el movimiento reológico de la levadura, optimizando su actividad durante la fermentación.

Y como producto final fue evaluado mediante un panel sensorial, el cual evidenció que, en los tanques con dos cocimientos, el 80% de los evaluadores identificó claramente el perfil sensorial correspondiente al acetato de isoamilo.

Palabras clave: *Acetato de isoamilo; Estrés levadura, tiempo de interfase entre cocimientos.*

Abstract

This Professional Proficiency Thesis (PST) adopts a quantitative approach, with an experimental design and an applicative character. Its purpose is to improve the concentration of isoamyl acetate in the fermentation stage by optimizing operational variables, such as the interphase time between boils and the height of the wort in the fermentation tank. These modifications seek to avoid stress in the yeast and, thus, improve the sensory profile of the beer. The main problem lies in the fact that inadequate conditions during fermentation induce stress in the yeast, which negatively affects the generation of esters.

An experimental design was carried out to evaluate the optimal conditions in fermentation. First, the adequate interphase time between boils was determined, considering two reference points: 4.5 hours and 9 hours. In addition, the influence of the height of the filling of the wort in the fermentation tank was analyzed, evaluating heights of 5, 7 and 10 meters. The analyses were carried out using gas chromatography. For both cases, three experimental runs were carried out under the same conditions and using the same yeast strain.

The results obtained indicate that the optimal interphase time between cookings is 9 hours, since this interval allows the yeast to enter the anaerobic phase properly. Regarding the filling height of the must, it was determined that the ideal height is 5 meters or less, since this favors the rheological movement of the yeast, optimizing its activity during fermentation.

And the final product was evaluated by a sensory panel, which showed that, in the tanks with two cookings, 80% of the evaluators clearly identified the sensory profile corresponding to isoamyl acetate.

Keywords: Isoamyl acetate; Yeast stress; Interphase time between cookings.

Tabla de contenido

Resumen.....	4
Abstract.....	5
I. INTRODUCCIÓN	11
1.1. Información de lugar de desarrollo de la actividad.....	12
1.2. Periodo de desarrollo de la actividad	12
1.3. Finalidad y Objetivos de la Entidad.....	13
1.4. Organización de la Actividad.....	13
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	14
2.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.....	14
2.1.1. Ámbito Internacional	14
2.1.2. Ámbito Nacional.....	17
2.2. Caracterización del problema en la empresa bajo análisis.....	19
2.3. FINALIDAD Y OBJETIVOS DE LA ACTIVIDAD.....	20
2.3.1. Objetivo General.....	21
2.4. JUSTIFICACIÓN	21
2.5. LIMITACIONES	22
III. MARCO TEÓRICO Y ANTECEDENTES	22
3.1. ANTECEDENTES.....	22
3.1.1. Antecedentes nacionales	22
3.1.2. Antecedentes Internacionales.....	24
3.2. MARCO TEÓRICO.....	25
3.2.1. La Cerveza.	25
Cerveza verde.....	26
3.2.2. Materias primas.....	26
Agua.....	26
Cebada.....	27

Levadura	27
Reproducción y crecimiento de levaduras	28
Factores que estresan a la levadura	28
3.2.3. Procesos de elaboración de cerveza.	29
Maceración.....	29
Cocimiento	29
Fermentación.....	30
Etapas de la fermentación	30
Factores que impactan en el proceso de fermentación.....	32
3.2.4. Compuestos volátiles:	32
Esteres	33
Los factores que afectan a los esteres:	34
3.2.5. Métodos para la determinación componentes volátiles	34
Cromatografía gaseosa.....	34
Los fundamentos básicos de la GC:.....	35
Aplicaciones de la GC en la industria cervecera:	37
Ventajas de la GC:	37
IV. METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTOS	37
4.1. METODOLOGÍA	37
4.1.1. Enfoque de la investigación.	37
4.1.2. Alcance de la investigación	38
4.1.3. Método de investigación.	38
4.1.4. Población y muestra.	38
4.2. DISEÑO EXPERIMENTAL U OBSERVACIONAL.	38
4.2.1. Desarrollo experimental en fermentación.	39
4.2.2. Desarrollo experimental analítico.	46
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	51

5.1.	RESULTADOS DESCRIPTIVOS.	51
5.1.1.	Resultados de los tiempos de interfase entre cocimientos.	51
5.1.2.	Resultados de las alturas de llenado del mosto en los tanques de fermentación.	52
5.2.	RESULTADOS INFERENCIALES.....	53
5.2.1.	Planteamiento de hipótesis:.....	53
5.2.2.	Prueba de normalidad	54
5.2.3.	Prueba de homogeneidad de varianzas.	55
5.3.	PRUEBA DE ANOVA DE 3X1 PARA MUESTRAS INDEPENDIENTES.	55
5.3.1.	Análisis Hoc Test.	56
5.4.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	57
VI.	CONCLUSIONES	58
VII.	RECOMENDACIONES.....	59
VIII.	ANEXOS	60
IX.	LITERATURA CITADA	62

Índice de figura

Figura N° 1: <i>Mapa de ubicación de la Refinería Cajamarquilla</i>	12
Figura N° 2: <i>Mercado cervecero nivel mundial-2022</i>	15
Figura N° 3: <i>Ranking de las empresas cerveceras en el mundo (Statista)-2023</i>	16
Figura N° 4: <i>Ranking de las empresas en sector de bebidas (Merco)-2024</i>	17
Figura N° 5: <i>Diagrama de Flujo del Proceso de la elaboración de la cerveza (situación normal)</i>	19
Figura N° 6: <i>Reacción química de etapa aeróbica de la fermentación</i>	31
Figura N° 7: <i>Reacción química de etapa anaeróbica de la fermentación</i>	31
Figura N° 8: <i>Diagrama de un cromatógrafo de gases</i>	35
Figura N° 9: <i>Descripción del llenado del mosto con 4.5 horas de interfase entre cocimientos en el llenado de tanque de fermentación</i>	40
Figura N° 10: <i>Descripción del llenado del mosto con 4.5 horas de interfase entre cocimientos en el llenado en el tanque de fermentación</i>	40
Figura N° 11: <i>Diseño de los tanques de fermentación</i>	41
Figura N° 12: <i>Flujo del proceso de fermentación sin modificaciones</i>	44
Figura N° 13: <i>Flujo del proceso de fermentación con las modificaciones operacionales</i> ..	45
Figura N°14: <i>Almacenamiento de solución interna 2-8°C</i>	47
Figura N°15: <i>Etapa de medición del alcohol de muestra en el Alcoalyzer</i>	47
Figura N°16: <i>Etapa de centrifugación de la muestra</i>	48
Figura N°17: <i>Etapa de dilución de la muestra al 5% y la inyección del 2ml de la solución interna</i>	48
Figura N°18: <i>Las muestras en viales de 20 ml</i>	49
Figura N° 19: <i>El cromatógrafo y la secuencia de la corrida de la muestra</i>	50
Figura N° 20: <i>Data analysis</i>	50
Figura N° 21: <i>Vista de variables en SPSS statistics</i>	54
Figura N° 22: <i>Vista de datos en SPSS statistics</i>	54
Figura N° 23: <i>Simulador para el caso de cuatro cocimientos</i>	60
Figura N° 24: <i>Simulador para el caso de tres cocimientos</i>	60

Figura N° 25: <i>Simulador para el caso de dos cocimientos.</i>	61
Figura N° 26: <i>Fermentador verticales.</i>	61
Figura N° 27: <i>Sistema de control de presión.</i>	61

Índice de tablas

Tabla N° 1: <i>Diagrama tipo Gantt de las actividades realizadas para el proyecto</i>	13
Tabla N° 2: <i>Tabla de los factores positivo y negativos que afectan en la síntesis de esteres.</i>	34
Tabla N° 3: <i>Concentración de acetato de isoamilo en los dos tiempos de interfase de cocimientos.</i>	51
Tabla N° 4: <i>Concentración de oxígeno disuelto en fermentación en el tiempo de interfase.</i>	51
Tabla N° 5: <i>Concentración de acetato de isoamilo con la influencia de altura de 5 metros de llenado de mosto en el tanque fermentación.</i>	52
Tabla N° 6: <i>Concentración de acetato de isoamilo con la influencia de altura de 7 metros de llenado de mosto en el tanque fermentación.</i>	52
Tabla N° 7: <i>Concentración de acetato de isoamilo con la influencia de altura de 10 metros de llenado de mosto en el tanque fermentación</i>	53
Tabla N° 8: <i>Comparativa de concentración de acetato de isoamilo en función números de cocimientos.</i>	53
Tabla N° 9: <i>Prueba de normalidad</i>	55
Tabla N° 10: <i>Prueba de normalidad</i>	55
Tabla N° 11: <i>Prueba de Anova.</i>	56
Tabla N° 12: <i>Prueba de comparaciones múltiples</i>	56

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la industria cervecera ha crecido al pasar los años y también la competitividad del mercado es por ello la importancia de la calidad del producto no solo en el sabor sino también a nivel olfativo (aromático). El perfil aromático de cerveza se atribuye a los componentes volátiles (ésteres) que depende directamente de las levaduras en la cual a nivel industrial está sujeta a condiciones estresantes del cultivo, primordialmente a la concentración de oxígeno disuelto, presión osmótica, temperatura, pH en el proceso de fermentación es por ello considerada la etapa crucial en la elaboración de la cerveza

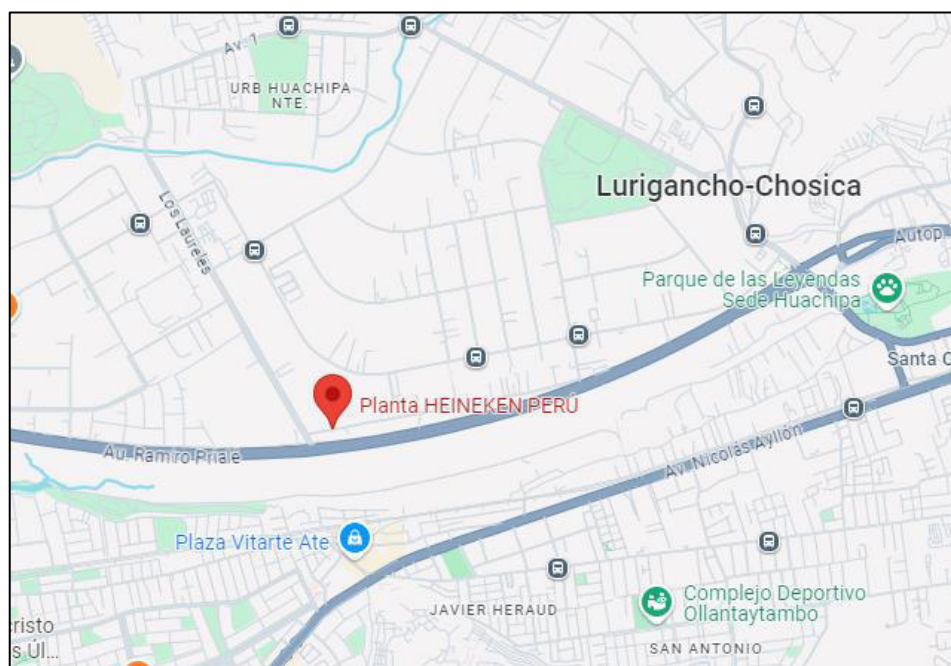
Nuestro país no es ajeno a la industria cervecera, ya que la empresa Heineken del Perú S.A.C. Tiene dentro de sus productos la característica propia del perfil aromático de sus cervezas ello se debe a concentración de los ésteres, primordialmente el acetato de etilo y acetato de isoamilo. Pero la de síntesis de ésteres se ve afectada por estrés de la levadura en la etapa de fermentación por las condiciones operativas como Casey et al. (1984) menciona “Que las fermentaciones son lentas debido a los altos niveles de etanol, a la presión osmótica elevada y/ o a la pérdida de viabilidad de las levaduras”.

Es por ello por lo que en el presente trabajo de investigación tiene como objetivo mejorar el proceso de fermentación con las modificaciones operaciones (aireación previamente inoculación levadura y la presión hidrostática mediante la altura del mosto en la fermentación) para evitar el estrés de levadura y con ello una mejor obtención de ésteres en especial el acetato de isoamilo y acetato de etilo.

1.1. Información del lugar donde se desarrolló la actividad

El presente trabajo se desarrolla en la empresa Heineken Perú SAC (en adelante: Planta Huachipa), la cual produce principalmente bebidas alcohólicas (cervezas). Ubicada en el distrito de Lurigancho-Chosica en el Km. 9,5 de la carretera central (rumbo a Huachipa), a las afueras del área metropolitana de la ciudad, a la altura del paradero Scania, tal como se muestra en la Figura 1.

Figura N° 1: Mapa de ubicación de la Refinería Cajamarquilla



Nota. La figura muestra una referencia de la ubicación de la Refinería Cajamarquilla. Fuente: Google Maps.

1.2. Periodo del lapso de la actividad

De acuerdo con el plan de Trabajo de Suficiencia Profesional (TSP) aprobado por la Facultad de Química e Ingeniería Química, el desarrollo del presente trabajo de investigación se realizó entre los meses de septiembre hasta primera semana de diciembre del 2024. Se tiene en la Tabla 1, con el cronograma de actividades en la cual detalla los pasos para el avance de este trabajo de investigación.

Tabla N° 1: Diagrama tipo Gantt de las actividades realizadas para el proyecto

ACTIVIDADES /SEMANAS	Septiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre			
Elección de tema																
Identificación y formulación del problema																
Revisión bibliográfica																
Redacción del Plan de TSP																
Marco Teórico																
Desarrollo de la metodología de TSP																
Análisis y discusión de resultados																
Redacción de informe final																

1.3. Finalidad de la entidad

La referida empresa Heineken tiene como visión la elaboración de cervezas con más alta calidad para poder destacar en el mercado peruano por su sabor, innovación y prestigio y lograr la posición como una marca líder en el sector de bebidas.

1.4. Organización de la actividad (Profesional a cargo)

Para el desarrollo del presente trabajo de suficiencia profesional se cuenta con la contribución del supervisor de producción, quien está muy interesado en la mejora de proceso de fermentación para una mayor obtención de ésteres.

El profesional a cargo egresó de la carrera de Ingeniería Química en el año 2009, de la Universidad Nacional del Callao (UNAC). Actualmente cuenta con más de 8 años de experiencia en la industria cervecera.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

En este capítulo se menciona la problemática referida al tema de investigación desde el ámbito internacional y nacional, hasta la identificación del problema específico de la planta Huachipa; así mismo menciona la justificación y limitaciones de este proyecto de investigación.

2.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

2.1.1. Ámbito internacional

Mordor Intelligence realizó un informe del tamaño, tendencias y pronósticos de crecimiento de la industria cervecera para los años (2024-2029) en la cual describe que el mercado cervecero esta segmentado por tipo de producto (cervezas ale, lager), por categoría (cervezas premium o estándar).

La participación de la cerveza en el mercado ha ganado notoriedad entre los millennials y la Generación Z debido a sus diversas recetas y ofertas de sabores. También es importancia mencionar a las cervezas artesanales han aumentado sus ventas debido a sus atractivos formulaciones de combinación de sabores afrutados y ácidos en las cervezas en cual conllevo a las empresas grandes a tener la innovación dentro de su formulación la combinación de sabores afrutados.

Mordor Intelligence describe que el crecimiento para el año 2029 será aproximadamente USD 914.21M, teniendo el mercado con mayor consumo Asia del Pacifico y el mercado más grande siendo América del Norte. Entre las principales empresas se tiene a ABInBev y Heineken en el mercado a nivel mundial con respecto a la industria cerveza. La problemática radica en la competitividad ya que son las dos empresas con mayores fuerzas en el mercado lo que le diferencia a cada una de ellas es su sabor y calidad propio de sus productos.

Figura N° 2: Mercado cervecero nivel mundial-2022



Nota: La figura muestra el crecimiento de la industria cervecera con proyecciones al 2029.

Fuente: Mordor Intelligence

Pero tener consideración también al consumidor ya que depende de su gusto, en cual hay consumidores con una inclinación a las bebidas alcohólicas con un porcentaje menor de alcohol, generando una mayor visibilidad del mercado de la cerveza. Lo cual promovió que la industria cervecera tenga la inclusión de ingredientes funcionales y naturales para la preferencia del consumidor.

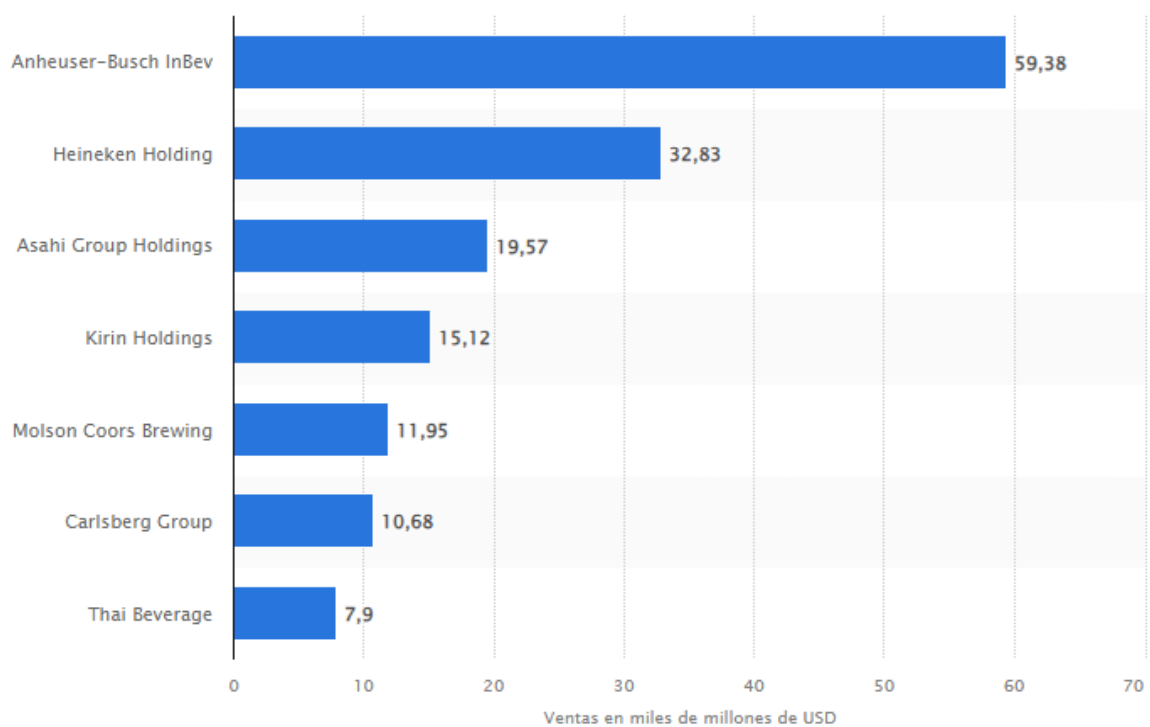
Ante la solicitud del mercado en 2017, se lanza Heineken 0.0% con la característica de un perfil con notas afrutadas propia de la marca. Heineken® 0.0 procesado con una doble fermentación para quitar el alcohol y con una mezcla de sabores naturales. Ello le hace una cerveza sin alcohol para el consumidor en cual siendo hasta momento la única cervecería con ese tipo de cerveza.

En septiembre de 2022 se lanzó la Heineken Silver una cerveza de tipo lager en United Breweries para extender su cartera en la categoría de cerveza premium en India. Con un sabor suave, ligero y con el característico aroma frutal de Heineken Original.

La industria cervecera crece, y con ello el aumento de competitiva del mercado generando que los actores puedan ofrecer productos innovadores. Las empresas cerveceras que destacan en el mercado global son Anheuser-Busch InBev, Heineken, Boston Beer Company, Constellation Brands y Carlsberg Group. Estas empresas han desarrollado adoptando tácticas comerciales como novedades en los productos, alianzas, campañas de marketing, fusiones para ganar una participación de mercado.

Según Mordor Intelligence da tendencia de las empresas con influencia en el mercado cervecero:

Figura N° 3: *Ranking de las empresas cerveceras en el mundo (Statista)-2023*



Nota: La figura muestra las empresas cerveceras que más han vendido en el mundo.

Fuente: Revista Alemana Statista.

Siendo gran competencia del InBev por ello Heineken opto con la innovación de sus productos como Heineken 0.0 y Heineken Silver sabores afrutados únicos y característicos de la marca.

2.1.2. Ámbito nacional

Heineken Perú SAC tiene recién en el mercado peruano aproximadamente 4 años, inicio sus operaciones en el año 2020 con la marca Tres Cruces Lager, la conocida botella y lata de color negro. Luego de un año con el lanzamiento Tres Cruces Light y Amstel, cuyo lema ‘100% malta’.

En 2023, HEINEKEN Perú amplió su catálogo de productos con el lanzamiento de PUM PUM, con un porcentaje mayor de alcohol 6%, siendo la bebida más intensa de la familia Tres Cruces con el de color rojo característico.

El proyecto Heineken arranco el año 2023, con inicios de las pruebas piloto de producción de Heineken en el mes de julio del 2023 con las presentaciones de 600 ml, 473 ml y las más conocidas botellas 330 ml.

Pero Heineken tiene en el mercado peruano una gran competencia a Backus pertenece a AB InBev. Según el diario el comercio Backus posee aproximadamente el 98,6% de ‘market share’ en el país. En el Perú que mueve aproximadamente US\$5.078 mlls a nivel nacional.

Desde que Heineken ingreso al mercado ha tenido un crecimiento, pero Backus se lleva el gran porcentaje ya tiene en el Perú una gran representativa del mercado por sus diferentes presentaciones de marcas.

Merco en el primer trimestre del 2024 lanzo el ranking de empresas con más reconocimiento en el sector bebidas fue el seguimiento:

Figura N° 4: *Ranking de las empresas en sector de bebidas (Merco)-2024.*

Posición	Empresa
1	BACKUS AB InBev
2	AJE
3	ARCA CONTINENTAL LINDLEY
4	COCA-COLA
5	ISM-INDUSTRIAS SAN MIGUEL
6	CBC
7	HEINEKEN
8	DIAGEO

Nota: La figura muestra las empresas con más influencia en el sector de bebidas.

Fuente: Merco- 2024

Para poder competir y buscar crecimiento de Heineken se debe tener los productos de buena calidad. Por ello el proceso de Heineken le caracteriza por la mezcla entre el agua y la malta triturada generando mediante calentamiento el mosto, un líquido dulce. Luego agregando el lúpulo dándole el sabor de amargor. Posterior a ello agregar la levadura-A único de **Heineken**, para iniciar la fermentación.

La problemática en si saber bien conocimiento del proceso y darle las condiciones adecuadas a la levadura. Para el caso de Heineken lo que le caracteriza es tener un perfil afrutado.

Según Quintero (2011) menciona que en la industria cervecera el gran problema en la síntesis de esteres se debe a la falta de conocimientos y control de los procesos unitarios para dar las condiciones adecuadas a la levadura.

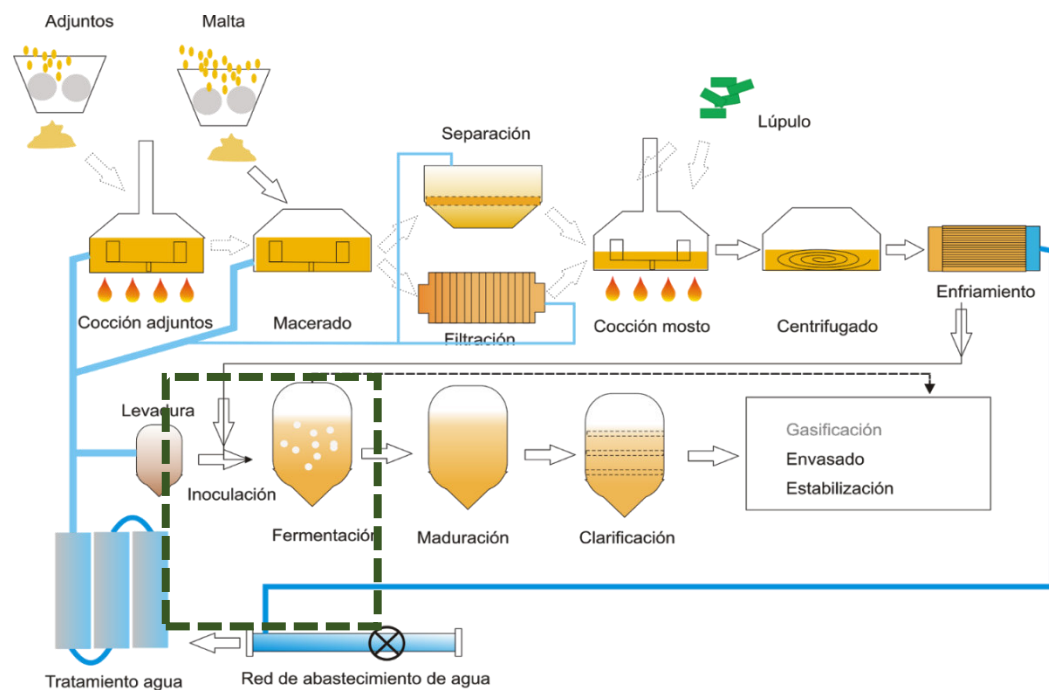
Ello se debe principalmente al cuidado de la levadura en la etapa de fermentación, es crucial evitar el estrés de la levadura, Y en las plantas cerveceras a nivel industrial la mayoría de los tanques de fermentación tienen la estructura cilíndrica cónica en cual el factor más importante es altura de llenadora del mosto y la concentración del CO_2 porque puede generar la sobrepresión hidrostática y generar el estrés de la levadura. En la síntesis de ésteres de

acetato etilo y acetato de isoamilo no solo interfieren las distintas enzimas y sustratos, también depende del control de los procesos unitarios que se encuentran regulados por diversos parámetros operacionales.

2.2. Caracterización del problema en la empresa bajo análisis.

Para la realización del presente Trabajo de Suficiencia Profesional (TSP) se tomó como unidad de análisis la etapa de fermentación en la empresa Heineken Perú S.A.C, el cual se puede visualizar en la Figura 5, de manera tal que el objeto de estudio permita el análisis de la caracterización de la problemática.

Figura N° 5: Diagrama de flujo del proceso de la elaboración de la cerveza (situación normal).



Nota: La figura muestra que el proceso de elaboración de la cerveza

Fuente: Agromonegros semillas

La realidad problemática para el siguiente trabajo de investigación es el nivel bajo de síntesis de esteres (acetato de isoamilo y acetato etilo) y el estrés de levadura en la etapa de fermentación en la planta Huachipa de Heineken.

Ello se debe a que, en la etapa de fermentación, los tanques fermentadores tienen la geometría cilíndrica vertical cónico; según el estándar global Heineken, deben ser cilíndricas

horizontal cónico para evitar la sobrepresión hidrostática en la levadura, es decir, evitar el estrés de la levadura. Otro factor importante es que no si tiene un sistema de aireación adecuado en la sala de propagación, ello no ayuda en la activación adecuada de la levadura, ya que el abastecimiento de oxígeno contribuye en la formación de los lípidos y grasos necesarios para la formación celular de la levadura, es decir, la activación de la levadura.

La consecuencia de lo mencionado es que no se dan las condiciones adecuadas a la levadura para que pueda sintetizar los esteres en específico acetato de etilo e isoamilo y poder estar dentro de la especificación. Según el estándar Heineken, la concentración de acetato de isoamilo debería estar entre 3,25 mg/l – 4,25 mg/l y para el caso de acetato de etilo es de 20 mg/l - 25 mg/l. Al no tener dentro de la especificación el producto en función a los estándares mencionados, el producto no tendrá el perfil característico de la marca.

Por ello, en este trabajo de investigación, se llevarán a cabo cambios en las condiciones operacionales del fermentador cilíndrico vertical cónico de la planta y una aireación previamente a la inoculación de la levadura para su activación.

2.3. FINALIDAD DE LA ACTIVIDAD

En una empresa del rubro cervecero ubicada en Lima – Perú del rubro masivo, produce cervezas con una alta calidad e inocuidad para el consumidor lo que le diferencia es tiene una receta única y su cuidado en el proceso de elaboración han sido clave en su éxito y en la preferencia de los consumidores. La cerveza Heineken se caracteriza por su equilibrio perfecto entre amargor y la dulzura, esta empresa está sujeta a los estándares globales para cumplir con las especificaciones del producto es por este motivo que este trabajo de investigación llevara a cabo modificaciones operaciones en la etapa de fermentación para evitar el estrés de la levadura y poder mejorar en la síntesis de esteres.

2.3.1. Objetivo general

Optimizar la producción de acetato de isoamilo mediante la modificación de la altura de llenado en el tanque de fermentación.

Objetivos específicos

- ✓ Cuantificar el rendimiento de acetato de isoamilo en función de diferentes alturas de llenado.
- ✓ Optimizar la producción de ésteres mediante el aumento del tiempo de interfase entre los cocimientos en el llenado del tanque de fermentación, promoviendo condiciones anaeróbicas para el metabolismo de la levadura.

2.4. JUSTIFICACIÓN

Desde el punto de visto teórico, se está llevando a cabo esta investigación para mejorar el proceso de fermentación en la síntesis de ésteres mediante la variación de los factores operacionales como una aireación previamente de la levadura para su activación y la determinación de la geometría del tanque de fermentación de un cónico vertical a uno horizontal para enfrentar el estrés de la levadura en la cual conlleva cambios fisiológicos, ya que la relación de estas dos variables (tiempo de llenado de la fermentación y geometría del tanque fermentador) no se tienen tan estudiada en la etapa de fermentación a nivel del proceso cervecero.

Desde el punto de vista práctico, se está solucionado el problema que se tiene en planta Heineken de niveles bajos de concentración de esteres (acetato de isoamilo) en el producto en el cual están fuera de especificación, ya que estos compuestos contribuyen en la calidad sensorial del producto dándole el aroma frutal a la cerveza. Esta solución se llevará a cabo mediante el cuidado adecuado de la levadura y las modificaciones operacionales en el proceso de fermentación.

Desde el punto de vista económico, realizar un cambio de los tanques fermentadores verticales por tanques horizontales de la planta Heineken, Huachipa, es de mucha inversión y mucha más para una empresa que está en crecimiento y nueva el mercado peruano, pero considerar que Heineken Perú debe cumplir con los estándares globales de Heineken para estar dentro de la especificación. Es por ello que este trabajo de investigación realizará modificaciones operacionales con las condiciones que se tienen en los fermentadores de la planta Huachipa para obtener las concentraciones adecuadas de esteres en el producto; ello contribuirá a no realizar una inversión grande dentro de la empresa y poder invertir en otras necesidades urgentes.

2.5. LIMITACIONES

Las limitaciones para el siguiente trabajo son la falta de información detallada sobre las rutas metabólicas involucradas, que puede limitar las estrategias de optimización, y otra limitación es el tiempo de las corridas, porque, a diferencia de la parte experimental a escala de laboratorio, en este trabajo de investigación los experimentos son a escala industrial deben pasar por una aprobación y ello extiende el tiempo.

III. MARCO TEÓRICO Y ANTECEDENTES

3.1. ANTECEDENTES

3.1.1. Antecedentes nacionales

(Ñañez Mouchard, 2020). *“El proceso de producción de cerveza artesanal y su mejoramiento mediante técnicas de recirculación de levaduras en la etapa de fermentación”*.

En este estudio se analizó la sistematización de los principales conceptos de bioprocesos aplicables y factores que afectan en la etapa de fermentación mediante un planteamiento de un sistema de recirculación de la cosecha de la levadura para industria cervecera artesanal. Este trabajo tiene un enfoque descriptivo, de tipo no experimental, utilizando la técnica de

recolección de datos de fuente biográficas. En lo cual describe que la etapa de fermentación depende directamente de los microorganismos (levaduras). Ya que es un microorganismo y se debe tener los cuidados necesarios para evitar el estrés que pueden afectar en su metabolismo propio. Por ello que los controles como temperatura deben ser controlado rigurosamente. El estrés en la levadura produce muerte celular, no solo ello también afecta al metabolismo como la velocidad de crecimiento.

(Mejia Llontop & Tirado Rodriguez, 2022) *Reutilización de inóculo de tres fermentaciones seriadas de cerveza tipo ale sobre parámetros fermentativos, componentes volátiles e indicadores de control de calidad en el producto final*. En esta investigación se estudió los resultados en la reutilización de la levadura en la etapa de fermentación de la cerveza tipo Ale, la metodología utilizada fue de un diseño experimental de sucesión o en línea de tipo transversal. Llevo a cabo la viabilidad celular de la levadura y un análisis cualitativo (panel sensorial en la cual realizo descripción en los tres casos. En la cual concluyo la relación inversamente proporcional con respecto a los parámetros fermentativos en función a los números de reutilizaciones de la levadura, a mayores reutilizaciones se observó un descenso de la velocidad específica de crecimiento ($0,085\text{ h}^{-1}$; $0,077\text{ h}^{-1}$ y $0,0607\text{ h}^{-1}$), un mayor tiempo de fermentación (54, 68 y 76 horas para la primera, segunda y tercera fermentación respectivamente) y incremento del tiempo de duplicación (8,07s; 8,92s y 11,42s). Las últimas corridas de cada fermentación seriadas no evidenciaron una formación de componentes aromáticos como los esteroides, predominando la presencia de etanol. Con respecto al panel sensorial calificó al producto final de la primera fermentación con los puntajes más altos en la escala hedónica de 9 puntos.

(Rafael, 2019) En su investigación “*Diseño de un proceso de fermentación alcohólica*” realizó un diseño de la obtención de alcohol a partir de frutas de descarte mediante evaluación de los parámetros operacionales en la etapa de fermentación. El tipo de investigación básica,

de nivel explicativo, con un enfoque cuantitativo y cualitativo. Dentro del tiempo de inoculación, el proceso de fermentación, así como el proceso grado Brix, pH.

3.1.2. Antecedentes internacionales

(Quintero Vásquez, 2011)“*Análisis de la expresión genética en la síntesis de acetato de etilo y acetato de isoamilo en Saccharomyces cerevisiae, en distintas condiciones de fermentación en el proceso cervecero*”. En este trabajo cuantificó la expresión de genes implicados en la síntesis de acetato de etilo y acetato de isoamilo en diferentes condiciones del proceso de fermentación en levaduras cerveceras tipo lager (790 y 820). En la cual modifico diferentes condiciones operacionales de la etapa de fermentación para evaluar el efecto que tiene sobre la síntesis de los compuestos volátiles como alcoholes y esterres. En esta investigación se sometió a la levadura a las siguientes condiciones operacionales: a) temperatura de fermentación (12,5°C – 17,5°C); b) composición de mosto (35% - 50% malta); c) oxigenación (25 ppm - 35 ppm); y d) temperatura de arranque (8,5°C – 12,5°C). En la cual concluyo que se tiene mejores resultados de síntesis de esterres cuando se inicia altas temperaturas y posteriormente se disminuye en la etapa de fermentación para ambas cepas estudiadas. Con respecto a la oxigenación, para ambas cepas se tuvo resultados mayores de esterres cuando al mosto se oxigenaba a 25ppm, los genes que codifican las enzimas acetiltransferasa en conclusión en general los resultados argumentan que la síntesis de ésteres depende, especialmente de la constitución genética de cada cepa y de su interacción con las distintas condiciones de fermentación.

Celio (2011) realizó una investigación sobre la producción de Heineken en tanques verticales, incorporando modificadores operacionales para determinar las variables óptimas en el desarrollo de la levadura. Las modificaciones incluyeron la altura de llenado del mosto en los tanques de fermentación, con cuatro niveles probados (4, 7, 9 metros), las temperaturas de

fermentación (9°C; 9,5°C; 10°C y 10,5°C), y los tiempos de interfase entre lotes (6, 9 y 11 horas). El objetivo fue identificar las condiciones operativas adecuadas para la síntesis de ésteres dentro de las especificaciones deseadas. Los resultados indicaron que, para la producción de Heineken en tanques verticales, la altura de llenado del mosto debe ser inferior a siete metros y el tiempo de interfase entre lotes debe ser mayor a nueve horas, lo que permite un desarrollo adecuado de la levadura.

3.2. MARCO TEÓRICO

Para el presente trabajo se consideró los siguientes conceptos generales relacionados al tema de investigación.

3.2.1. La cerveza.

La cerveza es una bebida alcohólica caracterizada por su sabor amargo, que se elabora de la malta o otros adjuntos como cereales, en la cual el azúcar de la materia prima es fermentado con la levadura (Las más usadas en la industria cervecera la *Saccharomyces cerevisiae* o *S. carlsbergensis*), el sabor amargo de la cerveza es propio del lúpulo que se le agrega (Zambrano Solórzano & Borbor Suárez, 2014).

En la industria cervecera existen muchas variedades de cerveza, en especial las artesanales las cuales se diferencian en el sabor, aroma y color. En sí para la elaboración en general se manejan los mismos ingredientes como la malta, levadura, lúpulo y el agua. Pero lo que lo diferencia son las variaciones de la materia prima en especial el reemplazo de la malta por otros ingredientes pueda dar los azúcares, también el tipo de fermentación (De Clerk, 1957).

En la elaboración de la cerveza la etapa crucial es la etapa de fermentación en la cual ocurre las principales reacciones químicas, en la cual los azúcares del mosto son transformados en alcohol con la participación de levaduras. Hay una gran variedad de levaduras que puedan

usarse en la elaboración de la cerveza. La categoría internacional de la cerveza es: cervezas Lager de fermentación bajas y las cervezas Ale de fermentación altas (Kunze, 2006).

En la elaboración de la cerveza como componentes principales que se forman son etanol y dióxido de carbono, pero también se generan otros componentes secundarios que tienen una importancia en el perfil de la cerveza. Entre ellos, diacetilo, sulfuros y los ésteres que constituyen el grupo de componentes que interfieren de forma significativa en la calidad sensorial del producto.

Cerveza verde

Es referido a la cerveza que se encuentra en la etapa de fermentación. En esta etapa, puede presentar sabores y aromas no deseados, como diacetilo, acetaldehído o notas sulfuradas y ásperas. Durante la etapa de maduración, estos sabores y aromas no deseados se transformando la cerveza 'verde' en una cerveza madura.

3.2.2. Materias primas

Agua

Según Kunze (2006), en la producción de cerveza, el agua es la mayor porción de materia prima usada, una parte para directamente cerveza la otra parte va en la limpieza, desinfección y otros propósitos.

El agua tiene un papel importante en la elaboración de la cerveza, es por ello que la calidad del agua influye en la calidad de cerveza (pág. 75).

Lúpulo

Como mencionan Zambrano Solórzano y Borbor Suárez (2014), esta planta le da a la cerveza el sabor amargo y el aroma característicos. Las flores del lúpulo tienen forma de conos o piñas y contienen lupulina, unas glándulas llenas de una resina amarillenta. Estas glándulas están compuestas por componentes llamados alfa ácidos, que le dan a la cerveza su amargor y contribuyen a la formación de espuma. Además, la lupulina también contiene ácidos beta, que, al oxidarse, aportan amargor, aunque en menor medida que los alfa ácidos (p. 9).

Cebada

Es un cereal que contiene el almidón fundamental para la elaboración de la cerveza (Kunze, 2006, p. 37). Las cebadas utilizadas en la industria cervecera deben ser idóneas para ser malteadas. Además, deben cumplir con ciertas características primordiales, como propiedades físicas específicas. Los granos de cebada deben estar libres de contaminación por microorganismos, ser uniformes, gruesos, de color amarillo y tener una forma redondeada. La cascarilla de la cebada debe ser fina y estar intacta, sin estar partida.

Levadura

(Zambrano Solórzano & Borbor Suárez, 2014), describe que la levadura es de vital importancia en el proceso cervecero, ya que es el responsable de convertir los azúcares en alcohol, no solo ello sino en reacciones secundarias de la etapa fermentación para la obtención de productos secundarios que contribuyen en el sensorial de la cerveza, también tiene un contribuye en la estabilidad de la cerveza.

Es por ello para tener el perfil deseado de la cerveza es importante dar las condiciones óptimas a la levadura en el proceso de fermentación.

Metabolismo de levadura: Reproducción y crecimiento.

Zambrano Solórzano y Borbor Suárez (2014) mencionan que la reproducción usual de la levadura es por gemación, un proceso muy similar al de los hongos. Por esta razón, se identifica a las levaduras como hongos por gemación. Durante este proceso, el metabolismo de la célula madre genera una pequeña protuberancia vesicular. Dentro de esta vesícula se incorpora una porción del citoplasma y el núcleo hijo, formado por división celular. Esto da lugar a una nueva célula hija completamente desarrollada.

Factores que estresan a la levadura

Vital López y Larralde Corona (2015) describe que a nivel industrial la producción del metabolismo y biomasa de la levadura generalmente está sujeta a circunstancias estresantes del cultivo, las cuales afectan los siguientes factores

a) **La concentración de oxígeno disuelto**, La levadura para su desarrollo requiere de oxígeno para la síntesis de lípidos y ácidos grasos no saturados, esenciales para la formación de su pared celular. Si no pasa por un proceso de aireación adecuado, se ve afectada su propagación y el incremento en la cantidad de células.

b) **Presión osmótica**, en los tanques fermentadores se tiene presión en función altura de tanque del mosto generación presión y con ello el aumento de la concentración CO_2 generando una presión parcial causando el estrés de levadura.

c) Temperatura

d) **Concentración del etanol**, el aumento de alcohol genera cambios en la concentración de ácidos grasos de la pared celular en la membrana de fosfolípidos.

e) Oligoelementos (zinc).

3.2.3. Procesos de elaboración de cerveza.

Para la elaboración de cerveza se tiene cuatro etapas principales que se lleva a cabo la mayoría de las reacciones y el perfil de la cerveza, las etapas son: cocimiento, maceración, fermentación y maduración, cada etapa tiene un control propio de condiciones operacionales, que depende del tipo de cerveza que desees elaborar.

Maceración.

Este proceso consiste en mezclar agua a una temperatura específica con el grano molido de cebada (malta) para obtener el mosto. Según Kunze (2006, p. 278), 'el proceso consiste en incrementar ciertas temperaturas hasta generar la síntesis de las enzimas deseadas y mantener un reposo a esa temperatura'.

Las rampas de temperaturas y reposos indicados para la síntesis de las enzimas:

- ✓ 45 a 50°C Reposo proteico y de β - glucano.
- ✓ 62 a 65°C Reposo de producción de maltosa / degradación del almidón.
- ✓ 70 a 75°C Reposo de sacarificación.
- ✓ 75 a 78°C Temperatura de finalización de la maceración.

En la etapa de maduración los factores que deben tomarse en cuenta son: La calidad de malta, escala de temperaturas, agitación adecuada para evitar la oxidación teniendo en consideración estos parámetros controlados para la generación de los azúcares.

Cocimiento

El mosto adquirido se cocina por 50 - 60 minutos. En esta etapa se agrega el lúpulo dependiendo del amargor que desees conseguir en la cerveza. En proceso de cocción del mosto se da una serie de cambios en el proceso como:

- ✓ La conversión de los componentes del lúpulo.
- ✓ La síntesis y precipitación de los compuestos formados por proteínas y polifenoles.
- ✓ Esterilización del mosto

- ✓ Reducción del pH del mosto
- ✓ Formación de sustancias reductoras
- ✓ Evaporación de sustancias aromáticas indeseadas.

Fermentación

En la fermentación es una etapa principal ya en esta etapa ocurre una serie de reacciones bioquímicas que son de importancia. En esta etapa la levadura juega un papel importante en las reacciones que ocurren en esta etapa. En la cual los azúcares del mosto son fermentados por la acción de las enzimas de la levadura en etanol y dióxido de carbono. Y también la formación de subproductos que influyen en el perfil de cerveza como olor, sabor. Los productos secundarios formados están relacionados con el metabolismo de la levadura, es por ello es importante el conocimiento y cuidado de la levadura y su metabolismo.

La etapa de fermentación se debe controlar la temperatura, la presión, el descenso de los azúcares (grado plato) para controlar la velocidad de fermentación que depende del tipo de cerveza deseada elaborar. En esta etapa las levaduras flocculan hacia la parte interna del fermentador.

Los productos secundarios generados en esta etapa son:

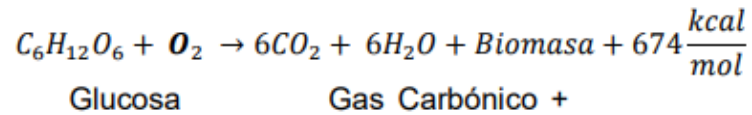
- ✓ Diacetilo
- ✓ Alcoholes superiores
- ✓ Ésteres
- ✓ Aldehídos
- ✓ Compuestos de azufre

Etapas de la fermentación:

Etapa aeróbica:

La levadura tiene como primera ruta metabólica la etapa aeróbica en la cual utiliza el oxígeno del mosto para reproducirse, produciendo calor y biomasa, esta etapa termina cuando todo el oxígeno disuelto del mosto haya sido consumido por la levadura.

Figura N° 6: *Reacción química de etapa aeróbica de la fermentación.*



Fuente: (Brewing & Malting Science Course, 2000)

La fase aeróbica es la fase de crecimiento en la cual se lleva a cabo:

✓ En esta etapa la levadura usa el oxígeno disuelto en el mosto para producir lípidos y esteroides necesarios para su membrana celular.

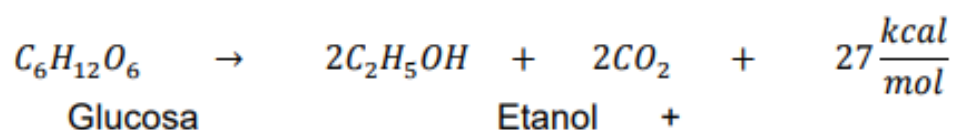
✓ Esta etapa es elemental para el desarrollo y la reproducción celular de la levadura, pero influyente síntesis de ésteres.

Etapa anaeróbica:

En esta etapa se lleva a cabo la fermentación alcohólica, prácticamente

el 1% de la fermentación se realiza en la primera etapa (aeróbica) y segunda etapa (anaeróbica) se realiza el 99% de la fermentación.

Figura N° 7. *Reacción química de etapa anaeróbica de la fermentación*



Fuente: (Brewing & Malting Science Course, 2000)

Esta es la segunda ruta metabólica de la levadura en la cual ocurre la fermentación como tal, en la cual de energía se desprende como calor, por ello necesario contar con un sistema de enfriamiento para poder controlar la temperatura durante el proceso de fermentación.

En esta etapa se tiene como ausencia el oxígeno en la cual la levadura inicia a fermentar los azúcares, se inicia la síntesis de etanol, dióxido de carbono y compuestos secundarios como los ésteres.

La síntesis de ester es por la reacción a través de un alcohol y un ácido orgánico catalizada por enzimas específicas (como el alcohol acetiltransferasa).

Factores que influyen en el proceso de fermentación

a) Temperatura, a mayores temperaturas acelera la fermentación a su vez generando subproductos secundarios, los rangos de temperatura para fermentación:

8-10°C → Disminuye la velocidad de fermentación y necesita más tiempo de fermentación.

> 7 °C → La fermentación es muy lenta.

b) Presión, el efecto de la presión en la fermentación está relacionado con el crecimiento y desarrollo de la levadura. De forma inversamente proporcional.

c) Oxígeno

d) Cantidad y calidad de la levadura

La cantidad de levadura debe ser calculado adecuadamente porque tener una gran cantidad de levadura también genera una merma metabólica. Es por ello por lo que es necesario tener una levadura muy viable y menor contenido de células muertas.

3.2.4. Compuestos volátiles:

Los componentes volátiles son de importancia ya que están directamente relacionados con el perfil de la cerveza, hay una gran variedad de compuestos volátiles entre ellos se tiene a los más principales como los alcoholes superiores, acetato de isoamilo y acetato de etilo. Estos compuestos dan a la cerveza el aroma y sabor característico. Según la síntesis de estos compuestos volátiles se agrupan dos etapas tipos de cervezas en el proceso de fermentación (Zambrano Solórzano & Borbor Suárez, 2014):

a) Compuestos de la **cerveza verde**: En esta etapa se genera el diacetilo, los compuestos aldehídos y los compuestos azufrados. La característica de estos compuestos es que dan un sabor y aroma indeseable, pero a lo largo de la etapa de fermentación estos compuestos son removidos hasta concentraciones menores que no son tan perceptibles

b) Compuestos de la **cerveza madurada**: En esta etapa se genera los alcoholes superiores y los ésteres. En particularidad estos compuestos dan a la cerveza un agradable sabor y aroma. A diferencia de los compuestos generados en la cerveza verde, estos no pueden ser removidos (Zambrano Solórzano & Borbor Suárez, 2014, pag.25).

Esteres

Estos compuestos son los más importantes de la cerveza ya que ellos influyen en el perfil de la cerveza dando diferentes aromas dependiendo del tipo de ésteres que contiene la cerveza, pudiendo ser floral o frutal. El grado de concentración debe ser delimitado ya que al tener grandes concentraciones dan a la cerveza un sabor desagradable y amargor.

La síntesis de ésteres ocurre en la etapa de fermentación durante la fase anaeróbica, es decir cuando la levadura no tiene oxígeno suficiente, comienza con la metabolización de los azúcares presentes en el mosto. El proceso de formación de los ésteres es llamado como esterificación de ácidos grasos y, en menor grado, también por esterificación de alcoholes superiores.

La etapa donde se genera los ésteres es en la etapa de fermentación, otro factor importante en la generación de ésteres es el abastecimiento de oxígeno a la levadura, influyendo en el proceso de respiración de la levadura con lo que se reproduce mediante la síntesis de grasas, también en la fermentación (Kunze, 2006, Pág. 431).

Existe una variedad aproximada de setenta ésteres, pero dentro de ellos se tiene dos de gran importancia para el perfil de la cerveza:

- ✓ Acetato de etílico

✓ Aceto de isoamilo

Los factores que afectan a los esteres:

Tabla N° 2: *Tabla de los factores positivo y negativos que afectan en la síntesis de esteres.*

Afecta positivamente	Afecta Negativamente
Concentración del mosto original por encima de 13%	Presión: Altura de tanque creciente (Presión hidrostática + CO_2)
Intensificación de la aireación del mosto.	Evitación de la aireación del mosto.
Mayor temperatura de fermentación	Menores temperaturas de fermentación.
Aumento en la atenuación límite	Baja atenuación límite
Cepa de levadura	

Nota: Fuente propia

Según la especificación Heineken con respecto al acetato de isoamilo en producto terminado:

$$3 \frac{mg}{l} \leq \text{acetato de isoamilo} \leq 4,25 \frac{mg}{l}$$

3.2.5. Métodos para la determinación componentes volátiles

Cromatografía gaseosa.

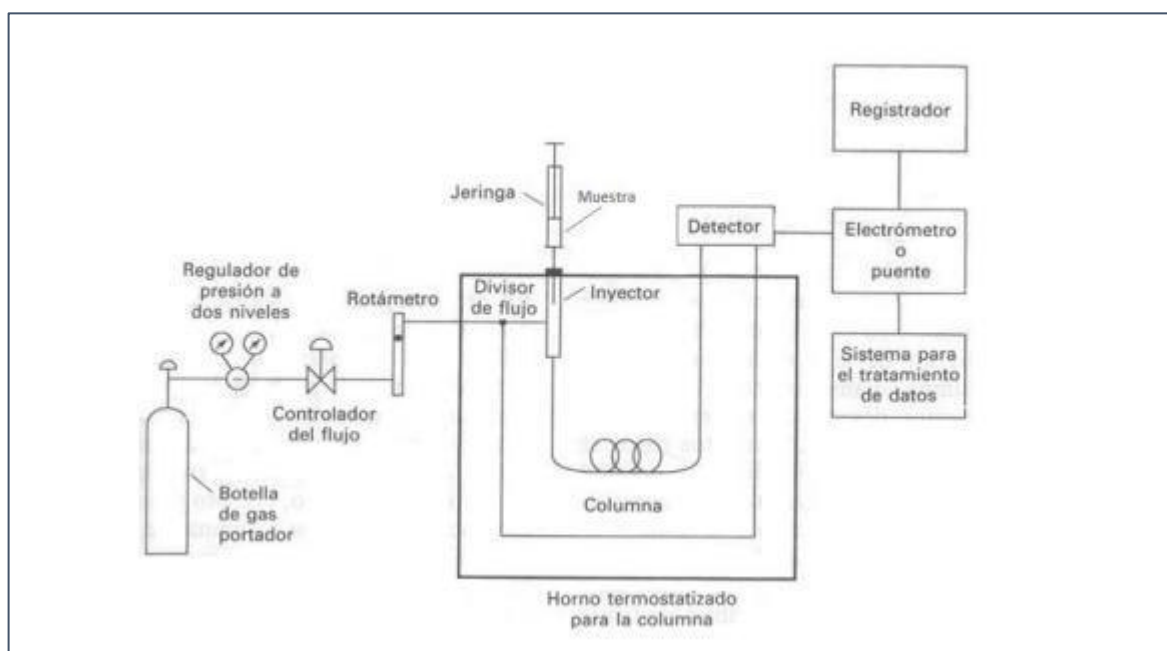
Como describe (Olvera Sumano, 2013), es una técnica analítica fundamentalmente utilizada para separar, cuantificar e identificar una mezcla de componentes volátiles. En el cual consiste que los analitos que se buscan separar deben estar distribuidos en dos fases, una de ellas en la fase estacionaria y la otra en la fase móvil. En la cual consiste que la muestra debe ser inyectada al cromatógrafo, el proceso en sí es que primero debe pasar a ser

vaporizada, y luego pasa por la fase estacionaria (columna), en la cual con la ayuda de la fase móvil (gas inerte) ayuda al flujo en la columna, la cual luego en función a su punto de ebullición se separa y pasará por el detector para su identificación y cuantificación mediante un cromatograma.

En la industria cervecera es importante este método ya que se utiliza para la determinación y cuantificación de los alcoholes superiores, aldehídos y otros que contribuyen al perfil sensorial de la cerveza (compuestos volátiles).

En la figura 8 se evidencia un diagrama de los componentes básicos de un cromatógrafo gases.

Figura N° 8: *Flujo general de un sistema de cromatografía de gases.*



Fuente: Olvera Sumano, 2013

Los fundamentos básicos de la GC:

1. Fase móvil (gas portador o acarreador):

Un gas inerte, es decir un gas que no interactúe con los analitos de la muestra, la cual según revisiones biográficas puede ser nitrógeno, helio o hidrógeno para ayudar al traslado de la muestra desde el inyector hasta la columna cromatográfica.

2. Fase estacionaria:

Compuesta por un componente líquido o sólido que reviste la parte interna de la columna (usualmente capilar), que interactúa distintivamente con los analitos de la muestra, separándolos en función de sus propiedades fisicoquímicas (polaridad, volatilidad).

3. Inyección de la muestra:

La muestra es evaporizada en el inyector antes de ser insertado en la columna. Y es inyectada por una micro jeringa que usualmente es de 10 uL, las cuales deben ser herméticas.

4. Fase estacionaria:

Compuesta por un componente líquido o sólido que reviste la parte interna de la columna la columna (usualmente capilar), que interactúa distintivamente con los analitos de la muestra, separándolos en función de sus propiedades fisicoquímicas (polaridad, volatilidad).

5. Detección:

Un detector, los más usados según (Olvera Sumano, 2013) entre los principales:

- ✓ Detector de ionización de llama (FID)
- ✓ Detector de espectrómetro de masas (GC-MS).
- ✓ Detector de conductividad térmica (TCD).
- ✓ Detector de Captura de electrones (ECD).

El detector más utilizado es el FID (Detector de Ionización de Llama). Los analitos transportados por el efluente de la columna se queman en una pequeña llama de oxihidrógeno, generando algunos iones. Estos iones son recolectados, formando una pequeña corriente eléctrica que se convierte en la señal.

Como menciona (Olvera Sumano, 2013) para la identificación de cada analito registrado como un pico en el cromatograma, se lleva a cabo mediante la inyección del estándar interno bajo las mismas condiciones que la muestra en la cual mide el tiempo de retención en esas

condiciones de cada analito. Ello se realizará para establecer la curva de calibración del equipo GC.

Aplicaciones de la GC en la industria cervecera:

- ✓ Análisis de compuestos aromáticos:

Identificación y cuantificación de los compuestos volátiles (ésteres, alcoholes superiores, aldehídos, cetonas y compuestos sulfurados).

- ✓ Control de calidad:

Evaluación sensorial para evaluar la consistencia del perfil de aroma y sabor.

- ✓ Optimización del proceso de fermentación:

Monitoreo de compuestos como el diacetilo o acetaldehído para determinar cuándo la fermentación y maduración han finalizado.

- ✓ Detección de contaminantes:

Identificación de compuestos no deseados o contaminantes que puedan afectar la calidad de la cerveza.

Ventajas de la GC:

- ✓ Alta sensibilidad y precisión.
- ✓ Capacidad para analizar mezclas complejas.
- ✓ Resultados rápidos para compuestos volátiles.

IV. METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTOS

4.1. METODOLOGÍA

4.1.1. Enfoque de la investigación.

En esta investigación se utilizó un **enfoque cuantitativo**, ya que permite la medición de las variables.

4.1.2. Alcance de la investigación

Según Carlos Ramos (2020), el alcance de la investigación es explicativo y descriptivo, ya que busca tanto una explicación como una determinación de los fenómenos presentes en el contexto cuantitativo. Esto es relevante en estudios de tipo predictivo, donde es posible establecer una relación causal entre las variables dependientes e independientes, como en los estudios de modelos explicativos basados en ecuaciones. Estos modelos proponen una teoría que facilita la búsqueda de una explicación del fenómeno estudiado, que debe ser presentada para su comprensión. Además, es obligatorio plantear hipótesis de investigación que buscan determinar los elementos de causa y efecto de los fenómenos investigados.

4.1.3. Método de investigación.

El presente trabajo tiene un enfoque de **investigación experimental**.

4.1.4. Población y muestra.

Población: Tanque de fermentación / Tres tanques por semana.

Muestra: Frascos de un 1 L de cerveza verde (cerveza verde es aquella que no ha finalizado el proceso de fermentación).

4.2. DISEÑO EXPERIMENTAL U OBSERVACIONAL.

Se realizaron las pruebas experimentales para determinar en cuánto aumenta la síntesis de ésteres (acetato de isoamilo) mediante las modificaciones operacionales (altura de llenado del mosto en el tanque de fermentación y el tiempo entre cocimientos en el llenado de fermentación) utilizando el método de cromatografía gaseosa.

Definición conceptual de variables:

Las variables fueron definidas como: $Y=f(X)$

Variable dependiente:

Y= Concentración de acetato de isoamilo.

Variables independientes:

X_1 = Altura de llenado de mosto en fermentación.

X_2 = Tiempo de interfase entre cocimientos.

4.2.1. Desarrollo experimental en fermentación.

Se llevaron a cabo 3 pruebas, modificando tres niveles de altura (5 – 7,5 - 10 metros) de llenado del tanque de fermentación con seis repeticiones, con un total de dieciocho corridas. Previamente, se corrieron dos tiempos de interfase de llenado entre cocimientos para evaluar el tiempo adecuado para darle la fase anaeróbica a la levadura; los tiempos fueron de (4,5 - 9 horas) con dos repeticiones.

1. Corrida de tiempos de interfase entre cocimientos.

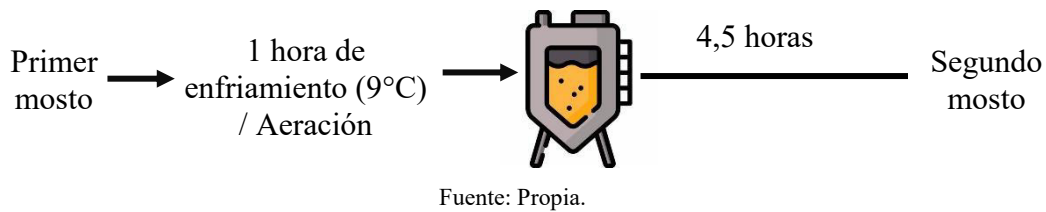
La ambas corrida fueron con un tanque de fermentación de dos cocimientos.

Primer caso: Tiempo de 4,5 horas:

El primer cocimiento (mosto) pasó primero por una etapa de enfriamiento a 9 °C, luego fue aireado para obtener un oxígeno disuelto de 12-14 ppm para darle el oxígeno al mosto. Luego entró a la línea de la levadura, en la cual se inoculó la levadura previamente homogeneizada, y entro al tanque de fermentación. El llenado demoró aproximadamente dos horas; luego de ello, se contabilizó las 4,5 horas para el ingreso del segundo mosto. En esta etapa se midió el oxígeno disuelto cada dos horas para ver el comportamiento de la levadura en función al oxígeno. Ello ayuda a darle un tiempo a la levadura para que entre a la fase aeróbica, consumiendo todo oxígeno del mosto hasta terminar y luego poder entrar a la fase anaeróbica, ya que es la etapa principal para la generación de acetato de isoamilo.

La figura N° 9 lo describe de forma general:

Figura N° 9: Descripción del llenado del mosto con 4,5 horas de interfase entre cocimientos en el llenado de tanque de fermentación.

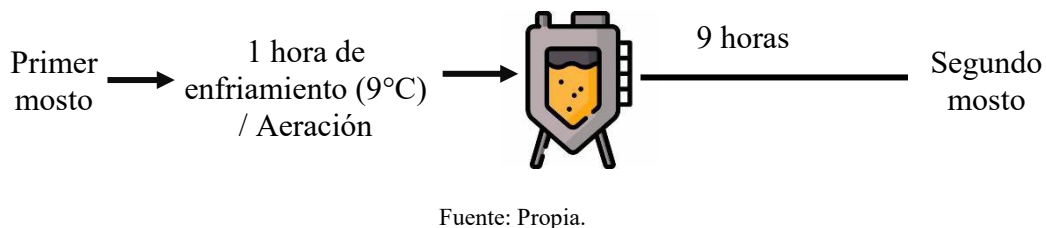


Segundo caso: Tiempo 9 horas:

El primer cocimiento (mosto) pasó primero por una etapa de enfriamiento a 9 °C, luego fue aireado para obtener un oxígeno disuelto de 12-14 ppm para darle el oxígeno al mosto. Luego entró a la línea de la levadura, en la cual se inoculó la levadura previamente homogeneizada, y entró al tanque de fermentación. El llenado demoró aproximadamente dos horas; luego de ello, se contabilizó las 9 horas para el ingreso del segundo mosto. En esta etapa se midió el oxígeno disuelto cada dos horas para ver el comportamiento de la levadura en función del oxígeno. Ello ayuda a darle un tiempo a la levadura para que entre a la fase aeróbica, consumiendo todo oxígeno del mosto hasta terminar y luego poder entrar a la fase anaeróbica, ya que es la etapa principal para la generación de acetato de isoamilo.

La figura N°10 lo describe de forma general:

Figura N° 10: Descripción del llenado del mosto con 9 horas de interfase entre cocimientos en el llenado en el tanque de fermentación.



Luego de ello se analizó la muestra; en cada uno de los dos casos y se eligió el segundo caso por generar una mayor generación de ésteres. Las corridas de altura de llenado se corrieron con el tiempo de 9 horas.

2. Corrida de las alturas de llenado del mosto en los tanques de fermentación.

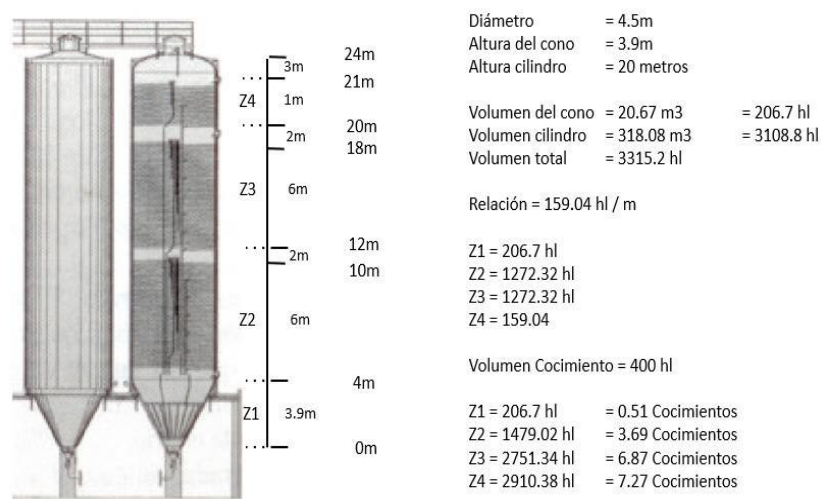
Prueba N° 1:

La primera prueba realizada fue de cuatro cocimientos de mostos con un volumen aproximado de 400 hL por cocimiento.

La corrida se realizó con un tiempo de interfase entre cocimientos de 9 horas, lo que permite que la levadura entre en una fase anaeróbica y active la ruta de generación de ésteres. Antes de ingresar al tanque de fermentación, el primer mosto fue aireado para obtener un oxígeno disuelto de 12-14 ppm, lo que favorece la reproducción de la levadura, y se mantuvo un control de temperatura en la fermentación de 9°C. Para el ingreso del segundo mosto, se esperaron 9 horas para permitir que la levadura pasara a la fase anaeróbica. Lo mismo se aplicó para el tercero y cuarto mosto. En cada ingreso de mosto a la fermentación, se liberó la válvula de purga de presión para mantener la presión del sistema a 0 bar y evitar el estrés de la levadura.

Consideraciones del diseño del tanque de fermentación

Figura N° 11. *Diseño de los tanques de fermentación:*



Fuente: Procedimiento interno de planta.

$$1 \text{ cocimiento} = 400 \text{ hL}$$

$$Relación = \frac{159,04 \text{ hL}}{m}$$

Altura en el tanque:

$$4 \text{ comientos} = \frac{(4 \times 400 \text{ hL})}{159,04 \text{ hL}} = 10,0 \text{ m}$$

La altura de llenado para cuatro cocimientos es de 10 metros.

Prueba N° 2:

La segunda prueba realizada fue de tres cocimientos de mostos con un volumen aproximadamente de 400 hL por cocimiento.

Consideraciones del diseño del tanque de fermentación:

$$1 \text{ cocimiento} = 400 \text{ hL}$$

$$Relación = \frac{159,04 \text{ hL}}{m}$$

Altura en el tanque:

$$3 \text{ comientos} = \frac{(3 \times 400 \text{ hL})}{159,04 \text{ hL}} = 7,5 \text{ m}$$

Para tres cocimientos son equivalente a 7,5 m de llenado.

La corrida fue con un tiempo de interfase entre cocimientos de 9 horas, genera que la levadura esté en una fase anaeróbica y pueda entrar a la otra ruta que es la generación de ésteres. Pero el primer mosto antes de ingresar al tanque de fermentación fue aireado para obtener un oxígeno disuelto de 12 -14 ppm para la reproducibilidad de la levadura y con un control de temperatura de control en fermentación fue de 9°C. Para el ingreso del segundo mosto, se esperó 9 horas para dejar a la levadura entrar en una fase anaeróbica, de igual forma para el tercero. Cada ingreso de mosto en fermentación se liberó la válvula de purga de presión para mantener la presión del sistema a 0 bar, para evitar el estrés de levadura.

Prueba N° 3:

La tercera prueba realizada fue de dos cocimientos de mostos con un volumen aproximadamente de 400 Hl por cocimiento, con dos corridas para diferentes tiempos de interfase entre cocimientos.

La corrida se realizó con un tiempo de interfase entre cocimientos de 9 horas, lo que permite que la levadura entre en una fase anaeróbica y active la ruta de generación de ésteres. Antes de ingresar al tanque de fermentación, el primer mosto fue aireado para obtener un oxígeno disuelto de 12-14 ppm, lo cual favorece la reproducción de la levadura, y se mantuvo un control de temperatura en la fermentación de 9°C. Para el ingreso del segundo mosto, se esperaron 9 horas para permitir que la levadura entrara en una fase anaeróbica.

Consideraciones del diseño del tanque de fermentación:

$$1 \text{ cocimiento} = 400hL$$

$$Relación = \frac{159,04hL}{m}$$

Altura en el tanque:

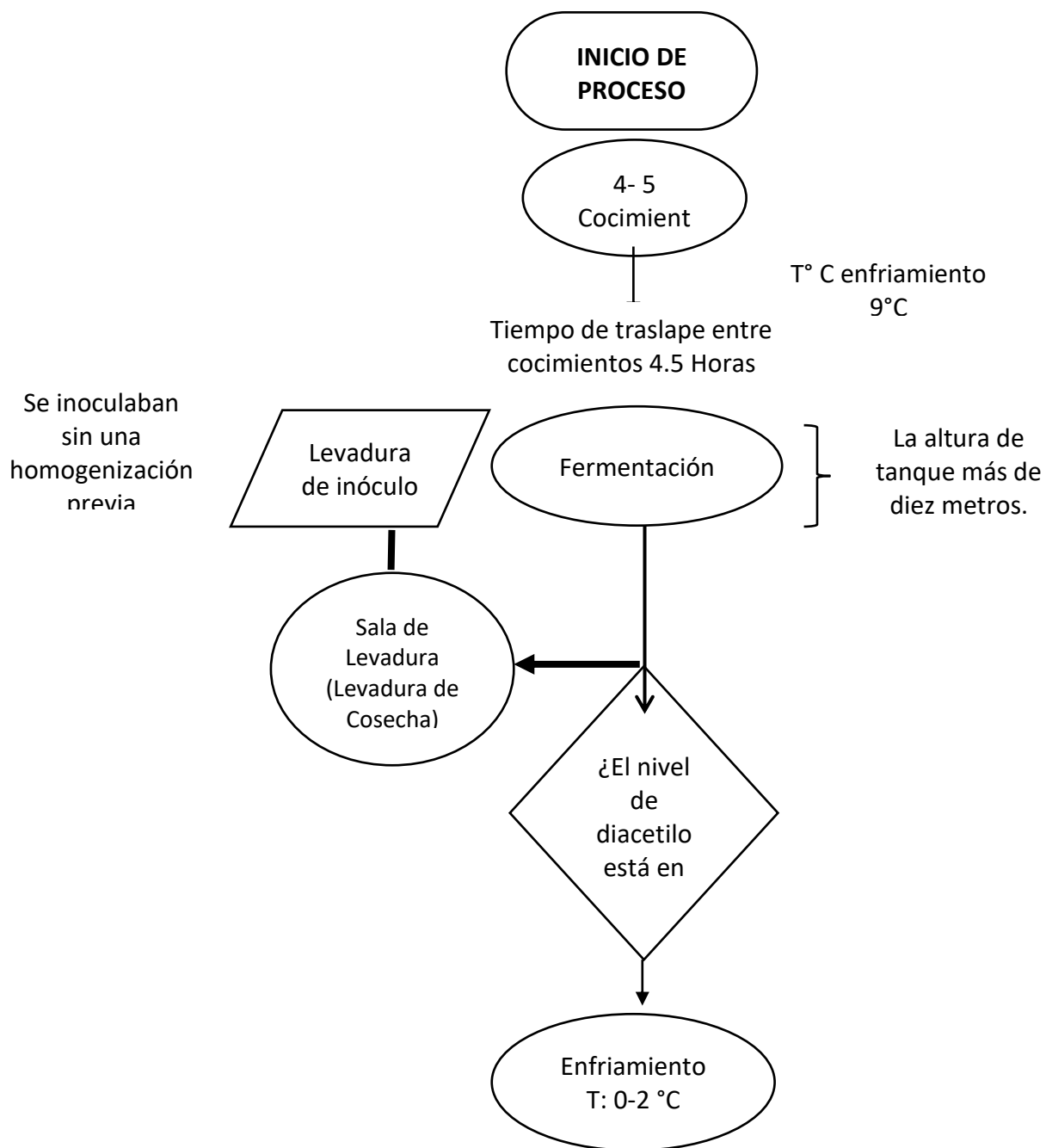
$$2 \text{ comientos} = \frac{(2 \times 400hL)}{159,04 hL} = 5 m$$

Para dos cocimientos es equivalente a 5 metros de llenado en el tanque de fermentación.

Se han repetido las pruebas por triplicado para ver la repetibilidad de la data.

Las tres pruebas fueron analizadas por el método de volátiles mediante cromatografía gaseosa para determinar la concentración de acetato de isoamilo.

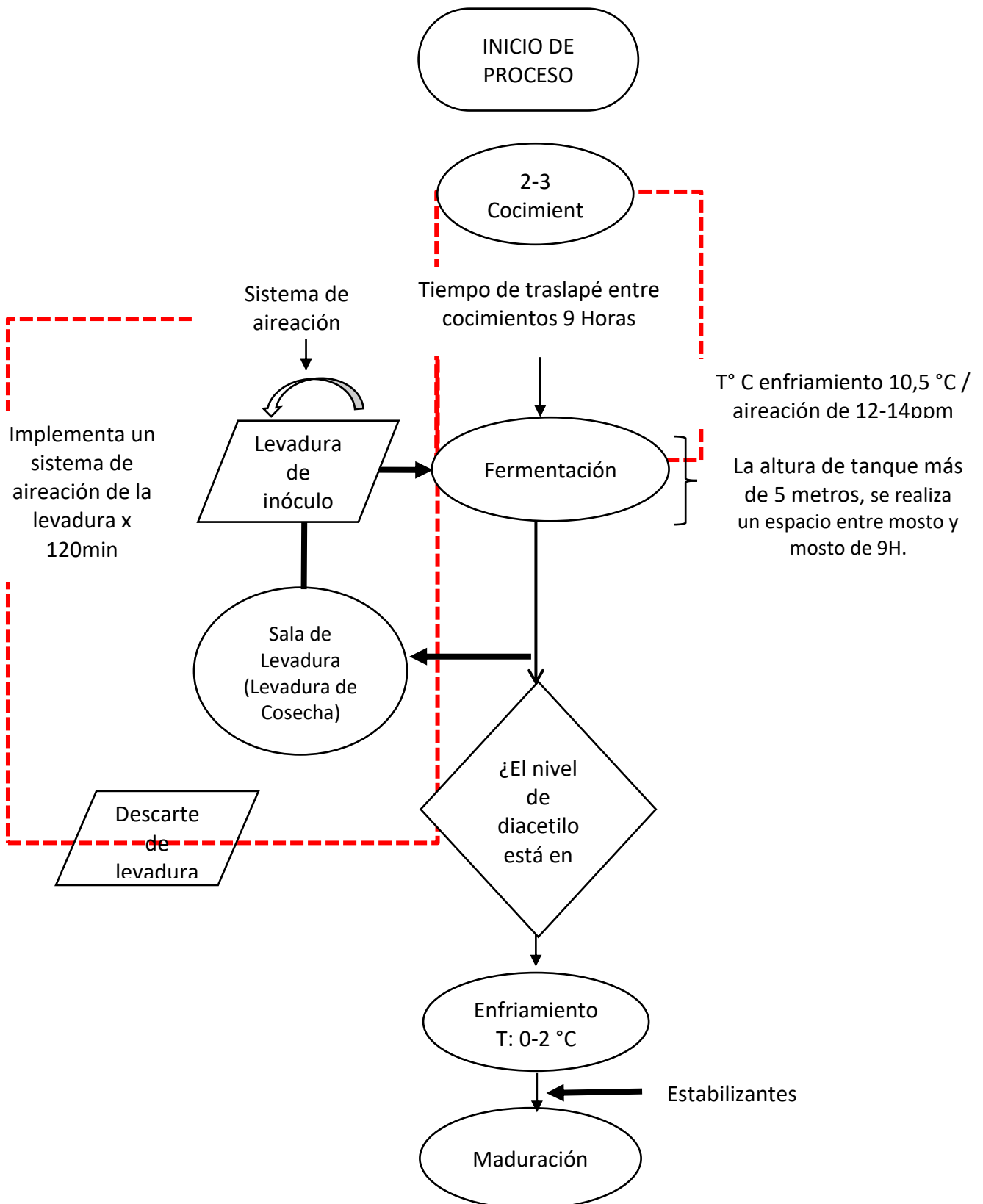
Figura N° 12. *Flujo del proceso de fermentación sin modificaciones.*



Fuente: Propia

PROCESO CON LA OPTIMIZACION:

Figura N° 13. *Flujo del proceso de fermentación con las modificaciones operacionales.*



Fuente: Propia.

4.2.2. Desarrollo experimental analítico.

El método aplicado para el análisis de ésteres mediante cromatografía gaseosa en este estudio es aplicable únicamente a cervezas con un porcentaje de alcohol del 5%. Dado que la muestra corresponde a una cerveza verde, antes de analizarla, primero se acondicionó.

Materiales

1. Viales de 20 ml.
2. Papel filtro Whatman
3. Vasos precipitados de 500ml
4. Probeta de 500 ml y 250 ml
5. Frascos de 250 ml con tapa hermética.
6. Puntas de 10ml
7. Pipetas de 30 ml / 3ml /10ml.
8. Fiolas 100ml y 250 ml.

Equipos

1. Cromatógrafo GC.
2. Centrifuga refrigerada.
3. Micropipetas automáticas.

Reactivos

1. Etanol puro.
2. Agua HPLC
3. Butanol
4. Kit esterres
5. 4-Heptanona.

1) Preparación de la solución stock y solución interna.

Primero se preparó la solución stock, en un matraz volumétrico de 100 ml, en la cual se agregó 30 ml de etanol (2-5°C), con 3 ml de 4-heptanona y 30 ml de 1-butanol y se aforó a 100 ml con etanol frío (2-6°C). Se mezcló cuidadosamente. Luego se preparó la **solución de trabajo estándar interno**, en la cual se utilizó un matraz de 200 ml y se agregó 4.0 ml de solución stock en 200 ml de agua y etanol al 5%.

Ambas soluciones se transfirieron en un dispensador de 20ml.

Figura N°14: *Almacenamiento de solución interna 2-8°C.*



2) Acondicionamiento de la muestra

b) Para el muestreo se tuvieron algunas consideraciones:

Al momento del muestreo se evitó la formación de espuma, ya que es importante tener un headspace tan pequeño como sea posible para evitar la volatilización de los analitos.

c) Determinación de grado de alcohol de la muestra.

Primero se determinó el porcentaje de alcohol de la muestra; para ello se filtró 200 mL de muestra con 10 g de tierra diatomea mediante el uso del papel filtro Whatman 597 1/2 en un matraz de 200 mL. Lo filtrado se colocó en el alcoalyzer para determinar el grado de alcohol de la muestra. Todo proceso de filtrado se realiza en la congeladora de 0-8°C.

Figura N°15: *Etapas de medición del alcohol de muestra en el Alcoalyzer.*



d) El acondicionamiento de la muestra consistió en remover la levadura.

Para la remoción de la levadura, se utilizó una centrífuga refrigerada a una temperatura de 0°C para evitar que los analitos de la muestra se volatizaran. Para ello, se emplearon frascos cónicos de 400 ml, con una velocidad de 1600 xg configurada en el equipo durante 10 minutos. Una vez removida la levadura, la muestra se mantuvo a temperaturas inferiores a 8°C .

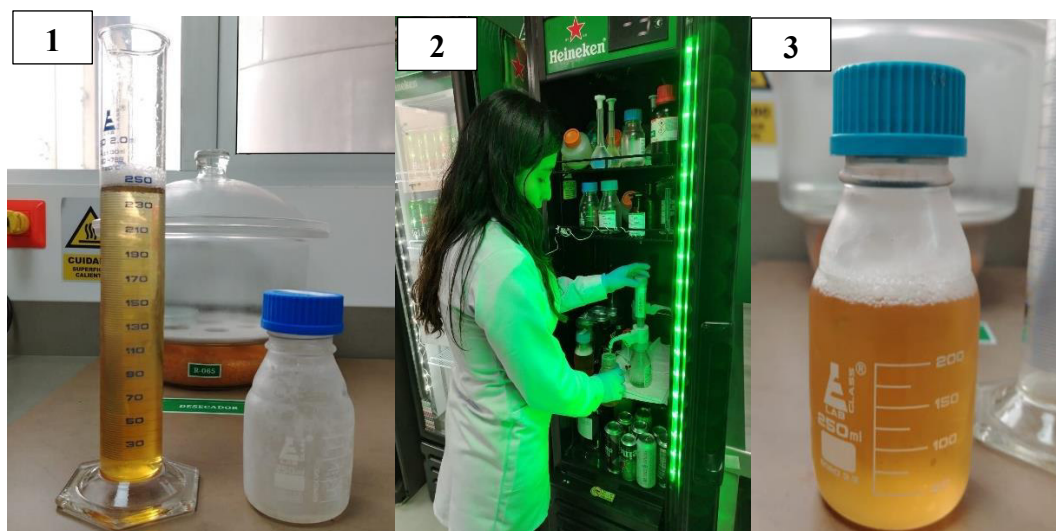
Figura N°16: *Etapas de centrifugación de la muestra.*



e) Preparación de la muestra.

La muestra, ya sin levadura, se llenó en botellas de infusión herméticas de 250 ml. Luego, se pipetearon 2,0 ml de la solución estándar interna utilizando un dispensador. Posteriormente, se cerró la tapa y se mezcló con cuidado para evitar la formación de espuma. La muestra se dejó en reposo durante aproximadamente 10 minutos.

Figura N°17: *Etapa de dilución de la muestra al 5% y la inyección del 2ml de la solución interna.*



f) Corrida de la muestra

Se introdujeron 10 ml de muestra en un vial frío del auto-muestreador, con capacidad de 20 ml, utilizando una micropipeta. Luego, se cerró el vial inmediatamente con su tapa septa para evitar la exposición de la muestra a la temperatura ambiente, ya que contiene analitos de baja temperatura de ebullición.

Figura N°18: *Las muestras en viales de 20 ml.*



Se colocaron los viales en el muestreador automático del cromatógrafo en el siguiente orden, el primer vial colocado fue el vial que contiene aire ambiente para limpiar la jeringa del cromatógrafo y ver los componentes del medio ambiente, seguido por una muestra control, y luego se colocaron los viales de la muestra.

Figura N° 19: *El cromatógrafo y la secuencia de la corrida de la muestra.*



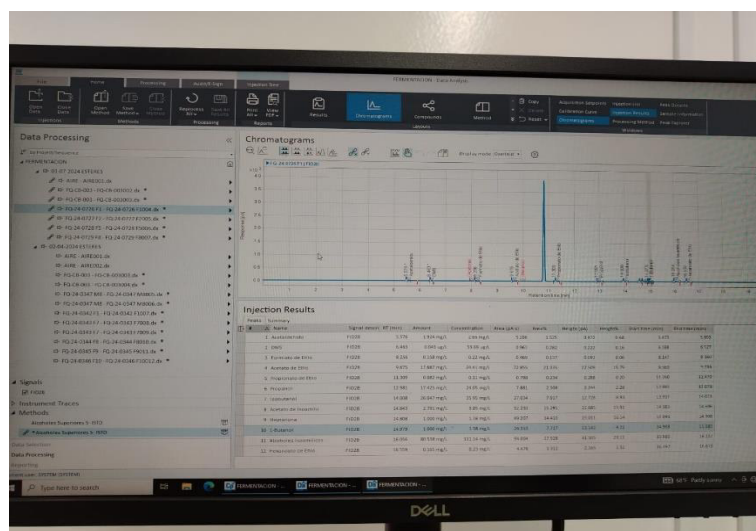
g) Se cargó el método de volátiles en el cromatógrafo y, a continuación, se armó una secuencia según el orden de los viales. Luego, se guardó la secuencia con un nombre y se inició la corrida.

Nota: El equipo fue calibrado con el método a utilizar.

h) Interpretación de la data.

Una vez finalizada la corrida, el equipo tiene el software OpenLAB Version 3.6, en el cual se ingresó a Data Analysis, se buscó la corrida con la secuencia del nombre guardado y se revisó el cromatograma en función al tiempo de retención y las áreas de cada analito. Luego de ello, se tiene ya la concentración de acetato de isoamilo para cada corrida.

Figura N° 20: *Data analysis*



V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

En el siguiente capítulo se muestran los resultados obtenidos a partir de las 18 pruebas realizadas en la Planta Huachipa.

5.1. RESULTADOS DESCRIPTIVOS.

Se evaluó la concentración de ésteres (acetato de isoamilo) a través de tres alturas de llenado de mosto en los tanques de fermentación (5, 7, 10 metros) para estudiar el estrés de la levadura.

5.1.1. Resultados de los tiempos de interfase entre cocimientos.

La tabla N°3 muestra las concentraciones de acetato de isoamilo en las dos pruebas con diferentes tiempos de interfase entre cocimientos.

Tabla N° 3: *Concentración de acetato de isoamilo en los dos tiempos de interfase de cocimientos.*

Concentración de acetato de isoamilo (mg/l)	
4,5 horas	9 horas
2,67	3,43
2,9	3,21

Tabla N° 4: *Concentración de oxígeno disuelto en fermentación en el tiempo de interfase.*

Concentración de oxígeno disuelto (ppm)		
Horas	4,5 horas	9 horas
1° hora	12	11,9
2.5° hora	9,9	8,96
4° hora	7,25	7,78
4.5° hora	-	4,25
6° hora	-	2,73
7.5° hora	-	0,04
9° hora	-	0

5.1.2. Resultados de las alturas de llenado del mosto en los tanques de fermentación.

La tabla presentada muestra las concentraciones de acetato de isoamilo, de la Prueba N° 1, de dos cocimientos.

Tabla N° 5: *Concentración de acetato de isoamilo con la influencia de altura de 5 metros de llenado de mosto en el tanque fermentación.*

Dos cocimientos	
Altura (m)	Concentración de acetato de isoamilo (mg/l)
5	3,06
5	3,17
5	3,25
5	3,34
5	3,6
5	3,27

La tabla presentada muestra las concentraciones de acetato de isoamilo, en la Prueba N° 2. De tres cocimientos.

Tabla N° 6: *Concentración de acetato de isoamilo con la influencia de altura de 7 metros de llenado de mosto en el tanque fermentación.*

Tres cocimientos	
Altura (m)	concentración de acetato de isoamilo (mg/l)
7	2,45
7	2,89
7	2,78
7	2,54
7	2,9
7	2,65

La tabla presentada muestra las concentraciones de acetato de isoamilo, en la Prueba N° 3. De cuatro cocimientos.

Tabla N° 7: *Concentración de acetato de isoamilo con la influencia de altura de 10 metros de llenado de mosto en el tanque fermentación.*

Cuatro cocimientos	
Altura (m)	concentración de acetato de isoamilo (mg/l)
10	2,36
10	2,3
10	2,25
10	2,56
10	2,59
10	2,5

La tabla N°8 presentada muestra el promedio de las concentraciones de acetato de isoamilo, en comparación a los números de cocimientos.

Tabla N° 8: *Comparativa de concentración de acetato de isoamilo en función números de cocimientos.*

Promedio de Concentración acetato de isoamilo (mg/l)	
N° Cocimientos	Concentración
2 cocimientos	3,28
3 cocimientos	2,7
4 cocimientos	2,43

5.2. RESULTADOS INFERENCIALES.

5.2.1. Planteamiento de hipótesis:

- ✓ **Hipótesis nula (H₀):** No hay diferencia en la síntesis de acetato de isoamilo entre las tres alturas de llenado del tanque fermentador.
- ✓ **Hipótesis alternativa (H_a):** Hay diferencias significativas en la síntesis de acetato de isoamilo entre las tras alturas de llenado del tanque fermentador ($p \leq 0,05$).

Figura N° 21: *Vista de variables en SPSS statistics.*

*Sin título4 [ConjuntoDatos0] - IBM SPSS Statistics Editor de datos (Modo de prueba)

	Nombre	Tipo	Anchura	Decimales	Etiqueta	Valores	Perdidos	Columnas	Alineación	Medida	Rol
1	ALTURA	Numérico	8	1	ALTURA	{1.0, 5 metr...	Ninguna	8	Derecha	Nominal	Entrada
2	ISOAMILO	Numérico	8	2	ISOAMILO	Ninguna	Ninguna	8	Derecha	Escala	Entrada

En la figura N.º 22. Se observan los datos de cada variable, en la columna de Altura, 1 equivale a 5 metros, 2 equivale a 7 metros y 3 equivale 10 metros.

Figura N° 22: *Vista de datos en SPSS statistics.*

*Sin título4 [ConjuntoDatos0] - IBM S

	ALTURA	ISOAMILO	var
1	1.0	3.06	
2	1.0	3.17	
3	1.0	3.25	
4	1.0	3.34	
5	1.0	3.60	
6	1.0	3.27	
7	2.0	2.45	
8	2.0	2.89	
9	2.0	2.78	
10	2.0	2.54	
11	2.0	2.90	
12	2.0	2.65	
13	3.0	2.36	
14	3.0	2.30	
15	3.0	2.25	
16	3.0	2.56	
17	3.0	2.49	
18	3.0	2.50	

5.2.2. Prueba de normalidad

Hipótesis para las pruebas de normalidad:

- ✓ **Hipótesis nula (H₀):** Los datos tienen una distribución normal ($p > 0,05$).
- ✓ **Hipótesis alternativa (H_a):** Los datos no tienen una distribución normal ($p \leq 0,05$)

Tabla N° 9: Prueba de normalidad

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
ISOAMILO	.166	18	.200*	.939	18	.280

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors.

La significancia $p = 0,280$ es mayor que $0,05$. Entonces aceptamos la hipótesis nula, es

decir, los datos tienen una distribución normal.

5.2.3. Prueba de homogeneidad de varianzas.

Hipótesis de homocedasticidad

✓ **Hipótesis nula (H₀):** Las varianzas de ambas muestras son homogéneas ($p > 0,05$)

✓ **Hipótesis alternativa (H_a):** Las varianzas de ambas muestras no son homogéneas ($p \leq 0,05$).

Tabla N° 10: Prueba de normalidad

Pruebas de homogeneidad de varianzas					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
ISOAMILO	Se basa en la media	.482	2	15	.627
	Se basa en la mediana	.452	2	15	.645
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	.452	2	9.697	.649
	Se basa en la media recortada	.476	2	15	.631

La significancia (p) es mayor a $0,05$ entonces aceptamos la hipótesis nula, es decir los grupos son homogéneas.

5.3. PRUEBA DE ANOVA DE 3X1 PARA MUESTRAS INDEPENDIENTES.

✓ **Hipótesis nula (H₀):** No hay diferencia en la síntesis de acetato de isoamilo entre las tres alturas de llenado del tanque fermentador ($p > 0,05$).

- ✓ **Hipótesis alternativa (Ha):** Hay diferencias significativas en la síntesis de acetato de isoamilo entre las tras alturas de llenado del tanque fermentador ($p \leq 0,05$).

Tabla N° 11: *Prueba de Anova.*

ANOVA					
ISOAMILO	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2.363	2	1.181	42.414	<.001
Dentro de grupos	.418	15	.028		
Total	2.780	17			

La significancia (p) es menor a 0,05 entonces se rechaza la hipótesis nula, es decir, una de las medias es diferentes.

5.3.1. Analisis Hoc Test.

Tabla N° 12: *Prueba de comparaciones múltiples.*

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: ISOAMILO						
HSD Tukey						
(I) ALTURA	(J) ALTURA	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
5 metros	7 metros	.58000*	.09635	<.001	.3297	.8303
	10 metros	.87167*	.09635	<.001	.6214	1.1219
7 metros	5 metros	-.58000*	.09635	<.001	-.8303	-.3297
	10 metros	.29167*	.09635	.022	.0414	.5419
10 metros	5 metros	-.87167*	.09635	<.001	-1.1219	-.6214
	7 metros	-.29167*	.09635	.022	-.5419	-.0414

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.
Las medias entre cada grupo tienen diferencia significativa ($p < 0,05$). Por lo tanto,

concluimos que las diferentes alturas de llenado en el tanque de fermentación que influyen en la síntesis de acetato de isoamilo sí tienen diferencias significativas.

5.4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

A partir de los resultados mencionados en el ítem anterior, se discuten a continuación los hallazgos de las pruebas experimentales realizadas

1. En las tres pruebas realizadas con diferentes alturas de llenado de mosto, se observó una relación inversa entre la altura de llenado y la generación de acetato de isoamilo. Como se muestra en la Tabla N°8, se recomienda el uso de tanques con dos cocimientos que alcanzan una altura aproximada de 5 metros. Esta recomendación coincide con el estudio realizado por Celio (2011), en el cual se menciona el uso de tanques verticales menores a 7 metros para la producción de cerveza Heineken, ya que estas dimensiones favorecen un movimiento reológico natural adecuado para la levadura. Dicho movimiento óptimo permite a la levadura trabajar de manera eficiente, mientras que alturas superiores a 6 metros podrían generar estrés en las células, afectando negativamente la producción de acetato de isoamilo.
2. La receta de Heineken menciona, de forma estándar, un tiempo de interfase mayor a 3 horas. En la prueba del tiempo de interfase entre cocimientos, se determinó que el tiempo adecuado es de 9 horas. Durante este intervalo, la levadura consume todo el oxígeno disuelto en el mosto, lo que permite su transición a una fase anaeróbica, en la cual adopta la ruta metabólica de generación de ésteres. En contraste, un tiempo de interfase de 4,5 horas resulta insuficiente, ya que no permite el consumo completo del oxígeno disuelto ni la transición de la levadura a la fase anaeróbica, como se evidencia en la Tabla N° 4.
3. La presión del sistema debe mantenerse en 0 bar para evitar cualquier tipo de estrés en la levadura, según lo señalado en la investigación de Celio (2011). Esto es especialmente importante, ya que un aumento en la altura del líquido en el tanque incrementa la presión hidrostática, lo que a su vez eleva la presión parcial de dióxido de carbono en el sistema. Para liberar esta presión acumulada, se recomienda implementar un sistema despresurizado

que mantenga condiciones óptimas para la levadura, evitando alteraciones en su equilibrio metabólico. Esto resulta crucial, dado que un desequilibrio podría afectar negativamente la formación de compuestos volátiles, incluidos los ésteres, los cuales son determinantes para el perfil sensorial del producto.

VI. CONCLUSIONES

En concordancia con los objetivos establecidos, se concluye lo siguiente:

Se determinó que un aumento en la altura de llenado en los tanques de fermentación disminuye la generación de acetato de isoamilo, debido al impacto en el estrés de la levadura causado por las condiciones reológicas del medio. Por lo tanto, se recomienda limitar la altura de llenado a menos de 6 metros para optimizar la producción de este compuesto.

En las pruebas realizadas se cuantificaron las concentraciones de acetato de isoamilo:

Los tanques ≤ 5 metros de altura tienen una mayor generación de acetato de isoamilo, cumpliendo con la especificación según Heineken.

Los tanques $4 \leq H < 7$ metros de altura tienen la tendencia de resultados en el límite inferior de la especificación Heineken.

Los tanques ≥ 7 metros de altura tienen una menor generación de acetato de isoamilo dando valores fuera de especificación Heineken.

El tiempo óptimo de interfase para la generación de acetato de isoamilo es de 9 horas, ya que este periodo permite el consumo completo del oxígeno disuelto en el medio, promoviendo condiciones anaeróbicas favorables para la síntesis del compuesto.

La presión del sistema debe estar en 0 bar para evitar estrés de la levadura.

Contribución al Trabajo de Suficiencia Profesional (TSP)

Este trabajo contribuye a optimizar las condiciones operacionales durante la etapa de fermentación en tanques verticales, con el objetivo de mejorar la generación de acetato de isoamilo. Para ello, se propone proporcionar a la levadura condiciones adecuadas, como una presión de 0 bar, un tiempo de interfase entre cocimientos que permita su transición a la fase anaeróbica, y una altura adecuada que favorezca su movimiento reológico

VII. RECOMENDACIONES.

Teniendo en consideración la corrida de la parte experimental, se recomienda a la empresa Heineken del Perú S.A. continuar con los análisis complementarios para robustecer la optimización del trabajo, continuar con los controles que afectan a la levadura en la generación de acetato de isoamilo, como el control de presión del sistema, la temperatura de enfriamiento del mosto, una buena cosecha en el tiempo adecuado para evitar el estrés de la levadura. También se recomienda continuar con la práctica de la activación de la levadura antes de la inoculación para tener las levaduras activas.

Una recomendación a futuro: cuando los volúmenes aumenten, cambiar los tipos de tanques verticales por unos horizontales.

VIII. ANEXOS

En este apartado se muestra fotos, figuras y tablas complementarias del presente trabajo de investigación.

Figura N° 23: *Simulador para el caso de cuatro cocimientos.*

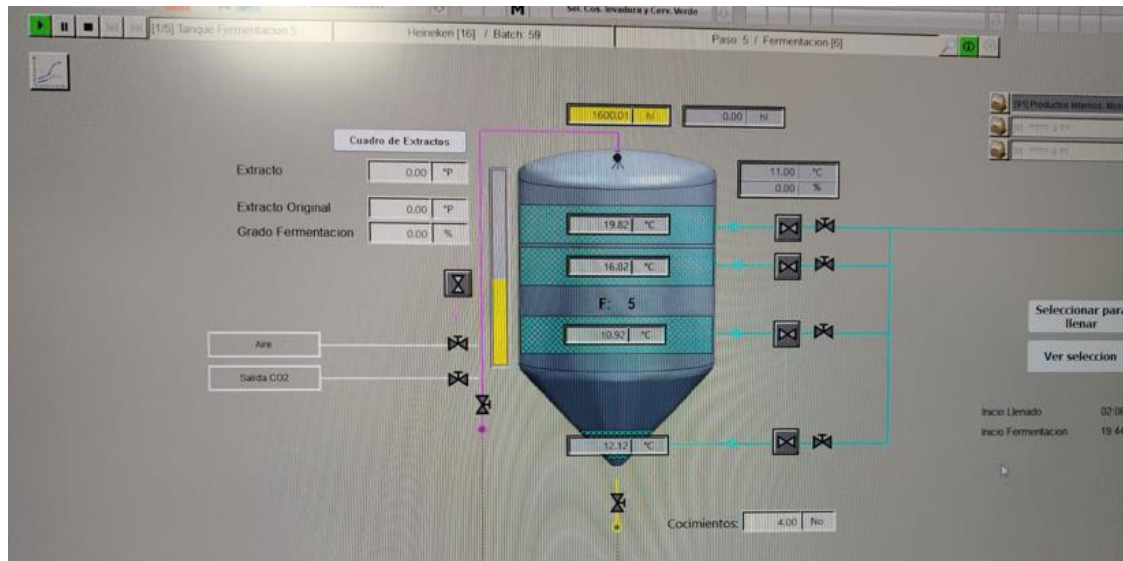


Figura N° 24: *Simulador para el caso de tres cocimientos.*

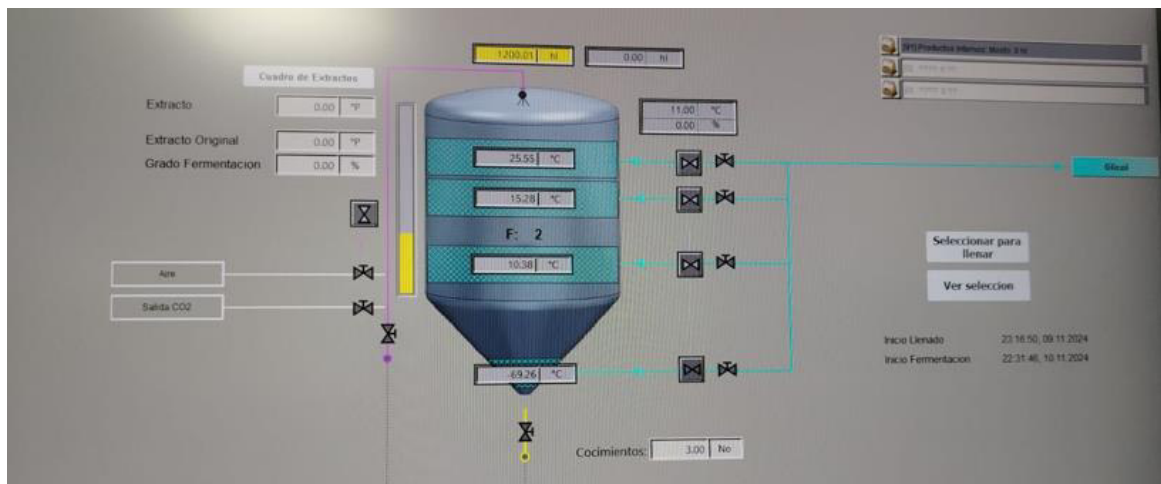


Figura N° 25: *Simulador para el caso de dos cocimientos.*

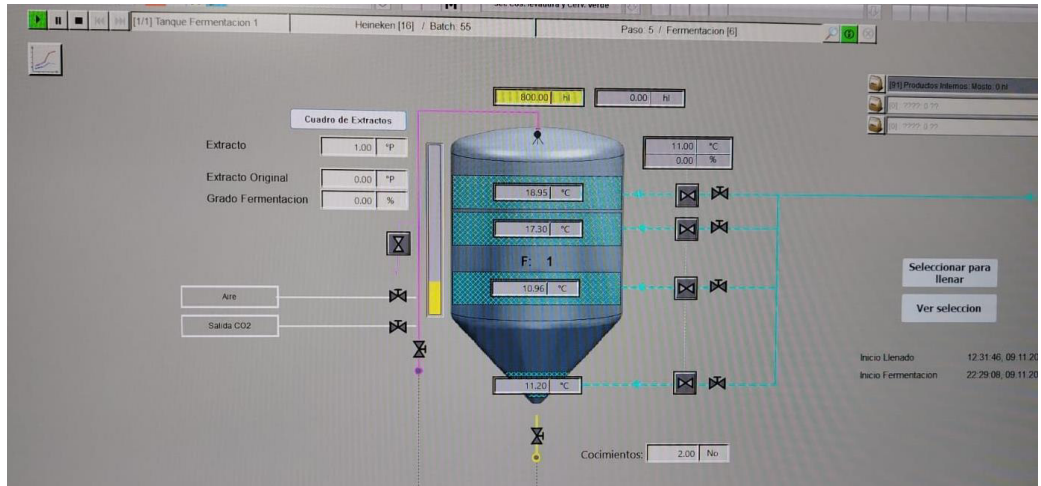


Figura N° 26: *Fermentador verticales.*



Figura N° 27: *Sistema de control de presión.*



IX. LITERATURA CITADA

- Ñañez Mouchard, I. J. (2020). *El proceso de producción de cerveza artesanal y su mejoramiento mediante técnicas de recirculación de levaduras en la etapa de fermentación*. Obtenido de CONCYTEC:
https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UTEC_34db7fbb11d0a358b02f253e20c04588/Details
- Hirst, M., & Richter, C. (2016). *Review of Aroma Formation through Metabolic Pathways of*. Obtenido de american journal of enology and viticulture:
<https://www.ajevonline.org/content/67/4/361.figures-only>
- Kunze, W. (2006). *Tecnología para cerveceros y malteros*. Berlin: VLB berlin.
- Mejia Llontop, C., & Tirado Rodriguez, C. (2022). *Reutilización de inóculo de tres fermentaciones seriadas de cerveza tipo ale sobre parámetros fermentativos, componentes volátiles e indicadores de control de calidad en el producto final*. Obtenido de Repositorio Universidad Nacional de Santa:
<https://repositorio.uns.edu.pe/handle/20.500.14278/3963>
- Quintero Vásquez, G. (2011). *Análisis de la expresión genética en la síntesis de acetato de etilo y acetato de isoamilo en Saccharomyces cerevisiae, en distintas condiciones de fermentación en el proceso cervecero*. Obtenido de Repositorio universidad autónoma de Nuevo León: <http://eprints.uanl.mx/20939/>

Rafael, R. K. (29 de 10 de 2019). *Diseño De Un Proceso De Fermentación Alcohólica*.

Obtenido de Repositorio UNJFSC:

<https://repositorio.unjfsc.edu.pe/handle/20.500.14067/4336>

Vital López, P., & Larralde Corona, C. (2015). *Metabolic responses to stress by yeasts of industrial importance*. Obtenido de Universidad Autónoma de Aguascalientes:

<https://www.redalyc.org/journal/674/67446178012/html/#:~:text=Resumen:%20La%20producci%C3%B3n%20de%20metabolitos%20y>

Zambrano Solórzano, J., & Borbor Suárez, K. C. (2014). *Utilización de una nueva cepa de levadura en el proceso de fermentación en una industria cervecera en la ciudad de Guayaquil*. Obtenido de Repositorio de ESPOL:

<https://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/25206>

Mason AB, Dufour JP. Alcohol acetyltransferases and the significance of ester synthesis in yeast. *Yeast*. 2000;16:128

Mancebo, R. (2011). *ALGUNOS PARÁMETROS A CONSIDERAR*. Obtenido de

<https://aetcm.es/wp-content/uploads/2021/05/038-043-Algunos-parametros-190.pdf>

Olvera Sumano, A. (2013). *Determinación de compuestos volátiles y semivolátiles en cerveza por microextracción en fase sólida- cromatografía de gases-espectrofotometría de masa y su relación con el perfil sensorial*. Obtenido de

<https://ru.dgb.unam.mx/bitstream/20.500.14330/TES01000695026/3/0695026.pdf>

Myagui, Celio (2011). *Heineken Production on vertical tanks*.