



Evaluación del carácter antioxidante, del contenido de compuestos fenólicos y de las propiedades sensoriales presentes en cerveza artesanal enriquecida con plantas ubicadas en la zona Andina del Ecuador.

Cubi Insuaste, Nelson Santiago

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero en Biotecnología

Mihai, Raluca Alexandra PhD.,

24 de agosto del 2023



Plagiarism report

Nelson_Cubi_Tesis_Final (1).docx



Scan details

Scan time:
August 21th, 2023 at 18:19 UTC

Total Pages:
85

Total Words:
21042

Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
Identical	0.2%	50
Minor Changes	0.4%	88
Paraphrased	2.6%	553
Omitted Words	0%	0

AI Content Detection



Text coverage

- AI text
- Human text

Plagiarism Results: (14)

TESIS DE ELABORACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL 1.3%
<http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/64271/03...>

Usuario

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES ESCUELA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIA...

Carotenoides-Propiedades antioxidantes | Radio In... 0.8%
<https://radiointegracionboliviana.com/es/pmcs-esp%C3%B1o...>

Skip to content ...

Redalyc.CONTENIDO DE FENOLES, CAFEINA Y CAPAC... 0.4%
<https://www.redalyc.org/pdf/813/81343176021.pdf>

Lazcano-Sánchez, Elidai; Trejo-Márquez, Ma. Andrea; Vargas-Martínez, Ma. Gabriela; Pascual-Bustamante, Selene

Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha ISSN: 1665-0204 rebasa@hmo.megared.net.mx Asociación Iberoamericana de Tecnología...

Certified by

About this report
help.copleaks.com

copleaks.com



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Certificación

Certifico que el trabajo de titulación: **"Evaluación del carácter antioxidante, del contenido de compuestos fenólicos y de las propiedades sensoriales presentes en cerveza artesanal enriquecida con plantas ubicadas en la zona Andina del Ecuador"** fue realizado por el señor **Cubi Insuaste, Nelson Santiago**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 09 de diciembre de 2023



**Firma digitalizada por:
RALUCA ALEXANDRA
MIHAI**

Mihai, Raluca Alexandra

C. C 1757487507



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Cubi Insuaste, Nelson Santiago**, con cédula de ciudadanía n° 0605494335, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: "**Evaluación del carácter antioxidante, del contenido de compuestos fenólicos y de las propiedades sensoriales presentes en cerveza artesanal enriquecida con plantas ubicadas en la zona Andina del Ecuador**" es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 03 de diciembre de 2023

Firma



NELSON SANTIAGO
CUBI INSUASTE

Cubi Insuaste, Nelson Santiago

C.C.: 0605494335



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Autorización de Publicación

Yo **Cubi Insuaste, Nelson Santiago**, con cédula de ciudadanía n° 0605494335, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **"Evaluación del carácter antioxidante, del contenido de compuestos fenólicos y de las propiedades sensoriales presentes en cerveza artesanal enriquecida con plantas ubicadas en la zona Andina del Ecuador"** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 03 de diciembre de 2023

Firma



Cubi Insuaste, Nelson Santiago

C.C. 0605494335

Dedicatoria

A mis padres Nelson Cubi Yanqui y Rosa María Insuaste cuya inquebrantable presencia en mi vida me ha enseñado la importancia de la fortaleza y la perseverancia. A través de los momentos difíciles, he aprendido a valorar aún más el apoyo y el amor incondicional que me han brindado.

A mis profesores y mentores, quienes me han desafiado constantemente a superar mis límites y a enfrentar los obstáculos con coraje. Sus consejos y guía han sido fundamentales para forjar mi carácter y mi determinación.

A mis amigos que han sido parte de mi camino, tanto en los momentos alegres como en los desafiantes, quiero agradecerles por enseñarme que cada experiencia, por difícil que sea, es una oportunidad para aprender y crecer.

Hoy, al graduarme, celebro no solo mi logro académico, sino también el crecimiento personal que he experimentado gracias a cada uno de ustedes. Cada desafío ha sido una oportunidad para fortalecerme y encontrar mi camino hacia el éxito.

Con gratitud hacia todos, sin excepción, hoy celebro este hito de mi vida. Gracias por ser parte de mi historia y por contribuir a mi desarrollo como persona y profesional

Con Cariño

Nelson Santiago Cubi Insuaste.

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a Dios por las adversidades y días oscuros que puso en mi vida. Estas pruebas me permitieron desarrollar las habilidades que poseo actualmente y me mostraron que siempre hay una luz al final del túnel.

A mi padre, Nelson Cubi por su arduo trabajo y apoyo económico que me permitió seguir mis estudios y concluir mi carrera. Su sacrificio ha sido fundamental en mi formación académica.

A mi madre, Rosa María Insuaste, por darme la vida por inculcarme los valores necesarios para ser una persona útil para la sociedad. Su amor y guía han sido pilares fundamentales en mi crecimiento.

A mi hermano Kelvin Ariel Cubi Insuaste, cuya perspicacia, ayuda y consejos han sido invaluable en múltiples procesos de mi vida académica y personal. Además, siempre hemos compartido momentos divertidos disfrutando de videojuegos juntos.

A mi prima Sandra Karina Chafra Cuvi, quien me brindó palabras de aliento y sustento durante los momentos más oscuros de mi vida. Gracias a su apoyo, descubrí mis habilidades para la creación, investigación y convencimiento.

A Kevin Moyon, por demostrarme que las discapacidades físicas no son barreras para cumplir mis sueños y metas. Su valentía e inspiración me impulsaron a enfrentar los desafíos con determinación.

A Shirley Fala, quien me enseñó que las dificultades familiares no deben avergonzarnos y que siempre podemos seguir adelante con valentía y fortaleza.

A la Doctora Raluca Alexandra Mihai, por brindarme una segunda oportunidad en la vida y confiar en mis habilidades. Gracias por su apoyo, he podido mejorar mis competencias profesionales y participar en proyectos de investigación.

A mis amigos Lisbeth, Lady, Galo, Cristian y Cristobal, por enseñarme que la vida no solo consiste en preocupaciones, sino también en disfrutar y compartir momentos valioso juntos.

A Carolina y Alejandro, con quienes formamos un equipo fortalecido en la búsqueda de grandes metas. Su amistad y apoyo han sido fundamentales en mi trayectoria de emprendedor.

Por último, agradezco a todos mis amigos, docentes y conocidos que han formado parte de mi vida y han contribuido a que hoy este aquí y continué en mi camino hacia la investigación y la innovación.

Sin cada uno de ustedes, este logro no habría sido posible. ¡Gracias por ser parte de mi vida y apoyarme en este emocionante viaje académico!

Con gratitud,

Nelson Santiago Cubi Insuaste

Índices de contenidos.

Resumen	18
Abstract.....	19
Capítulo I: Introducción	20
Antecedentes.	20
Justificación del problema.	23
Objetivos del proyecto	24
Objetivo general.....	24
Objetivos específicos.	24
Hipótesis del proyecto.	24
Capítulo II: Marco Teórico.....	25
Cerveza Artesanal.....	25
Materias primas empleadas en la elaboración de cerveza.....	26
Malta y el proceso del malteado.....	26
Agua.	28
Lúpulo (<i>Humulus lupulus</i>)	28
Levadura.....	29
Adjuntos.....	31
Métodos de lupulado.	32
Dry Hopping (HD)	33
Compuestos bioactivos y composición nutricional de la cerveza.	34
Compuestos fenólicos y melanoidas como antioxidantes naturales.....	36
Compuestos fenólicos en la cerveza.....	36

	10
Melanoidinas.....	37
Capacidad antioxidante en cerveza.....	38
Afectaciones a la capacidad fenólica y antioxidante de la cerveza.	39
Material vegetal.....	40
Moringa oleifera L.....	40
□ Fotoquímicos de la Moringa oleífera.....	41
Ishpingo (<i>Ocotea quixos</i> K.).....	42
□ Fotoquímicos del Ishpingo (<i>Ocotea quixos</i> K.).....	43
Arrayán (<i>Luma apiculata</i> B.).....	44
Café (<i>Coffea arabica</i> L.).....	44
□ Fotoquímicos del Café (<i>Coffea arabica</i> L.).....	46
Capacidad antioxidante de las plantas.	46
Moléculas antioxidantes no enzimáticas en plantas.....	48
Ácido ascórbico.....	48
Tocoferol.....	49
Compuestos fenólicos.....	50
Carotenoides.	51
Proceso de fermentación de la cerveza.....	52
Levadura y biotransformación.	53
Panorama de los antioxidantes en la cerveza.....	54
Fortalezas y debilidades de la adición botánica.....	55
Aspectos positivos:	57
Aspectos negativos:.....	57

	11
Pruebas hedónicas en cerveza.	58
Pruebas hedónicas.	58
Capítulo III: Metodología	60
Responsable del proyecto	60
Localización geográfica	60
Periodo de investigación	60
Obtención de las muestras vegetales para la elaboración de la cerveza.	60
Fermentación de la cerveza artesanal con y sin plantas seleccionadas.	60
Contenido de fenoles totales – método Folin – Ciocalteau	61
Contenido de flavonoides totales – método con $AlCl_3$	61
Determinación de la capacidad antioxidante	62
Determinación de carácter antioxidante por método DPPH (capacidad reductora del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)	62
Determinación del carácter antioxidante por el método ABTS (capacidad antioxidante mediante la reacción del radical ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico).	62
Determinación del carácter antioxidante por el método FRAP	63
Análisis estadístico	63
Factores de estudio	64
Unidad experimental	64
Tratamientos.....	64
Anova para determinar la evaluación sensorial.	66
Tamaño de muestra:	66
Nivel de significancia:	66

	12
□ Variables:	66
Cuantitativas:.....	66
Capítulo IV: Resultados.....	67
Elaboración y formulación de las cervezas.....	67
Fermentación de las cervezas artesanales.	68
Almacenamiento	68
Carbonatación:	69
Embotellado:.....	69
Preparación de las muestras para el análisis.....	69
Evaluación del carácter antioxidante.	70
Determinación del carácter antioxidante por el método DPPH.	70
Determinación del carácter antioxidante por el método ABTS.....	73
Determinación del contenido de flavonoides totales.....	84
Resultados de anova de pruebas hedónicas.	87
Capítulo V: Discusión.....	91
Capítulo VI: Conclusiones y recomendaciones	97
Recomendaciones.....	97
Bibliografía.....	98
Apéndices	110

Índice de tablas

Tabla 1 <i>Diseño experimental factorial 2x5 de las 5 cervezas para la determinación de compuestos fitoquímicos: fenoles totales (TPC) y flavonoides totales (TFC)</i>	64
Tabla 2 <i>Diseño experimental factorial 3x5 para determinar el carácter antioxidante.</i>	65
Tabla 3. <i>Esquema de un anova para el diseño factorial mixto 3x5.....</i>	66
Tabla 4 <i>Nomenclatura de las cervezas elaboradas y evaluadas de las especies: Moringa oleífera L.; Ocotea quixos K.; Luma apiculata B. y Coffea arabica L.</i>	67
Tabla 5. <i>Nomenclatura de las cervezas que se evaluaron usando las categorías establecidas por las pruebas hédonicas: NM (Cerveza de Moringa oleífera L.); ISH (Cerveza de Ocotea quixos K.); AR (Cerveza de Luma apiculata B.), RP (Cerveza de Coffea arabica L.) y AM (Cerveza de arroz).....</i>	87

Índice de figuras

Figura 1. <i>Elaboración de las cinco cervezas artesanales.</i>	68
Figura 2. <i>Fermentación de la cerveza artesanal.</i>	68
Figura 3. <i>Diluciones de muestras de las cervezas artesanales.</i>	69
Figura 4. <i>Método DPPH aplicado a las diluciones (1:6) de muestras de cervezas artesanales.</i>	70
Figura 5. <i>Capacidad antioxidante (% inhibición) de muestras de cervezas artesanales por método DPPH.</i>	71
Figura 6. <i>Anova de los datos de las cervezas artesanales que presentan actividad antioxidante</i>	72
Figura 7. <i>Prueba de Shapiro-Wilks de las cervezas artesanales.</i>	72
Figura 8. <i>Análisis de Varianza (anova) para comprobar la homocedasticidad de los datos.</i>	72
Figura 9. <i>Gráficas del test de independencia de factores.</i>	73
Figura 10. <i>Método ABTS aplicado a las diluciones (1:6) de las muestras de cervezas artesanales.</i>	74
Figura 11. <i>Capacidad antioxidante (% inhibición) de muestras de cervezas artesanales por método ABTS.</i>	74
Figura 12. <i>Anova de los datos de las cervezas artesanales que presentan actividad antioxidante mediante el método ABTS.</i>	75
Figura 13. <i>Prueba de Shapiro-Wilks de las cervezas artesanales.</i>	76
Figura 14. <i>Análisis de Varianza (Anova) del método ABTS para comprobar la homocedasticidad de los datos.</i>	77
Figura 15. <i>Gráficas del test de independencia de factores.</i>	77
Figura 16. <i>Método FRAP aplicado a diluciones (1:6) de las cervezas artesanales.</i>	78

Figura 17. <i>Potencial reductor del ión férrico de muestras de cerveza artesanal.</i>	79
Figura 18. <i>Anova de los datos de las cervezas artesanales que presentan actividad antioxidante mediante el método FRAP.</i>	79
Figura 19. <i>Análisis de varianza no paramétrica del potencial reductor del ión férrico por el método FRAP.</i>	80
Figura 20. <i>Comparación de medianas del potencial reductor por el método FRAP.</i>	81
Figura 21. <i>Ensayo Folin-Ciocalteu aplicado a diluciones (1:6) de las diferentes muestras de cervezas artesanales.</i>	81
Figura 22. <i>Contenido de fenoles totales (TPC) de muestras de cerveza artesanal por método Folin-Ciocalteu.</i>	82
Figura 23. <i>Anova de los datos de las cervezas artesanales que presenta el contenido total de fenoles mediante el método Foli-Ciocalteu.</i>	83
Figura 24. <i>Análisis de varianza no paramétrica del contenido total de fenoles por método Folin-Ciocalteu.</i>	84
Figura 25. <i>Comparación de medianas del contenido de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu.</i>	84
Figura 26. <i>Ensayo de $AlCl_3$ aplicado a diluciones (1:6) de las muestras de cerveza.</i>	85
Figura 27. <i>Contenido de flavonoides totales (TFC) de diluciones (1:6) de las muestras de cerveza artesanal por ensayo $AlCl_3$</i>	85
Figura 28. <i>Anova de los datos de las cervezas artesanales que presenta el contenido flavonoides.</i>	86
Figura 29. <i>Análisis de varianza no paramétrica del contenido total de flavonoides por el ensayo $AlCl_3$</i>	87
Figura 30. <i>Resultados de las pruebas hedónicas de las cinco cervezas artesanales presentadas en este estudio.</i>	88

Figura 31. <i>Anova de las pruebas hedónicas de la puntuación de olor de las cervezas artesanales.</i>	88
Figura 32. <i>Anova de las pruebas hedónicas de la puntuación de color de las cervezas artesanales.</i>	89
Figura 33. <i>Anova de las pruebas hedónicas de la puntuación de sabor de las cervezas artesanales.</i>	89
Figura 34. <i>Anova de las pruebas hedónicas de la puntuación de textura de las cervezas artesanales.</i>	89

Índice de abreviaturas

g gramo

mg miligramo

L litros

mL mililitros

h hora

fw muestra fresca

TFC Contenido total de fenoles

TPC Contenido total de flavonoides

QE Equivalentes de quercetina

GAE Equivalentes de ácido gálico

Resumen

Desde 1960 se inició estudios de los efectos de los antioxidantes (moléculas que roban un electrón y previenen el daño celular) en la salud, su relación con el estrés oxidativo y como las enfermedades (fallo cardiaco, daños cerebrales y ciertos tipos de cáncer) aparecen siendo resultado del mismo. El mercado de los antioxidantes creció de 1 a 6%, porque los millenias exigen alimentos basados en plantas. Ecuador no posee bebidas ni alimentos con carácter antioxidante, solo tienen bebidas de fermentación (cerveza). El cambio climático ha provocado que el producto baje su calidad y aumente su precio. Por ello se busca implementar plantas endémicas como la *Moringa oleífera* L.; *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm; *Luma apiculata* B. y *Coffea arabica* L. (material vegetal) a la cerveza. La cerveza artesanal, presenta capacidad antioxidante; las materias que conforman son la cebada malteada, agua, levadura y el lúpulo. La cerveza de Café arrojó valores de 58,81% de inhibición de radicales libres para DPPH, un 55,69% de inhibición de radicales libres en ABTS, 5,72 Red Act. Mg FeSO₄ ml para prueba Frap, para ensayo Folin-Ciocalteu arrojó un valor de 1,03 mgGAE/ml y para flavonoides dio un valor de 0,031 TFC (mg/ml), demostrando que la cerveza que tiene un alto perfil antioxidante fue la cerveza de café que al mismo tiempo tuvo una de las mayores puntuaciones en la cata realizado.

Palabras clave: Cerveza artesanal, carácter antioxidante, fenoles, flavonoides.

Abstract

Since 1960, studies were initiated on the effects of antioxidants (molecules that steal an electron and prevent cell damage) on health, their relationship with oxidative stress and how diseases (heart failure, brain damage and certain types of cancer) appear to be the result of oxidative stress. The antioxidant market grew from 1 to 6%, because millennials demand plant-based foods. Ecuador does not have beverages or foods with antioxidant character, they only have fermentation beverages (beer). Climate change has caused the product to lower its quality and increase its price. For this reason, endemic plants such as *Moringa oleifera* L.; *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm; *Luma apiculata* B. and *Coffea arabica* L. (plant material) are being used in beer. Craft beer has antioxidant capacity; the materials that make up the beer are malted barley, water, yeast and hops. Coffee beer yielded values of 58.81% inhibition of free radicals for DPPH, 55.69% inhibition of free radicals in ABTS, 5.72 Red Act. Mg FeSO₄ ml for Frap test, for Folin-Ciocalteu test it gave a value of 1.03 mgGAE/ml and for flavonoids it gave a value of 0.031 TFC (mg/ml), demonstrating that the beer that has a high antioxidant profile was the coffee beer which at the same time had one of the highest scores in the tasting performed.

Keywords: Craft beer, antioxidant character, phenols, flavonoids.

Capítulo I: Introducción

Antecedentes.

Los avances científicos en medicina sorprenden tanto en el conocimiento de enfermedades como en su tratamiento y sus complicaciones. En años recientes, ha habido un interés en temas relacionados con estrés oxidativo, radicales libres, especies reactivas de oxígeno y antioxidantes (Gutiérrez , 2002).

Desde la década de 1960 se inició el estudio de los efectos de los antioxidantes en la salud, su relación con el estrés oxidativo y en consecuencia con las enfermedades que aparecen como resultado (Trujillo Hernández, 2019) del mismo (estrés oxidativo: es un desbalance entre las sustancias oxidantes y pro-oxidantes). Este daño oxidativo causado por los radicales libres se relaciona con una amplia gama de enfermedades y desordenes incluyendo fallo cardiaco, inflamaciones, cataratas, daños cerebrales (Bohorquez Fajardo, 2016), ciertos tipos de cáncer (debido a mutaciones que producen en el ADN y a que favorecen la proliferación celular al alterar factores de transcripción), patologías asociadas a un deterioro cognitivo, como el Alzheimer, envejecimiento prematuro, etc. (Pérez Jiménez, 2015)

Frente a estas sustancias pro-oxidantes y sus efectos, un antioxidante puede ser definido como moléculas con capacidad de oxidación (robo de un electrón), que previene el daño celular al neutralizar los radicales libres mediante el consumo de alimentos ricos en antioxidantes (Pérez Jiménez, 2015). Esto fue aclarado en 1992 al realizar un estudio evaluando la incidencia de enfermedad coronaria en la población francesa que poseía una dieta alta en grasas saturadas. Los resultados sorprendieron a Renaud y de Lorgeril ya que observaron una baja incidencia de esta enfermedad y lo atribuyeron al consumo moderado de vino. Este estudio representa evidencia epidemiológica de que los antioxidantes pueden prevenir e incluso tratar estas enfermedades (Repilado Álvarez, 2016).

Los compuestos fenólicos o fenoles poseen su origen en el mundo vegetal, estos son sintetizados por las plantas y regulados genéticamente, contribuyen a la pigmentación de muchas partes de la planta y estos se hallan en casi todos los alimentos de origen vegetal, la cebolla, el té, el vino tinto, cacao, el aceite de oliva virgen, son alimentos ricos en fenoles.; estas sustancias intervienen en la calidad, aceptabilidad y estabilidad de los alimentos, porque actúan como colorantes, antioxidantes y proporcionan sabor (Creus, 2004).

En 2020, el mercado de los colorantes naturales y el mercado de antioxidantes a nivel mundial se estimaron en 1,3 billones de dólares estadounidenses hoy, este mercado está valorado en aproximadamente 7,7 billones de dólares estadounidenses y se espera que crezca a una CAGR de aproximadamente 6% para el período 2021-2026. Con el mercado europeo como principal protagonista y en que Sudamérica sería la región que más rápido crecería debido a su población millenials demandando más alimentos basados en plantas (Pino & Vergara, 2022). Ecuador no posee un registro de productos alimenticios ni de bebidas con carácter antioxidante, aun así, se sabe que la industria de alimentos y bebidas en el 2021 y tras una recuperación económica relacionada a la coyuntura sanitaria del 2019 y 2020, el total de ventas en este sector se incrementó y representó el 42,8% de los ingresos generados en el país (Mucho mejor Ecuador, 2022).

La fermentación espontánea de alimentos y bebidas ha sido practicada tradicionalmente por muchas culturas en América del Sur. En Ecuador, los métodos de fermentación intervinieron en la localidad con una cantidad significativa de alimentos fermentados consumidos durante generaciones, incluidos el cacao, el café y bebidas como la chicha, el chaguarmishqui y el champus (Guerra, Cevallos Cevallos, & Ruales, 2022).

En 1886 en Ecuador se comienza con la producción de un fermentado consumido a nivel mundial la cerveza, es gracias a los Sres. Martín Reimberg Dendder y Leonardo Stagg Flores que se establece en la ciudad de Guayaquil la Lager Beer Breweries Association, primera fábrica de cerveza en esta ciudad, pero existe un registro histórico de que esta

industria inicio en nuestro país en el año 1566, con Fray Francisco Jodoco Rique, siendo figura del convento de San Francisco, quien llego de Flandes, ahora Bélgica, convirtiéndola en la primera en Latinoamérica por lo que podemos decir que esta bebida está relacionada a nuestra historia y cultura (Martínez Gómez, 2015). De acuerdo con el INEC-2018(Instituto Nacional de Estadísticas y Censos) más de 900 mil personas consumen alcohol, de este porcentaje el 79,2 tiene gusto por la cerveza ante que las demás bebidas alcohólicas (Brush & Almeida, 2019), esto sumado a la producción de cebada que está en auge en la región interandina dota de todas las facilidades para que se fortalezca la producción. Además hay una mención de apoyo al desarrollo de la industria cerveza artesanal, esta se menciona en el art. 311 de la Constitución citando: “el sector financiero popular y solidario se compondrá de cooperativas de ahorro y crédito, y bancos comunales, y que las iniciativas de servicios del sector financiero popular y solidaria de las micro, pequeñas y medianas unidades productivas, recibirán un tratamiento diferenciado y preferencial del Estado, en medida que impulsen el desarrollo de la economía popular y solidaria” (Hormaza Muñoz , 2020).

También hay que recalcar que la Asociación de Cervecerías del Ecuador (Asocerv), instituida en el año 2013, ha fortalecido el sector productivo mediante el apoyo a los emprendimientos cerveceros, esto lo ha realizado con el impulso del concurso la Copa Artesanal de Cerveza mitad del Mundo; este concurso permite premiar la cerveza artesanal nacional e internacional, a través de un tribunal calificativo experto en la catación de este tipo de bebidas. Otra actividad a destacar es la realización de congresos y capacitaciones, con la presencia de expositores expertos para que se fortifique esta área y abarcan también la promoción y generación de exhibiciones a nivel nacional que promueven esta bebida que es la cerveza artesanal (Hormaza Muñoz , 2020).

Justificación del problema.

Desde el año 2000 Ecuador no cuenta con una moneda propia, esta política permitió una estabilización de la economía nacional; sin embargo, esto causó la dependencia del país al ingreso de divisas generado por las exportaciones y el uso de las mismas para importar otras materias primas que no son producidas en el país. Para elaborar cerveza artesanal se utilizan una gran variedad de materias primas que son importadas, esta problemática justifica el análisis que identificó aquellas materias primas locales que pueden ser empleadas con el fin de mejorar los costos de producción (Peralta Bustamante , 2020).

Además, el cambio climático ha jugado un papel importante en las cosechas de cebada a nivel de Canadá y EE.UU ya que estas han sufrido de sequías y en Europa estas cosechas han sufrido de inundaciones por exceso de lluvia lo que provocó la reducción del volumen total disponible de cebada cervecera en Europa en un 30% más bajo de lo habitual. Los periodos húmedos en Europa han provocado un mal crecimiento de la cebada, dando como resultado granos más pequeños en comparación con años anteriores, como consecuencia de este escenario se producirá un incremento en el precio y una probable disminución de la calidad de la malta (Store, 2022).

Por lo que con este proyecto se busca la implementación de plantas endémicas del Ecuador tomando en cuenta sus características organolépticas y sus propiedades medicinales que en conjunto con el lúpulo sean capaces de otorgar aromas y amargores óptimos propios de una cerveza artesanal permitiendo que se llegue a la calidad calificada por la BJCP, a más de ello transferir sus propiedades antioxidantes a dicha bebida (Rivera Jara & Naula Cepeda , 2019).

Por otro lado, se pretende obtener una bebida con identidad nacional, capaz de abrir nuevas puertas para el desarrollo productivo nacional, incrementando la manufactura y uso de materias primas nacionales, creando una cultura gastronómica con identidad patrimonial (Rivera Jara & Naula Cepeda , 2019).

Objetivos del proyecto

Objetivo general.

Evaluar el carácter antioxidante, el contenido de compuestos fenólicos y las propiedades sensoriales presentes en cerveza artesanal enriquecida con plantas ubicadas en la zona Andina del Ecuador.

Objetivos específicos.

- Elaborar una cerveza artesanal de moringa, una cerveza artesanal de café, una cerveza artesanal de ishpingo, una cerveza artesanal de arrayán y una cerveza artesanal convencional que no requiera adición alguna de estas plantas.
- Cuantificar el carácter antioxidante de cada cerveza artesanal empleando los siguientes métodos: FRAP (capacidad de reducción férrica del plasma), DPPH (capacidad reductora del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) y ABTS (capacidad antioxidante mediante la reacción del radical ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico).
- Cuantificar los compuestos fenólicos de cada cerveza artesanal con el método colorimétrico de $AlCl_3$ y el ensayo Folin-Ciocalteu respectivamente.
- Comparar las propiedades sensoriales de las cinco cervezas artesanales mediante pruebas hedónicas.

Hipótesis del proyecto.

Las cervezas artesanales enriquecidas con plantas ubicadas en la zona Andina del Ecuador presentaran capacidad antioxidante, contenido total de fenoles y valores de las propiedades sensoriales significativamente mayores que la cerveza artesanal sin plantas.

Capítulo II: Marco Teórico.

Cerveza Artesanal.

La cerveza artesanal es una bebida alcohólica consumida a nivel mundial, últimamente la parte nutricional de la cerveza ha tomado mucha relevancia debido al contenido de compuestos antioxidantes y los bajos niveles de etanol que esta presenta (Salanță , et al., 2020).

La mayoría de compuestos valiosos de la cerveza (aminoácidos, vitaminas, minerales y compuestos fenólicos), juegan un papel dentro de la dieta humana, proviniendo estas de las materias primas básicas (Borsa , et al., 2022). Las materias primas convencionales incluyen malta, granos de cebada, lúpulo, agua y levadura, en diversas porciones. Los compuestos fenólicos que se hallan en la cerveza se originan en la malta (70-80%) y el lúpulo utilizados en la elaboración de esta bebida (Coelho Silva , Pereira Dos Anjos , Nani Guarierio , & Souza Machado , 2021).

Los compuestos antioxidantes principales de la cerveza son los compuestos fenólicos y las melanoidinas (estas se forman durante la reacción de Maillard), además si se usan aditivos antioxidantes en la cerveza uno de los principales es la vitamina C lo que este puede contribuir en gran medida a su capacidad antioxidante (Neven, Vanderhaegen , Verachtert, & Derdelinckx, 2005)

La composición polifenólica influye en el sabor, color, espuma, turbidez, amargor y también en las propiedades coloidales y sensoriales, además de la estabilidad y en la vida útil de la misma, por lo que se puede decir que el tipo y la cantidad de compuestos fenólicos presentes en las cervezas le atribuyen un indicador de calidad en el procesamiento y en su comercialización (Zhao, 2015) (Socha, 2017).

El uso de especias en las cervezas artesanales puede mejorar las texturas, sabores y aromas, aumentando así el contenido de compuestos bioactivos y la estabilidad oxidativa (eliminando radicales en los sistemas biológicos) (Nunes Filho, et al., 2021). Varios estudios

han asociado el consumo de alimentos y bebidas ricos en compuestos fenólicos (incluyendo el consumo moderado de bebidas alcohólicas con bajo contenido de etanol) con beneficios para la salud de los consumidores, como prevención de enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer y prevención de otras enfermedades relacionadas con el envejecimiento (Coelho Silva , Pereira Dos Anjos , Nani Guarierio , & Souza Machado , 2021). Estos productos denominados “nutracéuticos” son emergentes, aceptables y deseados en el mercado actual (Nunes Filho, et al., 2021).

Las cervezas artesanales se pueden clasificar según su proceso de fermentación en dos la primera son las Lager, son el tipo de cerveza más consumida, que se producen por baja fermentación y suelen efectuarse entre 6 a 15°C. Mientras que el otro tipo de cerveza son las Ale que se producen mediante fermentación alta, estas se realizan entre los 16 y 24°C, después de lo cual las células de las levaduras ascienden a la superficie del medio de fermentación formando así una película espesa que no se puede eliminar por completo. Y por último las cervezas lambic que es el resultado de una fermentación espontánea (Martinez Gomez , Caballero , & Blanco , 2020).

La elaboración de cerveza artesanal es un proceso extremadamente complicado, ya que en ella intervienen demasiadas variables, la química y bioquímica involucrada en ella son muy complejas. Por lo cual las composiciones y concentraciones de sustancias reductoras cambian constantemente a lo largo del proceso; las materias primas y los tratamientos que se aplican también son una fuente de variación. Los pasos de procesamiento térmico siempre incitan cambios importantes en el contenido fenólico individual de la malta. Las altas temperaturas inducen la degradación de compuestos fenólicos (incluidos los ácidos fenólicos) o su polimerización (como las proantocianidinas) (Inns, Buggey , Booer, Nursten, & Ames, 2011).

Materias primas empleadas en la elaboración de cerveza.

Malta y el proceso del malteado.

Se pueden germinar varios granos (maíz, arroz, cebada, trigo, sorgo). El grano principal utilizado en la producción de cerveza artesanal y comercial es la cebada porque contiene la cantidad óptima de almidón, la sustancia que forma el extracto fermentable. También contiene proteínas, normalmente suficientes para proporcionar aminoácidos esenciales para el crecimiento de la levadura, y sustancias nitrogenadas que juegan un papel importante en la formación de espuma (Suarez Diaz , 2013).

La *Hordeum vulgare* (cebada) es una planta gramínea anual, originaria de Asia, existen dos variedades de cebada, la primera es la cebada cervecera de dos carreras (*Hodemum distichum*) que presentan dos hileras de semillas y la cebada de seis carreras (*Hodeum dexastichum*) con seis hileras de semillas. La diferencia entre estas dos se presenta en que la cebada de dos hileras es adecuada para la elaboración de cerveza porque posee más azúcares fermentables y tiene menos proteína, en cambio la cebada de seis carreras puede ser usada ya que esta convierte más que su propio peso de grano sin maltear, el pequeño inconveniente es que al igual que el maíz, arroz o el sorgo se requiere maquinaria para realizar filtración porque esta presenta problemas de clarificación por su contenido en proteínas (Ferreyra, 2014).

El proceso de malteado se centra principalmente en la germinación parcial y el secado del grano. Cuando las condiciones de germinación son las adecuadas, el embrión segrega ácido giberélico, que activa las enzimas que descomponen las proteínas y los almidones en formas más solubles y metabolizables. Los congeladores controlan este proceso midiendo el tamaño del germen (brote). Luego, la malta se coloca en un horno donde se calienta para detener la germinación. Dependiendo de la temperatura y el tiempo de secado se obtienen diferentes maltas. Se dividen en dos grandes categorías: maltas básicas o maltas especiales. La malta base es indispensable en la elaboración de cerveza (Ferreyra, 2014). Se secan a una temperatura de 40 a 60 °C, lo que permite reactivar las enzimas en la fase de maceración. Es decir, son maltosas, ricas en enzimas que descomponen el almidón. Las maltas especiales se utilizan para dar a la cerveza un color específico (amarillo, rojo,

marrón, negro), sabor y aroma (pan, malta, chocolate, tostado, café, etc.) y no se ven afectadas por las enzimas de sacarificación. Este tipo de malta se seca a una temperatura más alta (90-250 °C), lo que favorece las reacciones de caramelización y tostado, la formación de pigmentos llamados melanoides y la síntesis de aromas (Suarez Diaz , 2013).

Agua.

El agua constituye el 85% de la composición final del producto y se utiliza en el proceso de remojo en los equipos de germinación, maceración y limpieza, el agua utilizada le dará sabor a la cerveza y la duración de las diferentes etapas, ya que el agua alcalina o neutra hará que la maceración sea más prolongada. Si es agua ultrapura, carecerá de oligoelementos como el calcio o el fósforo, lo que inhibirá el crecimiento de la levadura, y esta agua también afectará negativamente al grano durante el proceso de germinación, provocando el colapso de las células de la planta. La temperatura durante la germinación limitará la penetración en el endospermo, ya que demasiado rápido (en agua caliente) puede producir subproductos malolientes o, por el contrario, usar agua demasiado fría significa una penetración lenta, prolongando el proceso. El requisito mínimo para el agua de cerveza es que toda el agua utilizada debe ser potable (química y biológicamente segura). Además, debe ser incoloro y tener un equilibrio mineral que coincida con el carácter de la cerveza que se produce (Verdu, 2016).

Dentro de los perfiles cerveceros se puede mencionar que para elaborar cervezas oscuras se usa agua dura (agua que contiene más minerales que un agua normal) y en la elaboración de cervezas claras se usan aguas blandas (aguas aptas para el consumo humano) (Diaz Alulema , 2018).

*Lúpulo (*Humulus lupulus*)*

Es una planta trepadora perteneciente a la familia del cáñamo, cuyas flores secas se utilizan para aportar amargor, sabor, aroma y sabor a la cerveza. Dentro de las flores hay glándulas amarillas llenas de una resina llamada lupinina, que es el ingrediente activo que usan los

cerveceros. El lúpulo ayuda a conservar la cerveza debido a sus propiedades antimicrobianas, y otra función importante es brindar amargor ya que compensa el dulzor de la malta, ayudando con la formación de espuma y la retención; que contienen polifenoles, reaccionan con las proteínas de malta no deseadas y no las disuelven para que puedan filtrarse o precipitarse. Dependiendo del tipo de lúpulo y de cómo se agreguen durante el procesamiento, pueden producir sabor y aroma de diferentes maneras, además de tener beneficios para la salud (Alvarez Quinto , 2020)

Dentro de la composición del lúpulo tenemos materias nitrogenadas (17,5%), materias no nitrogenadas (27,5%), celulosa bruta (13,3%), aceites esenciales (0,4%), taninos (3%), resinas (18,3%), agua (12,5%), cenizas (7,5%) se menciona los componentes significativos para la cerveza que son las resinas, los taninos o polifenoles y los aceites esenciales, que son encontrados en la lupulina. Las resinas en el lúpulo fresco son llamadas resinas blandas estos están compuestos por grupos químicos que dotan de amargor a la cerveza, ayudan a la generación de espuma y permiten que la cerveza tenga una vida útil más alargada (Alvarez Quinto , 2020) (Silva, 2007).

Debemos mencionar que dentro de los componentes de la resinas del lúpulo se encuentran los α -ácidos, que representan entre el 2 y 15% según la variedad del lúpulo y los β -ácidos (Alvarez Quinto , 2020).

Los α -ácidos se hallan en mayor concentración en el mosto y en menores concentraciones en la cerveza, esto sucede a que durante la ebullición del mosto en el proceso de elaboración se produce la isomerización térmica de los α -ácidos y los *iso*- α -ácidos. Dicha isomerización no es muy eficiente, solo el 50% de los α -ácidos se isomerizan y menos del 25% del potencial de amargos originales se mantienen en la cerveza. Aproximadamente el 80% del sabor amargo se debe a los *iso*- α -ácidos (Alvarez Quinto , 2020).

Levadura

Son organismos vivos unicelulares pertenecientes al reino de los hongos, su principal fuente de alimentación son los azúcares que provienen de la malta, esas levaduras toman a estos azúcares y los convierten en alcohol y CO₂. El transcurso de fermentación se ejecuta en ausencia de oxígeno. Las levaduras usadas para la elaboración de la cerveza son de dos tipos, la primera es la levadura ALE que fermentan a temperaturas que oscilan entre 14 y 25 °C, la segunda levadura es la levadura LAGER que fermenta a temperaturas más bajas de 6 a 10 °C, el uso de estas levaduras puede otorgar sabores y olores diferentes a las cervezas. Por lo general las cervezas industriales para mantener una cerveza limpia usan levaduras LAGER y en cambio las cervecerías artesanales usan las levaduras ALE, porque facilitan la fermentación al poder mantener el equipo de fermentación a una temperatura de 14 a 25 °C y no necesita de refrigeración para llevar a temperaturas bajas 10 °C (Carvajal Martínez & Insuasti , 2010).

En el proceso de fermentación de la cerveza se presentan dos fermentaciones: la primera se realiza en el equipo fermentador primario en donde se genera cierta un aproximado 3 grados alcohólico por litro de cerveza verde y la segunda fermentación que se desarrolla en el interior de la botella ámbar, en donde al adicionar dextrosa o azúcar de mesa a la botella permite la generación de alcohol y gas (Carvajal Martínez & Insuasti , 2010)

Existe una diversidad de levaduras que pueden otorgar características diferentes e individuales sabores que pueden ser un juego al paladar, pero dentro de las las levaduras usadas en la elaboración de cervezas artesanales se clasifican en:

- ❖ *saccharomyces cerevisiae*
- ❖ *saccharomyces uvarum*

La *cerevisiae* es la que realiza su fermentación a temperatura ambiente por eso se dice que realiza fermentación alta aparte de que sus levaduras al terminar terminan flotando sobre el líquido ya biotransformado y la *uvarum* provoca una fermentación baja porque este proceso lo realiza a bajas temperaturas y las levaduras al final terminan en el fondo del fermentador. El resto de especies de levaduras se clasifican dentro del grupo de levaduras salvajes como

son la *candida*, *pichia*, *cloequera*, *pongue*, etc. por lo general estas levaduras dañan a la cerveza provocando malos sabores y olores desagradables. La levadura presenta una forma esférica con dimensiones de un diámetro de 2 a 8 μm y una longitud de 3 a 15 μm . Además, estas están conformadas por un 75% de agua y dentro de sus constituyentes posee de un 90 a 95 % de materia orgánica, la cual se puede clasificar en un 45% de carbohidratos, 5% de materias grasas y un 50% de materias nitrogenadas, siendo las más importantes en las nitrogenadas las proteínas y en menos cantidad las vitaminas, en la materia inorgánica se puede mencionar que tiene de un 5 a 10% de sodio, fosforo, magnesio, potasio, hierro, zinc, azufre y tiene un 8% de grasas (Carvajal Martinez & Insuasti , 2010)

Adjuntos

Aparte de los ingredientes principales como el agua, la malta, el lúpulo y la levadura se pueden añadir a las cervezas componentes amiláceos que se puedan transformar en azúcar por la acción de una digestión enzimática. Los amiláceos son amilasas que contienen almidón y que en su estructura presentan cadenas de 24 a 30 moléculas de glucosa por lo general se ramifican en un polímero de 2000 a 3000 moléculas, estos, los amiláceos se pueden encontrar generalmente en tubérculos y cereales (Alvarez Quinto , 2020)

Hace milenios que la yuca, el maíz, la papa, el arroz, el sorgo, la avena, el trigo y el mijo han sido usados como fuentes de carbohidratos ya que presentan azúcares reductores facilitando así la fermentación espontánea. La fuente de carbohidrato puede influir en la elaboración de la cerveza, el maíz puede ser usado lo que permitirá reducir el contenido de proteínas y leucoantocianinas, generando así cervezas sin turbidez, pero si lo comparamos con las otras fuentes de carbohidratos vemos que el trigo realiza un efecto contrario ya que este aumenta la proteína generando turbidez pero no todo está mal ya que este permite el aumento de la espuma si se añaden copos de arroz aumentara alcohol y cuerpo a la cerveza esta fuente de carbohidrato no afectara al sabor, ni al sabor ni al color mejor

gracias a su alto contenido de nitrógeno permitirá que las cervezas sean más claras. Una fuente de carbohidratos que genera el mismo efecto que el trigo son los copos de avena. Se puede mencionar que el centeno permite una mejor coloración de las cervezas otorgándole un color rojizo (Alvarez Quinto , 2020).

Métodos de lupulado.

El lúpulo es la inflorescencia femenina de la planta *Humulus lupulus L.*, los conos de esta planta tienen tricomas glandulares conocidos como glándula lupulina donde se acumulan metabolitos secundarios de interés para la elaboración de cerveza. Estos metabolitos son aceites esenciales principalmente terpenos, sesquiterpenos y sus análogos oxigenados, terpenoides y sesquiterpenos, compuestos fenólicos, alfa-ácidos y beta-ácidos. Los conos son usados en la cerveza ya que mejoran la estabilidad microbiológica, la espuma, los aromas, el sabor y el amargor. El amargor proviene de la reacción de isomerización de los ácidos alfa del lúpulo, estas moléculas son de baja solubilidad en agua y durante el proceso de ebullición se convierten en iso-alfa ácidos, que es la molécula soluble que proporciona el amargor característicos de la cerveza (Oliveira Gomes, Ceola , & Guimaraes, 2022).

Existen variedades de lúpulos presentes en el mercado, cada tipo de lúpulo posee características propias e únicas, con diferentes concentraciones de aceites esenciales y resinas. Este lúpulo puede ser añadido de diferentes maneras ya sea al final de la ebullición, el en whirlpool o durante la fermentación (dry hopping). Esta última técnica es muy popular dentro de la industria cervecera artesanal ya que es una extracción en frío de los compuestos de lúpulo volátiles y no volátiles en una solución alcohólica; esta extracción es óptima cuando se usan gránulos o polvo de lúpulo porque ambos contienen la glándula lupulínica triturada, aumentando la superficie de contacto. Al ser una extracción en frío, sus aromas difieren significativamente del lupulado tardío, pudiendo incluso ser rica en hidrocarburos terpénicos. Durante el siglo XXI esta técnica se hizo muy popular y es utilizada por los cerveceros artesanales para aumentar el aroma y la estabilidad del sabor de la cerveza. El lupulado tardío no es nada más que la adición del lúpulo durante el

whirlpool (remolino o final de ebullición) en este el lúpulo tiene que estar en menor tiempo de contacto altas temperaturas, reduciendo así la pérdida de los componentes aromáticos (Oliveira Gomes, Ceola , & Guimaraes, 2022).

Las cervezas aromáticas por lo general se obtienen mediante múltiples adiciones tardías de lúpulo. Los aromas retenidos en este proceso son cercanos a los presentes en el cono o gránulo (pellet). El lupulado tardío otorga a la cerveza aromas de carácter especiado, noble, herbal, amaderado e incluso afrutado. A diferencia del lúpulo que es agregado durante la elaboración en donde las moléculas sufren reacciones de oxidación y pueden alterar sus sabores y aromas, la adición de lúpulo en la cámara frigorífica proporciona sabores y aromas similares a lúpulo fresco. Los sabores más utilizados para describir el dry hopping son cítricos, florales y de pino a diferencia de la cerveza tradicional con lúpulo (Oliveira Gomes, Ceola , & Guimaraes, 2022).

Dry hopping (HD)

La eficiencia del dry hopping depende de varios factores, como la cantidad de lúpulo, el número de adiciones (simples o múltiples), el tiempo de contacto, la temperatura, las características del lúpulo. El pH de la cerveza aumenta después de HD. Cuando se trata del amargor, las cervezas con HD difieren de las cervezas con lúpulo. Las cervezas HD incorporan humulinonas del lúpulo que poseen un sabor amargo, ya que estas, al igual que los lúpulos son ácidos alfa oxidados; las variedades con mayores ácidos alfa tendrán más humulinonas, al igual que los lúpulos más viejos. Dicha clase de compuestos son insolubles a temperaturas, por lo que su efecto en las adiciones de lúpulo es insignificante, en un estudio reciente sobre el amargor relativo se informaron que las humulinonas tienen el 66% del amargor de los ácidos iso-alfa y las hulupones (nombres dados a las formas oxidadas de los ácidos alfa y beta), el 84% (Oliveira Gomes, Ceola , & Guimaraes, 2022).

El objetivo del dry hopping es potenciar el aroma a lúpulo, por lo que se prefieren variedades con mayor contenido de aceite esencial. Las cervecerías varían la cantidad utilizada por receta. Es importante que el cervecero tenga noción de la química del lúpulo para no sobredosificar la cantidad de lúpulo en el HD. Las cantidades altas de lúpulo dan lugar a aromas fuertes de hierbas o té y a una extracción ineficiente, mientras que cantidades bajas tenían aromas más bajos y agradables (Oliveira Gomes, Ceola , & Guimaraes, 2022).

Compuestos bioactivos y composición nutricional de la cerveza.

La cerveza tiene una cantidad significativa de nutrientes como vitaminas y minerales, es una fuente potencial de vitamina B12. Es isotónico y sus ingredientes principales tienen potenciales benéficos para la salud. El contenido de proteínas y aminoácidos está influenciado por los procesos de producción: la cerveza lager, ale y de trigo generalmente carecen de proteínas, mientras que otros tipos de cervezas, independientemente de su contenido de alcohol, tienen un contenido de proteínas de 0,3 a 0,6 g/100 ml. Los carbohidratos contribuyen al valor energético de las cervezas y las cervezas sin alcohol tienen concentraciones más altas que las cervezas normales (4,5-14 g/100 ml frente a 3,3-4,4 g/100 ml). La adición de frutas aumenta la concentración de compuestos bioactivos como flavonoides, tocoferoles, ácido ascórbico y carotenoides, mejorando la calidad de la cerveza y el impacto en la salud del consumidor. La cerveza es rica en compuestos antioxidantes como los compuestos fenólicos y las melanoidinas generadas principalmente por las variedades de cebada y lúpulo utilizadas en las recetas de cerveza (Borsa , y otros, 2022)

Durante el proceso de elaboración de cerveza, los compuestos fenólicos están expuestos a cambios cualitativos y cuantitativos. Al final de proceso de producción, el 60% del contenido fenólico de malta se pierde debido a la pasteurización y filtración a alta temperatura en la cerveza de gran producción industrial, mientras que la cerveza artesanal no se filtra por lo cual tiene una mayor concentración de compuestos fenólicos. Debido a los procesos de

elaboración las cervezas industriales y las cervezas sin alcohol tienen concentraciones bajas de compuestos fenólicos (Borsa , y otros, 2022). Silva et al., 2021 menciona que identificaron y cuantificaron compuestos fenólicos en 14 muestras de cervezas artesanales brasileñas por HPLC-DAD (cromatografía líquida de alta resolución con detección de matriz de diodos) con el objetivo de encontrar un método simple para analizar bebidas u otras matrices. La formononetina estaba presente en todas las muestras; la catequina, la epicatequina y el ácido cafeico presentaron las concentraciones más altas, influenciadas por la adición de café, vainilla o miel en el proceso de elaboración de la cerveza artesanal. Los ácidos fenólicos se consideran una fuente valiosa de antioxidantes y también tienen un papel en las propiedades sensoriales, el color y la estabilidad del sabor de la cerveza y la actividad de eliminación de radicales libres, y su presencia en la cerveza artesanal es un beneficio para el consumidor. Marques et al., 2017, determinó que en 4 estilos de cerveza artesanal el ácido gálico, el ácido cafeico, el ácido ferúlico y el ácido p-cumárico en donde el ácido cafeico que se encontraba en mayores cantidades. Silva et al., 2021, examinó las actividades biológicas viables de la cerveza artesanal y concluyeron que los compuestos fenólicos, con su actividad antioxidante, pueden contribuir a una reducción del riesgo de cáncer y eventos cardiovasculares si se consumen moderadamente (1 bebida por día para mujeres, 2 bebidas por día para hombres). La cerveza es una fuente natural de silicio, lo que contribuye a reducir el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas al disminuir la biodisponibilidad del aluminio e inhibir la reabsorción ósea en mujeres posmenopáusicas con osteoporosis.

Los polifenoles contribuyen al sabor, amargor, espuma, color y estabilidad coloidal, mientras que los prenilflavonoides aseguran la estabilidad de la espuma y presentan actividad antioxidante, actividad microbiana prolongada y sabor. El color de la cerveza cambia durante el almacenamiento a medida que tienen lugar los procesos oxidativos. Las catequinas y las epicatequinas se encuentran involucradas en la formación de la turbidez y la estabilidad coloidal, pero también influyen en el amargor, y los aminoácidos de la malta

proporcionan amino nitrógeno libre, que es el responsable de la formación de compuestos del sabor (Borsa , y otros, 2022).

El lúpulo gastado es una rica fuente de proteínas, polifenoles y aceites esenciales, y podría usarse en el segmento de la cerveza artesanal para obtener nuevos sabores y posibles beneficios para la salud. Los extractos de lúpulo gastado tienen efectos estrogénicos por dos mecanismos: como inhibidores de la aromatasas que podrían reducir el riesgo de carcinogénesis estrogénica y como inhibidores de los receptores de estrógeno que pueden ayudar a controlar los síntomas de la menopausia. Sus componentes están involucrados en la desintoxicación y las vías inflamatorias y en la apoptosis celular y también tienen actividad inhibidora selectiva sobre algunas de las enzimas CYP450: 1A1, 1A2, 1B1, 2C8, 2C9 y 2C19, lo que puede conducir a interacciones farmacológicas. Las levaduras utilizadas durante el proceso de fermentación pueden ser una fuente de probióticos (Borsa , y otros, 2022).

Compuestos fenólicos y melanoideas como antioxidantes naturales.

Compuestos fenólicos en la cerveza.

Los compuestos fenólicos son sustancias químicas caracterizadas por la presencia de al menos una unidad fenólica. La contribución de fenoles a la actividad antioxidante de la cerveza es más del 50%. Estos compuestos fenólicos tienen su origen en la cebada (alrededor del 70-80%) y del lúpulo proporciona alrededor del 30-20%. Se tiene referencia que el contenido de polifenoles y ácidos fenólicos varía según el tipo de cerveza, las cervezas afrutadas y oscuras tienen valores de TPC (contenido total de fenoles) más altos, en comparación a las cervezas sin alcohol que por lo general sus valores de TPC son más bajos (Martinez Gomez , Caballero , & Blanco , 2020). Además, Oliveira Neto et al. (2017) menciona que las cervezas ale presentan un contenido total de polifenoles más alto que las lagers y mayores propiedades antioxidantes. Estudios recientes demuestran que los compuestos fenólicos más abundantes en las cervezas son los ácidos ferúlicos, gálico, y p-

curámico, también se ha mencionado ácidos vanílico y sináptico. Debemos comentar que el ácido ferúlico es el ácido fenólico más abundante en las cervezas europeas, chinas, chilenas, pero en cervezas brasileñas o serbias predomina el ácido gálico. (Martinez Gomez , Caballero , & Blanco , 2020) (Piazzon & Nardini, 2010).

Según el tipo de cervezas, en el tipo ale es el ácido caféico el que se encuentra en mayor proporción y en las cervezas tipo lager es el ácido gálico. El ácido ferúlico predomina en las cervezas sin alcohol, negra, de abadía, de trigo, Pilsen y bock. El xantohumol es uno de los antioxidantes más importante por sus efectos sobre la salud, alcanzando concentraciones entre 0,0002 mg/L y 0,628 mg/L. Las maltas tostadas aumentan el contenido de este compuesto en la cerveza. El resveratrol, otro polifenol de gran interés, se encuentra en menor medida en las cervezas lager o sin alcohol que en las cervezas tipo ale (Martinez Gomez , Caballero , & Blanco , 2020)

Melanoidinas.

Son productos macromoleculares nitrogenados y de color marrón de las reacciones de Maillard, que se forman durante el proceso de malteado y elaboración de cerveza; la cerveza negra posee mayores cantidades de contenido de melanoidina, esto porque su alto contenido en maltas oscuras que han sido tostadas inducen a la polimerización de compuestos de bajo peso molecular, por lo que el contenido de compuestos de bajo peso molecular en maltas tostadas es menor en maltas pálidas. Por lo tanto, las maltas pale y caramelo se caracterizan por contener colorantes de bajo peso molecular de color marrón claro, mientras que las maltas tostadas se caracterizan por poseer compuestos de alto peso molecular de color marrón intenso (Martinez Gomez , Caballero , & Blanco , 2020).

Generalmente, las maltas pálidas proporcionan menos poder reductor al mosto y la cerveza que las maltas coloreadas. El horneado consiste en secar la malta durante un máximo de 30 horas y da como resultado un producto estable que se puede manipular, almacenar y moler

fácilmente. El poder reductor está asociado con las temperaturas más altas involucradas en la producción de compuestos de color, incluida la melanoidina y las especies fenólicas.

Como resultado de las temperaturas altas aplicadas para producir maltas oscuras especiales, se forman niveles más altos de antioxidante (reductoras y melanoidinas) durante la reacción de Maillard. En consecuencia, las cervezas con maltas oscuras normalmente tienen una vida útil más larga que las cervezas pálidas (Martinez Gomez , Caballero , & Blanco , 2020).

Existen varios mecanismos por los cuales los productos de reacción de Maillard pueden actuar como antioxidantes; secuestrantes de oxígeno, secuestrantes de oxígeno reactivo, agentes reductores y agentes quelantes de metales. Tradicionalmente, se sabe que el uso de malta coloreada mejor la estabilidad de la cerveza terminada y también se ha demostrado que las cervezas más coloreadas retienen un mayor poder reductor durante el almacenamiento. (Zhao , Li, Yang, & Zhao , 2013) encontró correlaciones positivas entre el contenido de melanoidina en las cervezas y la capacidad antioxidante.

Capacidad antioxidante en cerveza.

Las cervezas oscuras poseen una mayor actividad antioxidante. El hecho de que las cervezas oscuras tengan una alta actividad antioxidante puede deberse al uso de maltas especiales como maltas caramelo o maltas con diferentes coloraciones. Durante el proceso de ebullición de estas maltas se generan diferentes compuestos de Maillard que tienen actividad antioxidante. Dentro de las clasificaciones de las cervezas se las hace por regiones, las cervezas belgas tienden a tener una mayor actividad antioxidante que las cervezas portuguesas. Las cervezas asiáticas presentan un valor FRAP más bajo que las cervezas inglesas o alemanas, porque generalmente las cervezas asiáticas son menos amargas. Las cervezas amargas tienen una mayor actividad antioxidante, el amargor proviene del lúpulo y esto es responsable de que ciertos compuestos fenólicos como las procianidinas, la epicatequina o el ácido ferúlico se liberen durante la elaboración de la

cerveza, lo que aumenta la actividad antioxidante. El principal mecanismo por el cual los ácidos derivados del lúpulo actúan como antioxidantes es la quelación del hierro y la eliminación de radicales (Martínez Gómez , Caballero , & Blanco , 2020).

Afectaciones a la capacidad fenólica y antioxidante de la cerveza.

Aparte de los factores como la temperatura, la cantidad añadida de lúpulo o de material vegetal, el agua o el desconocimiento de la química del lúpulo de parte del cervecero que provocan la pérdida de compuestos bioactivos y proporcionan una cerveza de baja calidad, se puede mencionar que la levadura también puede influir en la composición fenólica y la capacidad antioxidante del producto final. Entre las familias de compuestos fenólicos, los ácidos fenólicos son los más estudiados en las cervezas, sin embargo, los flavonoides como las catequinas, las procianidinas y la quercetina y los estilbenos (trans y cis resveratrol) se han asociado con la capacidad antioxidante en la cerveza (Viana, y otros, 2021)

En un estudio realizado por Viana et al. (2021) en donde analizaron las cervezas obtenidas con diferentes cepas comerciales, afirman que las cervezas tienen un rico perfil fenólico, y esto es debido a que estos compuestos poseen una mejor solubilidad en presencia de mayores concentraciones de etanol. Además, algunas levaduras pueden convertir complejos o compuestos fenólicos glicosilados en aglicona simple. De lo contrario, la disminución de algunos compuestos fenólicos puede ser asociado con la precipitación de compuestos durante la maduración. Las catequinas y las proantocianidinas diméricas se ven más afectadas que los compuestos monofenólicos. Así mismo, las levaduras pueden degradar compuestos fenólicos como sustratos de carbono para promover su crecimiento. Al final al comparar los resultados obtenidos donde se analizaba la cantidad de los compuestos fenólicos, manifestaron que la utilización de diferentes levaduras comerciales resultó en varias concentraciones y tipos de compuestos fenólicos, esto debido a que las levaduras pueden expulsar o absorber dichos compuestos a su conveniencia, por lo que los compuestos fenólicos contribuyen a la estabilidad espuma, sabor y olor de la cerveza, siendo este un indicador de calidad. En consecuencia, las cepas de levaduras comerciales

influyen directamente o indirectamente en el perfil de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y contenido de alcoholes y ácidos grasos, que son compuestos críticos dentro del atributo de las cervezas artesanales.

Material vegetal

Moringa oleifera L

La *Moringa oleifera L.* llamado el “árbol de baquetas”; pertenece a la familia Moringaceae. Puede tomar varios nombres como el árbol de rábano picante, árbol de aceite de ben o árbol de benzoil. Crece en ambientes tropicales y subtropicales. Sus hojas, vainas, semillas, flores, frutos y raíces se consumen como alimento y algunas se toman como remedios esto lo convierte en un árbol de usos múltiples donde se usa como medicina herbaria, especias, alimento, fertilizante, coagulantes naturales, forraje y néctar para las abejas. La *Moringa oleifera* es un árbol caducifolio de rápido crecimiento. Su altura máxima es de 10 a 12 m, su tronco alcanza un diámetro de 45 cm. Las flores miden aproximadamente 1,0-1,5 cm de largo y 2,0 cm de ancho. La floración comienza dentro de los primeros seis meses después de la siembra. El fruto es una capsula caída, marrón de tres lados y contiene semillas esféricas. La semilla posee tres alas delgadas y blanquecinas, estas son responsables de la distribución de la semilla por el agua y viento. La moringa crece de forma silvestre o se cultiva en América Central y el Caribe, los países del norte de América del Sur, África, el Sudeste Asiático y varios países de Oceanía. De entre las doce especies del género *Moringa* la más cultivada es la *Moringa oleifera* (Hack, y otros, 2018)

Las hojas de la *Moringa oleifera* pueden ser consumidas ya que son fuentes de nutrientes altamente digeribles y se pueden comer frescas, cocidas o almacenadas como polvo seco. Además, se utiliza como buena fuente de vitaminas (A, B, y C), ácido nicotínico, riboflavina, piridoxina, ácido fólico, betacaroteno, ácido ascórbico, alfa-tocoferol, calcio y hierro, así como fuente principal de los esenciales aminoácidos. Los informes describen que la planta posee actividad antiinflamatoria, antioxidante, antimicrobiana y antitumoral. Moringa posee

eficaces efectos antibióticos y fungicidas. Actualmente diversos estudios han concluido que la moringa se puede utilizar en productos alimenticios como ingrediente funcional. Asimismo, presenta un potencial para mejorar la nutrición y respalda las funciones inmunitarias de *Escherichia coli* y un aumento de los recuentos de *Lactobacillus* en el intestino, lo que demuestra una respuesta inmunitaria mejorada. La moringa tiene un alto valor nutricional y puede ser utilizado en la alimentación animal, fertilización verde, medicamentos, bioplaguicidas y producción de semillas (Hack, y otros, 2018). En un trabajo realizado por Bikheet et al. (2021) en donde agregaron extracto alcohólico de *Moringa oleifera* al yogurt observaron que este aumenta las propiedades los atributos sensoriales y amplifica las propiedades nutricionales y terapéuticas al yogur bebible preparado. También permitieron reducir el número de bacterias ácido lácticas, lo que puede reafirmar que esta planta puede ser usada como conservante natural por sus propiedades antibacteriales y esperamos que en un futuro pueda tener más aplicaciones.

- Fotoquímicos de la moringa oleífera.

Dentro de los compuestos fitoquímicos encontramos la ramnosa (azúcar simple), isotiocianato y glucosinolatos que son conocidos por sus fuertes efectos hipotensores (disminución de la presión arterial) y espasmolíticos (relajantes musculares). Del mismo modo se encuentra presentes los glucosinolatos de bencilo, 4-(4-O-acetil- α -L-ramnopiranosil oxi) bencilo tiocianato y 4-(α -L-ramnopiranosil oxi) bencilo isotiocianato. Se conoce que estos compuestos poseen actividad anticancerígena, hipotensora y antibacteriana. Algunos pigmentos flavonoides, como la kaempferitrina, la isoquercitrina, la ramnetina, el kaempferol y la quercetina se encuentran en las flores de moringa. Según Yameogo et al. *Moringa oleifera* es la mejor fuente de un amplio espectro de antioxidantes dietéticos, incluidos flavonoides como el kaempferol y la quercetina. Sigghuraju y Becker mencionan que existen antioxidantes naturales en *Moringa oleifera* en tres orígenes agroclimáticos diferentes: ascorbato

(vitamina C), β –Caroteno y α -tocoferol. En específico tenían un mayor contenido de antioxidantes que las frutas y verduras como son las fresas, zanahorias, soya y pimiento picante. Al mismo tiempo afirma que la moringa supera a algunos vegetales en su fuerza como antioxidante, ya que su contenido de fenoles totales era casi el doble que el de los vegetales (brócoli, espinaca, guisantes y coliflor) y el total de flavonoides era tres veces mayor que el de los mismos vegetales. El poder reductor de la moringa fue mayor y los radicales libres remanentes fueron menores en comparación con estos vegetales. Los principales antioxidantes de la moringa son el ácido ascórbico, el kaempferol y la quercetina; estos proporcionan una protección a los animales contra enfermedades e infecciones degenerativas, que podrían estar asociadas con la captura directa de radicales libres para evitar daños en el ADN por oxidación excesiva. Los fitoesteroles como el kaempferol, el sitosterol y el estigmasterol son precursores de las hormonas que inducen la producción de estrógenos y estas estimulan la proliferación de los conductos de las glándulas mamarias para crear leche. La presencia de flavonoides le confiere propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y antidiabéticas y como agente antiproliferativo y anticancerígeno. Finalmente, podemos afirmar que la moringa es rica en compuestos fitoquímicos que le confieren a la planta importantes propiedades medicinales que podrían ser valiosas para el tratamiento de ciertas dolencias (Hack, y otros, 2018).

Ishpingo (Ocotea quixos K.)

Lauraceae es una familia que en su mayoría consisten en árboles o arbustos, estas se distribuyen desde las regiones tropicales hasta las templadas cálidas, especialmente el sudeste asiático y América tropical. En Ecuador (América del Sur), la familia Lauraceae se encuentra representada por 15 géneros y más de 167 especies de las cuales 23 son endémicas y están distribuidas en los bosques húmedo de la Costa, Sierra y Amazonia.

Dentro de la familia Lauraceae, el género *Ocotea* es uno de los más abundantes incluye árboles y arbustos que están en regiones tropicales y subtropicales de América central y del Sur y las Indias Occidentales (Valarezo, Vullien, & Conde Rojas, 2021).

Ocotea quixos (Lam.) Kosterm es una especie aromática, nativa del Ecuador y ampliamente distribuida en la región Andina y Amazónica, se llama comúnmente “Ishpingo” del quichua ishpinku “canela” y “canela amazónica”. Esta planta puede medir hasta 25 m de altura y 80 cm de diámetro, sus flores son pequeñas y de color blanco verdoso y sus hojas miden hasta 15 cm de largo con un haz verde oscuro. Los frutos miden aproximadamente 5 cm de largo y son de color verde amarillento. Las hojas y los cálices de los frutos de Ishpingo se utilizan para preparar aguas aromáticas. En Ecuador, esta especie forma parte de la preparación de comidas rituales, como bebida tradicional del día de muertos, la colada morada, es usada como remedio tradicional ya que la infusión es consumida para tratar la diabetes y calmar los dolores corporales y a más de eso las mujeres la toman después del parto para mejorar la digestión. Actualmente no existen informes de toxicidad en esta especie (Valarezo, Vullien, & Conde Rojas, 2021).

El Ishpingo está asociado a las plantas aromáticas por la presencia de aceites esenciales. Estos aceites esenciales también llamados metabolitos secundarios volátiles, son mezclas complejas de compuestos de entre 10 y 25 carbonos. La existencia de aceite esencial en las hojas de ishpingo se ha informado previamente. Algunas propiedades biológicas son atribuidas al aceite esencial de *O. quixos* como actividad antioxidante, actividad antifúngica, actividad larvicida, actividad antiviral y fitotoxicidad (Valarezo, Vullien, & Conde Rojas, 2021).

- Fotoquímicos del Ishpingo (*Ocotea quixos* K.)

En el aceite de esencial obtenido a partir de las hojas del *Ocotea quixos* K. se evidenció la presencia de cariofileno, humuleno y eremofileno, α -pineno, β -pineno, eucaliptol, ciclohexano, cariofileno, α -cariofileno, metano azuleno y óxido

de cariofileno. Sin embargo, existen también taninos, fenoles y flavonoides (Flor Olivo & Parra Pedraza, 2017).

El aceite esencial obtenido del cáliz de las flores mostró trans-cinamaldehído, metil cinamato, eucaliptol, benzaldehído y β -selineno y el aceite esencial obtenido a partir de las ramas se observa que contiene cinamaldehído, aldehído cinámico, saponinas, cumarinas, alcaloides y flavonas (Flor Olivo & Parra Pedraza, 2017)

Arrayán (Luma apiculata B.)

El arrayán (*Luma apiculata* B.) es una mirtácea, su baya es comestible de color negro o morado de sabor intenso, aromático y de agradable sabor dulce. Las especies de *Luma* se han descrito previamente como una rica fuente de compuestos fenólicos con alta actividad antioxidante. Los extractos de frutos maduros de arrayán mostraron la presencia de flavonol y antocianinas, con alta capacidad de absorción de radicales de oxígeno y protección vascular dependiente de la concentración en condiciones de glucosa alta. Además, los extractos acuosos demostraron la inhibición de la agregación de plaquetas inducida por colágeno en la sangre humana, lo que indica la potencia para tratar heridas e inflamaciones. El arrayán ha mostrado actividad contra el virus del herpes simple tipo 2 (Viktorová, y otros, 2020)

Café (Coffea arabica L.)

El café (*Coffea arabica* L.) pertenece a la familia Rubiaceae, y el género *coffea* se cultiva en regiones subtropicales y tropicales; *Coffea arabica* es una especie autofértil y de autopolinización con una tasa de cruzamiento común de menos del 10% , que es suficiente para inducir alguna variación en la descendencia y en los cultivares de polinización libre. *Coffea arabica* es una dicotiledónea siempre verde que alcanza de 8 a 10 m de altura, cada nudo produce dos hojas opuestas y, por lo tanto, tiene dos axilas de hojas que residen en lados opuestos del nudo, cada una de las cuales contiene una serie de yemas. La

ramificación es dimórfica porque tiene dos tipos de brotes: “brotes en serie” y “cabeza de brotes en serie”. Después de 3 a 4 años de trasplante, flores blancas fragantes crecen en racimos en las axilas de las hojas de café. La inflorescencia tiene un eje corto, dos pares de brácteas en su base y varía en número de una a veinte por axila de hoja en las ramas primarias y secundarias. La corola es blanca y tiene cinco pétalos expandidos. Los cinco estambres son epipétalos y se insertan en el tubo de la corola entre los pétalos en filamentos cortos. La floración de la planta de café involucra dos procesos, la iniciación del capullo y la apertura de la flor; los capullos del café que se convertirán en flores se producen de 4 a 5 meses antes de la antesis. Los botones florales se abren los días soleados temprano en la mañana y la eliminación del polen empieza poco después. Los cogollos pueden alcanzar de 4 a 6 mm y luego entran en un periodo de latencia. La fertilización tiene lugar antes o justo en la apertura de la flor y luego después de la polinización, alrededor de 6 a 8 semanas posteriormente de la fertilización se produce el fruto de café y permanece como una cabeza de alfiler durante un periodo de tiempo que depende del clima. Las bayas inmaduras son de color verde opaco y al madurar cambian de un color amarillento a rosa brillante. Cada grano de café contiene dos semillas con una longitud de 8,5 a 12,5 mm que son elipsoidales y están unidas por una superficie aplanada que está profundamente acanalada. Las semillas contienen endospermo córneo verde y un embrión pequeño; los granos secos, después de quitarles la piel plateada, proporcionan granos de café con fines comerciales. Uno de los principales cultivos a nivel mundial es el café ya que de este se obtiene una de las bebidas más vendidas a nivel global y es muy apreciada su exportación; es el segundo producto básico más comercializado del mundo, después del petróleo. El café arábico representa el 70% de la producción mundial de café. A nivel mundial el comercio del café genera entre 10000 y 12000 millones de USD anuales para los países productores y brinda oportunidades de trabajo entre 20 - 25 millones de personas, que cultivan, procesan, distribuyen y comercializan el producto (Melese & Kolech, 2021)

- Fotoquímicos del café (*Coffea arabica* L.)

El contenido de polifenoles de la hoja de café depende de la madurez y los tiempos de cosecha, la especie de café, de su hoja y están fitoquímicamente compuestos de cafeína, trigonelina, adenina-7-glucosil, teobromina, teofilina, ent-kaurane diterpenpids, 7 metilxantina, antocianinas, mangiferina, isomangiferina, catequina, epicatequina, procianidina B1, ácido clorogénico (5-CQA), glucósido, rutina, isorhamnetina, quercetina, isoquercetina, kaempferol, histidina, ácido pipercolico, sacarosa, taninos, ácido cafeico, ácido p-curámico, ácido ferúlico, ácido sináptico, ácido neoclorogénico (3-CQA) y ácido criptoclorogénico (4-CQA) (Ngamsuk, Huang, & Hsu, 2019).

Las procianidinas son flavonoides de la clase de las proantocianidinas con una potente actividad antioxidante, capaces de eliminar una amplia gama de especies de radicales libres y especies de nitrógeno. Muchos estudios han demostrado el potencial antioxidante de las procianidinas (Ngamsuk, Huang, & Hsu, 2019).

La cafeína, polifenoles, alcaloides, y los ácidos fenólicos como el cafeico y clorogénico son los principales antioxidantes que tiene el café; según su especie y lugar de origen el café presenta valores que varían y le permiten tener esa calidad de alimento funcional y nutracéutico. Estos compuestos son los que determinan los sabores del café y así mismo son los precursores de los pigmentos característicos que este presenta en su forma de bebida (Lazcano Sanchez, 2015)

Capacidad antioxidante de las plantas.

El cambio climático ha provocado que las plantas exhiban especies reactivas en oxígeno (ROS), estas pueden cambiar su concentración si las plantas crecen en ambientes limitados de recursos, como es el caso de suelos secos o con alto contenido en sales, condiciones

que concurren en la agricultura de la región y limitan gravemente la producción agrícola y su calidad final (Gillespie, June, & Ainsworth, 2007). Si las condiciones son tanto endógenas como exógenas se pueden presentar estrés oxidativo lo cual induce a la oxidación del ADN, proteínas y lípidos de membrana que así mismo pueden conducir a la destrucción oxidativa de las células (Gillespie, June, & Ainsworth, 2007).

Estudios recientes afirman que el estrés oxidativo no solo se limita al daño inducido por los radicales libres en las biomoléculas, sino que también implica la perturbación del estado redox celular, que se ha declarado como un obstáculo en la señalización y el control redox, por lo cual el sistema antioxidante envuelve algo más que una captura de radicales libres (Pisoschi, Pop, & Cimpeanu, 2016).

Los efectos generados por acumulación de radicales libres en el citoplasma de las células vegetales son la peroxidación de lípidos (da lugar a la formación de dienos conjugados), que se produce por la oxidación del hidrogeno de los grupos metilos, separando dobles enlaces lo que da lugar a un reensamble de estos (Smirnoff, 1995). Los lípidos hidroperoxidados se mantienen reaccionando como radicales libres si se encuentran con metales reducidos, estimulando que la reacción en cadena se extienda. Dicho proceso metabólico natural está bajo condiciones aeróbicas normales; esta reacción afecta principalmente a la membrana celular y sus funciones (Recknagel & Glende, 1984).

Además, las altas concentraciones de dichas moléculas oxidan los residuos de cisteína (-SH) o de metionina (-SCH₃) que son las proteínas metabólicas de la célula, esto generará la inactivación de las enzimas involucradas en el ciclo de calvin, como son la fructosa-1,6-bifosfato, sedoheptulosa-1,7-bifosfato, y fosforibuloquinasa, en donde pueden perder el 50% de su actividad (Kaiser, 1979). Así mismo oxidan proteínas quinasas, fosfatasa y factores de transcripción que contengan residuos de tiolato (Vandenabeele, Vranová, Montagu, Inze, & Bresegem, 2000). Los radicales libres son capaces de alterar la estructura de los ribonucleotidos, desoxiribonucleotidos, ARN de cadena simple y ADN de doble cadena; dando lugar a mutaciones puntuales en el genoma de las células (Taddei, y otros, 1997)

La planta posee un mecanismo de defensa antioxidante en donde se incluye reacciones enzimáticas y moléculas amortiguadoras antioxidantes que junto a las enzimas productoras de las especies reactivas en oxígeno permiten el mantenimiento del homeostasis en todos los compartimientos celulares. Esta red de defensa antioxidante que controla la cascada de oxidación y permite la protección de las células contra daños oxidativos, genera una defensa que permite la reducción de la producción, eliminan las especies reactivas en oxígeno y previenen el daño celular. El ascorbato (ASC), el glutatión (GSH), taninos, flavonoides, α -tocoferol, carotenoides y precursores de la lignina son las moléculas antioxidantes que regulan las especies reactivas de oxígeno (Perez, 2011).

Un complejo enzimático es presentado por las plantas en cada compartimiento celular. Esto les permite formar radicales $\cdot O^-$ que son formados a partir del 2 % de oxígeno celular molecular consumido por estos organismos. Pero existe una enzima que dismuta el O_2^- en H_2O_2 y O_2 . El H_2O_2 en presencia de sustratos reductores y esta es la peróxido dismutasa (SOD) (Gechev, Van Breusegem, Stone, Denev, & Laloi, 2006).

Moléculas antioxidantes no enzimáticas en plantas.

El material vegetal rico en fenoles es de gran interés para la industria alimentaria porque retardan la degradación oxidativa de los lípidos con lo que mejoran la calidad y aumentan el valor nutricional de los alimentos. Las moléculas antioxidantes que no son enzimáticas en plantas se extraen a partir de material seco o fresco. Para separar gomas o agliconas y clorofilas se usan solventes no polares o ligeramente polares. Existe un grupo numerable que son considerados polares porque son solubles en metanol, etanol, agua y acetona esto debido a su amplio número de grupos hidroxilos no sustituidos azúcares y estos son los fenoles (Rivas, Granadillo, & Morillo, 2017).

Entre las moléculas podemos encontrar:

Ácido ascórbico.

La sobreproducción de especies reactivas en oxígeno en plantas bajo condiciones de estrés es un fenómeno habitual. Las plantas pueden contrarrestar el problema mediante la producción de sustancias neutralizantes de los ROS, dentro de estas sustancias están los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos. En tal contexto el ácido ascórbico es un antioxidante no enzimático universal que posee un potencial no solo para eliminar las especies reactivas en oxígeno, sino que también modula las funciones esenciales de la planta tanto en condiciones de estrés como sin estrés.

La forma biológicamente activa de ácido ascórbico es la forma aniónica estable por resonancia que se denomina ascorbato. Los contenidos de ascorbato apoplástico son vitales para la percepción del estrés ambiental como un vínculo directo y por lo cual están involucrados en la señalización y respuestas posteriores al estrés en la planta. En general la respuesta al amortiguamiento redox del apoplasto celular es baja a pesar de tener presencia de otras moléculas antioxidantes como poliaminas y flavonoides y óxido nítrico y depende en gran medida de las reservas de ácido ascórbico debido a la ausencia de glutatión y NAD(P)H. Así mismo se menciona que los estados redox de los niveles de ascorbato apoplástico influyen en el equilibrio hormonal, las respuestas de crecimiento, en las cascadas de señalización de MAPK y las actividades de las enzimas antioxidantes, mientras que los niveles de glutatión no se ven afectados. Por lo que, en consecuencia, debido a su ubicación en el apoplasto, el ácido ascórbico constituye un papel vital en la percepción del estrés, la homeostasis redox y la regulación posterior del estrés oxidativo y las respuestas fisi-bioquímicas de la planta bajo estrés abiótico normal y diferente (Akram, Shafiq, & Ashraf, 2017).

Tocoferol.

Los tocoferoles son compuestos naturales con actividad de vitamina E, pertenecen a un grupo de derivados fenólicos de benzocromano, poseen una extensa alquilación en el anillo. El α -tocoferol es uno de los cuatro tocoferoles biológicamente más activos. Se ha demostrado que el α -tocoferol rompe cadenas in vitro más activos y probados hasta el día

de hoy. Además, se especula que la cola de fitilo de cadena larga en los tocoferoles permiten que el compuesto se divida en membranas lipofílicas de células y orgánulos, donde puedan ejercer su actividad antioxidante para prevenir el daño oxidativo (Richard, 1987). También las actividades bioquímicas de los tocoferoles se encuentran vinculadas con la formación de especies de tocoferol quinona que posteriormente se degradan y reciclan dentro de las células y tejidos. El α -tocoferol juega un papel importante en un sin número de procesos metabólicos de las plantas a lo largo de la ontogenia de las plantas. Puede mantener la integridad y fluidez de las membranas fotosintéticas, neutraliza los radicales peroxi de lípidos y en consecuencia bloquean la peroxidación de lípidos al apagar los cationes oxidativos. El α -tocoferol puede regular varios procesos metabólicos involucrados en la promoción del crecimiento y desarrollo de las plantas bajo estrés y sin estrés y como puede contrarrestar de manera afectiva la alta acumulación de especies reactivas de oxígeno inducida por el estrés. Actualmente, la aplicación exógena del α -tocoferol ha sido ampliamente reportada como un medio potencial para promover la resistencia en las plantas a una variedad de ambientes estresantes (Sadiq, Akram, Ashraf, Al-Quarainy, & Ahmad, 2019).

Compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos formados por la vía shikímica constituyen uno de los grupos más numerosos de metabolitos secundarios descritos en plantas, estos fotoquímicos realizan una variedad de funciones dentro de la planta como la defensa contra patógenos y herbívoros, mecanismos de señalización, pigmentos de frutas y flores y protección contra la luz ultravioleta. Son componentes de las células vegetales y contribuyen a la adaptación de las plantas en el medio ambiente. Durante la evolución de las plantas vasculares, fueron las primeras en sintetizarse (ligninas) y marcan las diferencias entre la diversidad estructural de componentes fenólicos entre plantas y su variabilidad genética. Varios factores bióticos y abióticos forman parte de esta diversidad estructural. La investigación sobre estos compuestos se ha incrementado debido a la cantidad de moléculas que intervienen y las

diferentes actividades biológicas que se observan como la actividad antioxidante o su función fisiológica en plantas (Gharaati Jahromi, y otros, 2019)

Dentro de los compuestos fenólicos tenemos a los taninos condensados e hidrolizables, flavonoides, cumarinas, lignanos, ligninas y fenoles simples que presentan una estructura compuesta por un anillo aromático que posee un conjunto considerable de grupo hidroxilo (Khoddami, Wilkes, & Roberts, 2013).

Los flavonoides son fenoles que forman principalmente grupos de metabolitos especializados e incluyen más de 9000 compuestos, los más comunes que se encuentran distribuidos en los tejidos de las plantas y que en conjunto con los carotenoides y las clorofilas son responsables de sus colores amarillo, azul, púrpura, naranja y rojo. Los flavonoides, que incluyen son chalconas, las flavonas, flavonoles, isoflavonoles, antocianinas, antocianidinas, proantocianidinas y catequinas; estos compuestos se encuentran distribuidos ampliamente en el reino vegetal y sus vías metabólicas se han estudiado ampliamente. Los flavonoides tienen su origen en los aminoácidos aromáticos, fenilalanina y tirosina, poseen una estructura de tres anillos. Los ácidos fenólicos se originan en forma de ésteres, glucósidos o amidas, pero rara vez en forma libre. Los ácidos fenólicos poseen varias estructuras principales que son ácido hidroxicinámico e hidroxibenzoico. Los derivados del ácido hidroxicinámico son los ácidos ferúlicos, cafeico, p-cumarico y sinápico, y los derivados del ácido hidroxibenzoico son el ácido gálico, vinílico, siríngico y protocatequico. Además, algunos compuestos fenólicos están presentes en la pared celular como los taninos que pueden dividirse en hidrolizables y condensados, los cuales ayudan a la protección del estrés, infecciones, depredadores y radiaciones ultravioletas (Khoddami, Wilkes, & Roberts, 2013).

Carotenoides.

Los carotenoides son responsables de la pigmentación en las plantas. El elemento estructural central de los carotenoides es una columna vertebral de polieno que consta de una serie de

enlaces C=C conjugados. Esta característica es responsable tanto de sus propiedades pigmentarias como de la capacidad de estos compuestos de interactuar con los radicales libres y el oxígeno singulete, por lo tanto, actúa como antioxidantes efectivos. Las modificaciones a este esqueleto de polieno, alterando el número el número de dobles enlaces conjugados junto con la adición de grupos funcionales de oxígeno, a su vez alternan la reactividad de los carotenoides. La organización física (la tendencia de los carotenoides a agregarse en diferentes solventes) del carotenoide es una consideración importante que afecta sus capacidades antioxidantes, a través de sus interacciones con las especies reactivas de oxígeno, así como con otros antioxidantes como el α -tocoferol y la vitamina C. La función principal de los carotenoides es que actúan como pigmentos de antena (fotorreceptores) para la fotosíntesis, reuniendo longitudes de onda de luz que no son absorbidas por las clorofilas. También es reconocido por tener una función protectora contra el daño oxidativo. Hay que mencionar que tanto la clorofila como sus productos de descomposición del tetrapirrol son generadores eficientes de O. El oxígeno singulete es destruido completamente por el β - *caroteno*, a una velocidad constante de reacción del O, los ácidos grasos insaturados biológicamente permiten que una concentración relativa del β - *caroteno* proteja eficazmente los lípidos de la membrana de las reacciones de O, lo que conduce a la peroxidación. Se ha demostrado que el β - *caroteno* se comporta como un potente antioxidante bajo presiones de oxígeno bajas (Young & Lowe, 2018) (Richard, 1987).

Proceso de fermentación de la cerveza.

La cerveza es una bebida alcohólica que se consume a nivel mundial. Esta se elabora a partir de cuatro ingredientes claves: cereales malteados, agua, lúpulo y levadura. Cada uno de ellos contribuye al sabor y aroma final de la cerveza. La cerveza en la etapa de fermentación transforma los azúcares provenientes de los cereales en alcohol y gas. El otro proceso que lleva a cabo las levaduras son la producción de metabolitos secundarios que influyen en el aroma y sabor de la cerveza terminada. La mayoría de cervecerías usan cultivos de levadura pura para la fermentación, hoy en día el método más usado es la fermentación espontánea o

mixta para producir algunas cervezas especiales. Los procedimientos de fermentación involucran una mezcla de diferentes especies de levaduras (y bacterias) que contribuyen de forma secuencial, otorgando a la cerveza un alto grado de complejidad. Por lo general, las cervecerías tienen su propio stock de levaduras, como se sabe para elaborar cervezas se utilizan dos tipos de levadura: *S cerevisiae* (levadura de alta fermentación) y *S. pastorianus* (levadura de baja fermentación) estas permiten el desarrollo de cervezas con aromas y sabores únicos (Maicas, 2020).

Levadura y biotransformación.

El bioflavoring (biotransformación) es la manera de mejorar características de la cerveza como aroma y sabor sin la necesidad de introducir productos químicos sintéticos. Los sabores que son generados en estas cervezas se crean a través de la producción y conversión de compuestos precursores que se pueden encontrar en el material vegetal añadido (lúpulo, plantas, flores y frutas) a través de diferentes vías metabólicas, lo que permite lograr una obtención de sabores y aromas únicos. Se menciona así mismo que la generación de compuestos bioactivos a través de los diferentes pasos o ingredientes para lograr una biotransformación permiten la cerveza se mantenga por más tiempo y tenga una mejor calidad (Scott, 2019).

Existen diferentes métodos o ingredientes que ayudan al mejoramiento de la cerveza dentro de los cuales podemos mencionar a la β -glucosidasa o exo- β -glucanasa que son una enzimas que se encuentran de forma comercial o al interior de las levaduras (como la *Saccharomyces* o *Brettanomyces*); la β -glucosidasa enzima hidroliza los glucósidos que son compuestos inodoros no volátiles produciendo azúcares y agliconas (alcoholes) que son liberados directamente a la cerveza; así mismo esta enzima en un pH alto por encima de 4,5 ayuda a biotransformar los compuestos del lúpulo. Por lo general las cepas típicas de cerveza logran biotransformar terpenoides del lúpulo libre como el geraniol en citronelol, con lo que se obtiene sabores dulces a rosa y un aroma a lima. Dicha conversión de geraniol a citronelol ocurre rápidamente durante la fermentación, por lo que las adiciones tardías de dry

hop no ayudaran a que se transformen completamente. Finalmente, el lúpulo contiene gran variedad de compuestos precursores que se benefician del tratamiento enzimático, lo que le permite liberar sabores atrapados (Scott, 2019).

Panorama de los antioxidantes en la cerveza.

Los antioxidantes proveen de grandes beneficios a las cervezas, una de ellas es un beneficio netamente a la salud humana por lo cual varias cervecerías actualmente se encuentran buscando nuevas formas de aumentar el contenido de antioxidantes en sus cervezas. Se puede aumentar el contenido de antioxidantes al usar maltas de arroz para elaborar cerveza. El contenido total de fenoles de esta cerveza con arroz es de 228 mg GAE/L, que se encuentra dentro del rango de las cervezas lager. Los mismo ocurre con los valores de los estudios FRAP, DPPH, y ABTS para cervezas de malta de arroz, que muestran una actividad antioxidante comparable a la cerveza de malta de cebada lager (Martinez Gomez, Caballero, & Blanco, 2020).

Otra posibilidades para aumentar la cantidad de antioxidantes es el uso de plantas como *A. heterophyllum*, *C. extensa*, *O. corymbosa* y *A. malaccensis*. Estas cuatro plantas son potencialmente ricas en polifenoles y tienen excelentes propiedades antioxidantes.

Siguiendo el camino de las plantas, el uso de *A. ruthenicum* dan resultados únicos ya que al insertar esta planta en las cervezas genera una duplicación de la actividad antioxidante con respecto a las cervezas sin esta planta. Además, dentro de las invenciones es el uso de kéfir para la fermentación de la cerveza proporcionando una cerveza con composición fenólica similar a las cervezas elaboradas con *Saccharomyces cerevisiae*. La incorporación del extracto de propóleo (producto natural con propiedades antioxidantes, antibacteriales, anticancerígenas, antifúngicas, antiinflamatorias y antivirales) a la cerveza reduce la oxidación y fortalece el contenido fenólico que por lo general se reduce en los procesos de elaboración (Martinez Gomez, Caballero, & Blanco, 2020).

Una tendencia actual que existe en nuestro país Ecuador es el uso de frutas o jugos de frutas, que presenten alto contenido de antioxidantes, por lo que cuando se agregan a las cervezas artesanales generan un aumento de la actividad de compuestos fenólicos totales y antioxidantes. Por ejemplo, el uso de cereza cornalina, membrillo, caqui o las bayas de goji en las cervezas artesanales ha duplicado el contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante que ha sido medida por los métodos de DPPH, ABTS y FRAP. A más de esto un método novedoso ha sido el uso de la cavitación hidrodinámica que permite retener en mayor concentración de xantohumol, desmetilxantohumol y 6-geranilnaringenina. También se puede usar los restos de levadura utilizados en la preparación como fuente ulterior de fenoles. El uso de estos nuevos ingredientes y métodos innovadores permiten generar productos que posean propiedades antioxidantes aumentadas y que también tengan una actividad sensorial que es agradable para el consumidor, permitiendo la incubación de estos nuevos productos (Martinez Gomez, Caballero, & Blanco, 2020)

Fortalezas y debilidades de la adición botánica.

Las cervezas no tradicionales llevan agregados durante o después del proceso de elaboración tradicional; contienen compuestos bioactivos que brindan beneficios para la salud al consumidor. Para evaluar estos beneficios potenciales se analiza el contenido fenólico total, el perfil fenólico, la actividad antioxidante y el perfil volátil. La actividad sensorial se evalúa más a fondo para predecir la elección de los consumidores y su disposición de beber cervezas no tradicionales. Los extractos de *Melissae folium*, *Thymi herba*, *Juniperi fructus*, *Urticae radix* y *Lupuli strobuli* a una cerveza lager con el objetivo de lograr una cerveza con características sensoriales mejoradas y funcionales. Se valoró el contenido de compuestos fenólicos, la actividad antioxidante y la aceptabilidad sensorial, en donde la cerveza con la adición de tomillo contribuyó al contenido más alto de polifenoles, pero no fue del agrado de los consumidores, mientras que el extracto de melisa, como era de esperar, fue el más apreciado por su aroma y tenía una cantidad de polifenol significativo (Borsa , y otros, 2022).

Además, se pueden agregar frutas durante el proceso de fermentación de la cerveza para mejorar la composición de compuestos bioactivos y la actividad antioxidante. Dentro de las frutas que se agregan generalmente a la cerveza son la cereza, la frambuesa, el melocotón, albaricoque, naranja, manzana, ciruela y uva, las cuales pueden dotar altos niveles de polifenoles y flavonoides con una mayor capacidad antioxidante. Dentro de los compuestos fenólicos que se encontraron en estas cervezas no convencionales con añadidos de fruta son la catequina, quercetina, miricetina y resveratrol (Borsa , y otros, 2022)

Otro adjunto que se puede añadir son los desechos de frutas, estos son una fuente aromatizante de la cerveza, en 2019 se añadió orujo de manzana a una cerveza cream ale y observaron que su perfil volátil mejoraba, así mismo Nardini et al., 2020 agregó nueces, castañas, té verde, café, miel durante el proceso de fermentación y los compararon con cervezas convencionales. El contenido fenólico total, el contenido de flavonoides y la capacidad antioxidante fueron más altos que la cerveza convencional. La mayoría estaba enriquecida con catequina, e epicatequina, rutina, miricetina, quercetina y resveratrol, lo que condujo a un aumento en la calidad nutricional de la cerveza (Borsa , y otros, 2022).

La composición fotoquímica óptica de las plantas depende de varios factores, como genotipos, condiciones climáticas, madurez, métodos de extracción, grado de trituración, etc. Por lo general, los adjuntos se agregan con éxito en diferentes etapas de la elaboración de la cerveza, pero si se adjunta al principio, pueden causar una gran cantidad de compuestos antioxidantes en la mezcla, pero si se añaden en las últimas etapas causará la destrucción de la naturaleza de estos compuestos biológicamente activados. Se ha demostrado que triturar, hervir, filtrar reduce la cantidad de antioxidantes. Desde la fermentación hasta el embotellado, la capacidad antioxidante puede reducirse aún más. Además, la interacción adicional entre polifenoles, proteínas y polisacáridos crea una niebla coloidal debido a la nueva composición compleja (Borsa , y otros, 2022).

La composición polifenólica puede considerarse como un factor de venta ya que puede ser considerado como un indicador de calidad, porque las diferentes tecnologías de producción

en conjunto con los ingredientes, influyen en el sabor, color, espuma, turbidez de la cerveza, el amargor, propiedades coloidales y sensoriales, así como la estabilidad y vida útil de la cerveza. Por tanto, la adición de botánicos a la cerveza puede tener aspectos tanto positivos como negativos:

Aspectos positivos:

Los botánicos tienen propiedades antimicrobianas y antioxidantes lo que permite que la cerveza tenga una vida útil más larga, un sabor y aroma más estables; mayor suavidad y estabilidad de la espuma; a más de eso otorga beneficios para la salud generados por los antioxidantes que atraen a los consumidores en base a su percepción de prevención de enfermedades a través de una dieta funcional, mayor concentración de volátiles con aromas frutales, florales y dulces preferidos por los consumidores (Borsa , y otros, 2022).

Aspectos negativos:

Aumenta la turbidez de la cerveza, formación excesiva de espuma debido a la complejidad de las reacciones entre los ingredientes, pérdidas de antioxidantes a lo largo del proceso de la cerveza. Se deben aplicar procesos de clarificación a la cerveza que utilicen clarificantes como la carragenina, gel de sílice i polivinilpolipirrolidona (PVPP) para obtener una estabilidad coloidal (Borsa , y otros, 2022).

Prácticamente, solo la imaginación es el límite de los cerveceros artesanales, dado que la percepción de los volátiles varía con sus concentraciones, combinaciones y niveles de umbral en diferentes matices de cerveza, en los últimos años utilizando la investigación y la tecnología en Ecuador se ha desarrollado cervezas de diferentes estilos, tratando de alejarse del clásico estilo de cerveza ya sea un Golden Ale, una Stout o una Irish Red, generando nuevos estilos con marca autóctona de nuestro país, incluyendo en sus procesos de maceración, fermentación y post-fermentación diferentes botánicos, llegando a crear mezclas increíbles y permitiendo que el mercado siga creciendo y conociéndose no solo dentro del país si no al mismo tiempo llegando a cruzar fronteras, por lo cual

esperamos que este pequeño estudio de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos en diferentes cervezas con origen y materia prima autóctona ayude a los diferentes cerveceros del país a tomar iniciativa y crear estilos propios y los den a conocer para que así nuestro mercado cervecero sea un total mundo botánico.

Pruebas hedónicas en cerveza.

Las pruebas hedónicas conllevan un análisis sensorial que no es nada más que una disciplina usada para analizar, evocar, interpretar las reacciones que tienen los alimentos a varias sustancias y que pueden ser detectadas por los diferentes sentidos como el olfato, el gusto, el oído y el tacto. Los análisis sensoriales comprenden de un conjunto de técnicas para medir precisamente la reacción humana a los alimentos e intentar encerrar las características sensoriales que aportan información ventajosa para el perfeccionamiento de productos, inspección durante la producción y cuidado en el acopio, etc. (Rámirez Navas., 2012)

El análisis sensorial permite la traducción de las distinciones del consumidor en caracteres definidos para una bebida o producto. Las pruebas que orienta al consumidor permite obtener datos sobre los gustos y aversiones, favoritismos y requerimientos de aceptabilidad. Las consultas realizadas a clientelas, tocan un camino diferente al perfil sensorial descriptivo, se intenta apreciar la contestación de la población viable de consumidores del producto respecto al gusto. El catador siempre valora el nivel de aceptabilidad del producto y su distinción (Rámirez Navas, 2012).

Pruebas hedónicas.

La escala hedónica de 9 puntos es la más usada, existen escalas que van de 3, 5 y 7 puntos. La escala mencionada de 9 puntos es bipolar. Se utiliza para una extensa variedad de productos. Al panelista se le pide valorar ejemplares codificados de productos, indicando que tanto les encanta cada muestra, puntuando en escala, que va desde “me gusta enormemente” hasta “no me agrada”. En la escala se permite establecer la misma clase a

más de una muestra. Las muestras son presentadas en vasos idénticos, codificados con numeración aleatorio de 3 dígitos. Las muestras son codificadas con números aleatorios, igualmente la presentación de las muestras puede ser aleatorio para cada panelista. El orden de presentación debe ser balanceado, cada muestra se sirve en orden desde la primera a la última muestra. Los puntajes numéricos y el análisis de datos para cada muestra se tabulan usando una anova en donde se determina si existen o no discrepancias significativas en los promedios de los puntajes asignados a cada muestra.

Capítulo III: Metodología

Responsable del proyecto

El responsable del proyecto es el Sr. NELSON SANTIAGO CUBI INSUASTE, egresado de la Carrera de Ingeniería en Biotecnología de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

Localización Geográfica

El trabajo de titulación se elaborará en el CICTE, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE – Av. General Rumiñahui s/n ECI 17501, Sangolquí, Pichincha, Ecuador

Periodo de investigación

El trabajo de investigación se llevará a cabo en el período ABRIL 2023 – AGOSTO 2023, con una duración de 4 meses.

Obtención de las muestras vegetales para la elaboración de la cerveza.

Las muestras vegetales se obtendrán en la Parroquia Guasaganda perteneciente a la provincia de Cotopaxi y en el mercado la central de la Ciudad de Riobamba. Las muestras vegetales frescas se dejarán secar a temperatura ambiente (sin contacto con rayos solares) durante 6 días. Una vez secadas las muestras se pulverizarán y se las almacenarán en frascos estériles para su uso.

Fermentación de la cerveza artesanal con y sin plantas seleccionadas.

La fermentación se llevará a cabo en frascos plásticos de 20L de capacidad. La cebada será elegida percatándose de su color y textura. Las plantas se lavarán de manera cuidadosa eliminando partículas extrañas. Los recipientes se llenarán dejando un espacio de cabeza de 15 cm, con el mosto conformado por cebada, las plantas secas tendrán un tratamiento respectivo. Una vez realizado el proceso de molienda, maceración y lavado del grano, se obtendrá el mosto necesario para posteriormente hervirlo y en conjunto con la adición del lúpulo durante el hervido, se procederá a enfriar la mezcla final. Tras haber

transcurrido el tiempo de reposo, se medirá la concentración de azúcar (grados Brix), e inmediatamente se procederá a inocular mezcla con la levadura. Los recipientes usados serán cerrados dejando un orificio en la parte superior del tanque de plástico para que permita la salida de CO₂, mediante una válvula y por la llave se podrá tomar muestra para determinar si la bebida ya alcanzó su punto de estabilización de grados Brix. Una vez concluida la etapa de fermentación se añadirá las plantas. Se realizará el clarificado en otro recipiente, colocándolo este en una nevera a refrigeración por debajo de la temperatura ambiente. Una vez clarificado, la cerveza artesanal será gasificado con ayuda de un gasificador de CO₂, posterior se la almacenará en un tanque de acero inoxidable y finalmente se embotellará con ayuda de una maquina embotelladora, se corchará la botella y se almacenará a temperatura ambiente (Palmer, 2017).

Contenido de fenoles totales – método Folin – Ciocalteu

Se adaptó un protocolo utilizado por Slinkard y Singleton (Palomino G et al., 2009)

Se agregaron muestras de solución de trabajo (20 μ L) de cada muestra a 100 μ L de reactivo Folin-Ciocalteu 2N. La mezcla se llevó a un volumen final de 1600 μ L usando agua destilada. Por último se añadieron 300 μ L de solución de carbonato de sodio (0,2 mg/mL) y se incubó a 37°C durante 45 minutos. Las absorbancias de las soluciones se miden a 760 nm (Rafat, Philip, & Muniandy, 2010).

El contenido fenólico total se determina como equivalente de ácido gálico (GAE) basado en la curva de calibración de Folin-Ciocalteu utilizando ácido gálico (que oscila entre 50 y 100 mg/mL) como estándar y expresado como equivalente de mg de ácido gálico por gramo de muestra seca (Rafat, Philip, & Muniandy, 2010).

Contenido de flavonoides totales – método con AlCl₃

En una cubeta de vidrio se agregó 800 micro litros, de agua destilada, 200 μ L de estándar o muestra de polifenoles y 60 μ L de NaNO₂ (5%). Se agregaron 60 μ L de AlCl₃ (10%) después de 5 min y 400 μ L de NaOH (1mol/L) y 480 μ L de agua destilada después de 6

minutos. La solución se mezcló en un vórtice. El volumen total en la cubeta fue de 2 mL. Las medidas de absorbancia se realizaron en el espectrofotómetro UV-Vis a 510 nm contra un blanco que contenía 200 μL de agua destilada en lugar de estándar o muestra de polifenoles a una absorbancia de 510 nm (Matic, Sabljic, & Jakobek, 2017)

Determinación de la capacidad antioxidante

Se utilizaron tres métodos espectrofotométricos – colorimétricos que son métodos que miden la actividad de eliminación de radicales libres.

Determinación de carácter antioxidante por método DPPH (capacidad reductora del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

Es un método descrito por Bozin en donde se añade 950 μL de solución de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) 90 μM a 50 μL de las muestras de trabajo y se completa hasta un volumen final de 4mL con etanol al 95%. Después de agitar vigorosamente las mezclas se incubaron a temperatura ambiente en la oscuridad durante 2 horas. La reducción de color de la solución provocada por la eliminación de radicales libres (DPPH) se mide a 515 nm usando un espectrofotómetro. La capacidad de las muestras de eliminar el DPPH se detuvo comparando el efecto de reducción de color de la muestra con el control (mezcla sin solución de trabajo) usando la siguiente ecuación y expresada como valores porcentuales (Rafat, Philip, & Muniandy, 2010)

$$\text{Actividad de eliminación de radicales DPPH (\%)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

El control positivo se preparó usando Fert.hidroxitolueno terc-butilado (BHT) a una concentración de 10 mg/ml (Rafat, Philip, & Muniandy, 2010).

Determinación del carácter antioxidante por el método ABTS (capacidad antioxidante mediante la reacción del radical ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)

Se adaptó el método mencionado por (Pérez Burillo, Rufian Henares, & Pastoriza, 2018)

El método ABTS permite evaluar la actividad antioxidante del total de los compuestos o la actividad oxidativa y la capacidad de producir radicales libres. El procedimiento se mezcla una solución de ABTS 7 mM con $K_2S_2O_8$ 4,95 mM y disuelto en etanol. Luego la solución se incubo en la oscuridad durante 12 horas a temperatura ambiente. El tiempo de incubación es necesario para complementar la oxidación de ABTS y obtener una absorbancia estable del catión radical. La solución de ABTS se diluyo con etanol para obtener una observancia de 0,75 a 734 nm. Después se colocó 20 μL de muestra y 280 μL de solución ABTS diluida en un cubeta y se tomaron las lecturas de absorbancia cada 60 segundos durante 20 minutos en el espectrofotómetro. Los resultados se expresan como μmol Trolox equivalente por ml de muestra.

Determinación del carácter antioxidante por el método FRAP

Capacidad antioxidante equivalente de Tolox junto con el reductor férrico, se estima que la capacidad de reducccón férrica de cada solución de muestra según el procedimiento descrito por Benzie & Strain (1996), se añaden 280 μL de reactvio FRAP, recién preparado y calentado a 37 °C donde se coloca en cada tubo falcón 20 μL de muestra o agua para proporcinar el reactivo en blanco adecuado. El reactivo FRAP contenía 2,5 mL de una solución TPTZ (10 mM) en HCl (40 mM), mas 2,5 mL de $FeCl_3$ (20mM), agua destilada y 25 mL de tampón acetato (0,3 M; 3,6). Se tomaron las lecturas de absorbancia máxima de 595 nm. Los resultados se expresan como μmol Trolox equivalente por mL de muestra (Pérez Burillo, Rufian Henares, & Pastoriza, 2018).

Análisis estadístico

Se realizará la investigación de la capacidad antioxidante, contenido total de fenoles y evaluaciones sensoriales (apariencia, sabor y aroma) de las 5 cervezas artesanales como indicador de la influencia del uso de plantas aromáticas en el proceso de fermentación en el mejoramiento de la capacidad antioxidante y las características organolépticas del producto final respectivamente, con 3 réplicas por cada prueba a realizarse. Para la evaluación

sensorial se llevará a cabo un entrenamiento a personas entre 18 a 60 años, para que hagan el papel de catadores.

Factores de estudio

Para la evaluación de la composición de los principios activos se usaron factores de estudio como la determinación de los compuestos fitoquímicos (fenoles/flavonoides totales) y el carácter antioxidante de las 5 cervezas artesanales usando tres métodos diferentes (FRAP, DPPH, ABTS).

Unidad experimental

La unidad experimental serán las cuatro cervezas artesanales que tenga incluido en su formulación el material vegetal (*Moringa oleífera* L.; *Ocotea quixos* K.; *Luma apiculata* B. y *Coffea arabica* L.) y una cerveza sin material vegetal.

Tratamientos

Para el análisis estadístico de los compuestos fitoquímicos (fenoles/flavonoides totales) se realizó un diseño factorial mixto 2x5. Se estableció 2 métodos para determinar el contenido de fenoles totales (TPC) y contenido de flavonoides totales (TFC) (a = 2) para 3 muestras de cada cerveza artesanal con su material vegetal respectivo (b = 3). El experimento se realizará con cuatro réplicas (n = 4). Toda la información se sintetizó en la Tabla 1.

Tabla 1.

Diseño experimental factorial 2x5 de las 5 cervezas para la determinación de compuestos fitoquímicos: fenoles totales (TPC) y flavonoides totales (TFC)

Métodos

Cerveza	Cerveza	Cerveza	Cerveza	Cerveza
de Café	de	de	de	sin
	Moringa	Ishpingo	Arrayan	

					material
					vegetal
Fenoles	4	4	4	4	4
totales					
Flavonoides	4	4	4	4	4

La evaluación del carácter antioxidante se determinará por tres métodos en donde el porcentaje de inhibición ($a=3$) y 3 muestras de cada una de las cervezas ($b=3$), por tanto se diseñará un experimento factorial mixto de 3×5 como lo indica la tabla la evaluación del carácter antioxidante se estableció tres métodos para determinar el porcentaje de inhibición ($a = 3$) y 3 muestras de cada uno de los tres estadios de maduración del fruto ($b = 3$); por lo tanto, se diseñará un experimento factorial mixto 3×3 como lo indica la Tabla 2. El análisis se realizará con tres réplicas ($n = 3$).

Tabla 2.

Diseño experimental factorial 3×5 para determinar el carácter antioxidante.

Métodos	Cerveza Artesanal				
	Moringa	Café	Ishpingo	Arrayan	Sin planta
DPPH	3	3	3	3	3
FRAP	3	3	3	3	3
ABTS	3	3	3	3	3

El esquema de análisis de varianza se encuentra presentado en la Tabla 2 para un diseño factorial mixto 3x5 para la determinación el carácter antioxidante respectivamente.

Tabla 3.

Esquema de un anova para el diseño factorial mixto 3x5.

Fuente	Grados de Libertad	Carácter
		Antioxidante
Método (a)	a-1	2
Muestras (b)	b-1	4
Efecto ab	(a-1)(b-1)	8
Error (e)	ab(n-1)	30
Total	abn-1	44

Además, para el estudio de correlaciones y la evaluación del carácter antioxidante se realizará utilizando el coeficiente de correlación de Pearson.

Anova para determinar la evaluación sensorial.

Para la evaluación sensorial se llevará a cabo un entrenamiento a personas entre 18 a 60 años, para que hagan el papel de catadores.

Tamaño de muestra: 5 muestras producto de la cerveza artesanal con y sin plantas seleccionadas.

Nivel de significancia: $\alpha=0.05$

- Variables: Cuantitativas: Valores de la evaluación sensorial.

Capítulo IV: Resultados

Elaboración y formulación de las cervezas.

Se formularon cinco recetas para la elaboración de cerveza artesanal con plantas de la zona Andina de nuestro país. Las distintas se muestran bajo la nomenclatura mostrada en la tabla 4.

Tabla 4

Nomenclatura de las cervezas elaboradas y evaluadas de las especies: Moringa oleífera L.; Ocotea quixos K.; Luma apiculata B. y Coffea arabica L.

Nº	Se usa o no material vegetal para la elaboración de la cerveza.	Especie usada en la cerveza	Nombre de la cerveza
1	No	-	Cerveza de Maíz, Arroz y Cebada
2	Si	<i>Moringa oleífera</i> L.	Cerveza de Moringa
3	Si	<i>Ocotea quixos</i> K.	Cerveza de Ishpingo
4	Si	<i>Luma apiculata</i> B.	Cerveza de Arrayan
5	Si	<i>Coffea arabica</i> L.	Cerveza de Café

Los procesos de elaboración de la cerveza se realizaron usando la indumentaria adecuada y los protocolos de limpieza apropiados para la elaboración de bebidas y alimentos establecidos por el ARCSA. Los pasos a seguir para la elaboración de la cerveza fue la molienda de la malta, la maceración de la malta molida, la cocción, la adición de lúpulo, el enfriamiento de la cerveza verde obtenida, la adición de levadura y finalmente el envasado de esta mezcla en un tacho de veinte litros de grado alimenticio.

Figura 1.

Elaboración de las cinco cervezas artesanales.



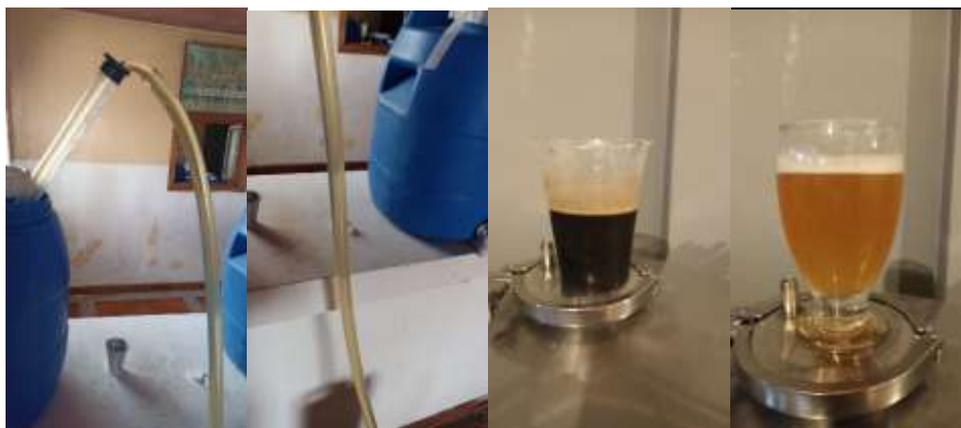
Cada material vegetal antes de ser usado debe ser lavado con agua destilada.

Fermentación de las cervezas artesanales.

Las cervezas artesanales tuvieron dos procesos de fermentación.

Figura 2.

Fermentación de la cerveza artesanal.



Almacenamiento

Posterior a la fermentación, la cerveza obtenida después de estos 14 días es trasvasada a un tanque de acero inoxidable de grado alimenticio, en donde la cerveza ingresa y al final el tanque es cerrado herméticamente y presurizado con CO₂.

Carbonatación:

La carbonatación de la cerveza se realiza con ayuda de un sistema de gasificación de CO₂ en donde se coloca el tanque Cornelius (tanque de acero inoxidable) dentro de una nevera y se deja reposar conectado al sistema de gasificación durante un periodo de 24 horas.

Embotellado:

El embotellado se realiza con el uso de una pistola beer gun, en donde esta es conectada al sistema de gasificación y mientras el tanque se conserve dentro de la nevera, se debe ir llenando la botella de color ámbar (usando las diferencias de presión u temperatura) hasta alcanzar el volumen requerido de la botella ámbar.

Preparación de las muestras para el análisis.

Las cervezas envasadas se llevaron al laboratorio de investigaciones biotecnológicas de la ESPE en donde estas fueron abiertas y a partir de ellas se obtuvieron diluciones de 1:6 de los extractos etanólicos; las cuales en su aspecto presentaron un aclaramiento respecto a sus originales. Dichas diluciones fueron almacenadas y rotuladas para su posterior evaluación.

Figura 3.

Diluciones de muestras de las cervezas artesanales.



Evaluación del carácter antioxidante.

Para el estudio de la capacidad antioxidante de las cinco cervezas con las especies *Moringa oleífera* L.; *Ocotea quixos* K.; *Luma apiculata* B. y *Coffea arabica* L.; se empleó tres métodos para las diluciones obtenidas.

Determinación del carácter antioxidante por el método DPPH.

Para este método se emplea el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrolizado (DPPH), que es una molécula que se encuentra estable, es soluble en solventes orgánicos como el metanol y etanol; se caracteriza por tener un color púrpura notablemente estable e intenso; cuando el DPPH es mezclado con una solución de una sustancia capaz de donar un átomo de hidrógeno, este color violeta desaparece, dando como resultado la forma reducida del radical DPPH (DPPH-H). La formación de la hidracina (DPPH-H) induce a que el color de la solución cambie de violeta a amarillo pálido como resultado de la reducción radical por transferencia de átomos de hidrógeno de los antioxidantes que son donantes de H. Dicha decoloración permitió medir la capacidad de inhibición de los radicales libres por parte de la muestra (Gulcin , 2023).

Figura 4.

Método DPPH aplicado a las diluciones (1:6) de muestras de cervezas artesanales.

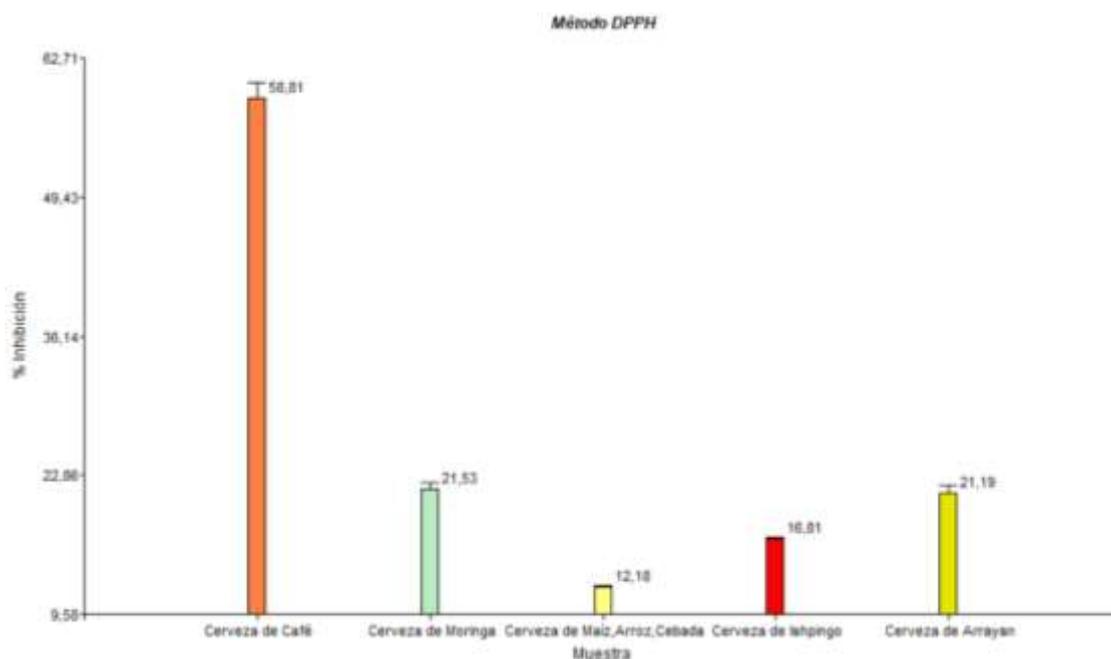


Se obtuvo una curva de calibración en donde se usó como solución estándar Trolox que tenía un rango de concentraciones de 0 a 0,625 mM. Su linealidad se expresó mediante la ecuación: $y = -0,9979 x + 0,7211$ ($R^2 = 0,993$).

El método mostró como resultado una mayor inhibición de los radicales libres en la cerveza de Café con respecto al resto de las muestras porque tiene un valor promedio de 58,81%, como se observa en la Figura 5. La cerveza de Moringa y la cerveza de Arrayan poseen valores significativamente idénticos, contando con un carácter antioxidante del 21,53% y 21,19% respectivamente, siendo la cerveza de moringa ligeramente superior. Finalmente, las cervezas de Ishpingo y de arroz, cebada presentaron el menor porcentaje de inhibición respecto al resto de muestras, ya que los promedios obtenidos fueron de 16,81% y 12,18% siendo la cerveza de Ishpingo el de mayor porcentaje.

Figura 5.

Capacidad antioxidante (% inhibición) de muestras de cervezas artesanales por método DPPH.



La curva de calibración (Apéndice 2) fue usada para procesar los porcentajes de inhibición resultantes y poder expresarlo en unidades de $\mu\text{mol Trolox/mL}$. La Figura 6 se la anova de los datos de las cervezas artesanales que presentan actividad antioxidante en donde se observa que la mejor actividad antioxidante es presentada por la cerveza de Café con 15,93% $\mu\text{mol Trolox/mL}$.

Figura 6.

Anova de los datos de las cervezas artesanales que presentan actividad antioxidante

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
umol Trolox/mL	15	1,00	1,00	3,13

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	320,29	4	80,07	1720,21	<0,0001
Muestra	320,29	4	80,07	1720,21	<0,0001
Error	0,47	10	0,05		
Total	320,75	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,57975
Error: 0,0465 gl: 10

Muestra	Medias	n	E.E.
Cerveza de Café	15,93	3	0,12 A
Cerveza de Moringa	5,62	3	0,12 B
Cerveza de Arrayan	5,52	3	0,12 B
Cerveza de Ishpingo	4,31	3	0,12 C
Cerveza de Maiz, Arroz, Ce..	3,03	3	0,12 D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

A continuación, se presenta el resultado de la prueba Shapiro-Wilks para determinar la normalidad de los datos. El valor p obtenido es de 0,7513 por lo que este resultado cumple con la suposición de normalidad, ya que el valor p es mayor de 0,05, lo que indica que no hay suficiente evidencia para rechazar la hipótesis nula de que los datos se ajustan a una distribución normal.

Figura 7.

Prueba de Shapiro-Wilks de las cervezas artesanales.

Nueva tabla : 1/8/2023 - 19:24:45 - [Versión : 30/4/2020]

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO umol Trolox/mL	15	0,00	0,18	0,95	0,7513

Una vez comprobado la normalidad de los datos, procedemos a verificar la homocedasticidad para lo cual usamos el análisis de varianza (ANOVA). El valor p obtenido fue de 0,1321, con este resultado, verificamos que si cumple la homocedasticidad ya que el valor de p es mayor a 0,05.

Figura 8.

Análisis de Varianza (anova) para comprobar la homocedasticidad de los datos.

Análisis de la varianza

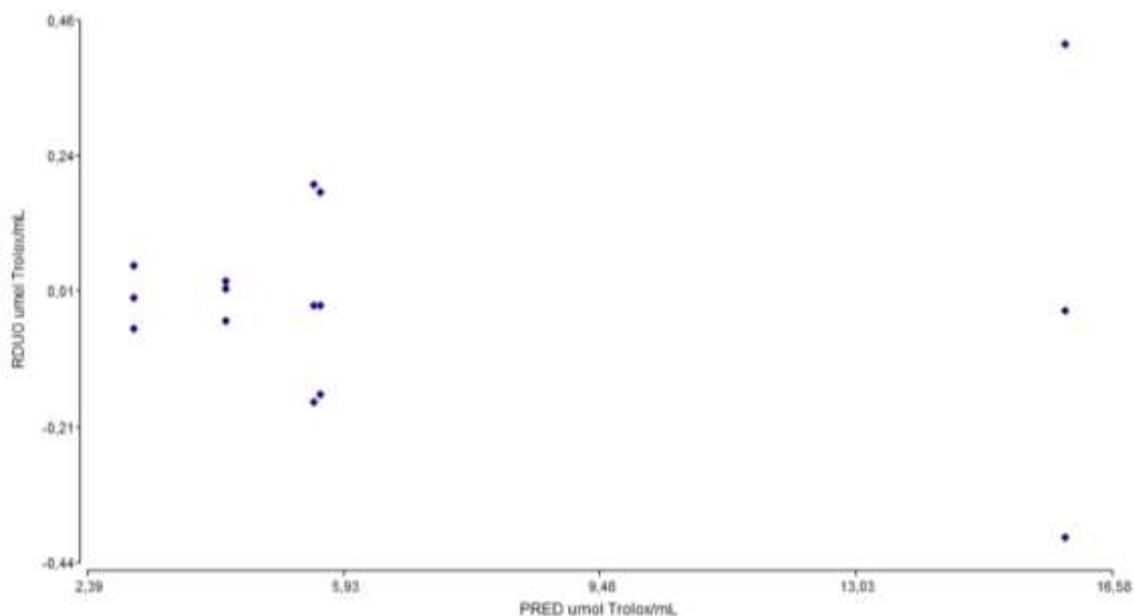
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS umol Trolox/mL	15	0,48	0,27	100,39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,12	4	0,03	2,28	0,1321
Muestra	0,12	4	0,03	2,28	0,1321
Error	0,14	10	0,01		
Total	0,26	14			

Finalmente, verificamos la independencia de los datos mediante el test de independencia de datos. El análisis reveló que el gráfico no presenta un patrón que indique dependencia entre factores. Esto sugiere que las observaciones son independientes entre si y no están influenciadas por otros factores.

Figura 9. Gráficas del test de independencia de factores.



Determinación del carácter antioxidante por el método ABTS.

El ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) se basa en la reacción del radical ABTS con antioxidantes presentes en la muestra. En condiciones normales el ABTS se oxida para formar un radical catión ABTS⁺ que posee un color verde azulado. La intensidad

de este color se encuentra relacionado con la cantidad de radicales antioxidantes presentes en la muestra (Siquiera, y otros, 2018).

Figura 10.

Método ABTS aplicado a las diluciones (1:6) de las muestras de cervezas artesanales.

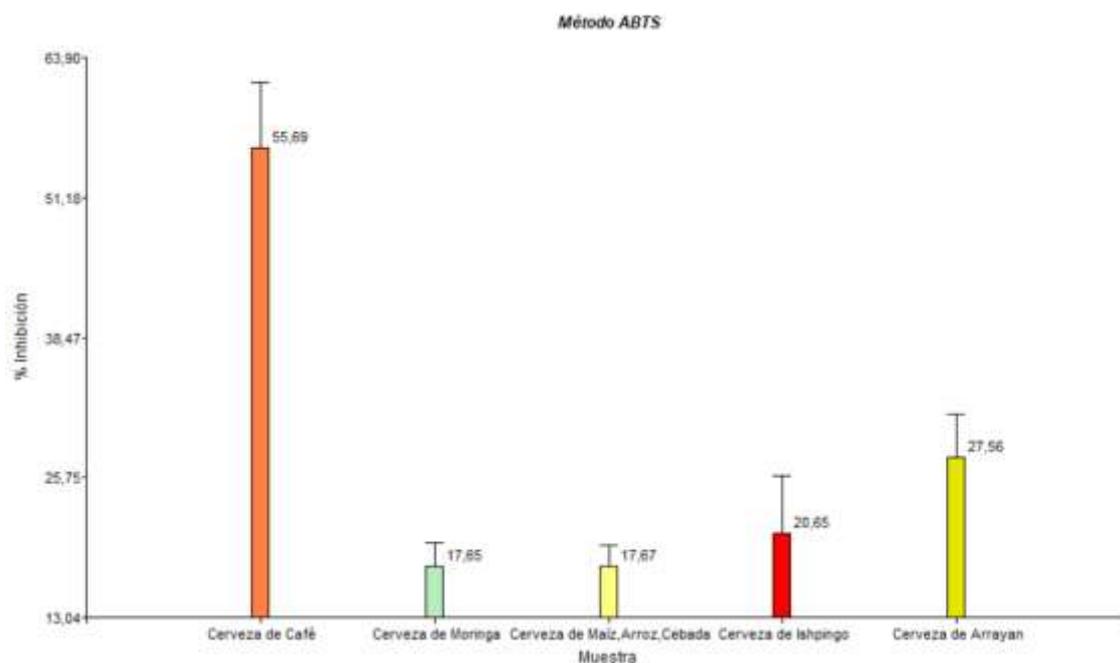


Para la curva de calibración se usó como estándar el Trolox, en donde el rango de las concentraciones de fue de 0 a 2,5 mM, se expresó su linealidad mediante la ecuación: $y = -0,2489 x + 0,7533$ ($R^2 = 0,969$).

El ensayo del ABTS presento una mayor inhibición del catión radical ABTS en la cerveza de Café (Figura 11.). Mientras que las cervezas de Arrayán e Ishpingo poseen un porcentaje de inhibición del 27,56 y 20,65 respectivamente; por ultimo las cervezas de Moringa y Arroz presenta valores muy pequeños (17,67% y 17,65%) comparados a los obtenidos en la cerveza de Café.

Figura 11.

Capacidad antioxidante (% inhibición) de muestras de cervezas artesanales por método ABTS.



Los porcentajes de barrido de los radicales libres resultantes fueron presentados mediante la curva de calibración (Apéndice 1) y los valores son expresados en unidades de μmol Trolox/ mL. Los resultados se pueden observar en la Figura 12. En donde se observa que el mayor porcentaje de inhibición de los radicales libres es para la cerveza de Café, mostrando un $6,80 \mu\text{mol}$ Trolox/ mL; mientras que las demás cervezas no muestran una diferencia significativa o estadística.

Figura 12.

Anova de los datos de las cervezas artesanales que presentan actividad antioxidante mediante el método ABTS.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	66,71	4	16,68	41,08	<0,0001
Muestra	66,71	4	16,68	41,08	<0,0001
Error	4,06	10	0,41		
Total	70,77	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,71206

Error: 0,4059 gl: 10

Muestra	Medias	n	E.E.	
Cerveza de Café	6,80	3	0,37	A
Cerveza de Arrayan	2,80	3	0,37	B
Cerveza de Ishpingo	1,67	3	0,37	B
Cerveza de Maíz, Arroz, Ce..	1,23	3	0,37	B
Cerveza de Moringa	1,23	3	0,37	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Después de realizar la prueba mediante el método ABTS y obtener que la cerveza de Café presenta una concentración de más de 6,80 $\mu\text{mol Trolox/mL}$, se procedió a verificar la normalidad de los datos. Para ello, se usó el método de Shapiro-Wilks, en donde se obtuvo un valor p de 0,96. Este resultado indica que los datos siguen una distribución normal, ya que el valor p es mayor que 0,05. Por lo tanto, podemos considerar que los datos cumplen con la suposición de normalidad para continuar con el análisis de la muestra.

Figura 13.

Prueba de Shapiro-Wilks de las cervezas artesanales.

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO $\mu\text{mol Trolox/mL}$	15	0,00	0,54	0,96	0,7760

A continuación, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para verificar la homocedasticidad de los datos; en donde el valor p obtenido fue de 0,1409, lo cual nos menciona que es mayor a 0,05; por esto el resultado cumple con la prueba de homocedasticidad de los datos, lo que sugiere que las varianzas de las muestras son aproximadamente iguales.

Al satisfacer la prueba de homocedasticidad, podemos continuar con el análisis para verificar la independencia de los datos. La homocedasticidad es un requisito importante para proceder con la prueba de la independencia de los factores o variables en el conjunto de datos.

Figura 14.

Análisis de Varianza (anova) del método ABTS para comprobar la homocedasticidad de los datos.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS umol Trolox/mL	15	0,47	0,26	54,87

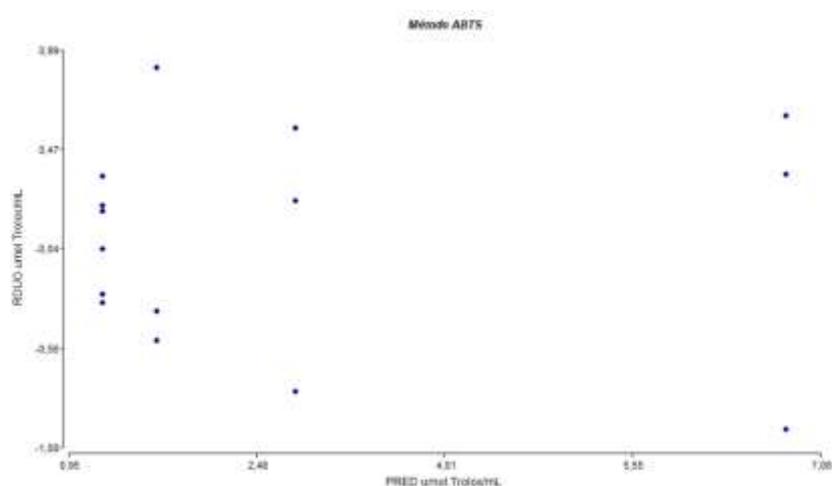
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,52	4	0,13	2,21	0,1409
Muestra	0,52	4	0,13	2,21	0,1409
Error	0,59	10	0,06		
Total	1,11	14			

Finalmente, se realiza el test de independencia de datos o factores (Figura 15) donde se observa que los datos no presentan patrón alguno y se puede confirmar así la independencia de los mismos.

Figura 15.

Gráficas del test de independencia de factores.



Determinación del carácter antioxidante por el método FRAP.

FRAP es un método para evaluar el “poder antioxidante”. La reducción de iones férrico a ferroso a pH bajo (3,60) hace que se forme un complejo ferroso-tripiridiltriazina de color azul intenso (Benzei & Strain, 1996). Esta coloración es característica del ensayo que se muestra en la Figura 16.

Figura 16.

Método FRAP aplicado a diluciones (1:6) de las cervezas artesanales.



La curva de calibración usada se preparó con una solución estándar de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en un rango de concentración de 0 a 5mM. Su linealidad fue expresada mediante la ecuación: $y = 0,7056 X - 0,028$ ($R^2 = 0,999$).

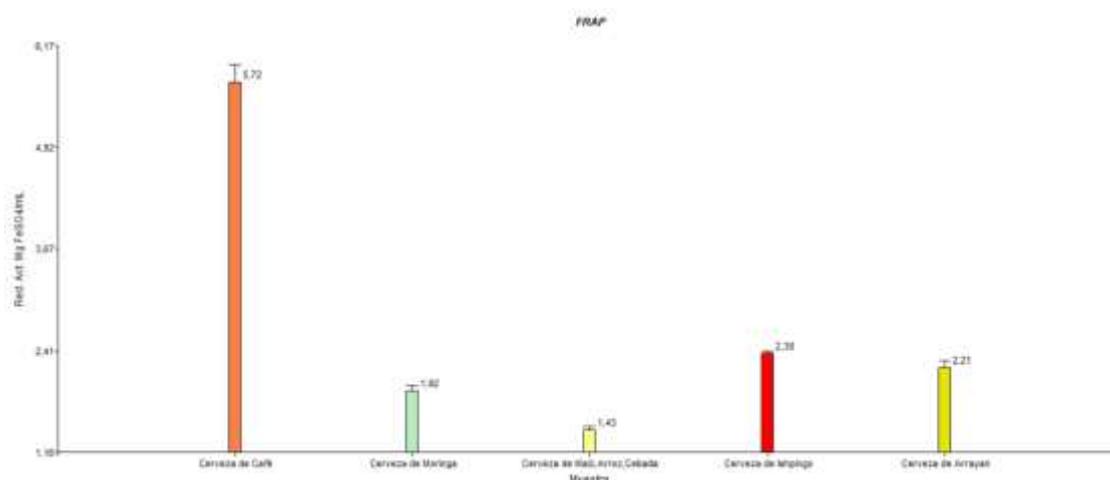
En el ensayo de FRAP (Potencial Reductor del Ion Férrico), se observó que la cerveza de café mostró una mayor capacidad de reducción del ion férrico en comparación con las otras cervezas, con un promedio de 5.72 mM equivalentes de Fe (2+). Por otro lado, las cervezas de Arrayán e Ishpingo también presentaron una capacidad reductora, aunque más leve, con valores de 2.21 mM y 2.38 mM equivalentes de Fe (2+) respectivamente.

En contraste, las cervezas de Moringa y Arroz mostraron valores insignificantes en su capacidad reductora, con 1.92 mM y 1.43 mM equivalentes de Fe (2+) respectivamente.

Estos resultados sugieren que la cerveza de café tiene una mayor capacidad antioxidante en términos de reducción del ion férrico en comparación con las otras cervezas analizadas, mientras que las cervezas de arrayán e ishpingo también presentan cierta capacidad reductora, aunque menor. Por otro lado, las cervezas de moringa y arroz mostraron una capacidad reductora más limitada en este ensayo.

Figura 17.

Potencial reductor del ión férrico de muestras de cerveza artesanal.



Los resultados del ensayo fueron procesados utilizando la curva de calibración (Apéndice 3) y se expresaron en unidades de mg Fe₂SO₄/100 mL, como se muestra en la Figura 18. En esta figura, se puede observar que la cerveza de Café exhibió el mejor potencial reductor con un promedio de 5.72 mg Fe₂SO₄/100 mL. Esto indica que la cerveza de café presentó la mayor capacidad de reducir el ion férrico en comparación con las otras muestras analizadas.

Figura 18.

Anova de los datos de las cervezas artesanales que presentan actividad antioxidante mediante el método FRAP.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	35,08	4	8,77	688,40	<0,0001
Muestra	35,08	4	8,77	688,40	<0,0001
Error	0,13	10	0,01		
Total	35,21	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,30330

Error: 0,0127 gl: 10

Muestra	Medias	n	E.E.	
Cerveza de Café	5,72	3	0,07	A
Cerveza de Ishpingo	2,38	3	0,07	B
Cerveza de Arrayan	2,21	3	0,07	B C
Cerveza de Moringa	1,92	3	0,07	C
Cerveza de Maiz, Arroz, Ce..	1,43	3	0,07	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Después de verificar los supuestos para el uso de ANOVA, se confirmó que los datos cumplían con la normalidad, pero no con la homocedasticidad (ver Apéndice 6). Por consiguiente, se procedió a realizar pruebas no paramétricas.

El análisis de varianza no paramétrico (Kruskal-Wallis), mostrado en la Figura 19, reveló un nivel de significancia de 0.05 y un p-valor de 0.0091. Estos resultados indican que existe una diferencia significativa en el potencial reductor de las muestras estudiadas pertenecientes a las cervezas. En otras palabras, las cervezas analizadas presentan niveles de capacidad reductora que son estadísticamente diferentes entre sí según la prueba Kruskal-Wallis.

Figura 19.

Análisis de varianza no paramétrica del potencial reductor del ión férrico por el método FRAP.

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Muestra	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Red. Act. Mg FeSO ₄ /mL	Cerveza de Arrayan	3	2,21	0,08	2,21	13,50	0,0091
Red. Act. Mg FeSO ₄ /mL	Cerveza de Café	3	5,72	0,23	5,84		
Red. Act. Mg FeSO ₄ /mL	Cerveza de Ishpingo	3	2,38	0,04	2,38		
Red. Act. Mg FeSO ₄ /mL	Cerveza de Maiz, Arroz, Ce..	3	1,43	0,04	1,41		
Red. Act. Mg FeSO ₄ /mL	Cerveza de Moringa	3	1,92	0,06	1,93		

La prueba de Kruskai Wallis ayudo a tener una comparación de a pares entre las medianas para así poder distar los resultados ensayados. En la Figura 20. Se puede apreciar las muestras de cerveza artesanal, en donde las muestras de cerveza de Moringa, Maíz, Arrayan e Ishpingo no difieren significativamente. Pero, por otro lado, solo la muestra de cerveza de Café presenta una diferencia significativa del resto al ser el mayor resultado del ensayo FRAP.

Figura 20.

Comparación de medianas del potencial reductor por el método FRAP.

Trat.	Medias Ranks		
Cerveza de Maíz, Arroz, Ce..	1,43	2,00	A
Cerveza de Moringa	1,92	5,00	A B
Cerveza de Arrayan	2,21	8,00	A B C
Cerveza de Ishpingo	2,38	11,00	B C
Cerveza de Café	5,72	14,00	C

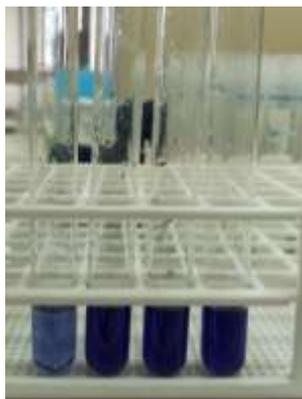
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Determinación del contenido de fenoles totales.

Su principio se basa en la oxidación en la oxidación de compuestos fenólicos en medio alcalino con fosfato de molibdeno y tungsteno para formar un complejo de color azul. La intensidad de los complejos de tungsteno-molibdeno de color azul con polifenoles se mide espectrofotométricamente a la longitud de onda de 750 nm (Bajcan, Harangozo, Hrabovska, & Boncikova, 2013). Dicha coloración permitió cuantificar los fenoles presentes en las diferentes muestras de cerveza.

Figura 21.

Ensayo Folin-Ciocalteu aplicado a diluciones (1:6) de las diferentes muestras de cervezas artesanales.

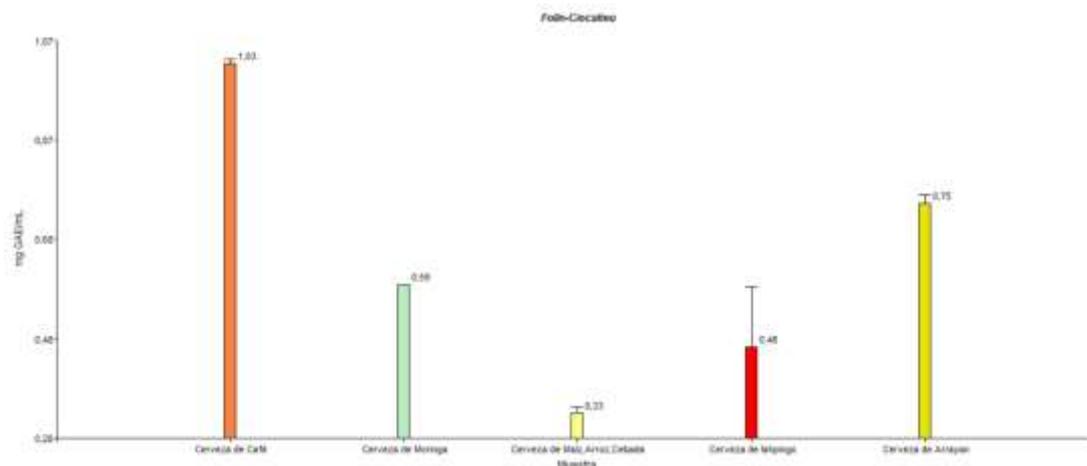


Se utilizó una curva de calibración que se obtuvo usando como estándar el ácido gálico en un rango de concentraciones de 0 a 250 mg/L. La linealidad se expresó con la ecuación: $y = 0,0112X - 0,1759$ ($R^2 = 0,979$)

A través de un proceso de calibración mediante una curva (Apéndice 4), se obtuvieron resultados que indican un mayor contenido de fenoles en las cervezas de café y arrayan. Estas cervezas presentan concentraciones promedio de 1.03 y 0.75 mg TPC/L, respectivamente. En contraste, la cerveza de moringa muestra una concentración promedio de 0.59 mg TPC/L, mientras que la cerveza de Ishpingo tiene una concentración promedio de 0.46 mg TPC/L. Por último, la cerveza de arroz exhibe un contenido inferior de 0.33 mg TPC/L en comparación con las demás cervezas mencionadas anteriormente.

Figura 22.

Contenido de fenoles totales (TPC) de muestras de cerveza artesanal por método Folin-Ciocalteu.



En la figura 23 se encuentran los porcentajes de fenoles totales expresados en unidades de mL equivalentes de ácido gálico por cada 100 mL de muestra. Los resultados indican que las muestras de cerveza de café y cerveza de arrayán presentaron los mejores promedios, con valores de 1.03 y 0.75 mg GAE/100 mL, respectivamente. Por otro lado, la cerveza de maíz mostró la menor concentración, con un valor de 0.33 mg GAE/100 mL.

Figura 23.

Anova de los datos de las cervezas artesanales que presenta el contenido total de fenoles mediante el método Foli-Ciocalteu.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,88	4	0,22	73,70	<0,0001
Muestra	0,88	4	0,22	73,70	<0,0001
Error	0,03	10	3,0E-03		
Total	0,91	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,14689

Error: 0,0030 gl: 10

Muestra	Medias	n	E.E.	
Cerveza de Café	1,03	3	0,03	A
Cerveza de Arrayán	0,75	3	0,03	B
Cerveza de Moringa	0,59	3	0,03	C
Cerveza de Ishpingo	0,46	3	0,03	C D
Cerveza de Maíz, Arroz, Ce..	0,33	3	0,03	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Luego de verificar los supuestos necesarios para aplicar el análisis de varianza (ANOVA), se constató que los datos no cumplían con los criterios de normalidad y homocedasticidad

(ver Apéndice 7). Debido a esta situación, se optó por utilizar pruebas no paramétricas. En específico, la prueba de Kruskal-Wallis (Figura 25) reveló que existe una diferencia significativa en la cantidad de fenoles totales de las muestras de cerveza artesanal, con un nivel de significación de 0.05 y un valor p de 0.0118.

Figura 24.

Análisis de varianza no paramétrica del contenido total de fenoles por método Folin-Ciocalteu

Prueba de Kruskal Wallis							
Variable	Muestra	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
mg GAE/mL	Cerveza de Arrayan	3	0,75	0,02	0,74	12,90	0,0118
mg GAE/mL	Cerveza de Café	3	1,03	0,01	1,03		
mg GAE/mL	Cerveza de Ishpingo	3	0,46	0,12	0,39		
mg GAE/mL	Cerveza de Maiz, Arroz, Ce..	3	0,33	0,01	0,33		
mg GAE/mL	Cerveza de Moringa	3	0,59	5,5E-04	0,59		

La aplicación de la prueba de Kruskal-Wallis permitió realizar una comparación entre las medianas para identificar diferencias significativas en los resultados del ensayo, tal como se muestra en la figura 25. Las muestras de cerveza de café y arrayán presentaron resultados similares, lo que indica que no difieren significativamente en términos de contenido de fenoles totales.

Figura 25.

Comparación de medianas del contenido de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu

Trat.	Medias	Ranks	
Cerveza de Maiz, Arroz, Ce..	0,33	2,00	A
Cerveza de Ishpingo	0,46	6,00	A B
Cerveza de Moringa	0,59	7,00	A B C
Cerveza de Arrayan	0,75	11,00	B C
Cerveza de Café	1,03	14,00	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Determinación del contenido de flavonoides totales.

El ensayo emplea $AlCl_3$, donde el $Al(III)$ actúa como un agente complejante o sustancia capaz de unirse a iones específicos. El método se fundamenta en la formación de quelatos

de Al(III) con flavonoides, debido a la alta afinidad de los enlaces oxo e hidroxilo de estos últimos por unirse a iones metálicos. Como resultado, se generan complejos de color amarillento parduzco, tal como se observa en la figura 26 (Shraim, Ahmed, Rahman, & Hijji, 2021)

Figura 26.

Ensayo de $AlCl_3$ aplicado a diluciones (1:6) de las muestras de cerveza.

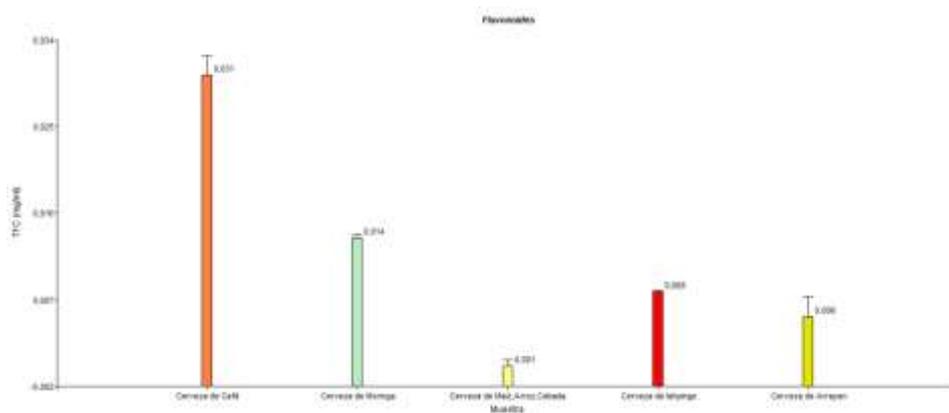


Fue elaborada una curva de calibración (Apéndice 5) con el empleo de quercetina como solución patrón, abarcando un rango de concentración de 0 a 1,5 mg/mL. La linealidad del método se presentó mediante la ecuación: $y = 1,4566x - 0,0265$ (con un coeficiente de determinación $R^2 = 0,994$).

Los resultados obtenidos mediante el ensayo y mostrados en la figura 27 revelaron que la cerveza de Café contiene una mayor cantidad de flavonoides, con un promedio de 0,031 mg TFC/mL de dilución. La cerveza de Moringa exhibe una diferencia más notable, con un contenido de 0,014 mg TFC/mL. Por otro lado, en las cervezas de Ishpingo y Arrayan, se observan ligeras diferencias significativas, con contenidos totales de 0,008 y 0,006 mg TFC/mL, respectivamente. Finalmente, la cerveza de Arroz presenta un contenido más bajo de 0,001 mg TFC/mL.

Figura 27.

Contenido de flavonoides totales (TFC) de diluciones (1:6) de las muestras de cerveza artesanal por ensayo $AlCl_3$



Se empleó quercetina como un compuesto de referencia para expresar los resultados en mg equivalentes de quercetina por mL de muestra, y estos se exponen en la Figura 28. Se observó que la cerveza de Café presentó la concentración más alta, con un promedio de 0,15 mg QE/mL. Por otro lado, la muestra de cerveza de Moringa mostró una ligera superioridad en comparación con las demás cervezas analizadas en el ensayo.

Figura 28.

Anova de los datos de las cervezas artesanales que presenta el contenido flavonoides.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,04	4	0,01	243,49	<0,0001
Muestra	0,04	4	0,01	243,49	<0,0001
Error	4,2E-04	10	4,2E-05		
Total	0,04	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01732

Error: 0,0000 gl: 10

Muestra	Medias	n	E.E.	
Cerveza de Café	0,15	3	3,7E-03	A
Cerveza de Moringa	0,07	3	3,7E-03	B
Cerveza de Ishpingo	0,04	3	3,7E-03	C
Cerveza de Arrayán	0,03	3	3,7E-03	C
Cerveza de Maíz, Arroz, Ce..	2,8E-03	3	3,7E-03	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

La cerveza de Maíz mostró el menor contenido de fenoles totales con una cantidad de 2,8E-03 mg QE/mL.

Después de verificar los supuestos para el uso del ANOVA, se encontró que los datos no cumplían con la homocedasticidad (ver Apéndice 8), por lo que se procedió a realizar pruebas no paramétricas. El análisis de varianza no paramétrico de la Figura 29 determinó que, a un nivel de significancia de 0,05 y con un valor p menor a 0,0336, existe una diferencia significativa en el contenido de flavonoides entre las distintas muestras.

Figura 29.

Análisis de varianza no paramétrica del contenido total de flavonoides por el ensayo $AlCl_3$

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Muestra	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
mg QE/mL	Cerveza de Arrayan	3	0,03	0,01	0,02	13,50	0,0089
mg QE/mL	Cerveza de Café	3	0,15	0,01	0,15		
mg QE/mL	Cerveza de Ishpingo	3	0,04	9,9E-04	0,04		
mg QE/mL	Cerveza de Maiz, Arroz, Ce..	3	2,8E-03	2,8E-03	1,4E-03		
mg QE/mL	Cerveza de Moringa	3	0,07	2,0E-03	0,07		

Mediante el uso de la prueba de Kruskal-Wallis, se llevaron a cabo comparaciones de a pares entre las medianas para identificar diferencias significativas. Según lo representado en la figura 30, se observó que la muestra de cerveza de Café presenta una mayor cantidad de contenido de flavonoides, mientras que las otras muestras no presentan diferencias estadísticamente significativas entre ellas.

Trat.	Medias	Ranks
Cerveza de Maiz, Arroz, Ce..	2,8E-03	2,00 A
Cerveza de Arrayan	0,03	5,00 A B
Cerveza de Ishpingo	0,04	8,00 A B C
Cerveza de Moringa	0,07	11,00 B C
Cerveza de Café	0,15	14,00 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Resultados de ANOVA de pruebas hedónicas.

Tabla 5.

Nomenclatura de las cervezas que se evaluaron usando las categorías establecidas por las pruebas hedónicas: NM (Cerveza de Moringa oleifera L.); ISH (Cerveza de Ocotea quixos K.); AR (Cerveza de Luma apiculata B.), RP (Cerveza de Coffea arabica L.) y AM (Cerveza de arroz).

Código	Se usó o no material vegetal	Especie Usada	Tipo de Cerveza
RP	Si	<i>Coffea arabica</i> L.	Cerveza de Café
NM	Si	<i>Moringa oleifera</i> L.	Cerveza de Morigna
AM	No	-	Cerveza de arroz.
ISH	Si	<i>Ocotea quixos</i> K.	Cerveza de Ishpingo
AR	Si	<i>Luma apiculata</i> B.	Cerveza de Arrayán

Figura 30.

Resultados de las pruebas hedónicas de las cinco cervezas artesanales presentadas en este estudio.

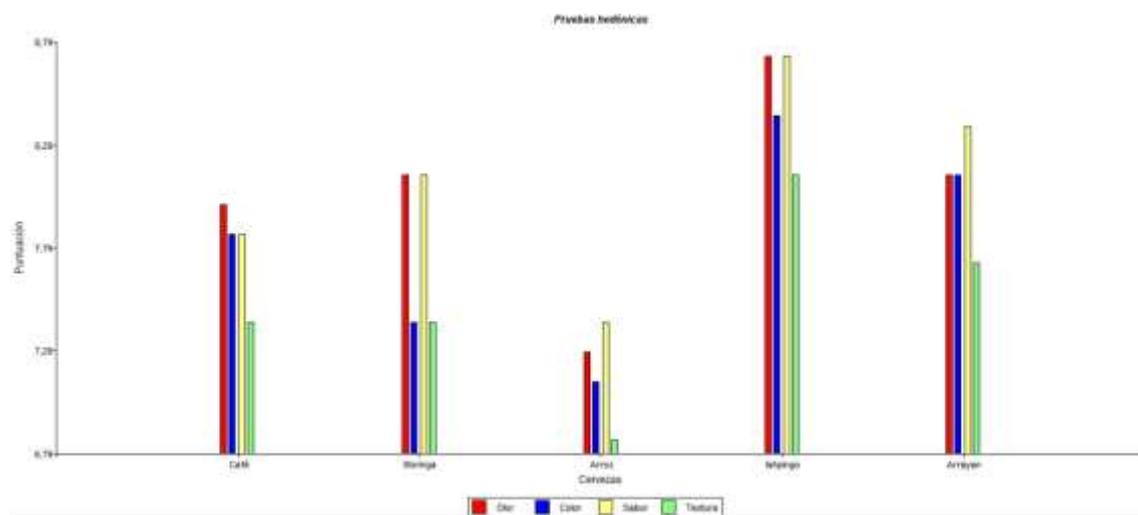


Figura 31.

Anova de las pruebas hedónicas de la puntuación de olor de las cervezas artesanales.

Olor

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Olor	5	1,00		sd	0,00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,04	4	0,26	sd	sd
Cervezas	1,04	4	0,26	sd	sd
Error	0,00	0	0,00		
Total	1,04	4			

Figura 32.

Anova de las pruebas hedónicas de la puntuación de color de las cervezas artesanales.

Color

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Color	5	1,00		sd	0,00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,09	4	0,27	sd	sd
Cervezas	1,09	4	0,27	sd	sd
Error	0,00	0	0,00		
Total	1,09	4			

Figura 33.

Anova de las pruebas hedónicas de la puntuación de sabor de las cervezas artesanales.

Sabor

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Sabor	5	1,00		sd	0,00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,96	4	0,24	sd	sd
Cervezas	0,96	4	0,24	sd	sd
Error	0,00	0	0,00		
Total	0,96	4			

Figura 34.

Anova de las pruebas hedónicas de la puntuación de textura de las cervezas artesanales.

Textura

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
Textura	5	1,00		sd	0,00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,88	4	0,22	sd	sd
Cervezas	0,88	4	0,22	sd	sd
Error	0,00	0	0,00		
Total	0,88	4			

Como se observa en los resultados de las pruebas hedónicas (Figura 30) las cervezas tienen una alta aceptación por su añadido botánico, vemos que cada cerveza tiene promedios significativos pero la que se destaca en relación a olor, color, sabor y textura es la cerveza de Ishpingo teniendo un promedio de 8,79. En las Figuras que van de la 31 a la 34 se observa las anovas respecto a olor, color, sabor y textura que no poseen un valor p porque son pruebas subjetivas.

Capítulo V: Discusión

Los cerveceros artesanales y sus clientes han transformado los mercados cerveceros mundiales en las últimas dos décadas. Las “cervecerías”, “cervecerías independientes” y “microcervecerías” como se hacen llamar es una pequeña industria que solo abarca el 6% del mercado, esta se ha alejado del proceso de homogenización provocado por el desarrollo tecnológico, y porque durante el siglo XX las cervecerías en Bélgica y EEUU empezaban a cerrar o ser adquiridas por multinacionales. Con el surgimiento de las cervecerías artesanales se estimuló la innovación en productos y procesos obteniendo cervezas con sabores únicos y variados permitiendo que el consumidor posea una amplia gama opciones. (Garavaglia & Swinnen, 2016).

La industria de cerveza del Ecuador empieza en el año 1566 con la primera cervecería de América del Sur en Quito y ha tenido una larga historia en su desarrollo y casi desaparición en nuestro país. Actualmente con la creación de pequeños emprendimientos cerveceros, se ha desarrollado una variedad de cervezas en donde sus principales insumos son de origen ecuatoriano. Según estadísticas planteadas por medios de comunicación mencionan que se prevé que para el 2024 el mercado de la cerveza artesanal alcance los 47,790 millones de dólares ya que en 2022 el sector de la cerveza artesanal ha aumentado en un 21% y actualmente posee 284 marcas registradas en el SRI. Además, se están realizando competencias que buscan fortalecer la identidad y continuar posicionando el prestigio internacional. Dentro de los concursos a destacar tenemos la Copa Cervecera Mitad del Mundo la que año tras año conlleva más de 800 inscripciones de cervecerías artesanales, donde se presentan más de 120 estilos de cerveza; la Hidromiel, Chicha Beer y la Pachamama son nuevos concursos que buscan fomentar el uso de materia prima local para el desarrollo y elaboración de estilos de cerveza que lleven miel, frutas y cacao. La innovación cervecera del país va en aumento destacado adjuntos sin relevancia como las frutas, por lo que las cervezas presentadas en esta tesis, destacan el material vegetal y tradicional de nuestra tierra, exhibiendo sabores complejos que combinados influyen en el

sabor, aroma, espuma y alcohol de nuestras cervezas terminadas; siendo su factor clave los antioxidantes presentes, que es un indicador de calidad de la cerveza (La Hora, 2020) (en Alimentos, 2022)

Los beneficios nutricionales y bioactivos de las plantas se ha investigado muy poco, a pesar de que Ecuador posee una gran biodiversidad y una extensión de 258.000 km² lo que le hace idóneo para encontrar una vasta gama de plantas vasculares nativas llegando a identificarse alrededor de 17.500 de las cuales 4500 a 5500 son endémicas. Es gracias a su diversidad étnica lo que ha permitido que el uso de estas plantas en rituales o como remedios naturales sea transmitido de forma oral de generación en generación, es decir es un conocimiento empírico mas no científico. A más de eso se sabe que más del 25% de los medicamentos de los países industrializados se basan en compuestos naturales o derivados; en particular el 60 al 80% de los medicamentos antibacterianos y anticancerígenos son de origen natural. Entonces se menciona que Ecuador es una fuente invaluable de potenciales productos naturales de interés biológico industrial. Este trabajo ha puesto en evaluación el potencial antioxidante de las diferentes especies vegetales como *Moringa oleífera* L.; *Ocotea quixos* K.; *Luma apiculata* B. y *Coffea arabica* L. que han sido agregadas como adjuntos a una bebida fermentada que presenta propiedades benéficas y nutraceuticas para el ser humano (Armijos , Ramírez, & Vidari) (Fukalova, Garcia Martinez, & Raigón, 2022).

Dabina-Bicka et al. (2013) menciona que la cerveza es una mezcla compleja en la cual se han caracterizado más de 400 compuestos diferentes en la cerveza. Los más importantes son los compuestos bioactivos principalmente los fenoles y sustancias formadas durante la reacción de Maillards (Melanoidinas), los últimos influyen en su color, aroma y sabor.

Gracias a estos compuestos hoy en día podemos disponer de una cerveza de calidad con gran capacidad antioxidante y beneficios para la salud; las cervezas negras contienen más compuestos fenólicos y de maillard en comparación a las cervezas lagers y cervezas sin alcohol. Hay que aludir que los compuestos fenólicos proporcionan propiedades sensoriales

a la cerveza como la astringencia, olor y el amargor siendo este último el factor clave responsable de las diferencias que se presentan en la boca. Los compuestos fenólicos son antioxidantes debido a la presencia de un sustituto de hidroxilo y su estructura aromática, que les permite depurar radicales libres, los compuestos fenólicos más abundantes en la cerveza son: el ácido gálico, ácido ferúlico y ácido siríngico.

Se obtuvieron las cinco cervezas artesanales que presentan diferentes tonalidades, olores y sabores, esto sucede por el material vegetal añadido como adjunto que las provee de características únicas. A estas cervezas se le realizó una dilución de (1:6) para disolver y extraer los distintos metabolitos secundarios. Este método de dilución es ideal para evitar que la turbidez de las cervezas no afecte a la lectura de la muestra en el equipo de espectrofotometría UV/VIS, esto se menciona en los métodos usados por la normativa ISO 10260:1992 (Callisaya Ticona & Zegarrundo Zarate, 2023)

Los resultados obtenidos en la evaluación del potencial antioxidante mediante el ensayo DPPH revelaron un notable incremento en el porcentaje de inhibición de radicales libres por parte de la cerveza de Café presentando un valor de 58,81%, siendo superiores a lo que determinó un 46,15% de inhibición en los cafés especiales y 35% en cafés locales.

Igualmente, Chacón-Figueroa et al. (2022) obtuvo valores inferiores de $39,64 \pm 2,65 \mu\text{Mol TE/g PS}$ en DPPH en cerveza con bagazo de café. La cerveza de Moringa presenta un valor del 21,53% inferior al valor obtenido por Dessalegn et al., (2022) en donde arrojó valores que iban desde 46,55 a 67,18% de inhibición de radicales libres. La cerveza de arrayán presenta un valor significativamente alto en comparación a la cerveza de Ishpingo con valores de 21,19% y de 16,81% de inhibición de radicales libres respectivamente; actualmente no existen cervezas de estas plantas por lo que se compara con los estudios de Yuliana (2020), que determinaron la cantidad de antioxidantes presentes en plantas que fue de 314,39 $\mu\text{g Trolox/mg}$ para el Arrayán y para el Ishpingo fue de 11,291 $\mu\text{l/ml}$; y finalmente la cerveza de arroz presentó un valor de 12,18% de inhibición de radicales libres, este fue muy bajo pero dentro de un estudio realizado por Mitić et al., (2014) de cervezas

comerciales revelo que estas tienen de 0,56 a 1,66 μMol (DPPH/ml) por lo que esta cerveza de arroz al ser artesanal supera la cantidad de antioxidantes presentes en cervezas comerciales. Dicho esto, vemos que la cerveza de café posee un mayor porcentaje de inhibición y esto se debe a que por ser una mezcla de cebada (otorga un 70-80 % de carácter antioxidante) y lúpulo (otorga de un 20-30% carácter antioxidante) permite el aumento del carácter antioxidante del mismo. Además, las otras cervezas presentan un carácter antioxidante bajo porque durante el proceso de elaboración pudo haber errores en los procesos como usar un método inadecuado para la adición de la planta, usar elevadas temperaturas o usar levaduras que consumen estos compuestos para su crecimiento y reproducción lo que condujo a la reducción del porcentaje de inhibición de los radicales libres (Viana, y otros, 2021).

Para el ensayo de ABTS, no existe estudios relacionados a cerveza por lo que se relaciona con el estudio realizado por Alemán (2019) el cual mencionan que para *Coffea arabica* L. obtuvieron 91.49 μmol Trolox/g café este es un valor mucho más alto que el obtenido en la cerveza de café que fue de 6,80 μmol Trolox/mL de cerveza. Marcela (2020) en *Moringa oleífera* L. obtiene un valor de 12,03 μmol ET/g DM; (Yuliana, 2020) en *Luma apiculata* B. presenta un valor de 351,31 μg Trolox/mg; en *Ocotea quixos* K. presenta un valor para de 7.877 $\mu\text{/ml}$. En comparación con los resultados que se aprecian en la Figura 11, podemos decir que estos valores son insignificantes y no presentan diferencia significativa en el carácter antioxidante entre las últimas tres cervezas.

Salazar (2019) analizo la actividad quelante de metales en iones ferroso en pulpa de *Coffea arabica* L. en donde mostraba valores de quelación de 3,55 g Fe^{2+} /g de extracto; Marcela (2020) en su estudio en *Moringa oleífera* L. obtiene valores de quelación de 39,51 μmol Fe^{2+} /g; para *Ocotea quixos* K. no existen registros o datos que hayan analizado la actividad quelante de metales en iones ferrosos en esta planta; Carrasco-Sandoval et al. (2022) presenta valores para la prueba de FRAP de 1349,53 μmol Trolox/g, Al ser una bebida fermentada usando plantas que están en su auge de estudio de su carácter antioxidante

podemos ver que no existe suficiente información actualmente en bebidas con ese carácter proporcionado por las plantas a bebidas. En este trabajo analizamos la capacidad de reducción del ión férrico mediante el ensayo FRAP, obtenido la mejor capacidad la cerveza de café con un valor de 5,72 mM equivalentes de Fe^{+2} (Figura 17) el resto de cervezas poseen valores insignificantes por lo cual no presentan una diferencia significativa.

El contenido de fenoles y flavonoides determinado en las cervezas artesanales presenta en mayor cantidad en la cerveza de café y de arrayán con valores de 1,03 y 0,75 mg GAE/mL pero estos valores no concuerdan con lo presentado por Salazar 2019 ya que para el grano de café presento valores que van de 52.27 a 1094 mg GAE/g café y Carrasco-Sandoval et al. (2022) presento valores en arrayán de 128,16 y 593,64 mg GAE/ g fw; Ibrahim et al. (2021) presenta valores de fenoles totales para *Ocotea quixos* K. de 733,33 μg GAE/mg y Fejér et al. (2019) presentan valores para las hojas de *Moringa oleífera* L. de 635,6 mg GAE/L para fenoles. Observando los valores presentados en la Figura 22 de los fenoles totales en cada cerveza y comparándolos con los valores mencionados por los diferentes estudios para cada especie respectivamente, nos demuestra que las cinco cervezas no presentan un carácter fenólico significativo que pueda beneficiar o ayudar en los sabores u olores de nuestras cervezas.

Según el ensayo de flavonoides usando el método AlCl_3 , la Figura 26 muestra que la reacción hizo que la cerveza de café cambiara su color a azul en lugar del típico color amarillo-parduzco. Este cambio de color se llama copigmentación y ocurre cuando los flavonoides, específicamente las antocianinas con anillo B de catecol o pirogalol (derivadas de cianidina, petudinina y delphinidina), interactúan con iones metálicos como Al^{3+} . Esto fue mencionado en el estudio realizado por Shraim y su equipo en 2021.

ABTS detecta muestras lipofílicas e hidrófilas, pero por su reacción lenta para la generación del ABTS^+ que se demora aproximadamente de 12 a 16h puede llevar a tener sobreestimaciones y supuestos en la detección de ciertos antioxidantes; aparte que es muy criticado porque mencionan que el ABTS es un radical artificial por lo que no puede

representar el sistema vivo. FRAP es un método barato y simple que se basa en lecturas redox por lo que esta es su principal limitante ya que si el potencial redox Fe^{3+}/Fe^{2+} es menor cualquier sustancia donadora de electrones puede contribuir a lecturas falsas de antioxidantes detectando grupos tiol (-SH), carotenoides y algunas proteínas (Wojtunik Kulesza).

En nuestro estudio, el contenido total de polifenoles y flavonoides de la mayoría de cervezas fue notablemente más alto a comparación de lo que obtuvo Mitić et al., (2014) en su estudio de compuestos antioxidantes para cervezas comerciales. Sin duda, el color de las cervezas tiene un impacto en el sabor y experiencia de la cerveza esto se corrobora con los datos obtenidos en las pruebas hedónicas (Figura 30). Los colores de nuestras cervezas fueron notablemente más altos a comparación de las cervezas convenciones porque existe una fuerte correlación encontrada entre los colores y el contenido de polifenoles y flavonoides mencionada por Nardini y Foddai (2020).

Capítulo VI: Conclusiones y Recomendaciones

Se elaboró las cervezas artesanales de *Coffea arabica* L (café).; *Moringa oleífera* L. (moringa); *Ocotea quixos* K. (ishping); *Luma apiculata* B. (arrayán) y una cerveza sin la adición de alguna de las plantas mencionadas y se obtuvieron sus diluciones.

Se cuantifico el contenido total de fenoles y flavonoides que concordaron con los resultados del carácter antioxidante, la cerveza de *Coffea arabica* L (café) nuevamente presento un valor de 1,03 mg GAE/mL para la prueba Folin-Ciocalteu que detecta fenoles y un valor de 0,031 TFC (mg/mL) para la prueba con $AlCl_3$ para la detección de flavonoides.

La cerveza sin adición de alguna planta mencionada en este estudio cumplió con su rol de blanco, con lo cual nos proporcionó suficiente información para determinar que el carácter antioxidante y el contenido fenólico si aumento en cada cerveza despues de añadir cualquiera de estas plantas (*Coffea arabica* L (café).; *Moringa oleífera* L. (moringa); *Ocotea quixos* K. (ishping); *Luma apiculata* B. (arrayán)) al proceso de elaboración.

Se determinó que las cervezas pueden tener propiedades nutracéuticas y benéficas para el cuerpo humano si presentan un carácter antioxidante medio, por lo que estas cervezas son perfectas para contribuir con la ingesta dietética general de antioxidantes que requiere el cuerpo humano.

Recomendaciones.

Realizar análisis posteriores de cada cerveza artesanal presente en este estudio para determinar que polifenoles y antioxidantes existen en cada cerveza.

Para obtener una cerveza con mayor carácter antioxidante y compuestos fenólicos se debe añadir una cantidad mayor a la cantidad de los insumos usados en la elaboración de las cervezas artesanales.

Ejecutar los análisis de cada cerveza máximo una semana después de haber sido envasada y gasificada para determinar mejor los valores de antioxidantes y fenoles.

Bibliografía

- Gutiérrez , V. (21 de 02 de 2002). Scielo. Obtenido de Scielo:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009
- Akram, N., Shafiq, F., & Ashraf, M. (2017). AScorbic Acid-A potencial oxidant scavenger and its role in plant development and abiotic stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 8. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00613>
- Alemán, S. (2019). Extractos de pulpa de café: una revisión sobre antioxidantes polifenólicos y su actividad antimicrobiana. *Dialnet*. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7163188>
- Alvarez Quinto , B. (2020). Elaboración de cerveza artesanal tipo Golden Ale con Cebada (*hordeum vulgare*) y Arroz (*Oryza sativa* L.). *Trabajo Experimental* , 27-34.
- Armijos , C., Ramírez, J., & Vidari, G. (s.f.). Poorly investigated Ecuadorian medicinal plants. *Plants*. doi:<https://doi.org/10.3390/plants11121590>
- Bajcan, D., Harangozo, L., Hrabovska, D., & Boncikova, D. (2013). Optimizing Conditions for Spectrophotometric Determination of Total Polyphenols in Wines Using Folin.Ciocalteu Reagent. *Microbiology Biotechnology and Food Sciencis*. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Daniel-Bajcan/publication/284564524_Optimizing_conditions_for_spectrophotometri_deter
- Benzei , I., & Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the Frap assay. *Biochem*, 239, 70-76.
- Bikheet, M., Yasien, E., & Galal, S. (2021). Preparation of Functional Yoghrt Drink Fortified with Moringa olifera Leaves. *J. of Food and Dairy Sci. Mansoura Univ.*, 12, 217-223. doi:<https://doi.org/10.21608/jfds.2021.201813>
- Bohorquez Fajardo, R. (2016). *UNIVERSIDAD DE CIENCIAS APLICADAS Y AMBIENTALES U.D.C.A.* Obtenido de DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD

ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE *Diplostegium phylloides* (Kunth) Wedd:

<https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/591/Determinaci%C3%B3n%20de%20actividad%20antioxidante%20Displostephium%20philyciode.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Borsa , A., Muntean , M. V., Salanta, L. C., Tofana, M., Socaci , S. A., Mudura, E., . . . Pop, C. R. (11 de 07 de 2022). *MDPI*. Obtenido de MDPI: <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/15/1958>

Brush, D., & Almeida, L. (2019). Estudio de Factibilidad para la creación de la microempresa elaboradora de cerveza artesanal de sorgo "La Serran" en Guayaquil. *Observatorio de la economía latinoamericana* , 26. Obtenido de <https://www.eumed.net/rev/oel/2019/03/cerveza-artesanal-sorgo.html>

Callisaya Ticona, C., & Zegarrundo Zarate, H. (2023). Determinación de clorofila A en agua superficial utilizando extracto de espinaca por espectrofotometría ultravioleta visible, desarrollado en el Instituto Boliviano de Metrología - IBMETRO. *Universidad Mayor de San Andres*. Obtenido de <http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/32243>

Carrasco Sandoval , J., Falco, I., Sanchez, G., Fabra, M., Lopez Rubio , A., Rodriguez , A., . . . Aranda . (2022). Multivariable optimization of ultrasound-assisted extraction for the determination of phenolic and antioxidants compounds from arrayan (*Luma apiculata* (DC) burret) leaves by microplate-based methods and mass spectrometry. *Journal of Applied research on Medicinal and Aromatic Plants*.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100356>

Carvajal Martinez , L., & Insuasti , A. (2010). Elaboración de cerveza Artesanal utilizando cebada (*Hordeum vulgare*) y Yuca (*Manihot Esculenta Crantz*). . *Universidad Técnica de Ambato*. Obtenido de <https://1library.co/document/ye87m5ry-elaboracion-cerveza-artesanal-utilizando-hordeum-vulgare-manihot-esculenta.html>

- Chacón Figueroa , I., Medrano-Ruiz, L., Moreno-Vásquez, M., Ovando Martinez, M., Gamez Meza, N., Del Toro Sanchez, . . . Dórame Miranda, R. (2022). Use of Coffee Bean Bagasse Extracts in the Brewing of Craft Beers: optimization and Antioxidant Capacity. *Molecules*. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules27227755>
- Coelho Silva , M., Pereira Dos Anjos , J., Nani Guarierio , L., & Souza Machado , B. (04 de 10 de 2021). *PubMed*. Obtenido de PubMed: 10.3390/molecules26164716
- Creus, E. G. (2004). *ELSEVIER*. Recuperado el 23 de 01 de 2023, de <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-compuestos-fenolicos-un-analisis-sus-13063508>
- Dabina-Bicka, I., Karklina, D., Kruma, Z., & Dimins, F. (2013). Bioactive compounds in Latvian beer. doi:<https://doi.org/10.2478/plua-2013-0012>
- Dessalegn, T., Mazengia, G., & Dessalegn. (2022). Antioxidant Potential of Moringa *Stenopetala* C. Leaf Extract on Lagered Beer Stored at Room Temperature. *Electronic Journal*. doi:<https://doi.org/10.2139/ssrn.4092215>
- Diaz Alulema , D. (2018). Elaboración de cerveza artesanal tipo ale, a partir de malta preparada con amaranto y otros cereales. *PRODUCCIÓN ALIMENTARIA; BEBIDAS FERMENTADAS; CERVEZA ARTESANAL; AMARANTO*, 35-48.
- en Alimentos. (2022). Se prevé que mercado de cerveza artesanal alcance los 47,790 mdd para 2024. Obtenido de <https://enalimentos.lat/noticias/5820-se-preve-que-mercado-de-cerveza-artesanal-alcance-los-47-790-mdd-para-2024.html>
- Fejer, J., Pellizzeri, V., Pluchtova, M., Eliasova, A., Campone , L., Gervasi , T., . . . Grulova, D. (2019). First report on evaluation of basic nutritional and antioxidant properties of Moringa oleifera lam, from Caribbean Islan of Saint Lucia. Obtenido de <https://doi.org/10.3390/plants8120537>

- Ferreya, L. (2014). Elaboración de cerveza: Historia y evolución, desarrollo de actividades de capacitación e implementación de mejoras tecnológicas para productores artesanales. 69.
- Flor Olivo , H., & Parra Pedraza, M. (2017). Estandarización Fitoquímica de Extractos Hidroalcohólicos de *Ishpink Ocotea quixos* (LAM) KOSTERN. *Universidad Politécnica Salesiana*.
- Fukalova, T., Garcia Martinez, M., & Raigón, M. (2022). Nutritional composition, bioactive compounds and volatiles profile characterization of two edible undervalued plants: *Portulaca oleracea* L. and *Porophyllum ruderale*.
doi:<https://doi.org/10.3390/plants11030377>
- Garavaglia, C., & Swinnen, J. (2016). The Craft Beer Revolution on JSTOR.
doi:<https://www.jstor.org/stable/90015005>
- Gechev, T., Van Breusegem , F., Stone, J., Denev, I., & Laloi, C. (2006). Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. *BioEssays*. doi:<https://doi.org/10.1002/bies.20493>
- Gharaati Jahromi, S., Santos Sanchez , N., Coronado , R., Soto, M., Mateos , R., & Palma, M. (2019). Plant physiological aspects of phenolic compounds. Obtenido de <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=LEP8DwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP12>
- Gillespie, K., June, C., & Ainsworth, E. (2007). Rapid measurement of total antioxidant capacity in plants. *PubMed*. doi:10.1038/nprot.2007.100
- Guerra, L. S., Cevallos Cevallos, J. M., & Ruales, J. (13 de 06 de 2022). Alimentos Fermentados Tradicionales de Ecuador: Una Revisión con Enfoque en la Diversidad Microbiana. *MDPI*, 14. doi:<https://doi.org/10.3390/foods11131854>

Guitierrez, V. (21 de 02 de 2002). *Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto"*.

Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009#cargo

Gulcin , I. (2023). DPPH radical scavenging assay. MDPI. *Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí*. doi:<https://doi.org/10.3390/pr11082248>

Hack, M., Alagawany, M., Elrys, A., Desoky, E., Tolba, H., Elnahal, A., . . . Swelum, A. (2018). Effect of forage Moringa Olifera L. (moringa) on animal health and nutrition and its beneficial applications in soil, plants and water purification. *Agriculture*. doi:<https://doi.org/10.3390/agriculture8090145>

Hormaza Muñoz , D. G. (25 de 06 de 2020). *Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí*. doi: <https://doi.org/10.17561/rtc.n18.4>

Ibrahim , Aoussar, Mhand, R., Rhallabi, N., Oili, A., & Mellouki, F. (2021). In vitro antioxidant and antistaphylococcal properties of leaf extracts of *Ocotea comorensis* Kosterm (Lauraceae). *Biocatalysis and agriculture biotechnology*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101892>

Inns, E., Buggey , L., Booer, C., Nursten, H., & Ames, J. (14 de 09 de 2011). *National Library of Medicine*. Obtenido de PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21819143/>

Kaiser , W. (1979). Reversible inhibition of the calvin cycle and activation of oxidative pentose. *Plant*, 145, 377-382.

Khoddami, A., Wilkes, M., & Roberts, T. (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compunds. *Molecules*. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules18022328>

La Hora. (2020). Competencia proyecta a Ecuador como destino turístico de la cerveza artesanal. Obtenido de <https://www.lahora.com.ec/pais/competencia-proyecta-ecuador-destino-turistico-cerveza-artesanal/>

- Lazcano Sanchez, E. (2015). Contenido de Fenoles, Cafeina y Capacidad Antioxidante de Granos de Café Verdes y Tostados de Diferentes Estados de México. *Readlyc.org*. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81343176021>
- Maicas, S. (2020). The role of yeast in fermentation processes. *Microorganisms*. doi:<https://doi.org/10.3390/microorganisms8081142>
- Marcela, A. (2020). Total phenol and antioxidant activity of Moringa oleifera leaves extract on three phenological states. *www.scielo.org.co*. doi:<https://doi.org/10.15446/acag.v71n2.98672>
- Martinez Gomez , A., Caballero , I., & Blanco , C. (04 de 03 de 2020). *National Librry of Medicine* . Obtenido de PubMed: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7175304/>
- Martinez Gomez, A., Caballero, I., & Blanco, C. (2020). Phenols and Melanoidins as Natural Antioxidants in Beer. Structure, Reactivity and Antioxidant Activity. *Biomolecules*. doi:<https://doi.org/10.3390/biom10030400>
- Martínez Gómez, C. A. (2015). Recuperado el 23 de 01 de 2023, de Universidad Andina Simón Bolívar : <https://repositorio.uasb.edu.ec/bitstream/10644/5024/1/T1985-MBA-Martinez-Analisis.pdf>
- Matic, P., Sabljic, M., & Jakobek, L. (2017). Validation of spectrophotometric mehtods for the determination of total polyphenol and total flavonoid content. *Journal of AOAC Internarional*. doi:<https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0066>
- Melese, Y., & Kolech, S. (2021). Coffee (Coffea arabica L.): Methods, Objetives, and Future Strategies of breeding in Ethiopia-Review. *Sustainability*. doi:<https://doi.org/10.3390/su131910814>

- Mitic, S., Paunovic, D., Pavlovic, A., Tosic, S., Stojkovic, M., & Mitic, M. (2014). Phenolic Profiles and Total Antioxidant Capacity of Marketed Beers in Serbia. *International Journal of Food Properties*. doi:<https://doi.org/10.1080/10942912.2012.680223>
- Mucho mejor Ecuador. (29 de 06 de 2022). *Mucho mejor Ecuador*. Recuperado el 23 de 01 de 2023, de <https://www.muchohomejorecuador.org.ec/elementor-26163/>
- Nardini, M., & Foddai, M. (2020). Phenolics profile and antioxidant activity of special beers. *Molecules*. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules25112466>
- Neven, H., Vanderhaegen , B., Verachtert, H., & Derdelinckx, G. (04 de 01 de 2005). *ELSEVIER*. Obtenido de ELSEVIER: <https://talcottlab.tamu.edu/wp-content/uploads/sites/108/2020/03/Review-Beer-Ageing.pdf>
- Ngamsuk, S., Huang, T., & Hsu, J. (2019). Determination of phenolic compounds, procyanidins, and antioxidant activity of raw and processed *Jatropha curcas*L. kernel meal extracts. *Industrial crop and products*. , 261-269.
- Nunes Filho, R. C., Galvan , D., Effting, L., Terhaag , M. M., Yamashita, F., Benassi, M., & Spinosa, W. A. (27 de 01 de 2021). *National Library of Medicine*. Obtenido de PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34243125/>
- Oliveira Gomes, F., Ceola , D., & Guimaraes, B. (2022). Advances in Dry Hopping for Industrial Brewing: A review. *Food Science and Technology*, 42. *Scielo* . doi:<https://doi.org/10.1590/fst.60620>
- Oliveira, N., De Oliveira, R., Ghedini, P., Vaz, B., & De Souza, G. (2017). Antioxidant and vasodilatory activity of commercial beers. *Journal of Functional Foods*, 130-138. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.04.019>
- Palmer, J. (2017). *How To Brew*. 4th. Obtenido de). <https://www.doc-developpementdurable.org/file/Fabrications-Objets-Outils-Produits/bieres/53735499-How-to-brewJohn-Palmer-Espanhol.pdf>

Peralta Bustamante , L. (2020). *Universidad Agraria del Ecuador* . Obtenido de Universidad Agraria del Ecuador :

<https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/PERALTA%20BUSTAMANTE%20LINDA%20ISABEL.pdf>

Pérez Burillo, S., Rufian Henares, J., & Pastoriza, S. (2018). Towards an improved global antioxidant response method (GAR+): physiological-resembling in vitro antioxidant capacity methods. *Food Chemistry*.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.063>

Pérez Jiménez, J. (2015). *Universidad Autonoma de Madrid*. Obtenido de METODOLOGÍA PARA LA EVALUACIÓN DE INGREDIENTES FUNCIONALES ANTIOXIDANTES:

https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/1671/6494_perez_jimenez_jara.pdf

Perez, P. (2011). La defensa Antioxidante en las plantas: una herramienta clave para la fitorremediación. *Scielo*. doi:<https://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v11n1/v11nlab6.pdf>

Piazzon, A., & Nardini, M. (2010). Characterization of Phenolics Content and Antioxidant Activity of Different Beer Types. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. doi:

<https://doi.org/10.1021/jf101975q>

Pino, M., & Vergara, C. (2022). *INIA* . (M. T. Pino, Ed.) Recuperado el 23 de 01 de 2023, de Instituto de Ciencias Agropecuarias:

<https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/68518/NR42840.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Pisoschi, A., Pop, A., & Cimpeanu, C. (04 de 12 de 2016). Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review. *PubMed*.

doi:10.1155/2016/9130976.

- Rafat, A., Philip, K., & Muniandy, S. (2010). Antioxidant potential and phenolic content fo ethanolic extract of selected Malaysian plants. *Journal of Biotechnology*, 5.
- Rámirez Navas, J. (2012). Análisis Sensorial: Pruebas Orientadas al Consumidor. *Universidad del Valle Cali-Colombia*.
- Recknagel , R., & Glende, E. (1984). Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. *. Methods in Enzimology* , 331-337.
- Repilado Álvarez, A. (2016). *Universidad Complutense*. (I. I. Peinado, Ed.) Recuperado el 23 de 01 de 2023, de Facultad de Farmacia:
<http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/ADRIAN%20REPILADO%20ALVAREZ.pdf>
- Richard, L. (1987). The Antioxidants of higher plants. Obtenido de <https://scihub.ru/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0031942288802541>
- Rivas , B., Granadillo, I., & Morillo, E. (2017). Phenolic Compounds and antioxidant activity in extracts of four Oregano species.
doi:http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0254-07702017000300002
- Rivera Jara , M., & Naula Cepeda , I. (2019). *Universidad de Guayaquil* . Obtenido de Universidad de Guayaquil :
<https://repositorio.ug.edu.ec/server/api/core/bitstreams/93340bbe-e451-4e47-bd73-91889091dd15/content>
- Sadiq, M., Akram, N., Ashraf, M., Al-Quarainy, F., & Ahmad, P. (2019). Alpha-Tocopherol-Induced regulation of growth and metabolism in plants under non-stress and stress conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*. doi:<https://doi.org/10.1007/s00344-019-09936>

Salanță , L. C., Coldea, T. E., Ignat, M. V., Pop, C., Tofana, M., Mudura, E., . . . Zhao, H.

(2020). *MDPI*. Obtenido de MDPI: <https://doi.org/10.3390/pr8111382>

Salazar, A. (2019). Comprobación de la actividad antioxidante en pulpa de café (*Coffea arabica*) proveniente de tres regiones de Guatemala. *Qumico Farmaceutico Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*.

Scott, J. (2019). A Scientific Guide to Hop Aroma and Flavor. *Scott.Janish.com*. Obtenido de https://www.amazon.com/-/es/Scott-Janish/product-reviews/0578477866?reviewerType=all_reviews

Shraim, A., Ahmed, T., Rahman, M., & Hijji, Y. (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111932>

Silva, J. (2007). Cerveza. *Monografías*, 2-4. Obtenido de <https://www.monografias.com/trabajos54/cerveza/cerveza2>

Silva, M., Anjos, J., Guarieiro, L., & Machado, L. (2021). A simple Method for Evaluating the Bioactive Phenolic Compounds Presence in Brazilian Craft Beers, *Molecules*. *Molecules*. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules26164716>

Siquiera, L., Garcia , L., Lobón , G., Thomaz, D., Moreno , E., De Carvalho , M., . . . De Souza, G. (2018). Antioxidant activity Evaluation of dried herbal extracts: an electroanalytical approach. *Brasileira de Farmacognosia*. doi:<https://doi.org/10.106/j.bjp.2018.04.004>

Smirnoff, N. (1995). Antioxidant systems and plant response to the environment. *Environment*. *Oxford*, 217-243.

Socha, R. (29 de 09 de 2017). *International Journal of FOOD Properties*. Obtenido de *International Journal of FOOD Properties*: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2017.1306550>

Store, B. (2022). *Beerland Store*. Obtenido de Beerland Store:

https://www.beerlandstore.com/smartblog/9_desafios-para-el-cervecerero-ecuatoriano-2022.html

Suarez Diaz , M. (07 de 2013). *Universidad de Oviedo* . Obtenido de

https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/19093/TFM_%20Maria%20Suarez%20Diaz.pdf?sequence=8

Taddei, F., Hayakawa, H., Bouton , M., Cirinesi, A., Matic, I., Sekiguchi, M., & Radman , M. (1997). Counteraction by MutT protein of transcriptional errors caused by oxidate damage . *Science*.

Trujillo Hernández, C. (02 de 2019). *Universidad Nacional de Educación a Distancia*.

Obtenido de Facultad de Ciencias: http://espacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Ctrujillo/Trujillo_Hernandez_Cristina_TFM.pdf

Valarezo , E., Vullien , A., & Conde Rojas, D. (2021). *MDPI*. Obtenido de MDPI:

<https://doi.org/10.3390/molecules26133961>

Valarezo, E., Vullien, A., & Conde Rojas, D. (2021). Variability of the chemical composition of the essential oil from the Amazonian *Ishpingo* species (*Ocotea quixos*).

Molecules,. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules26133961>

Vandenabeele, D., Vranová, E., Montagu, V., Inze, D., & Bresegem , D. (2000). Dual action of the active oxygen species during plants stress responses. *Cellular and molecular life sciences*. 57, 779-795.

Verdu, M. (2016). Diseño del proceso industrial para la elaboración de cerveza. . *Trabajo de fin de grado* , 30-41.

Viana, A., Pimentel , T., Clementino , L., Ferreira, E., Magnani, M., & Lima, M. (2021).

American Pale Ale Craft Beer; Influence of Brewer´s yeast strains on the chemical

composition and antioxidante capacity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*.

doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112317>

Viktorová, J., Rehorova, K., Hoang, L., Ruml, T., Figueroa, C., Valdenegro, M., & Fuentes, L. (2020). Antimicrobial activity of extracts of two native fruits of Chile: Arrayan (*Luma Apiculata*) and Peumo (*Cryptocarya alba*). *Antibiotics*.

doi:<https://doi.org/10.3390/antibiotics9080444>

Wojtunik Kulesza, K. (s.f.). Approach to optimization of FRAP methodology for studies based on selected monoterpenes. *Molecules*. Obtenido de

<https://doi.org/10.3390/molecules25225267>

Young, A., & Lowe, G. (2018). Carotenoids-Antioxidant properties. *Antioxidants*.

doi:<https://doi.org/10.3390/antiox7020028>

Yuliana, C. (2020). Polifenoles, falvonoides y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de luma chequen (*Molina*) A. Gray "Arrayan". Obtenido de <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/15624>

Zhao, H., Li, H., Yang, B., & Zhao, M. (2013). Evaluación de Compuestos Antioxidantes endógenos y actividades antioxidantes de cervezas lager J. *Ciencia Alimentación Agrícola*, 910-917.

Zhao, H. (12 de 2015). *ResearchGate*. Obtenido de ResearchGate: 10.1016/B978-0-12-404699-3.00064-0

Apéndices