



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE GUAYAQUIL**

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

**EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS Y FISICOQUÍMICAS DE LA
ADICIÓN DE FICOCIANINA PROVENIENTE DE ESPIRULINA (ARTHROSPIRA
PLATENSIS) EN LA PRODUCCIÓN DE CERVEZA ARTESANAL**

*Trabajo de titulación previo a la obtención
del título de Ingeniera en Biotecnología*

AUTORES:

LINA BRIDGED GANDO RUIZ

MARÍA ALEJANDRA NAVIA PONGUILLO

TUTOR:

MSc. JAIRO JOEL JAIME CARVAJAL

GUAYAQUIL - ECUADOR

2024

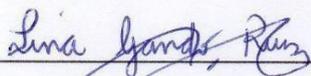
**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Nosotros, **Lina Bridged Gando Ruiz** con documento de identificación N° 0931774459
y **María Alejandra Navia Ponguillo** con documento de identificación N° 1729827509;
manifestamos que:

Somos los autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de
lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de
manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

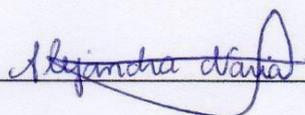
Guayaquil, 23 de agosto del año 2024

Atentamente,



Lina Bridged Gando Ruiz

CI: 0931774459



María Alejandra Navia Ponguillo

CI: 1729827509

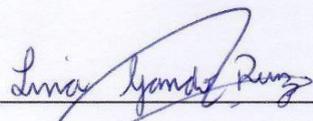
**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Nosotros, **Lina Bridged Gando Ruiz** con documento de identificación N° 0931774459 y **María Alejandra Navia Ponguillo** con documento de identificación N° 1729827509, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del trabajo experimental: **EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS Y FISICOQUÍMICAS DE LA ADICIÓN DE FICOCIANINA PROVENIENTE DE ESPIRULINA (*ARTHROSPIRA PLATENSIS*) EN LA PRODUCCIÓN DE CERVEZA**, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniera en Biotecnología*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

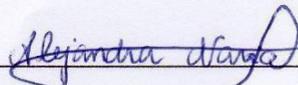
Guayaquil, 23 de agosto del año 2024

Atentamente,



Lina Bridged Gando Ruiz

CI: 0931774459



María Alejandra Navia Ponguillo

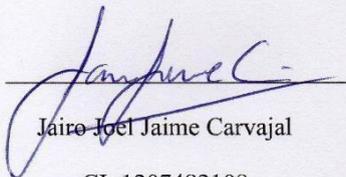
CI: 1729827509

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, **Jairo Joel Jaime Carvajal** con documento de identificación N° 1207482108, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS Y FÍSICOQUÍMICAS DE LA ADICIÓN DE FICOCIANINA PROVENIENTE DE ESPIRULINA (*ARTHROSPIRA PLATENSIS*) EN LA PRODUCCIÓN DE CERVEZA ARTESANAL**, realizado por **Lina Bridged Gando Ruiz** con documento de identificación N° 0931774459 y **María Alejandra Navia Pongullo** con documento de identificación N° 1729827509, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 29 de agosto del año 2024

Atentamente,



Jairo Joel Jaime Carvajal

CI: 1207482108

Dedicatoria de Alejandra Navia

A Dios y a la Virgencita María, por guiarme en este camino y llenarme de fortaleza. A mis queridos abuelitos, mis primeros maestros. Sus historias, sus consejos y su amor incondicional han moldeado mi carácter y me han enseñado la importancia de la perseverancia, la humildad y el valor de la familia. Gracias a ellos, comprendí que el conocimiento es un tesoro que se comparte y que la educación es la llave que abre todas las puertas. A mis padres, por su apoyo incansable y por brindarme siempre un hogar lleno de amor y comprensión. A mi tutor, el Msc Jairo Jaime, quien con su paciencia y sabiduría me ha guiado en el planteamiento de este proyecto. Sus enseñanzas me han inspirado a seguir investigando y a contribuir al avance de la ciencia.

A mis profesores, el Msc. Jaime Naranjo y el ingeniero Kevin Cedeño, por compartir conmigo sus conocimientos y por motivarme a dar lo mejor de mí. Gracias a ellos, comprendí la importancia de la colaboración y el trabajo en equipo. A mis compañeros y amigos, por los momentos de estudio, de risas y de apoyo mutuo. De la misma manera agradezco a una de mis series favoritas, “Gilmore Girls” programa el cual fue un impulso para siempre dar lo mejor de mí.

Y, por último, pero no menos importante, a mis mejores amigos de cuatro patas, Mily y Copito. Nunca me dejaron sola durante las largas noches de arduo trabajo, son el tesoro más lindo que tengo, y me acompañaron siempre.

Esta dedicatoria es un pequeño gesto de gratitud hacia todas las personas que han formado parte de mi vida y que han contribuido a que pueda formarme como profesional.

Dedicatoria de Lina Gando Ruiz

Éste trabajo de titulación y los resultados obtenidos va dedicado a quienes me brindaron su apoyo en los buenos y malos momentos a lo largo de los 4 años de esta hermosa carrera, así ayudándome a cumplir este significativo hito, para de mejor manera aplicar mi aprendizaje en beneficio de la comunidad.

Este logro está dedicado a mis padres, Juan y Wendy, quienes han sido mi principal apoyo durante mis 4 años de estudios. Les agradezco por su constante presencia, fuerza y consejos, que me ayudaron a superar obstáculos y alcanzar esta meta. Me inculcaron valores como la perseverancia, la modestia y la importancia del trabajo duro, guiándome en cada decisión. Por todo esto, les expreso mi más profundo agradecimiento.

A mis queridas abuelas, Ana y Fanny, a quienes considero mis ángeles guardianes, ellas han sido mis fieles compañeras en los desafíos cotidianos y una fuente inagotable de sabiduría y consejos, representan un tesoro invaluable en mi existencia. Una de ellas ya partió ya está al lado de Dios, mientras que la otra continúa enfrentando con valentía cada nuevo día, compartiendo conmigo tanto los momentos de alegría como los de adversidad.

Quiero expresar mi gratitud hacia mi hermana Lisbeth, quien no solo es mi confidente más cercana, sino también la fuente de felicidad que me reconfortaba tras agotadores días de esfuerzo académico y personal. Su apoyo incondicional ha sido fundamental, y su presencia me inspira constantemente a mejorar cada día que pasa.

A los amigos verdaderos Zully, Alejandra, Melany, Fiorella que tuve el privilegio de conocer durante los cuatro años de universidad. Cómo estas amistades, forjadas en las aulas y en experiencias compartidas, han enriquecido tanto el camino hacia la profesión como el crecimiento personal, la universidad no solo forma profesionales, sino que también es un espacio para crear vínculos significativos que perduran más allá de la vida académica.

Deseo expresar mi más sincera gratitud a todos aquellos que me han acompañado en esta travesía, de una forma u otra, a la realización de esta meta tan significativa en mi vida. Valoro profundamente el esmero que han demostrado y la fe que han depositado en mí.

Agradecimientos

En primer lugar, mi gratitud a la Virgen Santísima y a Dios por brindarme fe, sabiduría, paciencia y, sobre todo, perseverancia durante toda la trayectoria de mi carrera de Biotecnología.

Agradecemos a la Universidad Politécnica Salesiana por permitirnos ayudar durante el proceso de integración curricular y por dar paso a su ejecución.

A nuestro MSc. Jaime Naranjo, por tenernos en cuenta desde el principio para este gran proyecto y luego seguir con nosotros brindándonos su apoyo, su orientación y sus sugerencias para ir puliendo este trabajo de investigación.

A nuestro tutor Jairo Jaime, por estar siempre guiándonos con nuestro proyecto, dándonos consejos para ir mejorando el trabajo y tener buenos resultados para la presentación final.

A nuestro co-tutor Kevin Cedeño, quién ha estado desde el principio del proceso de experimentación del proyecto innovador, nos ha brindado su comprensión, su paciencia y la confianza de que este importante proyecto se desarrolle.

Al analista de laboratorio José Flores Ruiz y a los ayudantes de laboratorio que nos estuvieron apoyando en cada momento de nuestro proceso del proyecto, por brindar parte de su tiempo con las dudas y materiales que necesitábamos para poder seguir con nuestro procedimiento de tesis.

Resumen

La espirulina, una microalga del género *Arthrospira*, es conocida por sus propiedades nutricionales y por ser una fuente de ficocianina, un pigmento azul con beneficios potenciales para la salud, que puede ser empleado para innovar en la producción de cerveza artesanal. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar las propiedades organolépticas y fisicoquímicas de la adición de ficocianina a diferentes concentraciones a partir de espirulina en la producción de cerveza artesanal. Para alcanzar con este fin, se empleó una metodología de tipo experimental, extrayendo ficocianina de espirulina con el método de ultrasonido y se incorporó en cuatro concentraciones distintas a lotes de cerveza, analizando los cambios mediante pruebas sensoriales y evaluaciones fisicoquímicas. Los resultados revelaron que la ficocianina no solo otorgaba un color azul distintivo, sino que también era bien aceptada sensorialmente a concentraciones óptimas, así mismo, los análisis confirmaron la estabilidad del pigmento y su contribución positiva a las propiedades saludables de la cerveza. En conclusión, la ficocianina se presenta como un aditivo prometedor para la cerveza artesanal, ofreciendo beneficios sin comprometer el perfil sensorial.

Palabras Clave: Espirulina, Ficocianina, Cerveza Artesanal, Propiedades Organolépticas, Método de ultrasonido.

Abstract

Spirulina, a microalgae of the genus *Arthrospira*, is known for its nutritional properties and for being a source of phycocyanin, a blue pigment with potential health benefits, which can be used to innovate in the production of craft beer. The present study aimed to evaluate the organoleptic and physicochemical properties of the addition of phycocyanin at different concentrations from spirulina in the production of craft beer. To achieve this, an experimental type methodology was used, extracting phycocyanin from spirulina with the ultrasound method and incorporated in four different concentrations into beer batches, analysing changes through sensory testing and physico-chemical assessments. The results revealed that phycocyanin not only gave a distinctive blue color, but was also well-accepted sensorially at optimal concentrations, the analysis also confirmed the stability of the pigment and its positive contribution to the health properties of beer. In conclusion, phycocyanin is presented as a promising additive for craft beer, offering benefits without compromising the sensory profile.

Keywords: Spirulina, Phycocyanin, Craft Beer, Organoleptic Properties, Ultrasound Method.

Índice

<u>Capítulo 1:Antecedentes</u>	<u>1</u>
<u>1.1. Introducción</u>	<u>1</u>
<u>1.2. Justificación</u>	<u>4</u>
<u>1.3. Objetivos</u>	<u>6</u>
<u>1.3.1. Objetivo general</u>	<u>6</u>
<u>1.3.2. Objetivos específicos</u>	<u>6</u>
<u>1.4. Hipótesis</u>	<u>6</u>
<u>Capítulo 2:Marco Teórico</u>	<u>7</u>
<u>2.1. Características y propiedades de la espirulina <i>Arthrospira platensis</i></u>	<u>7</u>
<u>2.2. Condiciones óptimas extracción de la ficocianina</u>	<u>8</u>
<u>2.3. Métodos de extracción de la ficocianina</u>	<u>9</u>
<u>2.3. Tipos de purificación de C-ficocianina</u>	<u>10</u>
<u>2.4. La ficocianina como colorante en la industria alimentaria</u>	<u>11</u>
<u>2.5. Compuestos Nutricionales de la ficocianina</u>	<u>13</u>
<u>2.5.1. Compuestos con actividad antiinflamatoria</u>	<u>13</u>
<u>2.5.2. Compuestos con actividad antioxidante</u>	<u>14</u>
<u>2.5.3. Compuesto anticancerígeno</u>	<u>14</u>
<u>2.6. Uso de pigmentos y/o colorantes en la cerveza y bebidas alcohólicas</u>	<u>15</u>
<u>2.7. Cerveza artesanal</u>	<u>15</u>
<u>2.8. Elaboración de la cerveza artesanal</u>	<u>16</u>
<u>2.8.1. Molienda</u>	<u>16</u>
<u>2.8.2. Maceración</u>	<u>17</u>
<u>2.8.3. Decocción</u>	<u>17</u>
<u>2.8.4. Recirculación y filtración</u>	<u>18</u>
<u>2.8.5. Lavado</u>	<u>18</u>
<u>2.8.6. Cocción</u>	<u>19</u>
<u>2.8.7. Enfriamiento</u>	<u>19</u>
<u>2.8.8. Fermentación</u>	<u>20</u>
<u>2.8.9. Maduración</u>	<u>20</u>
<u>2.8.10. Gasificación</u>	<u>21</u>

2.8. Consumo de cerveza nacional	21
2.9. Marcas nacionales de cerveza artesanal.....	21
2.10. Cerveza artesanal “American Wheat”.....	22
2.11. Normas INEN 2262.....	23
2.12. Control de calidad de la cerveza artesanal	24
2.12.1. Propiedades organolépticas.....	25
2.12.1.1. Apariencia	25
2.12.1.2. Sabor	25
2.12.1.3. Aroma	25
2.12.1.4. Sensación de boca	25
2.12.1.5 Impresión general.....	26
2.12.2. Parámetros fisicoquímicos	26
2.12.2.1. pH	26
2.12.2.2. Acidez	26
2.12.2.3. Color	27
Capítulo 3: Materiales y métodos	28
3.1. Obtención de la biomasa seca de la cianobacteria <i>Arthrospira platensis</i>	28
3.2. Extracción del pigmento ficocianina por la técnica de ultrasonido	28
3.3. Método espectrofotométrico para el análisis de ficocianina	29
3.4. Elaboración de la cerveza artesanal American Wheat	30
3.4.1. Procedimiento	31
3.4.1.1. Molienda	31
3.4.1.2. Maceración.....	31
3.4.1.3. Lavado.....	31
3.4.1.4. Cocción	32
3.4.5.1. Enfriamiento	32
3.4.1.6. Fermentación.....	32
3.4.1.7. Maduración	32
3.4.1.8. Gasificación	33
3.5. Adición del colorante en la cerveza artesanal.....	34
3.6. Pruebas organolépticas.....	34
3.7. Análisis fisicoquímico	35
3.7.1. Determinación de pH	35

3.7.2. Prueba de titulación.....	35
3.7.1. Cerveza artesanal azul.....	35
3.7.2. Cerveza artesanal sin pigmento.....	36
3.7.3. Medición espectrofotométrica.....	36
3.7.3.1. Cerveza artesanal azul.....	36
3.7.3.2. Cerveza artesanal sin pigmento.....	37
Capítulo 4:Resultados y discusión	38
4.1. Extracción de la ficocianina mediante la técnica de ultrasonido.....	38
4.2. Evaluación de la adición de cuatro concentraciones diferentes de pigmento ficocianina proveniente de espirulina en la producción de cerveza artesanal.....	39
4.3. Propiedades organolépticas de la producción de cerveza artesanal formulada con pigmento ficocianina extraído de espirulina (Arthrospira platensis).....	41
4.4. Análisis parámetros fisicoquímicos.....	47
4.4.1. Evaluación del pH en la producción de cerveza artesanal.....	47
4.4.2. Determinación del porcentaje de acidez.....	48
4.4.3. Evaluación de los resultados espectrofotométricos	49
4.4.3.1. Cerveza azul.....	49
4.4.3.2. Cerveza sin pigmento.....	50
5. Conclusiones.....	51
6. Recomendaciones	51
Bibliografía.....	52
Apéndice/Anexos.....	58

Índice de tablas

Tabla 1.	Métodos de purificación C-ficocianina.....	10
Tabla 2.	Cervecerías artesanales ecuatorianas	22
Tabla 3.	Cerveza estilo American Wheat alrededor del mundo.....	23
Tabla 4.	Requisitos fisicoquímicos y límites de contaminantes	24
Tabla 5.	Ingredientes para la elaboración de 45 litros de “American wheat beer”	31
Tabla 6.	Análisis espectrofotométrico según la cantidad de biomasa seca extraída	40
Tabla 7.	Características de las muestras según su concentración.....	40
Tabla 8.	Pruebas de normalidad	41
Tabla 9.	Prueba de Kruskal-Wallis para Sabor por Concentración	43
Tabla 10.	Prueba de Kruskal-Wallis para Sensación de boca por Concentración.....	54
Tabla 11.	Prueba de Kruskal-Wallis para Apariencia por Concentración.....	44
Tabla 12.	Prueba de Kruskal-Wallis para Impresión general por Concentración	45
Tabla 13.	Prueba de Kruskal-Wallis para Apariencia por Concentración.....	45
Tabla 14.	Prueba de Kruskal-Wallis para Impresión general por Concentración.....	46
Tabla 15.	pH según la adición de ficocianina a distintas concentraciones en la producción de cerveza artesanal	47
Tabla 16.	Porcentaje de acidez según la adición de ficocianina a distintas concentraciones en la producción de cerveza artesanal	48
Tabla 17.	Comparación con cervezas artesanales ecuatorianas	49

Índice de figuras

Figura 1. Morfología celular de <i>Arthrospira platensis</i>	2
Figura 2. Estructura de C-ficocianina	3
Figura 3. Composición nutricional de la espirulina	8
Figura 4. Mecanismo de acciones durante la extracción ultrasónica de células.....	9
Figura 5. Funciones biológicas de la ficocianina.....	14
Figura 6. Diagrama de extracción de ficocianina, fase 1	29
Figura 7. Diagrama de extracción de ficocianina, fase 2	29
Figura 8. Ubicación de la planta de cervecería artesanal "Hopfen"	30
Figura 9. Elaboración de la cerveza artesanal	34
Figura 10. Metodología acidez titulable.....	35
Figura 11, Histograma impresión general.....	42
Figura 12. Gráfico de medianas, aroma	43

Índice de anexos

Anexo 1. Extracción del pigmento ficocianina proveniente de la biomasa seca de <i>Arthrospira platensis</i>	58
Anexo 2. Lectura mediante el espectrofotómetro de UV-visible	59
Anexo 3. Elaboración de la cerveza artesanal en la planta "Hopfen"	59
Anexo 4. Análisis fisicoquímico	62
Anexo 5. Evaluación sensorial.....	63
Anexo 6. Test de evaluación sensorial	63

Abreviaturas

INEN - Instituto Ecuatoriano de Normalización

ICE - Impuesto a los Consumos Especiales

MSc. - Maestría en Ciencias

C-ficocianina - C-Ficocianina (un tipo específico de ficocianina, que es un pigmento azul presente en la espirulina)

MAAs - Los aminoácidos tipo micoporina

IBU- Unidad Internacional de Amargor

EBC - Convenio europeo de la cervecería

Simbología

°C.- Grados Celsius

h.- hora

gr.- gramo

ml.- mililitro

nm. - nanómetro

Capítulo 1

Antecedentes

1.1. Introducción

La espirulina, conocida también como *Arthrospira platensis*, proviene de cianobacterias procariotas originadas hace alrededor de 3.500 millones de años atrás, estas bacterias han sido fundamentales para reducir los niveles de dióxido de carbono y aumentar el oxígeno en la atmósfera terrestre. Aunque la existencia de la espirulina es conocida desde hace milenios, sus aplicaciones prácticas se registraron por primera vez alrededor del año 1300 d.C. En ese tiempo, los aztecas la extraían del lago de Texcoco para elaborar "techuitlatl", un tipo de torta seca. De manera similar, en Chad, África, esta alga se obtenía del lago Kossorom y se utilizaba para hacer "dihe", un alimento tradicional que podría haber sido elaborado desde ese periodo o incluso antes (Muñoz,2019).

Desde sus primeros días de cultivo comercial cerca del lago Texcoco en la década de 1970, la espirulina ha ido ganando terreno en los mercados internacionales, llegando a Estados Unidos y Japón a finales de esa década y a España en 1987, principalmente como suplemento dietético para adelgazar. En 1997, la espirulina fue incluida en el marco regulador europeo para nuevos alimentos y componentes alimentarios, aunque ya formaba parte de la dieta occidental desde hace más de 30 años, en 2002 aún se consideraba un alimento del futuro, en gran medida porque la mayoría de su producción aún se realizaba fuera de Europa. En la actualidad se calcula que aproximadamente el 5% de los productos alimenticios y suplementos disponibles en el mercado contienen espirulina, esta cifra refleja su expansión gradual en sectores como la cosmética natural, la industria textil y la cocina saludable (MEIC, 2018).

Figura 1

Morfología celular de Arthrospira platensis



Nota: Visualización microscópica a 400x de filamentos pertenecientes a *Arthrospira platensis*, caracterizados por células cilíndricas de color verde-azulado. Tomado de *Algae-lab*, 2022.

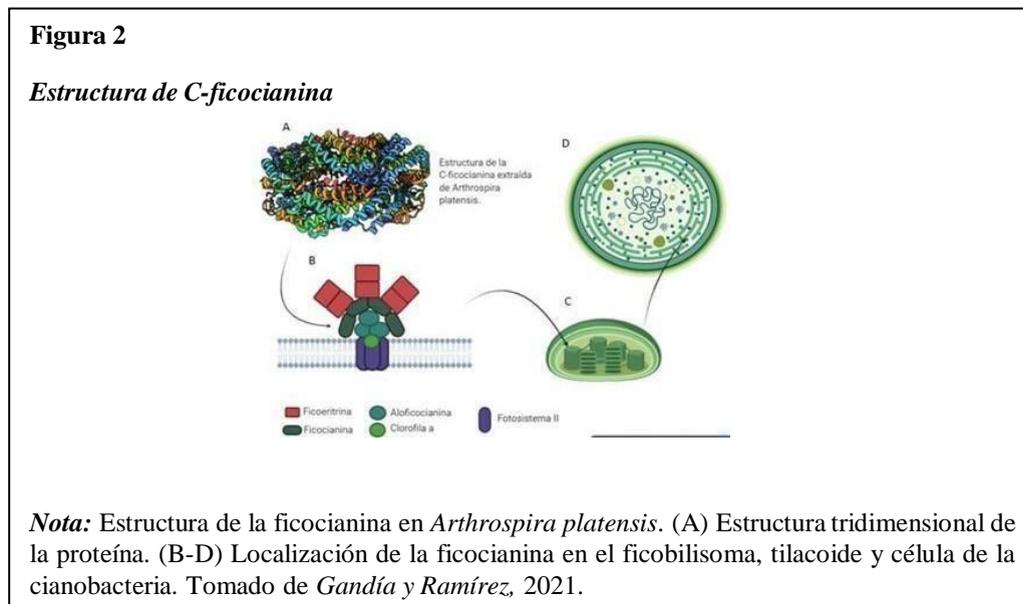
La *Arthrospira platensis* es una cianobacteria no tóxica que prospera en entornos ricos en carbonato y bicarbonato, los cuales son altamente alcalinos, lo que convierte a este microorganismo en un suplemento alimenticio valorado por su alto contenido de polisacáridos, vitaminas, minerales, ácidos grasos insaturados, carotenoides y ficobiliproteínas, en este sentido, el interés en la espirulina continúa creciendo debido a su potencial en sectores como la nutrición, la medicina y la biotecnología (Ílter et al., 2018).

Hernández (2021) mencionó que la espirulina está formada por células individuales que presentan un color verde azulado, tonalidad que se debe a la ficocianina y la clorofila en su composición, la unidad estructural del alga tiene una forma espiral y suelen medir entre 8-10 micrómetros de diámetro. Aunque es una especie cosmopolita, tiende a desarrollarse en ambientes acuáticos poco profundos como charcos y acequias con filtración continua, así como en lagos y estanques que presentan un pH elevado y temperaturas que fluctúan entre 86 y 95 grados Fahrenheit.

Debido a su alto valor nutricional y su capacidad para prosperar bajo condiciones difíciles, la espirulina tiene un gran potencial como fuente de alimento para contribuir a la nutrición mundial. Esta alga es rica en proteína vegetal, constituyendo al menos el 60% de su composición, y la proteína ya viene predigerida, lo que la hace altamente digerible y beneficiosa para el consumo humano (Cárdenas y Díaz, 2010)

En este contexto, Jaeschke et al. (2021) mencionó que la espirulina es ampliamente usada en la industria alimentaria como colorante, esto se debe en parte al interés en la ficocianina, un pigmento de un azul vibrante, que se encuentra en la cianobacteria. Su color

proviene de la ficocianobilina, un tipo de tetrapirrol que alterna entre enlaces dobles y sencillos, permitiendo así la movilidad de electrones cuando es expuesta a luz de una longitud de onda de 620 nm. De acuerdo a Ferraro et al. (2020), las ficocianinas desempeñan un papel esencial en la captación de luz y la transferencia de energía dentro de los fotosistemas de las cianobacterias procariotas y las algas rojas eucariotas, además, ha demostrado tener efectos beneficiosos como la reducción del estrés oxidativo y la inflamación, y un potencial anticancerígeno, mismo que ha sido comprobado en estudios con modelos animales (Ruiz- Hernández, et al, 2023).



Adicional a lo mencionado, la *Arthrospira platensis* tiene una gran variedad de usos, que van desde el tratamiento de aguas residuales y la biorremediación ambiental hasta la generación de energía limpia por fotosíntesis, además del desarrollo de productos cosméticos y la creación de pigmentos naturales que ofrecen colores únicos, funciones que resaltan la versatilidad, así como, el valor incalculable en los campos de la biotecnología, nutracéutica, farmacéutica, biomédica y alimentos (Malpartida et al., 2022)

De hecho, varios investigadores han estudiado la aplicación de la espirulina en productos alimenticios, entre ellos De Amarante et al. (2020), quien analizó su uso en helados para evaluar tanto la aceptación del consumidor como la estabilidad del color bajo diversas condiciones, su investigación reveló que el color se mantiene constante durante

aproximadamente seis meses, y además se registró un incremento en la actividad antioxidante al final de este período.

Debido al alto valor nutricional de la espirulina, el estudio de Wang et al. (2021) destacó la importancia de mantener la estructura de los polisacáridos intactos al momento de extraerlos de la *Arthrospira platensis*, con la finalidad de conservar las propiedades antioxidantes del alga, enfatizando que la extracción por ultrasonido es particularmente efectiva para romper las paredes celulares y conservar intactas su rica composición nutricional, misma que, de acuerdo a Cruz, D. (2023) hacen que la espirulina sea considerada por varios organismos internacionales como un superalimento, además de tener propiedades que benefician a la salud.

Por ejemplo, el estudio llevado a cabo por González et al. (2012) reveló el impacto positivo de la ficocianina en la regeneración de células epiteliales en los túbulos proximales renales afectados por daños debido a la kanamicina, la investigación también mostró que la ficocianina ayuda a reducir la inflamación y disminuir la congestión vascular en los animales tratados. Se ha descubierto que la ficocianina potencia la actividad antioxidante, ya que tiene la capacidad de neutralizar radicales hidroxilos y alcoxilo, contribuyendo así a procesos de recuperación celular. Además, un estudio experimental realizado en ratas con cáncer de colon inducido demostró que la C-ficocianina no solo redujo el número de tumores, sino también su tamaño, ofreciendo nuevas perspectivas sobre su potencial terapéutico en tratamientos contra el cáncer (Saini y Sanyal, 2014).

1.2. Justificación

La importancia de este estudio se centra en la búsqueda y el uso de un extracto ideal como colorante en la producción de cerveza artesanal. Es preciso mencionar que, el interés en la cerveza ha crecido globalmente durante las últimas décadas, impulsado por un aumento en la población mundial y una mayor aceptación de la cerveza en los mercados emergentes. De acuerdo con el informe de Kirin Holdings Company del 2022, el consumo mundial de cerveza llegó a 186,7 millones de kilolitros en 2021, liderado por países como China, Estados Unidos, Brasil, México y Alemania (De Matías et al., 2021).

En Ecuador, el sector de bebidas alcohólicas se compone en un 63% de producción local, generando aproximadamente \$1.170 millones en producción nacional y \$101 millones en importaciones, los impuestos indirectos, incluyendo el Impuesto a los Consumos Especiales (ICE), representan alrededor del 12%, mientras que el 1% corresponde a aranceles, un 6% al

IVA, y el 18% restante a los márgenes comerciales asociados con la venta de estas bebidas (Andrade et al., 2020).

Además, según datos de la Sociedad Ecuatoriana de Cerveceros Artesanales, en el país existen cerca de 150 productores que elaboran una gran variedad de cervezas, la popularidad creciente de la cerveza artesanal en el mercado actual sugiere una excelente oportunidad para introducir productos únicos y distintivos. La tendencia hacia la preferencia de productos artesanales y naturales refuerza la viabilidad y la aceptación potencial de innovaciones en este sector (Andrade et al., 2020).

La inclusión de *Arthrospira platensis* o espirulina, en la elaboración de cerveza artesanal ofrece no solo un color azul distintivo gracias a su pigmento ficocianina, sino también atrae a consumidores interesados en opciones más naturales, utilizar un colorante natural como la ficocianina en un mercado saturado es una estrategia clave para diferenciar el producto y captar la atención de los clientes. Además, en las últimas décadas, la espirulina en polvo ha sido integrada en una variedad de productos alimenticios como sopas, salsas para pasta, aperitivos, bebidas, chocolates, dulces, galletas, pasteles y harinas enriquecidas. Esto subraya su versatilidad y aceptación en la industria alimentaria (Sadeghi et al., 2022).

Las algas, fuente de *Arthrospira platensis*, son ricas en compuestos fenólicos, que se correlacionan positivamente con la actividad antioxidante, el pigmento principal, la ficocianina, no solo proporciona un característico color verde azulado, sino que también contribuye significativamente a las propiedades antioxidantes, mejorando así la calidad y los beneficios para la salud del producto final (Sadeghi et al., 2022).

En relación con los pigmentos en la industria alimentaria, estos pueden ser de origen natural o sintético, sin embargo, debido a regulaciones sanitarias y a la demanda creciente de consumidores por productos más seguros, los colorantes naturales se han convertido en la opción predominante. Estos colorantes no solo son seguros, sino que también ofrecen beneficios adicionales para la salud gracias a los metabolitos que contienen, actualmente, los colorantes permitidos incluyen una variedad de sustancias naturales como clorofila, carotenos, caramelo y carbón vegetal, entre otros (Cortés-Gómez et al., 2020).

Esta confluencia de la preferencia por lo artesanal, la demanda de productos no industriales, y la exploración de sabores innovadores apoyan fuertemente el potencial de este proyecto, posicionándolo como una propuesta valiosa en un mercado que valora las innovaciones saludables y sostenibles.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Evaluar las propiedades organolépticas y fisicoquímicas de la adición de ficocianina a diferentes concentraciones a partir de espirulina (*Arthrospira platensis*) en la producción de cerveza artesanal.

1.3.2. Objetivos específicos

- Realizar la extracción del pigmento ficocianina obtenido de espirulina (*Arthrospira platensis*) mediante la técnica de ultrasonido.
- Evaluar la adición de cuatro concentraciones diferentes de pigmento ficocianina proveniente de espirulina (*Arthrospira platensis*) en la producción de cerveza artesanal.
- Implementar un panel sensorial con el fin de obtener las propiedades organolépticas de la producción de cerveza artesanal formulada con pigmento ficocianina extraído de espirulina (*Arthrospira platensis*).

1.4. Hipótesis

H0: La concentración de ficocianina no altera significativamente propiedades organolépticas de la cerveza artesanal.

H1: La concentración de ficocianina es capaz de cambiar las propiedades organolépticas de la cerveza artesanal.

Capítulo 2

Marco Teórico

2.1. Características y propiedades de la espirulina *Arthrospira platensis*

La espirulina, clasificada dentro del grupo Cyanophyceae, es un alga microscópica conocida por su habilidad para realizar fotosíntesis y producir oxígeno, estos organismos son uno de los más antiguos del planeta, históricamente, ha sido parte de la dieta de diversas comunidades primitivas en África y América, ya que se desarrolla predominantemente en ambientes alcalinos ricos en nutrientes como el nitrógeno y el fósforo, (Gonzalez et al., 2012). Con el paso del tiempo, la *Arthrospira* ha ganado popularidad, especialmente por sus aplicaciones en suplementos nutricionales, alimentos para animales y productos farmacéuticos, gracias a su alta concentración de componentes naturales como ficocianinas, pigmentos, carbohidratos complejos, ácidos grasos y aminoácidos (Wu et al., 2021).

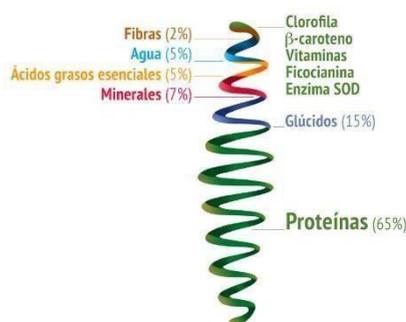
Con el paso del tiempo, la *Arthrospira* ha ganado popularidad, especialmente por sus aplicaciones en suplementos nutricionales, alimentos para animales y productos farmacéuticos, gracias a su alta concentración de componentes naturales como ficocianinas, pigmentos, carbohidratos complejos, ácidos grasos y aminoácidos (Wu et al., 2021).

Así mismo, los carbohidratos en la espirulina, principalmente polisacáridos que componen entre el 15% y el 25% de su peso seco, son altamente valorados en las industrias cosmética, nutracéutica y farmacéutica por sus propiedades funcionales, dichos polisacáridos también se consideran una fuente renovable para la producción de bioetanol, ofreciendo una alternativa energética sostenible y en línea con las prácticas de desarrollo sostenible (Liu et al., 2019).

La espirulina es notable por su variado contenido de nutrientes, incluyendo lípidos que componen entre un 3% y un 9% de su peso seco, destacando la presencia de ácidos grasos poliinsaturados que son cruciales para diversas funciones corporales y que contribuyen a la salud cardiovascular, así mismo, esta alga es rica en proteínas, llegando a constituir hasta el 60% de su peso seco, dichos componentes, tienen un equilibrio ideal de aminoácidos esenciales, pueden ser procesadas para extraer péptidos bioactivos, los cuales son clave en el desarrollo de alimentos funcionales, suplementos nutricionales y productos farmacéuticos (Elain, 2020).

Figura 3

Composición nutricional de la espirulina



Nota: La espirulina está contenida en su mayoría por proteínas. Tomado de *Contenido Nutricional – BioUnity*, s. f.

Uno de los componentes más destacados de la espirulina es la ficocianina, un pigmento proteico que no solo aporta color sino que también tiene aplicaciones como colorante natural en la industria alimentaria, otros pigmentos como los carotenoides no solo enriquecen el perfil nutricional de la espirulina, sino que también aumentan su capacidad antioxidante, y son estudiados por sus potenciales beneficios en la prevención de enfermedades crónicas (Bachchhav et al., 2019).

La utilidad de la *Arthrospira* va más allá de los componentes aislados, su biomasa completa se explora como un suplemento nutricional, una fuente de compuestos bioactivos y un ingrediente potencial para la formulación de alimentos funcionales, en consecuencia, el cultivo eficiente y sostenible la convierte en un recurso valioso para abordar desafíos globales como la seguridad alimentaria y la producción de biocombustibles de nueva generación (Belcar et al., 2022).

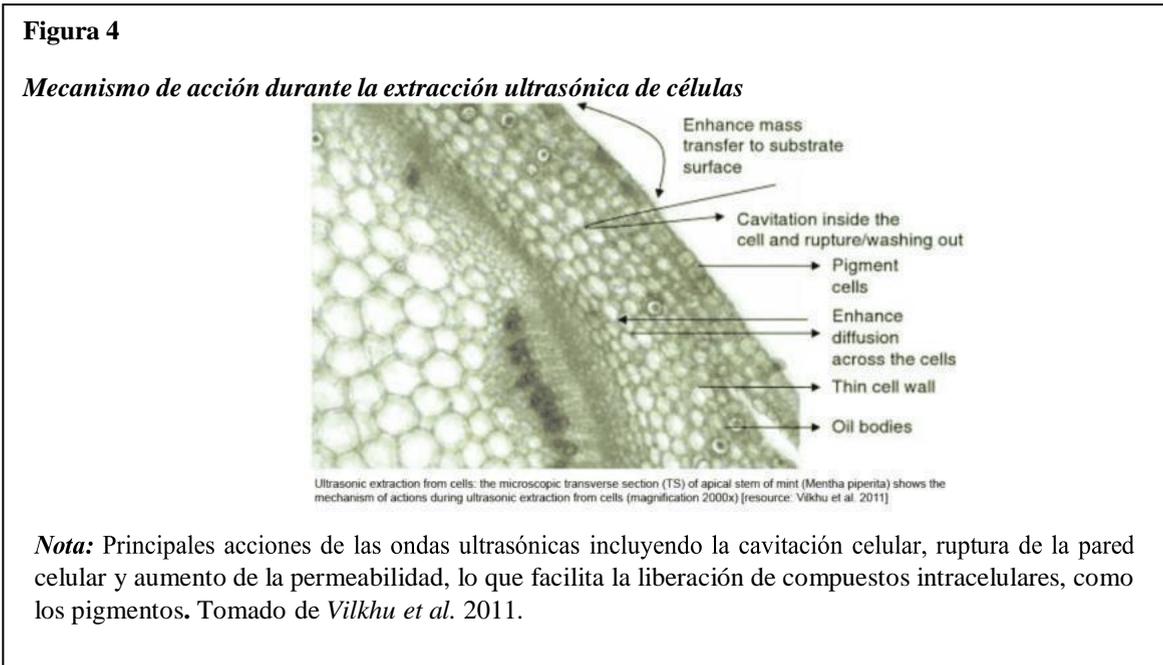
2.2. Condiciones óptimas extracción de la ficocianina

Para asegurar una extracción eficaz de la ficocianina, es crucial mantener condiciones específicas durante el proceso, entre ellas, la temperatura tiene un papel fundamental, pues modifica los compuestos intracelulares y afecta la eficiencia de su transferencia al medio de extracción. Investigaciones indican que la temperatura óptima para maximizar la extracción de ficocianina oscila entre 30 y 50°C. Un rendimiento menor se observa cuando la temperatura sobrepasa este rango (Ruiz-Hernández, et al, 2023).

En cuanto al pH, se ha determinado que el rango más adecuado para las condiciones óptimas de la microalga es de 6 a 7, para mantener el mismo durante la extracción y asegurar la estabilidad del pigmento, se utiliza una solución buffer, la más empleada es a base de fosfato de sodio, con un pH ajustado entre 6 y 8 (Ruiz-Hernández, et al, 2023).

2.3. Métodos de extracción de la ficocianina

Para obtener ficocianina de la espirulina existen varios métodos de extracción que incluyen técnicas avanzadas como la ultrasonificación en la figura 4, homogeneización a alta presión, y procesamiento bajo alta presión, además de métodos como la desintegración lisosómica, extracción por microondas y métodos fisicoquímicos variados. La selección adecuada del método es crucial, pues impacta directamente en la pureza y el rendimiento del pigmento obtenido (Ruiz-Hernández, et al, 2023).



La ficocianina enfrenta desafíos importantes en cuanto a su estabilidad durante la extracción y almacenamiento, aunque la congelación y descongelación es un método sencillo, la ficocianina es sensible a cambios en el ambiente como la luz, el calor y las variaciones de pH, lo que puede degradar el pigmento y afectar su color y propiedades bioactivas. Esta sensibilidad hace que la integridad del compuesto sea difícil de mantener con métodos convencionales de congelación y descongelación, lo que requiere considerar medidas adicionales para preservar la estabilidad del pigmento (Adjali et al., 2022).

Comparativamente, la extracción asistida por ultrasonidos resulta ser más eficiente que el método tradicional de congelación y descongelación, aplicar ultrasonidos durante diez minutos es el tratamiento óptimo, ya que ofrece ventajas como la reducción del tiempo de extracción y los costos de producción, además de ser más respetuoso con el medio ambiente (Hardiningtyas et al., 2022).

Por otro lado, métodos tradicionales como la extracción por microondas y la homogeneización a menudo carecen de especificidad, lo que resulta en la liberación de impurezas y restos celulares no deseados junto con los compuestos de interés. La homogeneización clásica se emplea comúnmente para facilitar el contacto eficaz entre los compuestos objetivo y el solvente, minimizando la extracción de componentes no deseados de la biomasa, en cambio, la extracción por microondas utiliza ondas electromagnéticas para calentar el solvente, lo cual permite extraer una mayor cantidad de compuestos químicos útiles de la biomasa bacteriana. Sin embargo, la extracción de ficocianina mediante métodos tradicionales como la centrifugación ofrece ventajas considerables, produciendo un color azul más intenso y vibrante, que también resulta en una mayor concentración de ficocianina y una actividad antioxidante superior en el producto final (Ílter et al., 2018).

2.3. Tipos de purificación de C-ficocianina

La purificación de proteínas, como la ficocianina, es una tarea compleja en el ámbito de la biotecnología, enfrentándose principalmente a los altos costos y extensos tiempos de inversión que requieren los métodos convencionales. Entre estas técnicas se encuentran la cromatografía de intercambio iónico y de exclusión molecular, además de la electroforesis y la precipitación con sulfato de amonio, todos métodos que requieren recursos considerables. Para la purificación de ficocianina se utilizan técnicas específicas, tales como:

Tabla 1.

Métodos de purificación C-ficocianina

Filtración	Este método consiste en filtrar la solución para retirar residuos celulares, realizándose comúnmente mediante filtración por gravedad o al vacío. Este paso es crucial para garantizar la pureza de la muestra (García Pérez, 2022)
Cromatografía de intercambio iónico	Esta técnica aprovecha las interacciones electrostáticas entre las moléculas y una fase estacionaria adecuada para separar las proteínas. Se

	han desarrollado diversas matrices cromatográficas que facilitan este proceso, haciendo de este un método eficiente y versátil para la purificación de proteínas (Rodríguez, 2022).
Cromatografía de exclusión por tamaño	Utiliza las diferencias en tamaño molecular para separar componentes. Las moléculas más grandes son incapaces de penetrar los poros del gel, mientras que las más pequeñas lo hacen fácilmente, permitiendo su separación basada en el tamaño. Esta técnica es útil para aislar proteínas específicas de una mezcla compleja (Pérez y Rodríguez, 2022).
Precipitación con sulfato de amonio	Debido a estas propiedades, el sulfato de amonio es ampliamente utilizado para purificar ficocianina, en este proceso, se añade la sustancia mencionada a una solución que contiene las proteínas de interés, al disociarse, la sal atrae el agua que previamente solvatada las proteínas, haciendo que estas tiendan a agruparse y precipitar, un fenómeno conocido como "salting out". El sulfato de amonio posee alta solubilidad y bajo costo, lo que lo hace especialmente práctico para uso en laboratorio. Esta técnica es particularmente ventajosa porque evita la desnaturalización de las proteínas que podría ocurrir a bajas temperaturas y proporciona un efecto bacteriostático, lo que ayuda a mantener la integridad de la muestra durante el proceso (Pérez y Rodríguez, 2022).

Fuente: *Las autoras*, 2024

2.4. La ficocianina como colorante en la industria alimentaria

Los alimentos y bebidas de tonos azules intensos capturan la atención y generan entusiasmo entre los consumidores, no obstante, hay una creciente preferencia por evitar los aditivos artificiales que proporcionan estos colores vivos. Resolver el "desafío azul" de encontrar un colorante azul natural que sea estable al calor y efectivo en productos alcalinos ha sido particularmente difícil, las bebidas presentan un reto mayor, ya que cualquier tratamiento térmico puede alterar permanentemente el color, y cambios en el pH pueden afectar la estabilidad y la tonalidad del azul (Bachchhav et al., 2019).

En términos de colorantes naturales, se han identificado en 15 tipos de origen vegetal, incluyendo β -carotenos, betalaínas, clorofila, curcumina, antocianinas, capsantinas, bixina, tartrazina y ficocianina. Estos pigmentos naturales son especialmente valorados en la industria

alimentaria, como en los sectores lácteo y cárnico, por ayudar a reducir el uso de componentes sintéticos y asegurar la calidad del producto final (Estrella et al., 2023).

La ficocianina (PC) es una proteína muy importante dentro del grupo de las ficobiliproteínas, y se distingue por su color azul característico, dicha sustancia tiene aplicaciones prácticas en dos industrias principales: se utiliza en la fabricación de productos cosméticos y también ha recibido la aprobación oficial para ser empleada como colorante en alimentos (Asghari et al., 2016).

Debido a su valor comercial como suplemento dietético, la ficocianina ha sido objeto de numerosos estudios para desarrollar métodos eficaces de extracción, se han explorado diversas técnicas utilizando soluciones de sal, cloruro, fosfato, citrato o acetato de sodio, que permiten una extracción simple y directa de ficocianina de la espirulina. Aunque estos métodos son eficientes por sí mismos, la implementación de técnicas adicionales como ultrasonido, electroporación, microondas o ciclos de congelación y descongelación puede optimizar significativamente el proceso, los métodos mencionados facilitan la ruptura de la estructura celular, liberando más proteínas almacenadas y mejorando el rendimiento de la extracción (Jaeschke et al., 2021).

La industria alimentaria constantemente busca mejorar características clave de sus productos como la variedad de colores, textura, sabor y apariencia visual, ya que estos aspectos influyen directamente en las ventas, por este motivo, numerosos colorantes se utilizan no solo en alimentos, sino también en cosméticos, medicamentos, y áreas como la investigación biomédica y los diagnósticos clínicos. El color azul, en particular, supone un reto ya que es raro en la naturaleza y suele asociarse con un origen artificial, lo que puede generar percepciones negativas respecto a sus beneficios para la salud (Hernández, 2021).

Dentro de este contexto, la ficocianina (PC) emerge como una solución valiosa, esta proteína, parte del grupo de las ficobiliproteínas, es notable por su distintivo color azul, su utilidad trasciende el ámbito alimentario, extendiéndose también a la industria cosmética, por lo que ha sido oficialmente aprobada para su uso como colorante en productos alimenticios, ofreciendo una alternativa natural que puede desafiar las percepciones negativas y destacar por sus aplicaciones prácticas y beneficios.

2.5. Compuestos Nutricionales de la ficocianina

2.5.1. Compuestos con actividad antiinflamatoria

Las cianobacterias son una fuente notable de compuestos con potenciales beneficios antiinflamatorios, habiéndose identificado varias familias de metabolitos que muestran estas propiedades. Entre estos, destacan las aeruginosinas, la ficocianina y la escitonemina, los metabolitos mencionados han sido extensamente investigados y los estudios realizados hasta la fecha han mostrado resultados prometedores sin evidencias de toxicidad, lo que los perfila como candidatos ideales para futuras aplicaciones en medicina antiinflamatoria. Esto subraya el valor de las cianobacterias como una fuente segura y efectiva de compuestos bioactivos (Demay et al., 2019). Las aeruginosinas, en particular, son péptidos producidos por varias cianobacterias que reducen la expresión de mediadores proinflamatorios como la interleucina 8 (IL-8) y la molécula de adhesión endotelial 1 (ICAM-1), en consecuencia, tienen la capacidad de inhibir proteasas, lo que resulta en una menor activación de citocinas proinflamatorias en los neutrófilos. Por otro lado, la ficocianina, una ficobiliproteína y uno de los principales pigmentos de las cianobacterias junto con la ficoeritrina y la clorofila, también se destaca por sus efectos protectores, dicha proteína no solo tiene una potente acción antioxidante, sino que también ofrece beneficios antiinflamatorios al eliminar radicales libres de oxígeno, inhibir la ciclooxigenasa 2 y reducir los niveles de TNF- α (Demay et al., 2019).

Las aeruginosinas, en particular, son péptidos producidos por varias cianobacterias que reducen la expresión de mediadores proinflamatorios como la interleucina 8 (IL-8) y la molécula de adhesión endotelial 1 (ICAM-1), en consecuencia, tienen la capacidad de inhibir proteasas, lo que resulta en una menor activación de citocinas proinflamatorias en los neutrófilos. Por otro lado, la ficocianina, una ficobiliproteína y uno de los principales pigmentos de las cianobacterias junto con la ficoeritrina y la clorofila, también se destaca por sus efectos protectores, En base a la figura 5, dicha proteína no solo tiene una potente acción antioxidante, sino que también ofrece beneficios antiinflamatorios al eliminar radicales libres de oxígeno, inhibir la ciclooxigenasa 2 y reducir los niveles de TNF- α (Demay et al., 2019).

su habilidad para dirigirse específicamente a las células cancerosas, inhibiendo su proliferación y desencadenando su muerte celular programada, mientras deja intactas las células sanas (Alfaro et al., 2020).

La ficocianina ha demostrado ser efectiva en la lucha contra varios tipos de cáncer. Investigaciones recientes sugieren que al combinar la ficocianina con los tratamientos convencionales de quimioterapia, podría ser posible reducir las dosis de los fármacos quimioterapéuticos, lo que no solo minimizaría los efectos secundarios asociados con la quimioterapia, sino también podría mejorar la eficacia general del tratamiento del cáncer (Alfaro et al., 2020).

2.6. Uso de pigmentos y/o colorantes en la cerveza y bebidas alcohólicas

El uso del colorante caramelo es crucial en la industria de bebidas alcohólicas, particularmente en la producción de licores y cervezas, donde contribuye de manera importante a la coloración de estos productos. En licores de alta graduación, se prefieren los caramelos de clase I por su estabilidad superior, para la cerveza, se seleccionan los colorantes de clase I o III, ya que su carga iónica positiva evita interacciones adversas con las proteínas de esta bebida alcohólica (Hurtado, 2021). El empleo de estos colorantes permite el uso de ingredientes más económicos, como cebadas de malta de menor costo, lo que ayuda a reducir los gastos de producción, estos aditivos se pueden aplicar en varias etapas del proceso, desde el mosto hasta el acabado, con el objetivo de ajustar o intensificar el color del producto final. Por otro lado, en los vinos se emplea frecuentemente colorantes sintéticos como E-131, E-132 y E-133, para lograr matices azules en las bebidas, mejorando así su presentación visual y su atractivo comercial (Hurtado, 2021).

El empleo de estos colorantes permite el uso de ingredientes más económicos, como cebadas de malta de menor costo, lo que ayuda a reducir los gastos de producción, estos aditivos se pueden aplicar en varias etapas del proceso, desde el mosto hasta el acabado, con el objetivo de ajustar o intensificar el color del producto final. Por otro lado, en los vinos se emplea frecuentemente colorantes sintéticos como E-131, E-132 y E-133, para lograr matices azules en las bebidas, mejorando así su presentación visual y su atractivo comercial (Hurtado, 2021).

2.7. Cerveza artesanal

La cerveza es una bebida milenaria que actualmente se sitúa como la más popular en el ámbito de las bebidas alcohólicas a nivel mundial, su producción se basa en cuatro componentes esenciales: agua, malta, lúpulo y levadura. Las cervezas artesanales se distinguen

de las industriales en que no incluyen aditivos químicos como conservantes o antioxidantes artificiales, en su lugar, cada receta varía según los ingredientes seleccionados y se elabora mayoritariamente mediante procesos naturales, enfocándose en mantener la alta calidad del producto en lugar de reducir costos de producción (Borsa et al., 2022).

Nutricionalmente, la cerveza ofrece múltiples beneficios gracias a su contenido de vitaminas, minerales y, notablemente, vitamina B12, se considera una bebida isotónica, y sus componentes principales pueden ofrecer beneficios saludables. El perfil de proteínas y aminoácidos en la cerveza depende del método de producción utilizado: las cervezas tipo lager, ale y de trigo generalmente contienen bajos niveles de proteínas, mientras que otras variedades pueden tener entre 0,3 y 0,6 g/100 ml de proteínas. Los carbohidratos, por otro lado, aportan un valor energético significativo, especialmente en las cervezas sin alcohol que poseen concentraciones más elevadas de estos (4,5-14 g/100 ml) comparado con las cervezas alcohólicas (3,3- 4,4 g/100 ml) (Rojas, 2012).

El enriquecimiento con frutas en algunas cervezas aumenta los niveles de compuestos bioactivos como flavonoides, tocoferoles, ácido ascórbico y carotenoides, lo que mejora la calidad de la cerveza y potencia sus efectos positivos en la salud, también, las cervezas son ricas en antioxidantes como los compuestos fenólicos y melanoidinas, derivados principalmente de las variedades de cebada y lúpulo utilizadas en su fabricación (Borsa et al., 2022).

2.8. Elaboración de la cerveza artesanal

2.8.1. Molienda

La molienda es un paso crucial en la producción de cerveza, donde se reduce el tamaño de las partículas del endospermo, la parte interna del grano, sin llegar a convertirlo completamente en harina. Este proceso busca preservar las cubiertas externas del grano, conocidas como glumas o cáscaras. Estas no solo actúan como medio filtrante durante la elaboración, sino que también evitan la adición de sabores indeseados al producto final.

El objetivo de la molienda es optimizar la solubilización de los componentes de la malta en agua a alta temperatura, lo cual es fundamental para la eficiencia del proceso de maceración y para definir las características organolépticas de la cerveza. Existe una relación directa entre el grado de finura de la molienda y el rendimiento extractivo; sin embargo, una molienda demasiado fina puede afectar negativamente la eficacia de la filtración, por lo tanto, es crucial

encontrar un equilibrio adecuado para asegurar tanto un buen rendimiento como una filtración efectiva. En contextos donde se requiere una molienda más fina sin sacrificar la eficiencia de filtración, el uso de un filtro prensa en lugar de un filtro de falso fondo puede ser una solución eficaz, el ajuste permite una mejor extracción de los componentes solubles sin comprometer la claridad o calidad del líquido final (Cruz, 2023).

2.8.2. Maceración

El proceso de maceración es esencial en la elaboración de cerveza y se refiere a la extracción de azúcares fermentables, no fermentables y otras sustancias solubles de la malta que ha sido molida previamente, durante la maceración, la malta se mezcla con agua a una temperatura controlada, sometiéndola a diferentes niveles de calor durante tiempos determinados. Este procedimiento está diseñado para activar las enzimas contenidas en la malta, las cuales son cruciales para descomponer el almidón en azúcares y otros componentes que serán fundamentales para las cualidades del producto final (Ferreira, 2014).

Durante la maceración, dos tipos de enzimas desempeñan roles cruciales en la transformación de los ingredientes y la mejora de las características de la cerveza:

Proteasas: Son responsables de la hidrólisis de las proteínas complejas, descomponiéndolas en fragmentos más pequeños y menos complejos, los productos de esta descomposición enzimática no solo mejoran el crecimiento y el metabolismo de las levaduras durante la fermentación, sino que también contribuyen significativamente a la estabilidad de la espuma y enriquecen la sensación de cuerpo en la cerveza (Drapala y Hernández, 2018).

Amilasas: Se encargan de romper los polímeros de almidón, en particular la amilosa, en unidades más pequeñas, su actividad resulta en la producción de maltosa y dextrinas, que son azúcares de menor tamaño y más solubles. Este proceso es vital para garantizar que se liberen suficientes azúcares fermentables que alimentarán posteriormente a las levaduras durante la fermentación, contribuyendo directamente al contenido alcohólico y al perfil de sabor de la cerveza (Drapala y Hernández, 2018).

2.8.3. Decocción

La decocción es una técnica de maceración que proviene de las regiones del norte de Europa, donde las largas temporadas frías complicaban el malteado adecuado del grano, afectando su modificación. Este método es particularmente adecuado para tratar maltas menos modificadas, siendo muy efectiva para extraer y realzar las características organolépticas de la

malta en estilos de cerveza específicos, como el bock o las lagers que suelen ser populares en la festividad de Oktoberfest (Slowbeer, 2023).

El proceso de decocción implica separar una parte del mosto durante la maceración y calentarla en un recipiente secundario hasta que alcanza el punto de ebullición. Una vez hervida, esta porción se reintegra al macerador principal. Este método eleva de manera controlada la temperatura de todo el mosto, facilitando la transición a una nueva fase térmica dentro del proceso de maceración, lo cual es crucial para desarrollar los perfiles de sabor y textura deseados en la cerveza final (Slowbeer, 2023) .

2.8.4. Recirculación y filtración

Tras completar la maceración, el siguiente paso en la producción de cerveza artesanal implica separar los componentes insolubles de la malta y el bagazo del líquido obtenido, conocido como mosto, que servirá como base para la cerveza futura, en muchos procesos artesanales, se utiliza el método de recirculación para efectuar esta separación, el cual consiste en hacer circular repetidamente el mosto a través del lecho de granos de malta (Chicaiza, 2023).

El propósito del proceso mencionado es doble, primero, facilita la acumulación progresiva de partículas en suspensión sobre el bagazo, ayudando a clarificar el mosto y segundo, permite que los poros del filtro natural, formado por los propios granos, se obstruyan gradualmente, mejorando la filtración. A medida que la recirculación continúa, la eficacia del proceso de filtración mejora significativamente, esto ocurre porque la capa de granos desarrolla una capacidad creciente para retener impurezas, lo que resulta en un mosto cada vez más limpio y claro, ideal para la siguiente etapa de la producción de cerveza (Chicaiza, 2023).

2.8.5. Lavado

Esta etapa del proceso cervecero es vital para optimizar el rendimiento, ya que, a pesar de haber concluido la recirculación, aún queda una cantidad considerable de azúcares atrapados en la matriz del bagazo. La finalidad de este paso adicional es lograr la extracción máxima de los componentes fermentables que todavía se encuentran en los residuos sólidos, lo cual ayuda a aumentar la eficiencia global de la extracción, y a su vez maximiza la utilización de los recursos y mejora el rendimiento económico de la producción de cerveza (Cervecistas, 2023).

El proceso continúa sin interrupción hasta que se introduce todo el volumen de agua de lavado necesario, previamente determinado para el proceso, es necesario cumplir estrictamente con este protocolo es esencial para asegurar una eficaz eliminación de los azúcares y otros componentes solubles restantes en el bagazo, y de esta manera garantizar la máxima eficiencia en la extracción de recursos valiosos para la elaboración de la cerveza (Slowbeer, 2023).

2.8.6. Cocción

En esta fase esencial del proceso cervecero, se realiza la ebullición del mosto, un paso esencial por varias razones. Primero, la ebullición destruye enzimas y microorganismos, esterilizando el líquido, debido a la evaporación del agua, la concentración de azúcares en el mosto aumenta, lo que refuerza el cuerpo y el sabor de la cerveza final. Durante la ebullición también se añade el lúpulo en etapas específicas: al inicio para conferir el característico amargor, a mitad de cocción para intensificar el sabor y al final para agregar aroma, ajustando la cantidad según la Unidad Internacional de Amargor (IBU) deseada (Turc, 2018).

Las proteínas disueltas en el mosto se coagulan por la acción del calor y se sedimentan, ayudando a clarificar la cerveza, tras el lavado de los granos y durante la ebullición, la densidad del mosto se incrementa significativamente, lo cual influye en el grado final de amargor de la cerveza. Factores como la densidad del mosto al final del hervor, la cantidad de cerveza producida y el porcentaje de alfa ácidos del lúpulo utilizado (como el Columbus, que contiene un 14% de alfa ácidos) determinan este perfil de amargor.

El proceso de ebullición generalmente se mantiene durante 60 minutos, en los últimos 5 a 10 minutos, es común añadir clarificantes naturales para facilitar la precipitación de proteínas y otras impurezas. También se emplea una técnica conocida como "whirlpool", que consiste en agitar vigorosamente el mosto para crear un vórtice, mismo que ayuda a que las impurezas se asienten en el fondo del recipiente, facilitando un mosto más limpio para la siguiente etapa de fermentación (Turc, 2018).

2.8.7. Enfriamiento

Durante la etapa de enfriamiento, es necesario reducir la temperatura del mosto rápidamente hasta un nivel que sea óptimo para la actividad de las levaduras., el rápido descenso de temperatura permite preservar la viabilidad de las levaduras, y minimizar el riesgo de contaminación por microorganismos que podrían comprometer la calidad del producto final (Cruz, 2023).

Para lograr un enfriamiento eficaz, se utilizan equipos especializados como los intercambiadores de calor de placas y los serpentines de inmersión contracorriente. De estos, los intercambiadores de placas son generalmente más eficientes, ya que permiten un mayor control sobre la temperatura y aceleran el proceso de enfriamiento, asegurando que el mosto alcance rápidamente la temperatura deseada para una fermentación segura y efectiva.

2.8.8. Fermentación

En esta fase del proceso cervecero se lleva a cabo una de las reacciones más cruciales: la conversión de azúcares en etanol y dióxido de carbono. La ecuación química que representa esta transformación es:



Azúcar Etanol Dióxido de carbono

La fermentación es impulsada por la levadura, que actúa sobre los azúcares fermentables obtenidos en etapas anteriores, como el remojo. Inicialmente, la levadura utiliza el oxígeno presente en el mosto para reproducirse, una vez que el oxígeno se agota, la levadura comienza a consumir azúcar, produciendo alcohol etílico en el proceso.

Antes de agregar la levadura al mosto, si se adquiere en forma deshidratada, es preciso rehidratarla adecuadamente, dicho paso asegura que la levadura se active correctamente y esté preparada para fermentar de manera eficaz. Durante el comienzo de la fermentación, se observa una alta actividad debido a la liberación de CO₂, para manejar esto, el diseño del tanque de fermentación permite que el dióxido de carbono escape al exterior sin riesgo de explosión, al tiempo que previene la entrada de oxígeno y microorganismos del exterior, lo cual podría resultar en contaminación.

Al finalizar la fermentación, se notará una disminución en la liberación de CO₂, indicando que la mayor parte del azúcar ha sido consumida y que la levadura comienza a decantarse, el líquido resultante en este punto se conoce como "cerveza verde", que aún requerirá procesos adicionales antes de ser consumida (Turc, 2018).

2.8.9. Maduración

La correcta ejecución de esta etapa permite evitar la aparición de sabores no deseados en la cerveza final, si se omite este proceso, las levaduras viables, al encontrarse sin su fuente principal de nutrientes, podrían comenzar a metabolizar las levaduras muertas o inviables que

se han sedimentado. Este fenómeno resultaría en la formación de compuestos organolépticos adversos que afectarían negativamente la calidad de la cerveza. La duración de esta fase de maduración suele variar entre siete y catorce días, periodo durante el cual generalmente no se observa actividad visible en el tanque de maduración (Ferreira, 2014).

2.8.10. Gasificación

La higiene y el uso de equipos adecuados son aspectos claves en la fase de gasificación, la biotecnología juega un papel crucial aquí; por ejemplo, la aplicación de amilasas de cepas específicas permite una descomposición más eficiente del almidón, optimizando el proceso. En cervezas como la American Wheat, el nivel de carbonatación es generalmente de moderado a alto, lo cual es esencial para su carácter refrescante y efervescente. Esta carbonatación se ajusta cuidadosamente para complementar el perfil de sabor y asegurar la calidad sensorial deseada en el producto final (Guerberoff et al. 2020).

2.8. Consumo de cerveza nacional

El mercado cervecero en Ecuador, aunque considerable, no alcanza los volúmenes de algunos países vecinos en la región, durante el año 2021, el consumo total de cerveza en el país se estimó en alrededor de 1,5 millones de hectolitros, el consumo per cápita en 2019 fue de 41 litros al año, lo que se sitúa por debajo del promedio de consumo en América Latina (Cervecería Nacional, 2022).

Entre las marcas más conocidas y consumidas en Ecuador se encuentran Pilsener, Club, Conquer y Budweiser, mismas que son producidas principalmente por Cervecería Nacional y Cervecería Andina, empresas que en la actualidad dominan el mercado cervecero del país. Aunque el segmento de las cervezas artesanales ha experimentado un crecimiento en los últimos años, todavía ocupa un espacio reducido en el mercado general, indicativo de una preferencia continua por las marcas tradicionales y de gran escala.

2.9. Marcas nacionales de cerveza artesanal

En Ecuador, la industria de la cerveza artesanal ha experimentado un notable crecimiento, reflejado en la producción de aproximadamente 250 marcas diferentes, actualmente, en el Servicio de Rentas Internas se encuentran registradas 160 cervecerías artesanales. Esta cifra muestra un incremento del 20% en comparación con el número de cervecerías antes de la pandemia, destacando un auge significativo en este segmento del mercado (Coba. 2021). Entre las marcas registradas en la Asociación de Cervecerías del Ecuador, se encuentran las siguientes:

Tabla 2.

Cervecerías artesanales ecuatorianas

Odisea	Esta marca se caracteriza por experimentar e innovar al momento de elaborar la cerveza artesanal, ofreciendo al consumidos una amplia variedad desde India Pale Ale (IPA) novedosas hasta cervezas saborizadas y envejecidas en barricas.
Patagonia	Ofrece a sus consumidores cervezas artesanales que se encuentran inspiradas en la naturaleza de la Patagonia, entre su cartera de productos se encuentras cervezas tipo lager, IPA y de trigo.
Bandido Brewing	Esta marca es destacada por sus productos creativos y de alta calidad, en su cartera de cervezas artesanales se encuentras del tipo IPA, Stout, Sour Ales y cervezas experimentales.
Mashpi	Ampliamente reconocida por ofertar cervezas artesanales empleando técnicas innovadoras e ingredientes locales, ofrece cervezas de tipo Pilsner, Pale Ale y saborizadas o de temporada.
La Compañía Cervecera de Guayaquil	La empresa ofrece su producto bajo el nombre “Cerveza del Bosque”, misma que cuenta con gran variedad de productos entre los que destacan las cervezas de tipo Golden ale, Amber Ale y envejecidas en barricas.
Hopfen Cerveza artesanal	Esta cerveza se caracteriza por enfatizar en su ingrediente estrella el lúpulo, tanto que esta palabra traducida al alemán “Hopfen” otorga el nombre a la marca. En general la empresa elabora la cerveza en pequeñas cantidades para prestar mayor atención a la calidad y materia primas, cabe destacar que su producción se realiza con métodos tradicionales.

Fuente: Las autoras, 2024.

2.10. Cerveza artesanal “American Wheat”

La American Wheat es un tipo de cerveza artesanal caracterizada por incorporar trigo en la mezcla de granos aparte de la tradicional cebada, durante el proceso de elaboración, los maestros cerveceros reemplazan entre el 40%-60% de la cebada por malta de trigo o trigo sin maltar, lo cual otorga a este tipo de cerveza características organolépticas únicas, como un sabor más suave, afrutado, textura cremosa y cuerpo ligero, que la diferencia de aquellas que emplean únicamente cebada (Costa et al., 2020) (Belcar et al., 2022).

Este tipo de cerveza es reconocida por presentar una apariencia turbia y color que puede variar entre un amarillo pálido y el dorado suave, a continuación, en la tabla 3 se mencionan las características que suele presentar la American Wheat, de acuerdo con su lugar de elaboración:

Tabla 3.

Cerveza estilo American Wheat alrededor del mundo

Estados Unidos	Como el estilo American Wheat se originó aquí, es muy común encontrar versiones rubias en todo el país.
Italia	En las cervecerías artesanales italianas existe un creciente interés por la elaboración de cerveza tipo American Wheat, aunque con interpretaciones y estilo propio, con un toque mediterráneo.
Brasil	En Brasil las cervecerías artesanales suelen experimentar con frutas locales, lo cual le da a la cerveza un sabor único y distintivo.
España	Algunas cervecerías artesanales españolas producen versiones de American Wheat, a menudo con un perfil más seco que sus contrapartes estadounidenses.
Alemania	A pesar de que Alemania es reconocida por sus cervezas de trigo tradicionales, algunas cervecerías artesanales están experimentando con el estilo American Wheat.

Fuente: *Las autoras*, 2024.

2.11. Normas INEN 2262

De acuerdo a la normativa 2262 del Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN, 2003), las bebidas alcohólicas tienen tres categorías mismas que se diferencian por el grado de alcohol que poseen las mismas, el nivel bajo se ubica en un rango de entre 1.1%-3%, son consideradas medias las bebidas con una graduación de alcohol entre el 3.1%-10%, cuando superan el 10%, entonces se dice que su nivel es alto. Por otro lado, la norma INEN, descrita en la tabla 4 establece una serie de requisitos fisicoquímicos y límites contaminantes que debe cumplir la cerveza:

Tabla 4.

Requisitos fisicoquímicos y límites de contaminantes.

Contenido alcohólico	
Cerveza sin alcohol	0% - 1%
Cerveza de bajo cont.	1,1% - 3%
Cerveza de mediano cont.	3,1% - 10%
Cerveza de alto cont.	10% - >10%
Acidez total	0% - 1,7%
Contenido de CO₂	0,9% - 4%
pH	2,8% - 5%
Extracto original	
Cerveza	5% - 9%
Cerveza liviana	9,1% - 12%
Cerveza extra	12% - >12%
Zn	Máx. 1,0 mg/L
Fe	Máx. 0,2 mg/L
Pb	Máx. 0,1 mg/L
Cu	Máx. 1,0 mg/L
Zn	Máx. 1,0 mg/L

Fuente: *Instituto Ecuatoriano de Normalización y ASOCERV*, 2023.

En relación con los requisitos microbiológicos, la norma INEN 2262 indica que para la cerveza pasteurizadas o microfiltradas el recuento de aerobios mesófilos no debe exceder los 10 UFC/L, y el recuento total de anaerobios es de máximo de 10 UFC/L (INEN, 2003).

2.12. Control de calidad de la cerveza artesanal

2.12.1. Propiedades organolépticas

La cerveza artesanal presenta una serie de propiedades organolépticas, que deben mantenerse apegadas a las características que fueron anunciadas y son deseadas por los consumidores, estas son:

2.12.1.1. Apariencia

La cerveza artesanal puede poseer una variedad de colores desde que van desde el amarillo pálido, hasta marrones oscuros, incluso pueden presentar tonos rojizos o cobres, la diversidad en la coloración se debe al tipo de malta empleado, así como el nivel de tostado al cual es sometido durante la producción. Los consumidores prefieren las cervezas artesanales con espuma abundante, espesa y que se conserve por un tiempo considerable (Bokulich y Bamforth, 2022).

2.12.1.2. Sabor

El amargor en la cerveza artesanal varía según el estilo, puede ir desde sutil y ligero, hasta intenso y pronunciado, lo que dependerá del lúpulo utilizado. Los maestros cerveceros buscan alcanzar un equilibrio entre el amargor del lúpulo y el dulzor de la malta, así como en la sensación de cuerpo o densidad del paladar (Cortés-Gómez et al., 2020). Al respecto, Bokulich & Bamforth (2022) explican que los sabores que provienen de la malta en la cerveza artesanal son muy variados, abarcando desde lo dulce y meloso, hasta lo tostado con matices ahumados.

2.12.1.3. Aroma

La diversidad de aromas presentes en la cerveza artesanal se debe principalmente al lúpulo, sin embargo, puede desplegar un espectro más amplio como frutal, cítrico, incluso herbal, esto dependerá de la materia prima que se añade. En consecuencia, las variedades de lúpulo que se empleen en la producción del producto definirán esta característica, sin embargo, la malta también aporta al perfil olfativo, ofreciendo aromas desde dulces y melosos hasta tostados y caramelizados (Cortés-Gómez et al., 2020).

2.12.1.4. Sensación de boca

La textura y densidad de la cerveza artesanal puede variar significativamente, desde la sensación ligera-delicada, hasta una robustez y consistencia marcadas, algunas variedades de esta bebida pueden provocar al momento de probarla experiencias térmicas notables, ofreciendo una sensación de calidez o por el contrario un efecto refrescante y vigorizante al paladar. Sin embargo, el diacetilo puede causar una sensación untuosa al beber, incluso en pequeñas cantidades. La efervescencia equilibrada hace que la bebida sea suave y agradable (Bokulich y Bamforth, 2022).

2.12.1.5. Impresión general

Comúnmente la cerveza de trigo tiene un color claro y es refrescante. El sabor y el olor de estos cereales evocan la masa fresca o el pan recién horneado. La fermentación da como resultado un perfil limpio, pero las notas de lúpulo y el nivel de amargor pueden variar. La carbonatación abundante y la textura ligera lo convierten en una opción muy bebible y agradable al paladar (Strong & England, 2021).

2.12.2. Parámetros fisicoquímicos

2.12.2.1. pH

Durante la elaboración de la cerveza, los minerales presentes en el agua juegan un rol esencial en la modificación del pH, los iones de carbonato, por ejemplo, contribuyen a la dureza del agua y reaccionan con otras sustancias para formar compuestos que actúan como tampón estabilizando el pH. Por otro lado, la cerveza también es rica en minerales importantes como calcio, magnesio, sodio, potasio, hierro, zinc, silicio, además de incluir vitaminas del grupo B, todos estos componentes se derivan de la cebada, el agua y el lúpulo (Bible 2021).

Los minerales más abundantes en la cerveza son los macroelementos, donde se incluyen el magnesio, calcio y potasio encontrándose estos últimos en mayor abundancia, mientras que entre los microelementos destacan el sodio y el zinc, mismos que se encuentran en niveles relativamente moderados. En términos funcionales, el sodio es clave para equilibrar los fluidos dentro de las células, y el potasio desempeña una función análoga en los espacios extracelulares, regulando los líquidos fuera de las células (Espinoza & Sinchi, 2024).

2.12.2.2. Acidez

Durante la elaboración de la cerveza, las bacterias ácido láctico son cruciales para acidificar el mosto, un proceso determinante para alcanzar las características deseadas del producto final, estos microorganismos destacan por su flexibilidad metabólica, lo que permite extender su aplicación más allá de la industria cervecera a otros ámbitos del sector de alimentos (Wang et al., 2021). En cuanto a la acidez de la cerveza la normativa INEN 2262 (2003), indica que esta debe oscilar entre el 0 y 1,7%.

La acidez se define como la capacidad de una sustancia para liberar iones de hidrógeno en solución acuosa, esta propiedad se mide mediante técnicas volumétricas que emplean la titulación, un proceso que incluye la muestra a analizar, un reactivo titulante y un indicador

para determinar el punto final de la reacción (Menéndez & Vera, 2023). A continuación, se muestra la fórmula para calcular el nivel de acidez:

$$\% \text{ Ácidez} = \frac{ml \text{ NaOH} \times N \times 90 \times 100}{ml \text{ muestra} \times 1000}$$

2.12.2.3. Color

El color de la cerveza se deriva de los elementos que la componen, entre los que destaca las melanoidinas, que otorgan tonos que varían desde al amarillo al ámbar, además se incluyen otros compuestos derivados de la caramelización y pirólisis, como los polifenoles oxidados, riboflavina, carotenoides, antocianinas, clorofilas y catalizadores de la oxidación como los iones metálicos (Menéndez & Vera, 2023). Para medir específicamente la intensidad de color azul de la cerveza, se emplea un espectrofotómetro que registra la absorbancia en diversas longitudes de onda, en el caso de la ficocianina, el pico máximo es entre 610-620 nm (García, 2019).

Capítulo 3

Materiales y métodos

3.1. Obtención de la biomasa seca de la cianobacteria *Arthrospira platensis*

La microalga deshidratada en polvo *Arthrospira platensis* fue adquirida de manera comercial en la empresa ecuatoriana “Andes Spirulina”.

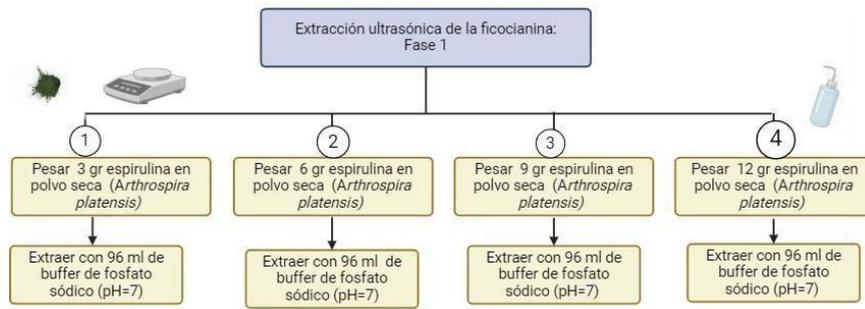
3.2. Extracción del pigmento ficocianina por la técnica de ultrasonido

Siguiendo el protocolo desarrollado por Hardiningtyas et al. (2022), para optimizar la ruptura celular de la cepa *Arthrospira platensis*, se aplicó el siguiente método: Para las cuatro extracciones se pesaron las cantidades correspondientes de la espirulina desecada, 3 gr para la primera extracción, 6gr para la segunda, 9gr para la siguiente extracción y 12 gr para la última. Se distribuyeron en vasos de precipitación adicionando 96 ml de buffer de fosfato sódico 10 mM con un pH de 7, seguido de un baño ultrasónico durante un período de 10 minutos, manteniendo una temperatura de 40 °C. Terminado el tiempo de extracción se refrigeraron las muestras a 4 °C durante 24 horas y el sobrenadante obtenido se centrifugó a 4500 rpm durante 20 minutos logrando la precipitación del pigmento azulado y separación de la clorofila. Finalmente, como método de purificación se filtró mediante bomba al vacío y se analizó usando un espectrofotómetro UV-visible en las longitudes de onda de 280 nm, 615 nm y 652 nm para asegurar la obtención de un extracto de ficocianina de alta calidad, evaluando su concentración, rendimiento e índice de pureza.

La ficocianina, soluble en agua, se extrae como un complejo de proteína-pigmento, su estabilidad durante la extracción dependerá de factores como el pH y la fuerza iónica (Asghari et al., 2016; Moreno, 2016). Los procesos subsiguientes de separación y purificación son esenciales para prevenir su degradación, que puede ser afectada por la luz, temperatura, el pH y la concentración de proteínas (Moreno, 2016; Pez Jaeschke et al., 2021).

Figura 6

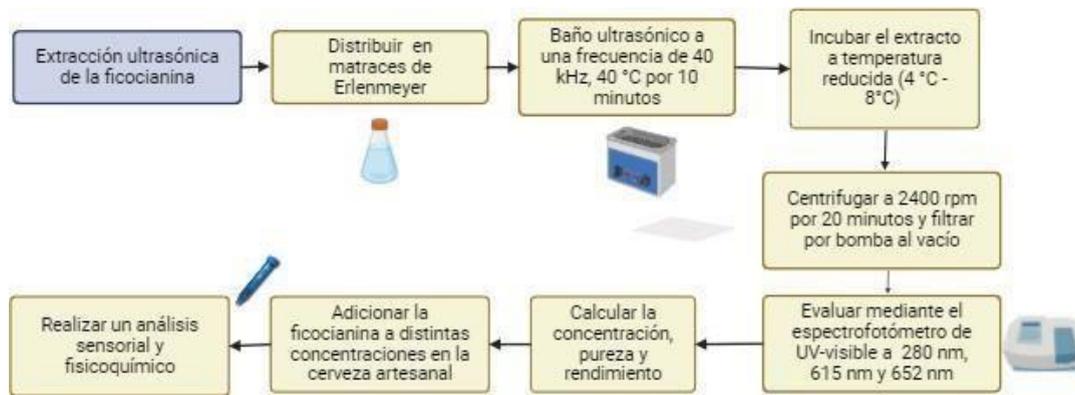
Diagrama de extracción de ficocianina, fase 1



Nota: Extracción por ultrasonido con diferentes cantidades de espirulina desecada. Tomado de *Hardiningtyas et al., 2022*.

Figura 7

Diagrama de extracción de ficocianina, fase 2



3.3. Método espectrofotométrico para el análisis de ficocianina

Para determinar la concentración de ficocianina en el extracto se realizó un análisis de Densidad Óptica (OD), empleando para ello un espectrofotómetro, conforme el método establecido. Se realizó una dilución 1:50 de cada uno de los pigmentos.

La concentración se calculó empleando la siguiente formula:

$$PC(mg/mL) = \frac{A_{615} - 0,474 \times A_{652}}{5,34}$$

Donde, 0.474 y 5.34 son constantes derivada de las propiedades espectrales específicas de la ficocianina (Sadewo et al., 2024). Por otro lado, el rendimiento y la pureza se determinan de acuerdo al método expuesto por Nikola et al. (2024):

$$\text{índice de pureza} = \frac{A_{615}}{A_{280}}$$

$$R = \frac{PC \times V \text{ extracto (ml)}}{\text{Biomasa seca (gr)}}$$

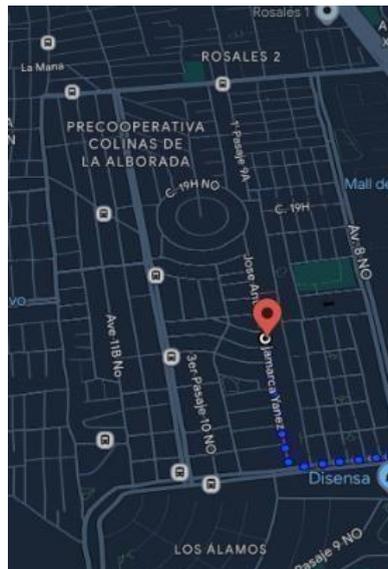
Siguiendo el criterio de Rito-Palomares et al., un índice de pureza superior a 0.7 indica que el pigmento es adecuado para su uso como colorante en la industria alimentaria. Un índice de pureza mayor a 3.9 clasifica al pigmento como de categoría radioactiva, y si supera el valor de 4, se considera de categoría analítica.

3.4. Elaboración de la cerveza artesanal American Wheat

Considerando las normas vigentes propuestas por el INEN; se procedió a la producción de dos lotes de cerveza artesanal rubia de trigo con un amargor medio-bajo y un grado alcohólico de 4.3%, proceso que se llevó a cabo en la planta de la cerveza artesanal “Hopfen”, ubicada en la ciudadela “Colinas de alborada”, en la ciudad de Guayaquil.

Figura 8

Ubicación de la planta de cervecería artesanal "Hopfen"



Nota: Ubicación de la planta en la cual se desarrolló el proceso de elaboración de la cerveza artesanal. Tomado de *Google maps*, 2024.

La cerveza artesanal American Wheat tuvo como base la receta ya estandarizada por los productores de cerveza Hopfen, con las respectivas cantidades:

Tabla 5.

Ingredientes para la elaboración de 45 litros de “American wheat beer”

Materia prima	Cantidades
Malta de trigo	3,7 kg
Malta pilsner	3,7 kg
Lúpulo de amargor Columbus	60 gr
Levadura de trigo (SafAle S-04)	25 gr
Agua	45 litros

Fuente: *Las autoras*, 2024

3.4.1. Procedimiento

Siguiendo el proceso de producción de la cerveza artesanal rubia de trigo, se llevó a cabo el siguiente proceso:

3.4.1.1. Molienda

Se midieron y mezclaron 7,4 kg de malta de cebada Pilsen y malta de trigo, en una proporción de 50/50, la molienda se realizó utilizando un molino automatizado para triturar eficientemente los granos.

3.4.1.2. Maceración

Se utilizó la técnica de maceración por infusión simple, inicialmente se prepararon 20 litros de agua base filtrada y se le añadieron cuatro tipos de minerales: sulfato de calcio, cloruro de calcio, cloruro de sodio y ácido nítrico, calentando la mezcla hasta alcanzar los 72°C. Luego la temperatura se redujo gradualmente hasta estabilizarse en 65°C, en este momento se incorporó los granos molidos y se controló el pH del agua, mismo que debe mantenerse en 5.2 y 5.8 para evitar la extracción de taninos y sabores no deseados, el pH registrado en este caso fue de 5.5. También, se implementó un sistema de recirculación con una bomba especializada que ayudó a mantener uniformes la distribución del calor y los componentes en la mezcla, recirculando el líquido desde la parte inferior del tanque, hacia la superior, lo que facilitó una extracción eficiente de azúcares y enzimas de los granos. En total este proceso tuvo una duración de 1 hora.

3.4.1.3. Lavado

Se preparó más agua filtrada con sales minerales para el lavado, llenando el tanque hasta el volumen de 25 lt, manteniendo la temperatura de 65 °C, además se ajustó el pH a 5.2 mediante un potenciómetro. Una vez obtenido el mosto, se usó una manguera para conectar el

tanque de maceración con el de cocción, y se realizó el lavado del bagazo con el agua del tanque para extraer los azúcares residuales.

3.4.1.4. Cocción

El mosto se lleva a ebullición, el lúpulo se agregó en 3 etapas.

- 10 gr de lúpulo faltando 60 minutos para el final del hervor.
- 25 gr faltando 20 minutos.
- 25 gr faltando 0 minutos para finalizar la ebullición.

En la fase inicial de ebullición, que duró 60 minutos, se añadió el clarificante Irish moss para mejorar la claridad del líquido, al concluir esta etapa, se midió la densidad inicial del mosto, que fue de 1042, utilizando un refractómetro. Esta medida fue ajustada a 1040, añadiendo un volumen adicional de 1.7 litros de mosto.

3.4.5.1. Enfriamiento

Concluida la fase de cocción, se procedió a enfriar el mosto utilizando un intercambiador de calor de placas, este dispositivo es crucial para facilitar un eficiente intercambio térmico entre el mosto aún caliente y el medio refrigerante, asegurando un enfriamiento rápido y eficaz, se empleó agua como fluido de enfriamiento, la cual se mantuvo previamente a una temperatura entre 10 °C y 12 °C. El mosto circuló por un lado de la placa del intercambiador, mientras el agua fría circulaba por el lado contrario, esta configuración permitió que ambos fluidos pudieran intercambiar calor sin entrar en contacto directo, permitiendo así una reducción rápida y controlada de la temperatura del mosto.

3.4.1.6. Fermentación

Cuando se alcanzó la temperatura deseada, el mosto enfriado se trasladó al tanque de fermentación, previamente esterilizado con una solución de ácido cítrico, metadisulfito de potasio y agua, para garantizar un ambiente óptimo para la inoculación. Se introdujeron 25 gramos de levadura del género *Saccharomyces*, la actividad metabólica de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (SafAle S-04) duró aproximadamente 8 días.

3.4.1.7. Maduración

Terminada la fermentación, el mosto transformado en cerveza verde, se transfirió a un barril de 20 litros utilizando una bomba de succión denominada “Quick Carb”, frecuentemente

usada en procesos de carbonatación. Esta herramienta facilitó la extracción del líquido del tanque de fermentación, dejando el sedimento, estimado entre 2 y 3 litros, en el fondo. El barril destinado a recibir la cerveza fue sometido a un exhaustivo proceso de lavado, esterilización y sanitización con químicos apropiados, antes de llenarlo, se purgó con gas CO₂ para expulsar cualquier traza de oxígeno, elemento perjudicial en esta fase por su capacidad de oxidar la cerveza y generar sabores no deseados, similares a los del cartón mojado.

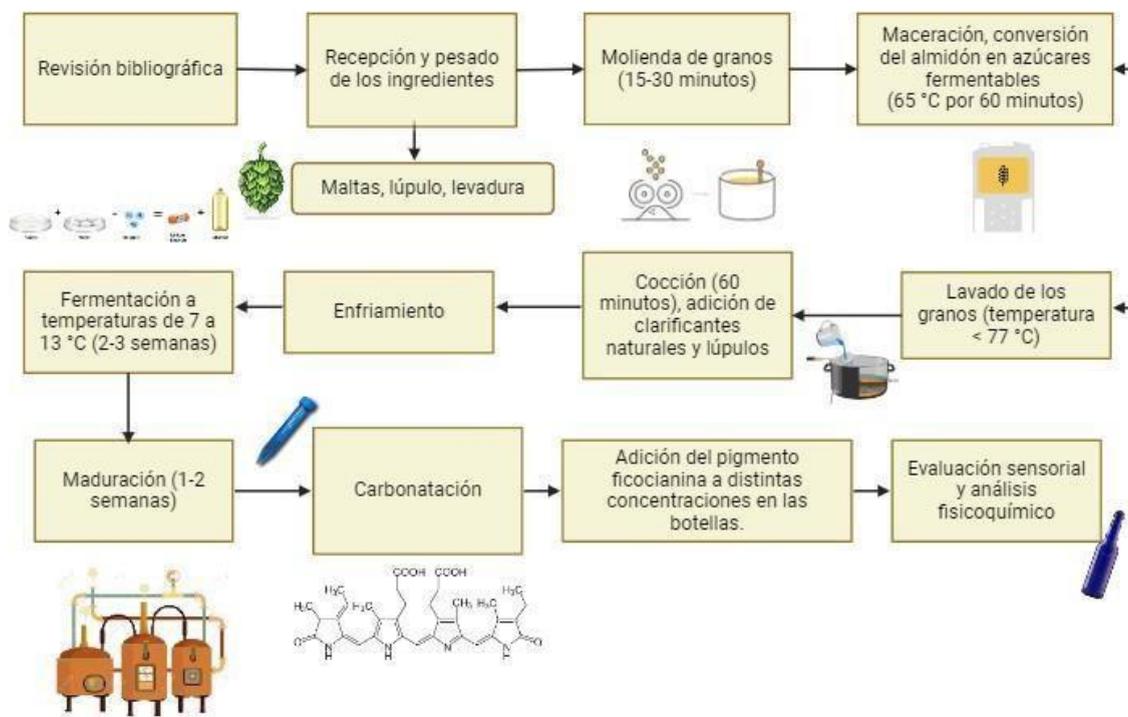
Durante el trasvase, se tomó especial cuidado de introducir la manguera de succión hasta el fondo del tanque de fermentación para minimizar la agitación y el contacto con el oxígeno, este método fue preferido frente a métodos menos precisos como el trasvase manual, que podría incorporar oxígeno y afectar negativamente la calidad del producto. Aunque en instalaciones industriales se utilizan tanques especializados que permiten separar primero el sedimento y luego extraer la cerveza de manera aislada del oxígeno, en esta producción a menorescala se adaptaron las técnicas disponibles para lograr la mayor calidad posible con los recursos existentes.

3.4.1.8. Gasificación

En el proceso de elaboración de la cerveza artesanal American Wheat, se empleó la técnica de carbonatación forzada en el tanque madurador, se comenzó eliminando el oxígeno residual para prevenir la oxidación, luego, se inyectó dióxido de carbono puro de grado alimentario utilizando un sistema con regulador de presión, manteniendo 16 psi constantes durante 45 minutos. La temperatura del madurador se mantuvo a 1°C para optimizar la solubilidad del CO₂ y preservar las características organolépticas de la cerveza, durante este tiempo, se monitoreó el nivel de CO₂ disuelto para asegurar una concentración óptima de entre 2.5 y 2.7 volúmenes, ideal para este estilo de cerveza. Todo el procedimiento se ejecutó siguiendo rigurosas normas de higiene y seguridad, adecuadas para el manejo de gases presurizados en la industria alimentaria.

Figura 9

Elaboración de la cerveza artesanal



Nota: Diagrama de las etapas llevadas a cabo en la planta de cervecería artesanal “Hopfen” para la producción de la cerveza estilo American Wheat. Elaborado por *Las autoras*, 2024.

3.5. Adición del colorante en la cerveza artesanal

Una vez formados el CO₂ y el alcohol, se procedió a distribuir el pigmento en la cerveza, el colorante se clasificó por su concentración en grupos de seis botellas para mantener una uniformidad en las muestras.

3.6. Pruebas organolépticas

Para el análisis sensorial, se empleó un test de aceptación diseñado por Home Brewers Association, el mismo se aplicó a un total de 30 catadores, incluyendo docentes y alumnos del programa de Ingeniería en Biotecnología, durante la prueba, a los catadores se les proveyó de vendas oscuras para garantizar la objetividad en la evaluación de las muestras. Se presentaron cuatro vasos de cerveza artesanal, cada uno con diferentes concentraciones del colorante azulado, además de un vaso de cerveza artesanal sin ficocianina.

Para procesar los datos, se empleó métodos estadísticos al momento de evaluar las diferencias entre las muestras utilizando para ello el programa STATGRAPHICS, los valores numéricos obtenidos se organizaron en tablas y se sometieron a un análisis de medianas, complementado con la prueba de Krustal Wallis, estableciendo un nivel de significancia de 0,05.

3.7. Análisis fisicoquímico

3.7.1. Determinación de pH

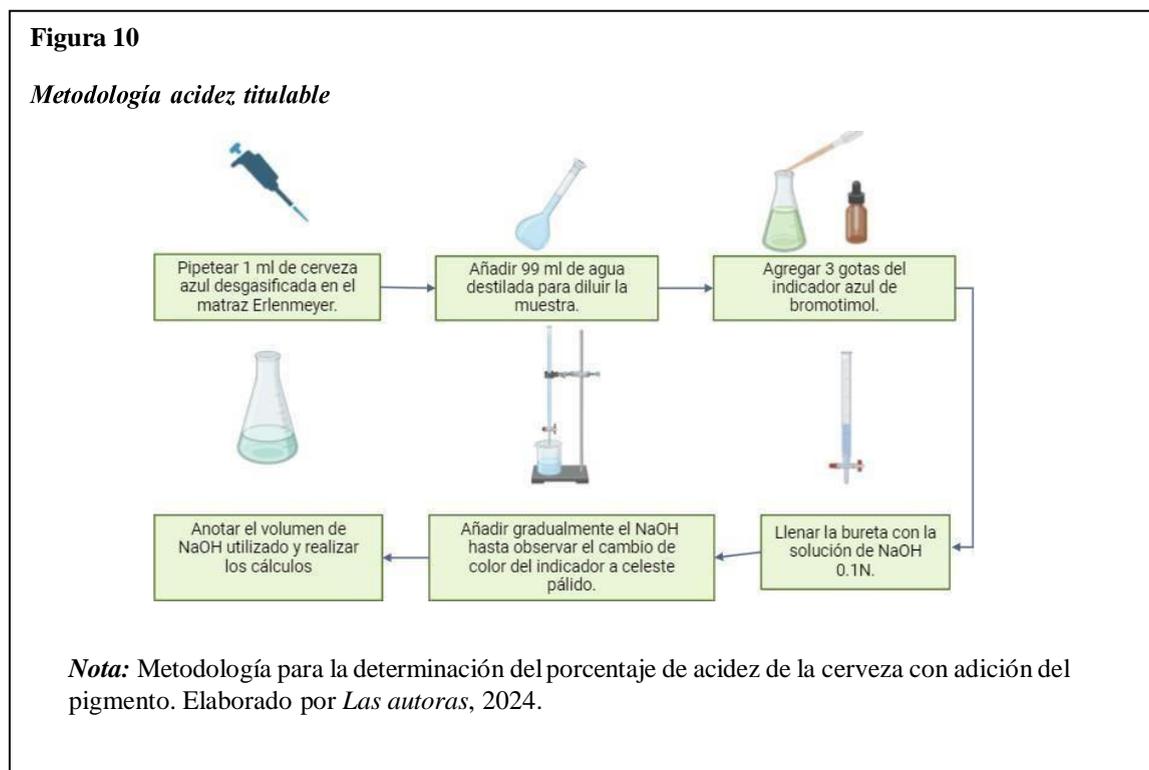
En base a la normativa INEN 2262 el rango del potencial de hidrógeno en bebidas alcohólicas corresponde entre 2,8 y 5 %.

3.7.2. Prueba de titulación

3.7.1. Cerveza artesanal azul

El proceso empezó con la desgasificación de 100 ml de cada muestra correspondiente a distintas concentraciones de ficocianina, realizando una agitación constante en el vaso de precipitación, luego se dejó reposar por 5 minutos para que se libere el CO₂, fue necesario adaptar el procedimiento estándar debido a la pigmentación azul de la cerveza.

Procedimiento:



3.7.2. Cerveza artesanal sin pigmento

Para medir el parámetro de la cerveza sin pigmento, se utilizó una solución de hidróxido de sodio 0,1 N en una muestra de la bebida alcohólica previamente desgasificada, los resultados se expresaron en un porcentaje equivalente al ácido láctico. Para medir la acidez se llevó a cabo el siguiente método:

- Hervir un volumen de 99 ml de agua destilada en un recipiente adecuado por 2 minutos.
- Añadir 1 ml de cerveza desgasificada al recipiente y hervir por 1 minuto.
- Agitar la mezcla, para que se enfríe hasta alcanzar la temperatura ambiente.
- Enfriada la mezcla incorporar 2-3 gotas de fenolftaleína al 0.5% como indicador.
- Realizar la titulación con la solución de hidróxido de sodio 0,1 N hasta que se observe un cambio de color a rosa tenue.
- Anotar el volumen de solución básica empleada y aplicar la fórmula para calcular la acidez total.

3.7.3. Medición espectrofotométrica

3.7.3.1. Cerveza artesanal azul

La evaluación del color de la cerveza azul se realizó mediante un análisis espectrofotométrico, el cual se centró en la medición de la ficocianina. Esta técnica se eligió debido a la naturaleza única del pigmento azul en la cerveza, el cual es diferente de los colores típicos producidos por melanoidinas y otros compuestos encontrados en las cervezas tradicionales. A continuación, se menciona el proceso:

- Preparación y desgasificación de las muestras de cerveza azul mediante agitación suave para eliminar el CO₂ disuelto, esto permite prevenir interferencias durante las mediciones espectrofotométricas.
- Las muestras se diluyeron en agua destilada en proporciones que permitieron que las lecturas de absorbancia se mantuvieran dentro del rango operativo del espectrofotómetro.
- El espectrofotómetro se ajustó para realizar mediciones en el espectro visible, enfocándose en el rango de 610-620 nm, donde la ficocianina mostró su pico de absorción más prominente. Se empleó agua destilada como referencia para calibrar el instrumento antes de proceder con las mediciones.

- Las muestras se analizaron por triplicado para garantizar la fiabilidad de los resultados.

3.7.3.2. Cerveza artesanal sin pigmento

Se desgasificaron con cuidado muestras de cerveza American Wheat utilizando agitación suave en un vaso de precipitación para eliminar el CO₂ disuelto, tras esto, se llevaron a cabo mediciones espectrofotométricas, para lo cual se empleó un espectrofotómetro calibrado con agua destilada como blanco.

Las muestras fueron examinadas a longitudes de onda específicas de 430 nm y 700 nm, de acuerdo con el método estandarizado de la European Brewery Convention (EBC), el color de la cerveza se determinó en unidades EBC utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Color EBC} = 25x (A_{430} - A_{700})$$

Capítulo 4

Resultados y discusión

4.1. Extracción de la ficocianina mediante la técnica de ultrasonido

La espirulina, es una cianobacteria gram-negativa que consta de una membrana celular interna, una delgada pared de peptidoglicano, y una membrana externa, para acceder a los metabolitos y extraer la ficocianina es necesario romper la membrana celular (Vonshak, 2002). La eficiencia de los métodos de disrupción celular varía según la especie, la estructura de la pared celular y el estado fisiológico del organismo (Hurtado, 2021).

En la extracción de componentes activos de tejidos vegetales porosos, la técnica de extracción con disolventes se destaca por su rentabilidad, esta metodología es ampliamente utilizada para obtener compuestos usados como aditivos o integrados en productos nutracéuticos, siendo accesible y eficaz, lo que la convierte en una opción preferida en la industria. Comparativamente, la extracción asistida por ultrasonidos emerge como una alternativa más económica, rápida, simple y eficiente que los métodos tradicionales, ya que requiere menos solvente y energía, por otro lado, esta técnica supera métodos convencionales como la extracción sólido-líquido, que requiere hasta veinticuatro horas de agitación, y el método Soxhlet, que emplea solventes orgánicos tóxicos y puede prolongarse hasta veinte horas (Ramón y Gil-Garzón, 2021).

Como consecuencia de una base sólida científica correspondiente a investigaciones realizadas en años anteriores y con la experimentación respaldada en el presente estudio, se puede evidenciar que el método más eficaz para obtener la C-ficocianina a partir de la *Arthrospira platensis* es la extracción por sonicación. Según Hardiningtyas et al. (2022) se obtiene una mayor concentración, producción e índice de pureza de la ficocianina durante un tiempo de extracción diez minutos, 1065.54 ± 182.76 g/mL, $10.65 \pm 1.82\%$ y 1.12 ± 0.04 respectivamente, en comparación con solo 56.56 ± 0.63 g/mL y $0.56 \pm 0.01\%$ obtenidos por los métodos de congelación y descongelación, que no producen una pureza deseable apto para el consumo.

La técnica empleada ha sido modificada para optimizar el rendimiento de extracción y el proceso de ruptura celular. El uso de un baño ultrasónico a 40°C durante 10 minutos, seguido de refrigeración, centrifugación y filtración, ha demostrado ser particularmente efectivo para liberar el pigmento ficocianina del interior de las células de las microalgas.

Varios autores, como Asghari et al. (2016) y Moreno (2016), destacan que la extracción de la proteína mediante ultrasonido fomenta la solubilización del complejo proteína pigmento, otorgando una mayor estabilidad de la molécula durante el proceso de separación y purificación. Adicionalmente, Pez Jaeschke et al. (2021) enfatizan la importancia de controlar elementos como el pH y la fuerza iónica para evitar la degradación de la ficocianina. Como resultado, el protocolo utilizado en esta investigación, que incluye un buffer de fosfato sódico a pH neutro, contribuye a mantener la integridad y la calidad del extracto.

4.2. Evaluación de la adición de cuatro concentraciones diferentes de pigmento ficocianina proveniente de espirulina (*Arthrospira platensis*) en la producción de cerveza artesanal.

Una vez que se realizó un proceso de extracción adecuado, se obtienen pigmentos de diferentes concentraciones, aptos para utilizar en productos alimenticios, en vista que, los niveles de pureza de los mismos oscilan entre 0.7 y 3.9. La concentración de pigmento resultante correspondió a la cantidad de biomasa seca (espirulina) utilizada, sin embargo, las variaciones en las cantidades empleadas, de 9 gr. a 12 gr. no tuvieron una diferencia significativa, la poca variación en las concentraciones de ficocianina puede deberse a varios factores.

Por ejemplo, es posible que el buffer utilizado haya alcanzado su capacidad máxima de extracción, lo que sugiere que cantidades adicionales de biomasa no incrementarían el rendimiento de la ficocianina, la eficiencia de la extracción de la biomasa podría no ser proporcional a la cantidad de biomasa utilizada, posiblemente llegando al punto de saturación. También, es necesario considerar que factores como el pH, la temperatura y el tiempo de aplicación del ultrasonido podría no ser los óptimos, finalmente, la distribución de ficocianina dentro de la biomasa podría ser inconsistente, indicando que, un aumento en la biomasa no garantiza necesariamente una mayor extracción del pigmento.

Considerando lo expuesto en la tabla 6, se utilizó el método de espectrofotometría para evaluar cada concentración de ficocianina:

Tabla 6.

Análisis espectrofotométrico según la cantidad de biomasa seca extraída.

Gramos	Longitud de onda	Absorbancia	Concentración	Pureza	Rendimiento
3g	A652	0,165	1,60 mg/ml	1,28	51,2 ml/g
	A615	0,250			
	A280	0,195			
6g	A652	0,507	7,09 mg/ml	2,53	113,44 ml/g
	A615	0,393			
	A280	0,998			
9g	A652	0,875	10,93 mg/ml	2,05	116,58 ml/g
	A615	0,770			
	A280	1,583			
<u>12g</u>	A652	0,94	11 mg/ml	2,13	88ml/g
	A615	1,61			
	A280	0,757			

Fuente: Las autoras, 2024

Una vez elaborada la cerveza artesanal American Wheat, se experimentó adicionando diferentes volúmenes de pigmento a la bebida, determinando que 18 ml de colorante en una solución de 330 ml, eran adecuados para obtener un color azul distintivo, con menor cantidad de pigmento, la bebida mostraba un tono más verdoso. A continuación, en la tabla 7 se muestran las características de cada una de las muestras:

Tabla 7.

Características de las muestras según su concentración

Muestras	Concentración	Color	Aspecto
Cerveza 1	1,60 mg/ml	Azul claro	Ligero
Cerveza 2	7,09 mg/ml	Azul	Ligero
Cerveza 3	10,93 mg/ml	Azul oscuro	Turbio
Cerveza 4	11 mg/ml	Azul verdoso	Mayor turbidez

Fuente: Las autoras, 2024

Pruebas recientes sobre la incorporación de pigmentos naturales en cervezas han demostrado resultados prometedores, en contraste con el estudio. El análisis de Hurtado (2021) mostró que, dependiendo de la cantidad de fruta añadida, la adición de calafate, un fruto con altos niveles de antocianinas, a la cerveza cambió significativamente el color, especialmente

en el componente rojo. Esto demuestra que la capacidad de absorción de las antocianinas en diferentes longitudes de onda puede tener un impacto significativo en la concentración de pigmentos. Esta saturación de antocianinas podría ser similar al proceso de extracción de ficocianina, donde la adición de más biomasa no siempre aumenta la concentración de pigmento extraído debido a limitaciones en la capacidad del solvente.

4.3. Propiedades organolépticas de la producción de cerveza artesanal formulada con pigmento ficocianina extraído de espirulina (*Arthrospira platensis*)

Después de realizar las pruebas de normalidad, se constató que las puntuaciones asignadas a las características sensoriales de la cerveza (el aroma, apariencia, sabor, sensación en la boca e impresión general), no siguen una distribución normal, esta conclusión se basa en los resultados que se obtuvieron de las pruebas estadísticas realizadas en la tabla 8, donde, al menos un valor-P fue inferior a 0,05. Los datos obtenidos permitieron confirmar con un 95% de confianza, que los atributos sensoriales de la cerveza no se derivan de una distribución gaussiana.

Tabla 8.

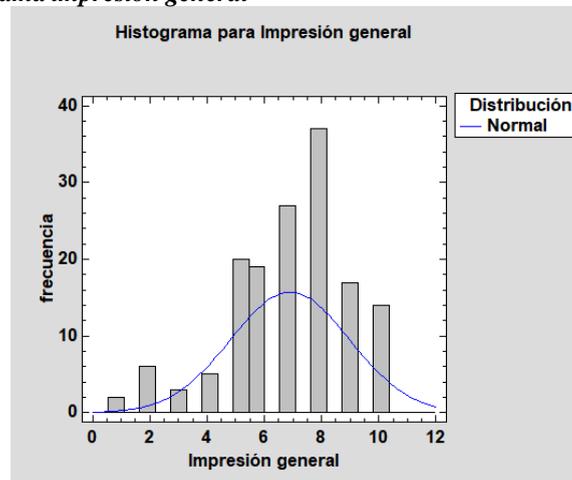
Pruebas de normalidad

Prueba Estadístico W de Shapiro-Wilk	Estadístico	Valor-P
Aroma	0,89297	5,42E-09
Apariencia	0,779897	9,84E-14
Sabor	0,929435	9,08E-07
Sensación de boca	0,886601	2,72E-09
Impresión general	0,934191	1,96806E-06

Fuente: Statgraphics, 2024

Figura 11

Histograma impresión general



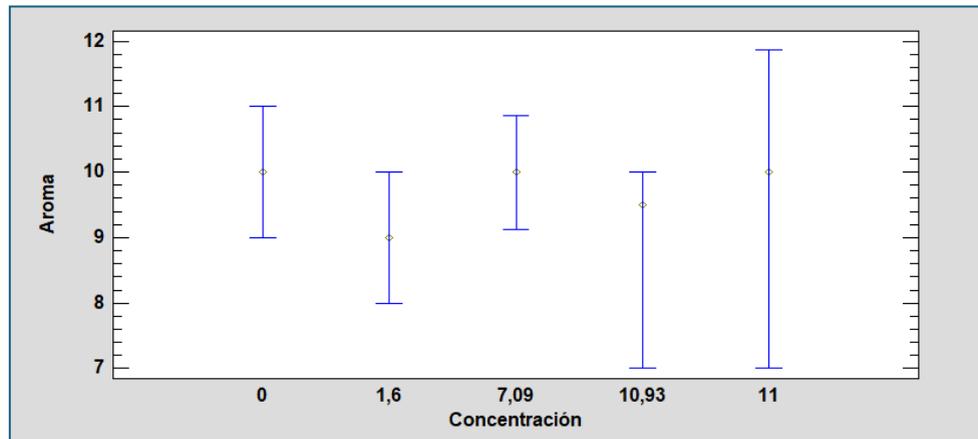
Nota: Histograma perteneciente a la categoría “impresión general” evaluada por los catadores. Elaborado por *Las autoras*, 2024.

Ante la falta de normalidad en la distribución de los datos, se decidió utilizar métodos estadísticos no paramétricos, que son más adecuados para analizar este tipo de distribuciones, los mismos, permitieron evaluar con mayor precisión las posibles diferencias significativas entre las características sensoriales de las cinco cervezas analizadas por el panel de 30 catadores en las instalaciones de la Universidad Politécnica Salesiana, Campus María Auxiliadora.

El análisis estadístico realizado mediante la prueba de Kruskal-Wallis como se refleja en los valores de las tablas 9 y 10 mostró que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de intensidad de aroma, sabor y sensación de boca para las cervezas azules evaluadas a distintas concentraciones de ficocianina, los hallazgos indican que, dentro del rango de concentraciones examinado, la variación en la cantidad de espirulina empleada en el proceso de extracción no produjo cambios notables en las características organolépticas mencionadas. En este sentido, la adición de ficocianina, en las proporciones estudiadas, no modificó significativamente la experiencia sensorial del consumidor respecto al aroma, sabor o sensación bucal.

Figura 12

Gráfico de medianas, aroma



Nota: Gráfico de medianas perteneciente a la característica organoléptica “aroma”.
Elaborado por *Las autoras*, 2024.

En la figura 12, siendo la concentración 0 mg/ml cerveza artesanal sin colorante, es evidente que la adición de pigmento azul en las concentraciones estudiadas no influye de manera significativa en las características aromáticas de la cerveza.

Tabla 9.

Prueba de Kruskal-Wallis para Sabor por Concentración

Concentración	Tamaño Muestra	Rango Promedio
0	30	86,3667
1,6	30	73,0667
7,09	30	87,7167
10,93	30	63,0667
11	30	67,2833
Estadístico = 7,99889 Valor-P = 0,091619		

Fuente: *Statgraphics*, 2024

Tabla 10.*Prueba de Kruskal-Wallis para Sensación de boca por Concentración*

Concentración	Tamaño Muestra	Rango Promedio
0	30	81,2333
1,6	30	76,5667
7,09	30	84,75
10,93	30	63,3833
11	29	68,8621
Estadístico = 5,27014 Valor-P = 0,260686		

Fuente: Statgraphics, 2024

Aunque los catadores notaron variaciones en el sabor de las diferentes cervezas evaluadas, los resultados estadísticos reflejados en la tabla 9 no apoyan concluyentemente esta percepción. Los intervalos de confianza, casi idénticos para los niveles de concentración, sugieren que cualquier diferencia en el sabor es mínima y no alcanza un nivel de significancia estadística, lo cual podría explicarse porque, aunque la intensidad del color azul es visualmente atractiva, no conlleva una diferencia en la percepción gustativa tan destacada como para detectarla los panelistas. Aunque el valor-p está cerca del umbral convencional de significancia de 0,05, no es lo suficientemente bajo como para afirmar que las medianas de sabor difieren significativamente entre los grupos de concentración.

Tabla 11.*Prueba de Kruskal-Wallis para Apariencia por Concentración*

Concentración	Tamaño Muestra	Rango Promedio
0	30	74,2167
1,6	30	86,9333
7,09	30	97,4833
10,93	30	66
11	30	52,8667
Estadístico = 23,7804 Valor-P = 0,0000883934		

Fuente: Statgraphics, 2024

Tabla 12.

Prueba de Kruskal-Wallis para Impresión general por Concentración

Concentración	Tamaño Muestra	Rango Promedio
0	30	88,95
1,6	30	71,0833
7,09	30	90,6833
10,93	30	59,7667
11	30	67,0167
Estadístico = 12,2659 Valor-P = 0,0154794		

Fuente: Statgraphics, 2024

Al examinar los atributos visuales y la impresión general, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, las tablas 11 y 12 indican que el valor-P para ambas variables es menor que 0,05, lo que señala una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas, con un nivel de confianza del 95,0%. En particular, los datos de la tabla 10 muestran que la concentración de 7.09 mg/ml tiene el promedio más alto, lo que sugiere que tanto la apariencia como la impresión general fueron percibidas de manera más favorable a esta concentración.

Tabla 13.

Prueba de Kruskal-Wallis para Apariencia por Concentración

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 1,6		-12,7167	31,4881
0 - 7,09		-23,2667	31,4881
0 - 10,93		8,21667	31,4881
0 - 11		21,35	31,4881
1,6 - 7,09		-10,55	31,4881
1,6 - 10,93		20,9333	31,4881
1,6 - 11	*	34,0667	31,4881
7,09 - 10,93		31,4833	31,4881
7,09 - 11	*	44,6167	31,4881
10,93 - 11		13,1333	31,4881

Fuente: Statgraphics, 2024

La tabla 13 revela que las diferencias significativas en la apariencia de las bebidas se observan principalmente entre los pares de concentraciones 1.6 mg/ml - 11 mg/ml y 7.09 mg/ml - 11 mg/ml. Estos resultados indican que la concentración de ficocianina tiene un impacto notable en las características visuales de la cerveza, lo que se traduce en variaciones significativas en la tonalidad e intensidad del color, y posiblemente en otros atributos perceptuales.

Por otro lado, la tabla 14 detalla las comparaciones múltiples realizadas para evaluar las diferencias en la impresión general entre los distintos niveles de concentración, comparando por pares los rangos promedio de los cinco grupos, al aplicar el procedimiento de Bonferroni, ninguna de las comparaciones entre los grupos resulta estadísticamente significativa al nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 14.

Prueba de Kruskal-Wallis para Impresión general por Concentración

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 1,6		17,8667	31,4881
0 - 7,09		-1,73333	31,4881
0 - 10,93		29,1833	31,4881
0 - 11		21,9333	31,4881
1,6 - 7,09		-19,6	31,4881
1,6 - 10,93		11,3167	31,4881
1,6 - 11		4,06667	31,4881
7,09 - 10,93		30,9167	31,4881
7,09 - 11		23,6667	31,4881
10,93 - 11		-7,25	31,4881

Fuente: Statgraphics, 2024

Los resultados obtenidos indican que, aunque la ficocianina no afecta significativamente las características sensoriales relacionadas con el gusto y el paladar, tiene un impacto visual importante en la cerveza. La variación en la concentración del pigmento resultó en diferencias visibles en la apariencia de la bebida, lo que influyó en la impresión general de los catadores.

Por otro lado, los hallazgos subrayan la relevancia del componente visual en la evaluación sensorial de alimentos y bebidas, en el caso de las cervezas azules, la apariencia, que está fuertemente influenciada por la concentración de ficocianina, puede jugar un papel crucial en la preferencia del consumidor, no obstante, es vital considerar que estos resultados son específicos a las condiciones del estudio actual y que otros factores no evaluados podrían también afectar la percepción sensorial de la cerveza.

4.4. Análisis parámetros fisicoquímicos

4.4.1. Evaluación del pH en la producción de cerveza artesanal

Según la normativa INEN, el pH de las bebidas alcohólicas debe oscilar entre 2.8 y 5, sin embargo, en la evaluación de las cuatro muestras con adición de ficocianina, el pH resultó ser superior según valores en la tabla 15, indicando que este colorante puede alterar el pH de la cerveza debido a sus propiedades químicas. La ficocianina podría tener un efecto alcalinizante, elevando el pH del producto final. En comparación con otras bebidas alcohólicas experimentales el potencial de hidrógeno no se encuentra distante. Una experimentación elaborada por Agudelo Liñan, L. F. y Vargas Salazar, M. A. (2018), reveló que la producción de cerveza artesanal estilo IPA se caracterizaba por un pH de 6, mientras que la adición de kiwi aumentó la acidez de la cerveza y disminuyó el pH a 5 a diferencia de la bebida alcohólica elaborada sin el agregado frutal.

Adicionalmente, la presencia de esta proteína puede interactuar con otros componentes de la cerveza, como los minerales en el agua de elaboración, alterando el equilibrio ácido-base y resultando en un pH más alto, dicho efecto debe ser monitoreado y controlado para asegurar que el producto final cumpla con los estándares de calidad y seguridad exigidos.

Una estrategia sugerida, basada en los resultados del panel sensorial, es añadir la ficocianina en estado líquido antes de la etapa de cocción y monitorear su impacto en el pH durante las etapas de maduración, o considerar el uso de ácido cítrico. Por otro lado, se observó que la cerveza artesanal elaborada sin la adición del colorante natural sí cumple con los estándares de pH establecidos por la normativa, destacando la influencia directa de la ficocianina en la modificación de este parámetro.

Tabla 15.

pH según la adición de ficocianina a distintas concentraciones en la producción de cerveza artesanal

Cerveza con ficocianina a una concentración de 1,60 mg/ml	Cerveza con ficocianina a una concentración 7,09 mg/ml	Cerveza con ficocianina a una concentración 10,93 mg/ml	Cerveza con ficocianina a una concentración 11 mg/ml	Cerveza sin adición de ficocianina
6,27	5,99	6,1	5,91	4,22

Fuente: Las autoras, 2024

4.4.2. Determinación del porcentaje de acidez

Los hallazgos de este estudio en la tabla 16 muestran la existencia de una tendencia inicial, a medida que aumentaba la concentración del pigmento, se registró una disminución significativa en el valor de acidez expresado como porcentaje, sin embargo, a partir de las concentraciones a 7,09 mg/ml y 10,93 mg/ml esta se estabiliza y se mantiene constante. El comportamiento observado, puede parecer contraintuitivo, apunta a un posible efecto amortiguador de la ficocianina sobre el pH de la solución, posiblemente debido a la naturaleza de la proteína, que contiene grupos ionizables.

Es relevante mencionar que los niveles de acidez registrados se encuentran dentro de los límites establecidos por la normativa INEN para cervezas a excepción de la muestra 1, lo que sugiere que la inclusión de ficocianina, en concentraciones superiores a 1,60 mg/ml no afecta negativamente la calidad organoléptica del producto final, no obstante, son necesarios estudios adicionales para elucidar el mecanismo preciso mediante el cual la ficocianina influye en la acidez y para evaluar su impacto en la estabilidad a largo plazo de la cerveza.

Tabla 16.

Porcentaje de acidez según la adición de ficocianina a distintas concentraciones en la producción de cerveza artesanal

Cerveza con ficocianina a una concentración de 1,60 mg/ml	Cerveza con ficocianina a una concentración 7,09 mg/ml	Cerveza con ficocianina a una concentración 10,93 mg/ml	Cerveza con ficocianina a una concentración 11 mg/ml	Cerveza sin adición de ficocianina
1,8	0,18	0,09	0,09	0,09

Fuente: Las autoras, 2024

Tabla 17.

Comparación con cervezas artesanales ecuatorianas

Clasificación según el estilo de cerveza artesanal	Cerveza con adición de pulpa de piña	Estilo sour con frutos de calafate	Estilo Ale a base de maracuyá	Cerveza con adición de maíz azul	Amber Ale con uvilla
pH	4,56	3,4	4,28	4,41	4,01
% acidez	0,20	0,30	0,28	0,34	0,37

Fuente: Solórzano, 2021

4.4.3. Evaluación de los resultados espectrofotométricos

4.4.3.1. Cerveza azul

Las muestras de cerveza mostraron un desplazamiento, desde los esperados 610-620 nm hasta los 299 nm observados, lo cual indica una interacción compleja entre el pigmento y la matriz de la cerveza. Este cambio espectral, junto con un pico adicional en 289 nm observado en el pigmento puro, podría sugerir la formación de agregados, la degradación del pigmento o interacciones con otros componentes como proteínas y polifenoles.

La composición de la cerveza tipo American Wheat, rica en proteínas, podría intensificar estos efectos, asimismo, la presencia de otros componentes absorbentes en la región UV, como las melanoidinas, puede ocultar la señal de la ficocianina. Para dilucidar este fenómeno, se recomiendan estudios adicionales como la purificación del pigmento, análisis cromatográficos y modelado molecular, los mismos que ayudarán a identificar los factores que afectan el comportamiento espectral de la ficocianina y a optimizar su aplicación en productos alimenticios.

Es relevante mencionar que, aunque la clorofila es un pigmento común en las plantas y podría afectar los espectros de absorción, el método de extracción utilizado en las muestras de cerveza minimiza la probabilidad de su presencia., el mismo, es efectivo para eliminar la mayoría de las impurezas, incluyendo pigmentos vegetales. Por lo tanto, los desplazamientos observados en los picos de absorción de la ficocianina se deben probablemente a interacciones específicas con otros componentes de la cerveza, la ausencia de picos característicos de

clorofila en los rangos del rojo lejano (660-680 nm) y del azul (430-450 nm) respalda esta conclusión.

4.4.3.2. Cerveza sin pigmento

El análisis espectrofotométrico de la cerveza American Wheat sin adición de pigmentos desveló datos interesantes, el espectro reveló un pico máximo a 306.0 nm, sugiriendo la presencia de compuestos específicos en esa región ultravioleta. Las mediciones en las longitudes de onda estándar de la European Brewery Convention (EBC), con valores de absorbancia de 0.432 a 430 nm y de 0.070 a 700 nm, permitieron calcular el color de la cerveza en unidades EBC utilizando la fórmula para determinar el color, lo cual dio como resultado de 9.05 EBC.

Este método, que incluye una meticulosa desgasificación de la muestra y el uso de un espectrofotómetro calibrado con agua destilada, facilita una evaluación precisa del color de la cerveza, proporcionando datos cuantitativos esenciales para caracterizar el producto final sin pigmento. El análisis espectrofotométrico de la cerveza American Wheat sin pigmento reveló características interesantes, el espectro mostró un pico máximo a 306.0 nm, indicando la presencia de compuestos específicos en esta región ultravioleta.

Las mediciones a las longitudes de onda estándar de la European Brewery Convention (EBC) arrojaron valores de absorbancia de 0.432 a 430 nm y 0.070 a 700 nm, utilizando la fórmula Color EBC se pudo calcular el color de la cerveza en unidades EBC en donde se obtuvo 9.05. Este método que implica la desgasificación cuidadosa de la muestra y el uso de un espectrofotómetro calibrado con agua destilada permite una evaluación precisa del color de la cerveza, proporcionando datos cuantitativos valiosos para la caracterización del producto final sin pigmento.

5. Conclusiones

Extracción de ficocianina mediante ultrasonido:

La técnica de ultrasonido se utilizó con éxito para extraer ficocianina de *Arthrospira platensis* durante 10 minutos a 40 °C, lo que permitió obtener un pigmento de alta pureza, garantizando su eficacia en productos alimentarios como la cerveza artesanal.

Evaluación de diferentes concentraciones de ficocianina en cerveza artesanal:

La adición de ficocianina a diferentes concentraciones no tuvo un impacto significativo en las propiedades organolépticas de la cerveza artesanal, como el sabor, el aroma o la sensación en boca. Sin embargo, se observó un cambio significativo en la apariencia del producto; se pudo observar que la concentración más alta se obtuvo al agregar 6 gramos de espirulina, lo que mejoró la percepción general de los catadores.

Implementación de un panel sensorial:

Se descubrió a través del panel sensorial que la apariencia visual de la cerveza, que está fuertemente influenciada por la concentración de ficocianina, juega un papel importante en la preferencia del consumidor. Su habilidad para alterar el color de la cerveza podría ser utilizada como una herramienta de diferenciación.

6. Recomendaciones

Se recomienda más investigaciones sobre la estabilidad a largo plazo de la ficocianina en la cerveza artesanal, evaluando su impacto en diversas condiciones de almacenamiento. Es fundamental investigar la aceptación sensorial del producto en varios mercados y entre diferentes grupos de clientes. Se podría estudiar también la posibilidad de combinar la ficocianina con otros ingredientes naturales que puedan mejorar tanto el atractivo visual como el valor nutricional del producto. Por último, establecer protocolos estandarizados para la extracción y aplicación de la ficocianina, con el fin de asegurar la reproducibilidad de los resultados y la calidad continua del producto final.

Bibliografía

- Adjali, A., Clarot, I., Chen, Z., Marchioni, .., & Boudier, A. (2022). Physicochemical degradation of phycocyanin and means to improve its stability: A short review. *Journal Of Pharmaceutical Analysis/Journal Of Pharmaceutical Analysis*, 12(3). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jpha.2021.12.005>
- Agudelo Liñan, L. F. y Vargas Salazar, M. A. (2018) Evaluación de la producción de cerveza artesanal "Tawala" usando kiwi como fruta adicional (Trabajo de grado). Fundación Universidad de América. Retrieved from <http://hdl.handle.net/20.500.11839/6835>
- Alfaro, Á., Alpízar, V., Duarte, A., Feng, J., Rosales, C., & Mora, J. (2020). C-ficocianinas: modulación del sistema inmune y su posible aplicación como terapia contra el cáncer. *Revista Tecnología en Marcha*, 33(4). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.18845/tm.v33i4.4653>
- Andrade, X., Pisco, I., & Quinde, L. C. (2020). El mercado de bebidas alcohólicas en Ecuador. *IND Industriales*.
- Asghari, A., Fazilati, M., Latifi, A. M., Salavati, H., & Choopani, A. (2016). A Review on Antioxidant Properties of Spirulin. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 3(1), 345-351.
- Bachchhav, M. B., Kulkarni, M. V., & Ingale, A. G. (2019). Process-intensified extraction of phycocyanin followed by β -carotene from *Spirulina platensis* using ultrasound-assisted extraction. *Separation Science and Technology*, 55(5), 932–944. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/01496395.2019.1580293>
- Belcar, J., Buczek, J., Kapusta, I., & Gorzelany, J. (2022). Quality and Pro-Healthy Properties of Belgian Witbier-Style Beers Relative to the Cultivar of Winter Wheat and Raw Materials Used. *Foods*, 11(8), 1150. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/foods11081150>
- Bible, C. (2021). *Qué es el pH y cómo afecta al proceso de elaboración de cerveza*. The Beers Times: elaboración de cerveza. The Beer Times™. Obtenido de <https://www.thebeertimes.com/que-es-el-ph-y-como-afectaal-proceso-de-elaboracion-de-cerveza/>
- Bokulich, N. A., & Bamforth, C. W. (2022). Brewing Microbiology: Current Research and Omics Techniques. *Caister Academic Press*.
- Borsa, A., Muntean, M. V., Salanta, L. C., Tofana, M., Socaci, S. A., & Mudura, E. (2022). MDPI. *MDPI*. <https://doi.org/https://www.mdpi.com/2223-7747/11/15/1958>
- Cárdenas, J., & Díaz, F. (2010). *Industrialización de alga espirulina*. https://www.researchgate.net/profile/Jose-David-Cardenas-Nieto/publication/259601864_Industrializacion_del_Alga_Spirulina/links/5609bb810

8ae576ce63eed2c/Industrializacion-del-Alga-Spirulina.pdf?origin=publication_detail&_tp=eyJjb250ZXh0Ijp7ImZpcnN0UGFnZSI

- Cervecistas. (2023). *¿Cómo se fabrica la cerveza?* <https://www.loscervecistas.es/el-proceso-de-fabricacion-de-la-cerveza/>
- Chicaiza, J. (2023). *Diseño y dimensionamiento de una línea de elaboración de cerveza artesanal con segunda fermentación en botella, con una capacidad de 240.000 l/año en Elche (Alicante)*. Universidad Politécnica de Madris. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://oa.upm.es/76255/1/TFG_JENIFER_ALEJANDRA_CHICAIZA_QUEZADA.pdf
- Coba, L. (2021). El auge de la cerveza artesanal en Ecuador: Un análisis del crecimiento en la post-pandemia. *Revista de Economía y Negocios*, 12(3), 45-60.
- Contenido nutricional – BioUnity*. (s. f.). <https://biounity.co/contenido-nutricional/?v=42983b05e2f2>
- Cortés-Gómez, G., Robles-Ozuna, L., & Castañón-Olivares, L. R. (2020). Sensory evaluation of craft beers: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 57(10), 3499-3513.
- Costa, B. R., Da Silva Gomes, Y., Cazuzza, C. A., Tashima, L., & Santos, L. M. (2020). Desenvolvimento de cerveja no estilo witbier adicionada de gengibre (*Zingiber officinalis*) e sua influência na fermentação. *Revista Eletrônica Teccen*, 13(2), 52-56. [https://doi.org/ https://doi.org/10.21727/teccen.v13i2.2557](https://doi.org/https://doi.org/10.21727/teccen.v13i2.2557)
- Cruz, D. (2023). *Diseño de un sistema de molienda para la empresa Heisenbeer*. Escuela Superior Politecnica de Chimborazo.
- Cruz-Mora, M. A. (2024). *Análisis comparativo del contenido proteínico de cervezas artesanales elaboradas en la ciudad de Guayaquil*. UPS. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/27692>
- De Amarante, M., Braga, A., S. L., & Kalil, S. J. (2020). Colour stability and antioxidant activity of C-phycoyanin-added ice creams after in vitro digestion. *Food Research International*(137). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109602>
- De Matías, D., Martínez, M., & Montes, S. (2021). Análisis del sector cervecero europeo y español desde el prisma de las cervezas artesanales . *Revista Universitaria Europea*(36), 163-190.
- Demay, J., Bernard, C., Reinhardt, A., & Marie, B. (2019). Natural products from Cyanobacteria: Focus on beneficial activities. *Mar Drugs*, 17(6), 320.
- Drapala, A., & Hernández, D. (2018). *Elaboración de Cerveza de Maíz*. Universidad Nacional de Cuyo.

- Elain, A. N. (2020). Green extraction of polysaccharides from *Arthrospira platensis* using high pressure homogenization. *Journal of Applied Phycology*, 32(3), 1719–1727. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10811-020-02127-y>
- Espinoza, M., & Sinchi, P. (2024). *Análisis comparativo del contenido proteínico de cervezas artesanales elaboradas en la ciudad de Guayaquil*. UPS. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/27692>
- Estrella, M. A., Infantes, S., & Román, K. (2023). Impacto del uso de colorantes naturales en la industria alimentaria. *Reciena*, 3(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.47187/reciena.v3i1.48>
- Fernandes, R., Campos, J., Serra, M., Fidalgo, J., Almeida, H., Casas, A., Toubarro, D., & Barros, A. I. R. N. A. (2023). Exploring the benefits of phycocyanin: from spirulina cultivation to its widespread applications. *Pharmaceuticals*, 16(4), 592. <https://doi.org/10.3390/ph16040592>
- Ferraro, G. I., Amoresano, A., Olivieri, G., Pollio, A., Monti, D. M., & Merlino, A. (2020). A thermophilic Cphycocyanin with unprecedented biophysical and biochemical properties. *International Journal Of Biological Macromolecules*(150), 38-51. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac>
- Ferreya, L. (2014). *Elaboración de cerveza: Historia y evolución, desarrollo de actividades de capacitación e implementación de mejoras tecnológicas para productores artesanales*. UNLP.
- Gandía, R. (2021). Efectos citotóxicos sobre células tumorales de la ficocianina extraída de microalgas. Recuperado de: https://oa.upm.es/68990/1/TFG_RAQUEL_GANDIA_ALMOROX.pdf
- García Pérez, A. (2022). *Técnicas de filtración en biología celular*. Editorial Científica. <https://oncouasd.wordpress.com/wp-content/uploads/2015/06/biologia-celular-y-molecular.pdf>
- García, C. (2019). *Caracterización fisicoquímica de proteínas procedentes de microalgas marinas*. Aplicación como colorante: <https://hdl.handle.net/10953.1/9246>
- Geraldes, V., & Pinto, E. (2021). Mycosporine-like amino acids (MAAs): Biology, chemistry and identification feature. *Pharmaceuticals (Basel)*, 14(1), 63.
- Gonzalez, L., Rodríguez-Salgueiro, S., Del Barco, D. G., & Alba, J. S. (2012). Phycocyanin accelerates recovery of renal tissue damaged by kanamycin overdose in rodents. *ResearchGate*. https://doi.org/https://www.researchgate.net/publication/288052534_Phycocyanin_accelerates_recovery_of_renal_tissue_damaged_by_kanamycin_overdose_in_rodents

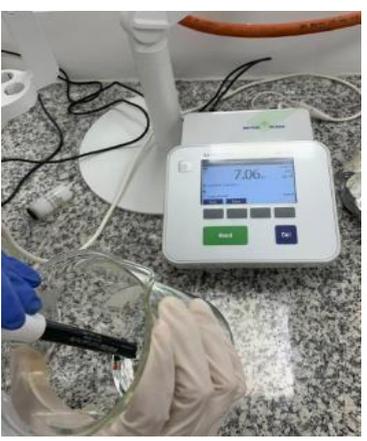
- Hardiningtyas, S. D., Setyaningsih, I., & Susila, A. A. (2022). Effect of ultrasonication-assisted extraction time on the profile of phycocyanin from wet biomass *Spirulina plantesis*. *IOP Conference Series. Earth And Environmental Science*, 1033(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.1088/1755-1315/1033/1/012055>
- Hardiningtyas, S., Setyaningsih, I., & Aulia, A. (2022). Effect of ultrasonication-assisted extraction time on the profile of phycocyanin from wet biomass *Spirulina plantesis*. *Embrio*(1033), 1-9. <https://doi.org/doi:10.1088/1755-1315/1033/1/012055>
- Hernández, J. (2021). Espirulina como producto natural con potencialidades para su empleo en pacientes con diabetes mellitus. *Scielo*, 21.
- Hurtado, P. (2021). Agregado de frutos patagónicos de *Berberis microphylla* G. Forst “calafate” en cerveza artesanal: Efecto sobre la capacidad antioxidante. *Sedici*. <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/116048>
- İlter, I., Akyıl, S., Demirel, Z., Koç, M., Conk-Dalay, M., & Kaymak-Ertekin, F. (2018). Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using different techniques. *Journal of Food Composition and Analysis*, 70, 78-88. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.04.007>
- INEN. (2003). *NTE INEN 2 262:2003, Bebidas alcohólicas, cervezas, requisitos*. Instituto Ecuatoriano de Normalización.
- Liu, Q., Yao, C. S., Chen, W., Tan, H., Cao, X., Xue, S., & Yin, H. (2019). Production and structural characterization of a new type of polysaccharide from nitrogen-limited *Arthrospira platensis* cultivated in outdoor industrial-scale open raceway ponds. *Biotechnology for Biofuels*, 12(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s13068-019-1470-3>
- Malpartida, R., Aldama, L., Sánchez, K., Gómez, L., & Lobo, J. (2022). Valor nutricional y compuestos bioactivos de la espirulina: Potencia suplemento alimenticio. *Ecuadorian Science Journal*, 6(1), 42-51. <https://doi.org/https://doi.org/10.46480/esj.6.1.133>
- Martínez-Vega, J. E., Villafaña-Estarrón, E., & Escalante, F. M. (2022). Comparative Study of the Efficiency of Additives in the Extraction of Phycocyanin-C from *Arthrospira maxima* Using Ultrasonication. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 28(1), 334. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/molecules28010334>
- MEIC. (2018, Marzo 10). *La Spirulina ha venido para quedarse*. Sitio web del Ministerio de Economía, industria y Competitividad de España: <https://neoalgae.es/historiaspirulina/#:~:text=La%20spirulina%20es%20una%20micr,alga,tostas%20dej%C3%A1ndola%20secar%20al%20sol.>
- Menéndez, L., & Vera, F. (2023). *Sustitución parcial de cebada por maíz y arroz malteados sobre parámetros físico-químicos y sensoriales en cerveza artesanal tipo Pale-Ale*. ESPAM. <https://repositorio.esпам.edu.ec/handle/42000/2058>
- Moreno, L. (2016). *Estudio de la Estabilidad de la C-Ficocianina*. Universidad de Almería.

- Nikolova, K., Petkova, N., Mihaylova, D., Gentscheva, G., Gavrailov, G., Pehlivanov, I., & Andonova, V. (2022). Extraction of Phycocyanin and Chlorophyll from Spirulina by “Green Methods”. *Separations*, 11(2), 57. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/separations11020057>
- Pérez, A., & Rodríguez, M. (2022). Fundamentos de técnicas de separación molecular. *Revista de Química Analítica*, 45(3), 112-125.
- Pérez-García, A., & Rodríguez-López, M. (2022). Técnicas de precipitación salina en la purificación de proteínas: El caso de la ficocianina. *Revista de Bioquímica Aplicada*, 45(3), 115-125.
- Pez Jaeschke, D., Rocha Teixeira, I., Damasceno, L., & Domeneghini Mercali, G. (2021). Phycocyanin from Spirulina: A review of extraction methods and stability. *Food Research International*(110314), 143. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110314>
- Pez Jaeschke, D., Rocha, I., Ferreira, L., & Domeneghini, G. (2021). Phycocyanin from Spirulina: A review of extraction methods and stability. *Food Research International*, 143.
- Ramón, C., & Gil-Garzón, M. A. (2021). Efecto de los parámetros de operación de la extracción asistida por ultrasonido en la obtención de polifenoles de uva: una revisión. *TecnoLógicas*, 24(51). <https://doi.org/https://doi.org/10.22430/22565337.1822>
- Rodríguez, A. (2022). Fundamentos y aplicaciones de la cromatografía de intercambio iónico en la purificación de biomoléculas. *Revista de Bioquímica y Biotecnología Aplicada*, 15(3), 78-95.
- Rojas, A. (2012, Agosto). *Aspectos nutricionales del alcohol*. Zona Hospitalaria: <https://zonahospitalaria.com/aspectos-nutricionales-del-alcohol/>
- Ruiz-Hernández, Y., Garza-Valverde, E., Márquez-Reyes, J., & García-Gómez, C. (2023). Extracción de ficocianina para uso como colorante natural: optimización por metodología de superficie de respuesta. *Investigación y Desarrollo En Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 8(1), 84-91. <https://doi.org/https://doi.org/10.29105/idcyta.v8i1.16>
- Sada-Borrego, C., García-Gómez, C., Guajardo-Barbosa, C., Márquez-Reyes, J., Nápoles-Armenta, J., & Beltrán-Rocha, J. (2023). Optimización para la extracción de ficocianina de la cianobacteria Spirulina maxima. *Investigación y Desarrollo En Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 8(1), 834-840. <https://doi.org/https://doi.org/10.29105/idcyta.v8i1.107>
- Sadeghi, T., Marvzadeh, M. M., Ebrahimi, F., & Nafchi, A. M. (2022). Assessment of Nutritional and Antioxidant Activity of Sport Drink Enriched with Spirulina platensis. *ResearchGate*. <https://doi.org/https://doi.org/10.22034/jchr.2022.1953680.1516>

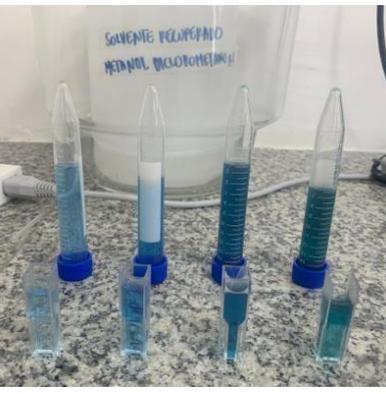
- Sadewo, B., Rochmadi, R., Dewayanto, N., Juniawan, A., & Budiman, A. (2024). Optimization Study of Phycocyanin Ultrasound-Assisted Extraction Process from *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) Using Different Solvent. *gyptian Journal Of Chemistry*. <https://doi.org/https://doi.org/10.21608/ejchem.2024.245730.8802>
- Saini, M. K., & Sanyal, S. N. (2014). Piroxicam and c-phycocyanin prevent colon carcinogenesis by inhibition of membrane fluidity and canonical Wnt/ β -catenin signaling while up-regulating ligand dependent transcription factor PPAR γ . *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 68(5), 537-550. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2014.03.007>
- Sánchez Laso, J. (2023). *Hacia una economía circular: desarrollo de una biorrefinería de microalgas para la extracción sostenible de ficocianina y la valorización energética de la biomasa residual*.
- Slowbeer. (2023). *El Arte de la decocción en la elaboración del mosto cervecero*. Sitio web de Slowbeer: <https://slowbeer.es/blog/el-arte-de-la-decoccion-en-la-elaboracion-del-mosto-cerveceo>
- Solórzano Nicol, . (2021). Influencia de la adición de pulpa de piña y esencia de coco en la obtención de cerveza artesanal a partir de cebada (*Hordeum Vulgare*) y maíz (*Zea Mays*), en la empresa cervecera artesanal madero. Quevedo. UTEQ. 114 p.
- Turc, X. (2018). *Diseño de una planta de cerveza artesanal*. ETSIEB.
- Vonshak, A. (2002). *Spirulina platensis (Arthrospira), Fisiología, Biología Celular y Biotecnología*. Taylor & Francis Ltd.
- Wang, B., Liu, Q., Huang, Y., Yuan, Y., Ma, Q., Du, M., Cai, Y. (2018). Extraction of Polysaccharide from *Spirulina* and Evaluation of Its Activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2018/3425615>
- Wang, Y., Wu, J., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Geng, W. (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers In Bioengineering And Biotechnology*(9). <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- Wu, H., Li, T., Lv, J., Chen, Z., Wu, J., Wang, N., . . . Xiang, W. (2021). Growth and Biochemical Composition Characteristics of *Arthrospira platensis* Induced by Simultaneous Nitrogen Deficiency and Seawater-Supplemented Medium in an Outdoor Raceway Pond in Winter. *Foods*, 10(12), 2974. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/foods10122974>

Apéndice/Anexos

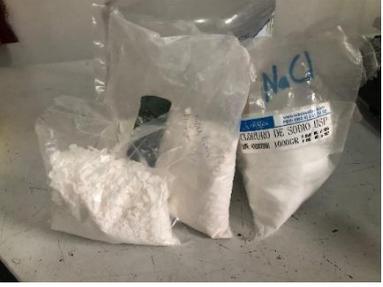
Anexo 1. Extracción del pigmento ficocianina proveniente de la biomasa seca de *Arthrospira platensis*.

		
<p>Adquisición de la espirulina en polvo</p>	<p>Pesado de la biomasa seca</p>	<p>Medición del pH del solvente</p>
		
<p>Adición del solvente a la espirulina desecada</p>	<p>Baño ultrasónico</p>	<p>Refrigeración de las muestras</p>
		
<p>Centrifugación de los extractos</p>	<p>Ultrafiltración por bomba al vacío</p>	<p>Almacenamiento en frascos ámbar</p>

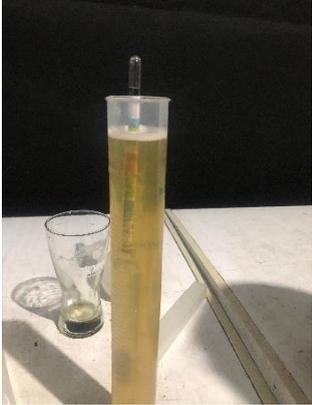
Anexo 2. Lectura mediante el espectrofotómetro de UV-visible

		
<p>Dilución 1:50</p>	<p>Diluciones del colorante a distintas concentraciones</p>	<p>Lectura de absorbancia a 280 nm (3gr biomasa)</p>
		
<p>Barrido espectral, pico a 286 nm</p>	<p>Lectura de absorbancia a 615 nm (12gr)</p>	

Anexo 3. Elaboración de la cerveza artesanal en la planta “Hopfen”

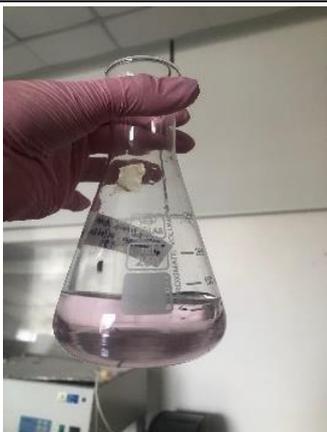
		
<p>Pesado de la malta</p>	<p>Molienda de los granos</p>	<p>Preparación del agua con compuestos minerales</p>

		
<p>Calentamiento controlado del agua</p>	<p>Adición de las maltas</p>	<p>pH del agua con adición de las maltas</p>
		
<p>Lavado del bagazo</p>	<p>Cocción de granos</p>	<p>Lúpulo Columbus</p>
		
<p>Pesado del lúpulo</p>	<p>Enfriamiento del mosto</p>	<p>Traslado del mosto al fermentador</p>

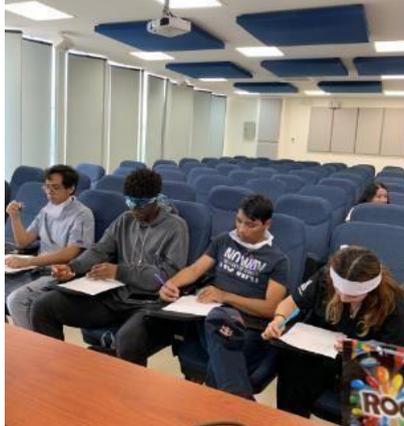
		
Levadura SafAle S-04	Adición de la levadura	Trasvase al madurador
		
Gasificación	Medidor de carbonatación	Medición de la temperatura
		
Pruebas de definición del volumen a agregar	Clasificación de las botellas	C-ficocianina en la fase de embotellamiento

		
<p>Sellado de las botellas</p>	<p>Obtención del producto final</p>	<p>Equipo “Hopfen” cerveza artesanal</p>

Anexo 4. Análisis fisicoquímico

		
<p>Medición de pH</p>	<p>Acidez titulable cerveza rubia</p>	<p>Acidez titulable cerveza azul</p>
		
<p>Fenolftaleína al 0,5 %</p>	<p>Muestras de cerveza</p>	<p>Evaluación del color ficocianina</p>

Anexo 5. Evaluación sensorial

		
<p>4 muestras de cerveza de diferentes concentraciones de pigmento y 1 sin pigmento</p>	<p>Catando cerveza</p>	<p>Evaluando las diferentes muestras de cerveza</p>
		
	<p>Producto final (cerveza artesanal con pigmento de Ficocianina)</p>	

Anexo 6. Test de evaluación sensorial

Definiciones de descriptores (marque todos los que correspondan):	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5
Acetaldehído: Aroma y sabor a manzana verde.					
Alcohólico: El aroma, sabor y efecto cálido de etanol y alcoholes superiores. A veces se describe como caliente.					
Astringente: Arrugas, aspereza persistente y/o sequedad. En el final/regusto; granulosidad dura; ronquera.					
Diacetilo: Aroma y/o artificial a mantequilla, caramelo o caramelo. A veces se percibe como una					

resbaladiza en la lengua.					
DMS (sulfuro de dimetilo): En niveles bajos, un producto dulce, cocido o aroma y sabor a maíz enlatado.					
Estereo: Aroma y/o sabor de cualquier éster (frutas, frutas aromas o rosas).					
Hierba: Aroma/sabor de hierba recién cortada u hojas verdes.					
Golpeado por la luz: Similar al aroma de una mofeta.					
Metálico: Sabor a hojalata, moneda, cobre, hierro o parecido a la sangre.					
Moho: Aromas/sabores rancios, o a moho.					
Oxidado: Cualquiera o combinación de rancio/vinoso, aromas y sabores a cartón, papel o jerez.					
Fenólico: Picante (clavo, pimienta), ahumado, plástico, tira adhesiva, y/o medicinal (clorofenólico).					
Disolventes: Aromas y sabores de alcoholes superiores. Aromas similares a la cetona o al disolvente de lacas.					
Agrio/Ácido: Acidez en aroma y sabor, puede ser agudo y limpio (ácido láctico), o similar al vinagre (ácido acético).					
Azufre: El aroma de huevos podridos o cerillas encendidas.					
Vegetal: Aroma vegetal cocido, enlatado o podrido y sabor (repollo, cebolla, apio, espárragos, etc).					
Levadura: Un aroma o sabor a pan, sulfuroso o parecido a la levadura.					
	1	2	3	4	5
Aroma: Comente sobre la malta, el lúpulo, los ésteres y otros aromáticos.	/ 12	/ 12	/ 12	/ 12	/ 12
Apariencia: Comente sobre el color, la claridad y la densidad (retención, color y textura)	/ 3	/ 3	/ 3	/ 3	/ 3

Sabor: Comente sobre malta, lúpulo, características de fermentación, equilibrio, final/regusto y otras características de sabor.	/20	/20	/20	/20	/20
Sensación de boca: Comente sobre cuerpo, carbonatación, calidez, cremosidad, astringencia y otras sensaciones del paladar.	/5	/5	/5	/5	/5
Impresión general: Comente sobre el placer general de beber asociado con la entrada y dar sugerencias para mejorar.	/10	/10	/10	/10	/10
Total	/50	/50	/50	/50	/50