



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE GUAYAQUIL**

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

**EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA FERMENTATIVA Y VIABILIDAD
CELULAR DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* DURANTE LA FERMENTACIÓN
ALCOHÓLICA DEL BAGAZO DE CERVEZA ARTESANAL PARA LA
OBTENCIÓN DE BIOETANOL**

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

AUTORES:

PAOLA ANDREINA RIVERA COLCHA
ANDREA MICHELLE CHANGO PUGLLA

TUTOR:

MSc. KEVIN GABRIEL CEDEÑO VINCES

GUAYAQUIL - ECUADOR

2026

CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotras, **Paola Andreina Rivera Colcha** con documento de identificación N° 0951928506 y **Andrea Michelle Chango Puglla** con documento de identificación N°0932206105; manifestamos que:

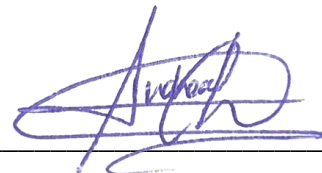
Somos los autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Guayaquil, 28 de enero del año 2026

Atentamente,



Paola Andreina Rivera Colcha
CI: 0951928506



Andrea Michelle Chango Puglla
CI: 0932206105

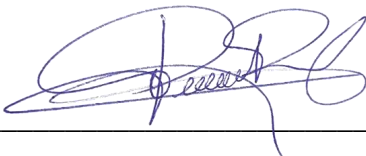
**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Nosotras, **Paola Andreina Rivera Colcha** con documento de identificación N° 0951928506 y **Andrea Michelle Chango Puglla** con documento de identificación N° 0932206105, 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 LA CINÉTICA FERMENTATIVA Y VIABILIDAD CELULAR DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE DURANTE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DEL BAGAZO DE CERVEZA ARTESANAL PARA LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL**, 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.

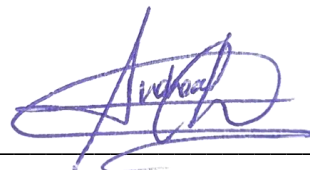
En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 28 de enero del año 2026

Atentamente,



Paola Andreina Rivera Colcha
CI: 0951928506



Andrea Michelle Chango Puglla
CI: 0932206105

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, **Kevin Gabriel Cedeño Vinces** con documento de identificación N° 0931057756, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA FERMENTATIVA Y VIABILIDAD CELULAR DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE DURANTE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DEL BAGAZO DE CERVEZA ARTESANAL PARA LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL**, realizado por **Paola Andreina Rivera Colcha** con documento de identificación N° 0951928506 y **Andrea Michelle Chango Puglla** con documento de identificación N° 0932206105, 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, 28 de enero del año 2026

Atentamente,



Kevin Gabriel Cedeño Vinces

CI: 0931057756

Dedicatoria Paola Rivera

Esta tesis está dedicada a quienes me acompañaron a lo largo de este sacrificado camino; mi familia, que creyó en mí incluso cuando yo no lo hacía y sin la cual no habría podido imaginar esta aventura. Gracias por su apoyo incondicional, por escucharme siempre y por ayudarme a alcanzar este logro que alguna vez esa niña se atrevió a soñar y que hoy es una realidad.

También quiero agradecer a mis chicas, Jodye, Tania y Karen quienes han estado conmigo apoyándome a lo largo de estos 11 años de amistad y han permanecido a mi lado en cada caída, ayudándome a levantarme. Gracias por darme siempre fuerzas y palabras de apoyo; ahora ya podremos decir que somos 4/4.

A mis niñas, Andrea, Dennisse, Ma. José y Denisse que han estado desde el día uno, siendo un pilar fundamental en este camino; aportando alegría, apoyo y amistad. Sin las cuales no hubiera podido avanzar y que no sólo aportaron en la parte académica sino humana, enseñándome que no importa en qué momento de mi vida me encuentre, puedo encajar y ser capaz de lograr y superar muchos obstáculos.

A mi compañera de tesis y amiga, Andrea, quien decidió darme la oportunidad de iniciar y terminar juntas este reto. Gracias por cargar con este grupo por las dos en varias ocasiones en las que ya no veía el camino, y por aguantarme durante todo este tiempo. Gracias por enseñarme que puede haber más de una mejor amiga y por ser una de ellas.

Por último, pero no menos importante, a mi grupo de tesis (Gia, José, Juan, Paulette, Cielo y Gabriela) que hoy en día puedo llamar amigos y que fueron una parte fundamental al aligerar todo este proceso. Sin ellos, cada error, inconveniente o falla habría golpeado mucho más fuerte. Gracias a cada uno por aportar con un granito de arena en mi vida personal y académica.

Dedicatoria Andrea Chango

Dedico esta tesis a Dios, quien ha permitido que esté culminando este proceso y me ha guiado en cada momento, brindándome la sabiduría y la fortaleza necesarias para alcanzar mis metas.

A mis padres, por su esfuerzo incondicional y por ser el pilar de mi vida. Gracias por ofrecerme las mejores oportunidades, por apoyarme en cada uno de mis proyectos, por rodearme siempre de amor y comprensión inagotable a lo largo de mi vida. A mis hermanos, quienes han sido testigos de mi camino académico y siempre me han ofrecido su ayuda cuando la he necesitado.

A Paola, mi compañera de tesis y mi primera amiga en la universidad. Gracias por haberme conectado desde el día uno. Gracias por ser esa persona en quien puedo confiar, porque sé que siempre me brindarás una amistad real y sincera. Juntas comenzamos esta travesía, donde, a pesar de tantos obstáculos, frustraciones y miedos, hemos sabido sobrellevar cada dificultad y hoy estamos logrando culminar uno de nuestros sueños.

A mis amigas Paola, Dennisse, María José y Denisse, con quienes tuve el placer de coincidir en este camino desde el primer semestre. Gracias por cada conversación, las risas, los consejos y los abrazos; por acompañarnos mutuamente durante estos cuatro años y hacer este proceso más llevadero. Por cada proyecto y trabajo en grupo, por las anécdotas compartidas, por cada momento de felicidad y tristeza en los que nuestra amistad se mantuvo firme.

A Gianella, José, Juan, Gabriela, Paulette y Cielo, quienes se han ganado un lugar especial en mi corazón. Gracias por su confianza, por compartir sus alegrías y por el apoyo mutuo durante estos intensos meses de tesis. Guardo con cariño cada almuerzo y cada charla donde nuestras preocupaciones se transformaron en aliento compartido.

Finalmente, a todos mis amigos que, aún desde la distancia, me han apoyado, celebrado mis avances, escuchado en todo momento y me han animado durante los momentos difíciles.

Agradecimientos

A la Universidad Politécnica Salesiana, por brindarnos el espacio y las herramientas necesarias para desarrollarnos académicamente, abriendo las puertas a este camino de formación profesional.

A nuestro tutor, el Ing. Kevin Cedeño, por su acompañamiento constante desde los inicios de nuestra carrera. Gracias por guiarnos en este reto, por escuchar nuestras preocupaciones con paciencia y por direccionarnos siempre hacia soluciones acertadas. Su mentoría fue fundamental para culminar este proyecto.

A Paulo, Angie y Carla, por su apoyo invaluable durante la fase experimental. Gracias por compartir sus conocimientos con nosotros, por los ánimos constantes y por hacernos sentir respaldados en cada paso técnico de esta investigación.

A la Ing. Alejandra de la Cruz, por su disposición para escucharnos en los momentos de mayor incertidumbre. Agradecemos profundamente su ayuda para resolver nuestras inquietudes y su apoyo para transformar la frustración en soluciones concretas.

A nuestros docentes, quienes han estado presente durante toda esta etapa académica. Gracias por forjarnos como profesionales, por compartir su sabiduría y por brindarnos su confianza durante el proceso de titulación. Valoramos cada consejo y la motivación que nos brindaron para enfrentar con éxito nuestra futura vida laboral.

Al personal de mantenimiento, por recibirnos siempre con una sonrisa y una palabra de aliento. Su amabilidad y disposición para ayudarnos en lo que necesitáramos hicieron que nuestras largas jornadas de trabajo fueran mucho más amenas.

Resumen

El bagazo de cerveza artesanal representa un subproducto agroindustrial generado en grandes volúmenes, con un alto contenido de carbohidratos fermentables y potencial para su valorización biotecnológica. En este contexto, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar la cinética fermentativa y la viabilidad celular de *Saccharomyces cerevisiae* durante la fermentación alcohólica del bagazo de cerveza artesanal para la obtención de bioetanol.

El bagazo de cerveza fue sometido a un proceso de pretratamiento e hidrólisis para la liberación de azúcares fermentables, los cuales fueron posteriormente utilizados como sustrato en fermentaciones anaeróbicas controladas. Durante el proceso fermentativo se monitorearon parámetros cinéticos como el consumo de azúcares, la producción de etanol y la actividad metabólica. La viabilidad de la levadura se determinó mediante métodos de tinción y análisis comparativo con controles positivos y negativos.

Los resultados permitieron caracterizar el comportamiento fermentativo de *S. cerevisiae* en un sustrato alternativo, evidenciando una adecuada adaptación celular y una conversión eficiente de los azúcares disponibles hacia etanol. Asimismo, se observó una relación directa entre la viabilidad celular y la eficiencia fermentativa a lo largo del proceso. En conclusión, el bagazo de cerveza artesanal constituye una materia prima viable para la producción de bioetanol, aportando una alternativa sostenible para el aprovechamiento de residuos agroindustriales y el desarrollo de procesos de economía circular.

Palabras clave: bagazo, fermentación, anaeróbica, bioetanol, *Saccharomyces cerevisiae*, viabilidad.

Abstract

Brewer's spent grain is an agro-industrial byproduct generated in large quantities, characterized by a high content of fermentable carbohydrates and significant potential for biotechnological valorization. In this context, the objective of this study was to evaluate the fermentative kinetics and cell viability of *Saccharomyces cerevisiae* during the alcoholic fermentation of artisanal brewer's spent grain for bioethanol production.

The brewer's spent grain was subjected to a pretreatment and hydrolysis process to release fermentable sugars, which were subsequently used as substrate in controlled anaerobic fermentations. Fermentative parameters such as sugar consumption, ethanol production, and metabolic activity were monitored throughout the process. Yeast viability was assessed using staining techniques and comparative analysis with positive and negative controls.

The results allowed the characterization of the fermentative behavior of *S. cerevisiae* using an alternative substrate, demonstrating adequate cellular adaptation and efficient conversion of available sugars into ethanol. In addition, a direct relationship between cell viability and fermentative efficiency was observed during the fermentation process. In conclusion, artisanal brewer's spent grain represents a viable raw material for bioethanol production, contributing to the sustainable use of agro-industrial residues and the development of circular economy strategies.

Keywords: spent grain, fermentation, bioethanol, *Saccharomyces cerevisiae*, viability.

Índice de Contenido

Capítulo 1	
Antecedentes	1
1.1. Introducción	1
1.2. Planteamiento del problema	3
1.3. Pregunta de investigación.....	5
1.4. Justificación	5
1.5. Delimitación.....	7
1.6. Objetivos	7
1.6.1. Objetivo general	7
1.6.2. Objetivos específicos	7
Capítulo 2.....	8
Marco teórico	8
2.1. Cerveza Artesanal.....	8
2.1.1. Producción de cerveza artesanal	8
2.1.2. Producción mundial de la cerveza artesanal.....	9
2.1.3. Producción nacional.....	10
2.1.4. Proceso para la obtención de cerveza artesanal.....	11
2.1.5. Proceso elaboración de cerveza artesanal.....	11
2.1.6 Ingredientes para la producción de cerveza artesanal	13
2.1.6.1 Agua	13
2.1.6.2 Malta	14
2.1.6.3 Levadura	14
2.1.6.4 Lúpulo.....	15
2.1.6.5 Clarificante.....	16
2.2. Mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i>).....	16
2.2.1. Taxonomía del mortiño	16
2.2.2. Cultivo del mortiño	17
2.2.3. Fenología	18
2.2.4. Usos y aplicaciones	19
2.3. Bagazo Cerveceros.....	20
2.3.1. Descripción Tipos de bagazo.....	20
2.3.2. Producción.....	20

2.3.3. Composición	21
2.3.4. Usos tradicionales	22
2.4. Hidrólisis ácida	23
2.4.2. Hidrólisis ácida del bagazo cervecero	23
2.5. Fermentación Anaeróbica	25
2.5.1. Tipos de Fermentación Anaeróbica	26
2.5.1.1 Fermentación Alcohólica	26
2.5.1.2 Fermentación Láctica.....	27
2.5.1.3 Fermentación Butírica.....	27
2.5.1.4 Fermentación Propiónica	27
2.5.1.5 Fermentación Acetogénica.....	27
2.5.1.6 Fermentación Metanogénica (Metanogénesis)	27
Capítulo 3.....	28
Materiales y métodos	28
3.1. Diseño del estudio.....	28
3.2. Población y muestra.....	29
3.3. Variables	29
3.4. Recolección de datos.....	29
3.5. Análisis proximales de materias primas	30
3.5.1. Análisis cenizas	30
3.5.2. Análisis de grasas	31
3.5.3. Análisis de humedad	31
3.6. Elaboración de cerveza artesanal de mortiño	32
3.6.1. Producción de cerveza artesanal	33
3.6.2. Proceso de producción de cerveza artesanal	34
3.6.3. Parámetros para medir la calidad de la cerveza	35
3.7. Metodología para la hidrólisis y la fermentación alcohólica	37
3.7.1. Hidrólisis ácida	37
3.7.2 Fermentación Alcohólica	38
3.8. Evaluación de Cinética Fermentativa y Viabilidad Celular	39
3.8.1. Cinética Fermentativa	39
3.8.2. Viabilidad Celular	39
Capítulo 4.....	41

Resultados y discusiones.....	41
4. 1. Resultado final del análisis proximal	41
4.1.1. Caracterización de mortiño y bagazo cervecero	41
4.2. Propiedades físico-químicas de la cerveza	42
4.3. Resultados cinética fermentativa <i>Saccharomyces cerevisiae</i>.	44
4.4. Viabilidad celular de la <i>Saccharomyces cerevisiae</i>.	45
Capítulo 5.....	48
Conclusiones y recomendaciones	48
5.1. Conclusiones	48
5.2. Recomendaciones	48
Bibliografía	50
Anexos	57

Abreviatura

BSG	brewer's spent grain
°Brix	Grados brix
Abs	Absorbancia
TTC	Cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio
SMR	Standard Method Reference
EBC	European Brewery Convention
McF	Escala de McFarland
pH	Potencial de Hidrógeno
PVPP	Polivinilpolipirrolidona
AOAC	Association of Analytical Communities

Simbología

g/cm^3	gramo por centímetro cúbico
λ	Longitud de onda (nm)
% v/v	porcentaje volumen en volumen
g/L	gramo por litro
m	metro
mm	milímetro
nm	nanómetro
$^{\circ}\text{C}$	Grados celsius
Kg	Kilogramos
$^{\circ}\text{Bx}$	Grados Brix

Índice de figuras

Figura 1. Países con mayor producción de cerveza artesanal.....	10
Figura 2. Proceso de elaboración de cerveza artesanal.....	12
Figura 3. Mortiño.....	17
Figura 4. Ubicación del laboratorio donde se desarrolló el proceso de elaboración de cerveza artesanal.	32
Figura 5. Escala colorimétrica de referencia para la clasificación visual de la cerveza según estándares EBC y ASBC.....	36
Figura 6. Cinética fermentativa de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> durante la fermentación del hidrolizado ácido de bagazo cervecero a diferentes concentraciones, determinada por la variación de grados Brix en función del tiempo.	44
Figura 7. Viabilidad celular metabólica relativa de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> durante la fermentación alcohólica del bagazo cervecero.	45

Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía del mortiño.....	17
Tabla 2. Producción mundial de cerveza y generación de bagazo cervecero por región en el año 2020.....	21
Tabla 3. Materias primas y cantidades empleadas en la elaboración de cerveza artesanal de mortiño estilo rubia.....	34
Tabla 4. Resultados de análisis proximal.....	41
Tabla 5. Resultados de pruebas físico-químicas de las cervezas.....	42

Índice de anexos

Anexo 1. Limpieza y liofilización del mortíño.....	57
Anexo 2. Elaboración de cerveza artesanal.	57
Anexo 3. Análisis proximal.	58
Anexo 4. Hidrólisis ácida y fermentación anaeróbica.	58
Anexo 5. Análisis físicoquímico y organoléptico de la cerveza artesanal.	58
Anexo 6. Medición de cinética fermentativa y viabilidad celular del bioetanol.	59

Capítulo 1

Antecedentes

1.1. Introducción

En Ecuador, al igual que en muchos otros países del mundo, el bagazo cervecero (brewer's spent grain, BSG) representa un residuo generado en grandes volúmenes cuyo manejo suele ser complejo. Según literatura se reporta que, a nivel mundial la industria cervecera produce aproximadamente entre 37 y 39 millones de toneladas de BSG cada año; esta elevada generación ha despertado un interés creciente en su aprovechamiento y valorización, principalmente por los beneficios que podría aportar tanto en términos ambientales como económicos (Assandri et al., 2025; Baiano, 2025).

En el contexto nacional, se han reportado cifras aproximadas de 120.000 toneladas anuales de bagazo generado por la producción cervecera, tanto artesanal como industrial, el cual en muchos casos se destina directamente a la alimentación animal sin procesamiento previo o se dispone de manera inadecuada (Pérez, 2021; Capuz, 2024). Este volumen trae consigo diversos problemas ambientales a escala local y global, entre ellos su rápida descomposición, la emisión de gases de efecto invernadero en vertederos, la contaminación de cuerpos de agua por lixiviados y el riesgo de proliferación microbiológica cuando no se realiza una gestión adecuada (Mainardis et al., 2024; Emmanuel et al., 2022).

En este sentido, la gestión deficiente del bagazo cervecero representa un desafío en términos de sostenibilidad para la cadena productiva, pero también una oportunidad para implementar estrategias de economía circular orientadas a disminuir su impacto ambiental.

El mortiño (*Vaccinium floribundum*) es una baya nativa de los páramos ecuatorianos, conocida por su alto contenido de compuestos fenólicos y su potencial funcional y comercial; sin embargo, hasta hace pocos años ha sido considerada una especie subutilizada y mayoritariamente silvestre (Llvisaca-Contreras et al., 2022; Aldaz, 2024). Estudios recientes indican que su temporada de mayor recolección se concentra entre los meses de septiembre y noviembre, con una marcada variabilidad asociada a la altitud y al microclima.

No obstante, estos trabajos también señalan que la especie aún no se encuentra plenamente domesticada ni cuenta con registros estadísticos nacionales de producción comercial, lo que limita la disponibilidad de datos formales de cosecha y hace que la mayor parte de la oferta provenga de la recolección silvestre y de mercados locales (Vásquez-Castillo et al., 2022). Más allá de su uso tradicional en bebidas y consumo fresco, investigaciones recientes proponen aplicaciones diversificadas como ingredientes funcionales, colorantes naturales, mermeladas, vinos y coproductos con valor agregado que podrían integrarse en cadenas de valor locales y en procesos productivos vinculados a la obtención de bioetanol y a otros procesos fermentativos (Aldaz, 2024; Ruilova, 2022).

Esto sugiere que el mortiño no es solo una fruta para bebidas tradicionales, al contrario, presenta un potencial para generar sinergias productivas con subproductos agrícolas ricos en carbohidratos, como el bagazo cervecero, residuos de cereales y otros desechos agroindustriales fermentables.

La demanda y el consumo de bioetanol han experimentado un crecimiento sostenido a nivel mundial, principalmente por su contribución a la descarbonización del sector transporte. Informes recientes correspondientes a los años 2023–2024 reportan incrementos en el consumo global de etanol, así como proyecciones de un crecimiento continuo impulsado por políticas de mezcla obligatoria y estrategias de seguridad energética (Informe Anual CENACE, 2023;

IFPEN, 2025; IEA, 2024); en Ecuador, el uso de etanol ya se encuentra incorporado en mezclas comerciales, como la gasolina ECOPAÍS, que contiene un 5 % de etanol.

Asimismo, estudios nacionales evidencian un interés creciente en ampliar su participación como parte de una estrategia energética orientada al aprovechamiento de recursos locales y a la generación de valor agregado (Pillajo, 2020; Mendoza, 2022).

El bioetanol se considera una alternativa energética viable y económicamente accesible, ya que puede obtenerse no sólo a partir de materias primas convencionales como la caña de azúcar o el maíz, sino también de residuos agroindustriales y frutales, entre ellos el bagazo cervecero y subproductos de frutas. Estos materiales pueden transformarse mediante procesos de hidrólisis y fermentación, lo que permite la generación de combustibles renovables y otros coproductos de interés industrial, como solventes de origen biológico y etanol para uso energético; al mismo tiempo que contribuye a una mejor gestión de residuos y a la disminución de impactos ambientales asociados a su disposición inadecuada (Pabbathi et al., 2022; Mgeni et al., 2025). Lo que sugiere establecer al bioetanol como una opción relevante para diversificar las fuentes de materia prima y generar valor agregado a partir de residuos locales.

1.2. Planteamiento del problema

La industria cervecera genera elevados volúmenes de residuos a nivel mundial, ya que para el año 2020 se estimó que por cada hectolitro de cerveza producida se generan entre 16 y 20 kg de bagazo cervecero. En Ecuador, para el año 2021, se reportó una producción aproximada de 120 000 toneladas anuales de bagazo cervecero, asociadas a una producción de entre 6 y 8 millones de hectolitros de cerveza por año; sin embargo, en los últimos años se ha evidenciado un crecimiento sostenido del número de cervecerías artesanales, lo que sugiere un incremento progresivo en la generación de este residuo (Pérez, 2021).

El bagazo cervecero es considerado una biomasa lignocelulósica debido a que está compuesto por la cáscara del grano, pericarpio y fragmentos de endospermo. Su composición química en base seca incluye carbohidratos estructurales como celulosa y hemicelulosa (17–25 %) y carbohidratos no celulósicos (25–35 %), además de proteínas (10–30 %), lignina (8–28 %), y menores proporciones de lípidos (< 11 %) y cenizas, lo que evidencia su potencial como materia prima para procesos biotecnológicos (Pérez, 2021).

A pesar de este potencial, dentro de la realidad productiva nacional el bagazo cervecero presenta una limitada diversificación de aplicaciones, siendo utilizado principalmente como alimento crudo y de bajo valor para el ganado, sin procesos de transformación que permitan su valorización industrial.

La producción de bioetanol en Ecuador se ha centrado exclusivamente en cultivos de primera generación, principalmente la caña de azúcar. Desde 2010, esta materia prima se utiliza para elaborar la gasolina EcoPaís, con una mezcla obligatoria de hasta el 5% de etanol. En 2021, el país producía entre 113 y 120 millones de litros anuales de bioetanol a partir de esta fuente (Arcentales-Bastidas et al., 2022).

Por otro lado, estudios experimentales han explorado el potencial de bioetanol de segunda generación a partir de residuos agroindustriales, como las cáscaras de cacao. Se estima un rendimiento teórico de 8.28 millones de litros anuales, equivalente a cerca del 10% de la producción nacional de EcoPaís en 2017 (Sigüencia Ávila et al., 2020).

Esto indica la existencia de materias primas con potencial energético aún poco explotada, sin embargo, aún no se ha impulsado el aprovechamiento de otros residuos agroindustriales, como el bagazo cervecero, pese a su elevada disponibilidad y composición fermentable.

Por lo tanto, la falta de aprovechamiento industrial de esta biomasa lignocelulósica para la producción de bioetanol representa una pérdida de recursos con potencial energético, limitando oportunidades para diversificar la matriz energética nacional y contribuir a la reducción de la dependencia de combustibles fósiles.

1.3. Pregunta de investigación

¿Es el bagazo cervecero de la producción de cerveza artesanal de mortiño (*Vaccinium floribundum*) un sustrato adecuado para obtención de bioetanol mediante hidrólisis ácida y fermentación anaeróbica?

1.4. Justificación

El bagazo cervecero representa el 85% de los residuos sólidos totales generados en la elaboración de cerveza y se estima que anualmente se generan 38 millones de toneladas a nivel mundial. En mayor parte, este subproducto se destina a la alimentación animal de bajo valor o se desecha sin un aprovechamiento adecuado en vertederos, contribuyendo a la contaminación ambiental mediante las emisiones de metano y dióxido de carbono, como también por la lixiviación de compuestos orgánicos, incrementando la presión sobre los sistemas de disposición final (Ribeiro-Sanches et al., 2024; Aradwad et al., 2025).

Por ello, se impulsa la investigación de mecanismos para la reutilización de desechos orgánicos como el bagazo cervecero, dado su alto contenido lignocelulósico que lo convierte en una fuente aprovechable de azúcares fermentables apta para su valorización en la producción de bioetanol de segunda generación, mitigando el impacto ambiental ocasionado por los residuos agroindustriales. (Zeko-Pivač et al., 2022; Agrawal et al., 2022).

El mortiño (*Vaccinium floribundum*) es un fruto andino endémico del Ecuador que posee un potencial bioactivo, debido a su alto contenido de antocianinas y polifenoles que le otorgan una capacidad antioxidante; sin embargo, su consumo es limitado y estacional asociado a la preparación tradicional de la colada morada (Aldaz et al., 2024).

Debido a su bajo aprovechamiento industrial, se propone incorporarlo en procesos de fermentación alcohólica para valorizar la especie y obtener un producto funcional; con coloración natural atractiva y notas sensoriales con identidad cultural junto con un aporte nutricional al consumidor, promoviendo así la industrialización con valor agregado de recursos locales.

La producción de bioetanol a nivel mundial ha alcanzado un aproximado de 119 mil millones de litros siendo una vía prometedora para reducir la dependencia de combustibles fósiles y reducir las emisiones de carbono, produciendo un biocombustible más limpio. El bagazo de cerveza es una materia prima de bajo costo que puede alcanzar un 65% de contenido de carbohidratos fermentables, que mediante una fermentación alcohólica es una ruta directa y eficiente para la generación de bioetanol superando otras materias primas tradicionales (Eche et al., 2025 ; Devi et al., 2023).

La obtención de bioetanol de segunda generación a partir de residuos orgánicos es una técnica viable demostrada en estudios recientes, donde mediante procesos de pretratamiento, hidrólisis y fermentación se logra maximizar el rendimiento del bioetanol. Siendo una alternativa que ofrece a los productores artesanales la posibilidad de aprovechar sus desechos para generar nuevos productos funcionales y fuentes de ingreso adicionales, impulsando una economía circular dentro del sector cervecero artesanal ecuatoriano (Ferreira et al., 2025).

1.5. Delimitación

El presente estudio se delimita a la producción de una cerveza artesanal de mortiño (*Vaccinium floribundum*) con propiedades organolépticas adecuadas y al aprovechamiento del bagazo cervecero generado para la obtención de bioetanol mediante hidrólisis ácida y fermentación alcohólica. Además, se incluye el análisis se centra en la evaluación de la cinética fermentativa y la viabilidad celular de *Saccharomyces cerevisiae* durante el proceso.

1.6. Objetivos

1.6.1. Objetivo general

Evaluar la cinética fermentativa y viabilidad celular de *Saccharomyces cerevisiae* durante la fermentación alcohólica del bagazo de cerveza artesanal para la obtención de bioetanol.

1.6.2. Objetivos específicos

1. Producir cerveza artesanal de mortiño (*Vaccinium floribundum*), evaluando sus propiedades fisicoquímicas y organolépticas.
2. Caracterizar el bagazo cervecero obtenido durante la elaboración de la cerveza, mediante análisis proximal.
3. Obtener bioetanol a partir del bagazo cervecero, mediante un proceso de hidrólisis ácida diluida y fermentación anaeróbica utilizando *Saccharomyces cerevisiae* estableciendo la cinética fermentativa y viabilidad celular.

Capítulo 2

Marco teórico

2.1. Cerveza Artesanal

2.1.1. Producción de cerveza artesanal

La cerveza artesanal se caracteriza por ser elaborada en cervecerías de pequeña escala e independientes, donde se da especial importancia a la innovación, a la calidad sensorial del producto y al control riguroso de cada etapa del proceso productivo. A diferencia de la cerveza industrial, este tipo de producción ofrece una mayor diversidad de estilos, permite un uso más flexible de ingredientes y combina técnicas tradicionales con enfoques experimentales, resaltando también la identidad local de cada productor. Estas características han sido definidas y respaldadas por asociaciones cerveceras internacionales, que destacan y reconocen la independencia económica y creativa como elementos clave de la cerveza artesanal (Brewers Association, 2023).

Desde el ámbito académico, la cerveza artesanal también es considerada un producto agroindustrial de alto valor agregado, ya que se obtiene a partir de procesos biotecnológicos controlados en los que la variabilidad del proceso forma parte de su diferenciación en el mercado. Bajo esta perspectiva, la cerveza artesanal se alinea con las tendencias actuales de consumo, donde el consumidor valora cada vez más la autenticidad, la trazabilidad y la calidad del producto, en comparación con la producción estandarizada a gran escala (Gómez-Corona et al., 2022).

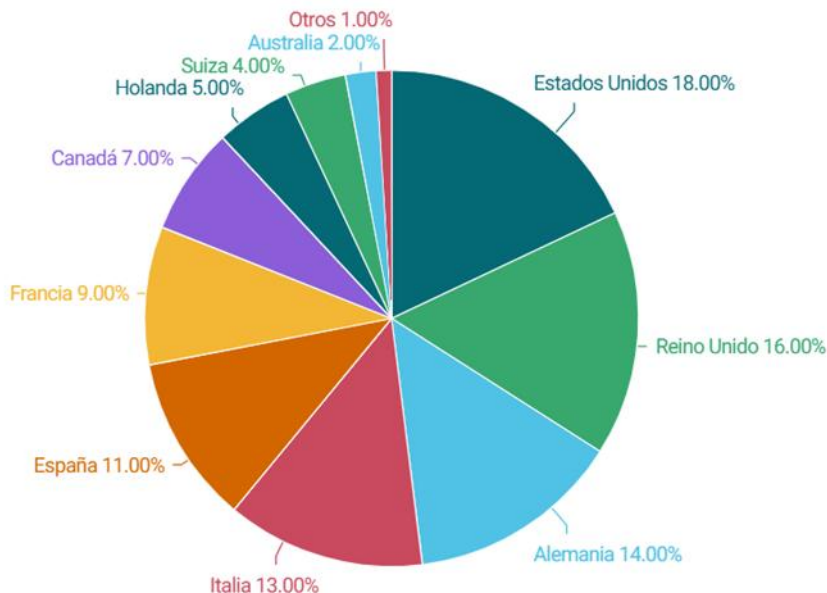
2.1.2. Producción mundial de la cerveza artesanal

A nivel mundial, la cerveza artesanal se ha consolidado como una sección que ha ganado importancia dentro del mercado cervecero, con un crecimiento sostenido en términos de valor económico, aunque con variaciones recientes en los volúmenes de producción. De acuerdo con informes de mercado, entre los años 2020 y 2024 el sector artesanal ha fortalecido su presencia principalmente en América del Norte, Europa y América Latina, impulsado por una creciente preferencia de los consumidores por productos diferenciados, elaborados de manera sostenible y con identidad local (Statista, 2024; Grand View Research, 2023).

A nivel Latinoamérica, los únicos datos recabados pertenecen al informe de la Secretaría de Comercio Exterior del Ministerio de Producción del Gobierno de la Provincia de Santa Fe (Argentina). Según este, para el año 2022 se alcanzó una producción superior a los 74 millones de hectolitros de cerveza, encontrando a China, Estados Unidos, Brasil, México, Alemania, etc; como parte de los países con gran producción de esta bebida alcohólica. La producción de cerveza artesanal a escala global representa el 3.8% del consumo total de cerveza. En países como España, Colombia y México han tenido un incremento en la producción hasta del 50% en los últimos años; mientras que en Estados Unidos y Reino Unido su crecimiento es superior al 10% por año.

De acuerdo con datos de páginas de estudios de mercados (DATA BRIDGE) en el año 2024 el mercado mundial de cerveza artesanal alcanzó valores de USD 3.49 mil millones.

Figura 1. Países con mayor producción de cerveza artesanal.



Fuente: (Los autores, 2025). Información tomada de la Secretaría de Comercio Exterior del Ministerio de Producción del Gobierno de la Provincia de Santa Fe, 2022.

2.1.3. Producción nacional

En Ecuador, la producción de cerveza artesanal ha experimentado un crecimiento notable durante la última década, reflejado en el aumento del número de microcervecerías, marcas registradas y volúmenes de producción. Investigaciones recientes indican que este sector contribuye de manera significativa a la diversificación del mercado de bebidas, a la generación de empleo y al fortalecimiento de economías locales; sin embargo, también enfrenta retos importantes relacionados con el costo de los insumos, los marcos regulatorios y el acceso a canales de comercialización (Jácome & Herrera, 2021; ProEcuador, 2022).

Según la Asociación de Cervecerías del Ecuador (ASOCERV), se contabilizan más de 250 marcas registradas de cerveza artesanal en operación que representan una producción de 6 millones de litros anuales aproximadamente, volumen el cual representaría cerca del 1,6 % de la producción total de cerveza en el país. Así mismo la Cámara de Comercio de Quito informó que para el año 2022, se registró una generación de empleo de alrededor de 2.350 empleos directos y 8.000 empleos indirectos en el país.

2.1.4. Proceso para la obtención de cerveza artesanal

La elaboración de cerveza artesanal se apoya en una serie de procesos biotecnológicos bien definidos, que incluyen el malteado, el macerado, la fermentación y la maduración. Durante la etapa de macerado, las enzimas presentes de forma natural en la malta actúan sobre los almidones y los transforman en azúcares fermentables; posteriormente, en la fermentación, las levaduras utilizan estos azúcares para producir etanol, dióxido de carbono y diversos compuestos aromáticos que aportan sabor y aroma a la cerveza. Este conjunto de reacciones bioquímicas controladas permite considerar a la cerveza como un producto biotecnológico tradicional (Bokulich & Bamforth, 2021).

Varios estudios resaltan la incorporación de herramientas biotecnológicas modernas en la producción de cerveza artesanal, tales como la selección de cepas específicas de levadura, el control preciso de las condiciones de fermentación y el aprovechamiento de subproductos del proceso. Estas estrategias buscan mejorar el rendimiento, la estabilidad sensorial y la sostenibilidad del proceso, manteniendo la identidad artesanal del producto (Stewart, 2022).

2.1.5. Proceso elaboración de cerveza artesanal

Molienda: La malta se somete a molienda con el objetivo de romper la cáscara del grano, facilitando el acceso al endospermo y permitiendo una adecuada extracción de los compuestos fermentables durante las etapas posteriores.

Maceración: La malta molida se mezcla con agua a temperaturas controladas, lo que permite la activación de enzimas amilolíticas (α - y β -amilasas), responsables de la hidrólisis del almidón y la liberación de azúcares fermentables, principalmente maltosa y glucosa.

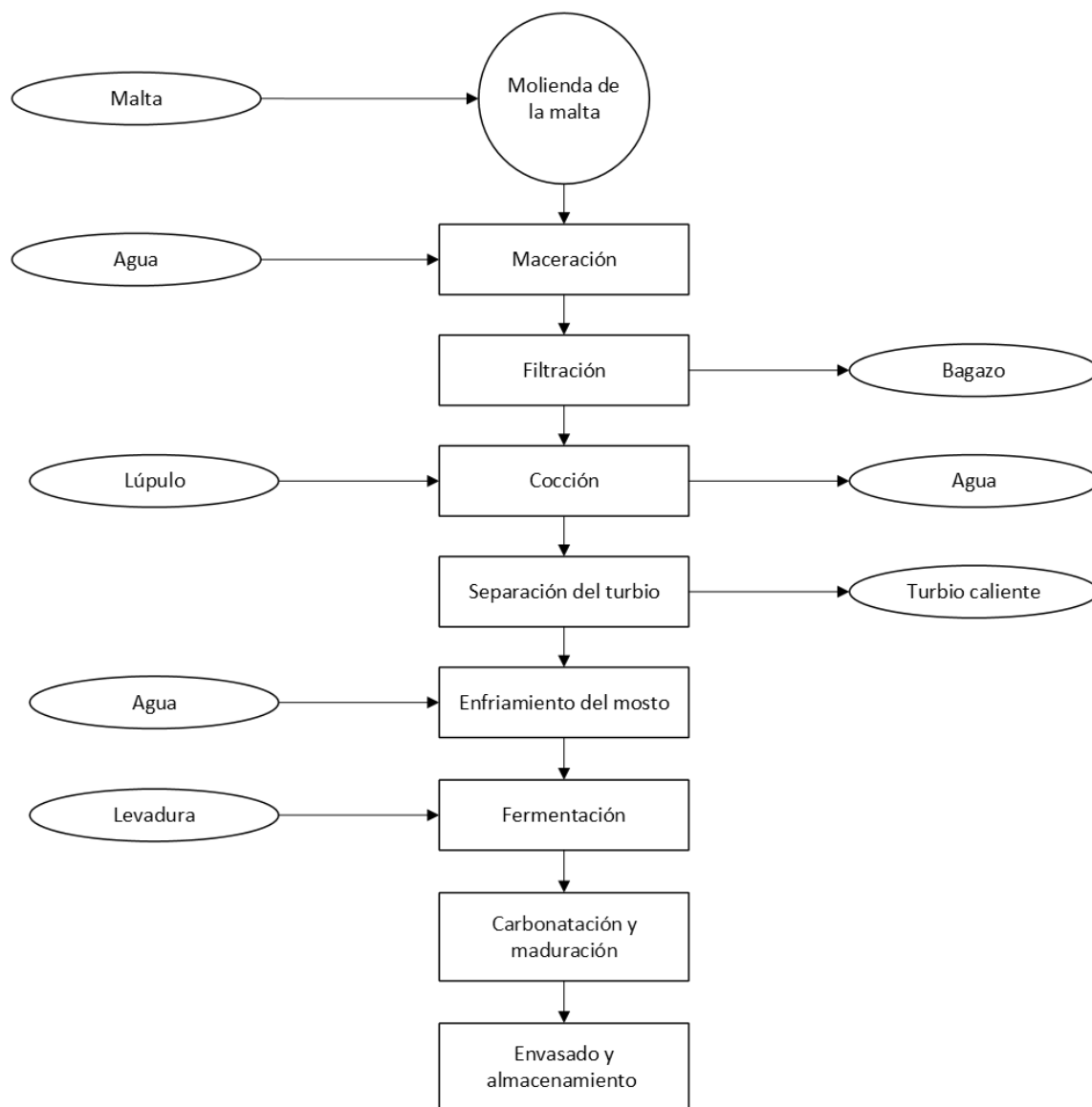
Filtración y cocción del mosto: El mosto obtenido se separa del bagazo mediante filtración. Posteriormente, se somete a cocción, durante la cual se añade lúpulo para aportar compuestos amargos, aromáticos y con actividad antimicrobiana, además de favorecer la esterilización del mosto y la inactivación enzimática (Hejna, 2021).

Separación del trub y enfriamiento: Tras la cocción, se eliminan los sólidos insolubles (trub caliente) mediante decantación o centrifugación, y el mosto se enfría rápidamente hasta alcanzar la temperatura óptima de fermentación, reduciendo el riesgo de contaminación y la formación de compuestos indeseables.

Fermentación: El mosto enfriado se inocula con *Saccharomyces cerevisiae*, la cual metaboliza los azúcares fermentables produciendo etanol y dióxido de carbono. Esta etapa se desarrolla generalmente durante una a dos semanas, dependiendo de las condiciones de temperatura y del tipo de cerveza (Hejna, 2021).

Clarificación y maduración: Finalmente, la cerveza se somete a procesos de clarificación para eliminar levaduras y partículas en suspensión. Posteriormente, durante la maduración, se estabilizan las características fisicoquímicas y se optimiza el perfil sensorial del producto antes de su envasado (Cantos et al., 2023).

Figura 2. *Proceso de elaboración de cerveza artesanal*



Fuente. (Los autores, 2026).

2.1.6 Ingredientes para la producción de cerveza artesanal

2.1.6.1 Agua

El agua es el componente mayoritario de la cerveza y uno de los factores que más influyen en la calidad del producto final. Su composición mineral influye directamente en el pH durante el macerado, en la actividad de las enzimas, en la extracción de los compuestos del lúpulo y en la percepción sensorial del amargor y del cuerpo de la cerveza. Por esta razón, el

ajuste del perfil iónico del agua se considera una práctica esencial en la elaboración de cerveza artesanal moderna (Palmer & Kaminski, 2023).

Diversos estudios indican que un control adecuado de la composición química del agua permite reproducir estilos cerveceros específicos y mantener la consistencia entre distintos lotes de producción. En el caso de las cervecerías artesanales, el tratamiento del agua se convierte en una herramienta clave para estandarizar la calidad del producto, sin limitar la flexibilidad creativa que caracteriza a este tipo de elaboración (Briggs et al., 2021).

2.1.6.2 Malta

La malta, que se obtiene principalmente de la cebada, constituye la principal fuente de azúcares fermentables y de enzimas indispensables para la elaboración de la cerveza. Además de su papel en la fermentación, la malta aporta compuestos que influyen directamente en el color, el aroma, el cuerpo y la estabilidad de la espuma del producto final. La calidad de la malta está determinada por factores como la variedad del grano, el proceso de malteado y parámetros tecnológicos clave, entre ellos el contenido de proteínas y la actividad enzimática (Kunze, 2020).

Según estudios, se destaca la relevancia de seleccionar maltas especiales en la producción de cerveza artesanal, ya que estas permiten ampliar la diversidad de perfiles sensoriales y estilos cerveceros. Asimismo, el empleo de maltas locales o de materias primas alternativas ha sido analizado como una estrategia viable para mejorar la sostenibilidad del proceso y reducir costos, especialmente en cervecerías de pequeña escala (Miller et al., 2022).

2.1.6.3 Levadura

La levadura es el microorganismo encargado de llevar a cabo la fermentación alcohólica y constituye uno de los factores más importantes en la definición del perfil sensorial de la

cerveza. Las especies *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces pastorianus* son las más utilizadas en la elaboración cervecera; sin embargo, en la cerveza artesanal se ha incrementado el empleo de cepas no convencionales con el fin de generar aromas y sabores distintivos (Pires et al., 2021).

Según investigaciones, indican que un manejo adecuado de la levadura, que incluya aspectos como su correcta propagación, viabilidad celular y el control de las condiciones de fermentación, resulta fundamental para asegurar la calidad, estabilidad y reproducibilidad del producto final. Desde una perspectiva biotecnológica, la levadura se considera un insumo vivo estratégico en la elaboración de cerveza artesanal, debido a su influencia directa en las características finales del producto (Stewart & Hill, 2022).

2.1.6.4 Lúpulo

El lúpulo es el ingrediente encargado de aportar el amargor característico, el aroma y parte de la estabilidad microbiológica de la cerveza. Sus compuestos bioactivos, en especial los ácidos alfa y los aceites esenciales, influyen de manera directa en el perfil sensorial del producto final. En la cerveza artesanal, la forma y el momento en que se añade el lúpulo resultan especialmente importantes, ya que permiten resaltar aromas más intensos y complejos que definen muchos estilos contemporáneos (Shellhammer, 2020).

Investigaciones actuales han profundizado en el estudio de los compuestos oxidados del lúpulo y su efecto tanto en el amargor como en la estabilidad sensorial de la cerveza. Estos avances han contribuido a optimizar técnicas como el dry hopping, ampliamente empleadas en la elaboración de cervezas artesanales modernas para potenciar el aroma y el carácter del producto final (Algazzali et al., 2021).

2.1.6.5 Clarificante

Los clarificantes se utilizan en la elaboración de cerveza para mejorar su claridad y estabilidad coloidal, ya que permiten eliminar proteínas, polifenoles y células de levadura que permanecen en suspensión. Entre los agentes más empleados se encuentran el isinglass, el PVPP (Polivinilpolipirrolidona), el quitosano y diversas alternativas de origen vegetal, cada uno con mecanismos de acción específicos que contribuyen a obtener un producto visualmente más estable y atractivo (Bamforth, 2021).

Recientemente, la investigación se ha enfocado en el desarrollo y uso de clarificantes veganos y sostenibles, como respuesta a las nuevas exigencias del mercado y a cambios en la normativa. Estos agentes permiten conservar la calidad visual y la estabilidad de la cerveza sin comprometer principios éticos o ambientales, un aspecto que resulta especialmente valorado en la cerveza artesanal actual (Fumi et al., 2022).

2.2. Mortiño (*Vaccinium floribundum*)

2.2.1. Taxonomía del mortiño

El mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), también conocido como arándano andino, pertenece a la familia Ericaceae. Es una especie nativa de los Andes de Sudamérica desde Venezuela hasta Bolivia, incluyendo Ecuador, donde crece de forma silvestre en ecosistemas altoandinos en las provincias de Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar, Chimborazo, Cañar, Azuay y Loja (Caranqui-Aldaz et al., 2022).

Tabla 1. *Taxonomía del mortiño*

Categoría Taxonómica	Clasificación
Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Ericales
Familia	Ericaceae
Género	Vaccinium
Especie	<i>Vaccinium floribundum</i>

Fuente. (Los autores, 2026)

2.2.2. Cultivo del mortiño

La planta se presenta como un arbusto cuya altura llega hasta 2,5 m. Sus hojas son pequeñas, coriáceas, elípticas y ovadas a ovado-lanceoladas, tienen un margen entero o aserrado, dispuestas de forma alterna con una nerviación pinnada, posee un pecíolo corto, y flores menores a 1cm. El fruto es una baya esférica de 5 a 8 mm de diámetro de color azul y azul oscuro, lisa (Llvisaca et al., 2022).

Figura 3. *Mortiño*

Fuente. (Los autores, 2026)

Los compuestos bioactivos del mortiño se concentran principalmente en el fruto, destacando los flavonoides y los ácidos fenólicos, pertenecientes al grupo de los compuestos

fenólicos. Asimismo, constituye una importante fuente de antocianinas, proantocianidinas y otros polifenoles, los cuales han demostrado poseer propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Córdova et al., 2023).

Las condiciones ideales de este cultivo requieren temperaturas de entre 8 y 16 °C, niveles de humedad entre el 60 y el 80 %, una precipitación anual de entre 800 y 2000 mm y una altitud de entre 3200 y 3800 m sobre el nivel del mar. Los requisitos del suelo para la propagación de estos materiales se ajustan a las características de los ecosistemas de alta montaña: suelos arenosos, húmicos y sueltos, ricos en materia orgánica, con un pH ligeramente ácido a neutro (Aldaz et al., 2024).

2.2.3. Fenología

El mortiño tiene una fenología reproductiva particular caracterizada por una falta de una progresión cronológica sincronizada, las fases reproductivas no siguen un patrón estricto. La superposición de etapas como botón floral, floración y fructificación tanto entre distintos individuos como dentro de un mismo arbusto indica una estrategia adaptativa frente a las condiciones ambientales extremas de alta montaña, como bajas temperaturas y alta variabilidad climática, permitiendo una disponibilidad prolongada del fruto a lo largo del año (Caranqui-Aldaz et al., 2022).

En los páramos ecuatorianos, estas fases reproductivas pueden observarse a lo largo de gran parte del año, con picos de floración y fructificación que varían según la localidad y las condiciones ambientales como en los meses de octubre y noviembre, sin embargo, la fruta está disponible todo el año en menores cantidades (Llvisaca et al., 2022).

2.2.4. Usos y aplicaciones

En Ecuador el mortiño es usado tradicionalmente como recurso alimenticio, cultural, medicinal y ornamental, principalmente en la región Sierra, especialmente en ecosistemas de páramo.

Los usos medicinales del fruto incluyen aplicaciones tradicionales para el tratamiento de dolencias como reumatismo, fiebre, cólicos, resaca y afecciones hepáticas y renales, además de emplearse como planta ornamental debido a la coloración característica de su follaje (Aldaz et al., 2024; Llivisaca et al., 2022).

El principal uso del mortiño en Ecuador es su incorporación en la elaboración de la colada morada, una bebida tradicional consumida de manera estacional durante las festividades de noviembre asociadas al Día de los Difuntos. En esta preparación, el fruto es sometido a procesos básicos de cocción, sin la aplicación de tecnologías de transformación que permitan diversificar sus usos o prolongar su vida útil.

Por otro lado, la valorización agroindustrial del mortiño ha sido limitada; no obstante, se han desarrollado algunas aplicaciones a pequeña escala, como la elaboración de productos vinícolas, panificados, mermeladas, jugos y confitería, lo que evidencia su potencial para una mayor diversificación industrial (Llivisaca et al., 2022).

Debido a su perfil fitoquímico, el mortiño ha sido evaluado como ingrediente funcional seguro y de alta actividad biológica, capaz de desarrollar alimentos funcionales aportando propiedades antioxidantes y antiinflamatoria, además su coloración azul-violeta atribuida por las antiocianinas genera interés para su uso como colorante natural en formulaciones alimentarias.

2.3. Bagazo Cervecerero

2.3.1. Descripción Tipos de bagazo

El bagazo cervecerero es el principal subproducto generado por la industria cervecerera y se obtiene a lo largo de la cadena de producción de la cerveza. Durante este proceso, el grano molido se transforma en malta y posteriormente es sometido a la etapa de maceración, en la cual la malta molida se mezcla con agua para activar enzimas que permiten la hidrólisis del almidón y la liberación de azúcares fermentables.

Como resultado de esta etapa, aproximadamente el 69 % de la masa inicial de la malta se extrae y se solubiliza en el mosto, el cual será utilizado posteriormente en la fermentación alcohólica. Los componentes no degradables permanecen en fase sólida, constituyendo el bagazo cervecerero, que se separa del mosto tras la filtración (Hejna, 2021).

2.3.2. Producción

El bagazo cervecerero representa aproximadamente el 85 % de los residuos sólidos generados durante la producción de cerveza, siendo producido tanto por cervecerías a gran escala como por microcervecerías. Se estima que por cada 100 L de cerveza elaborada se generan alrededor de 20 kg de bagazo cervecerero, lo que evidencia la magnitud de este subproducto dentro del proceso cervecerero (Assandri et al., 2020).

Por lo cual considerando una producción mundial de cerveza cercana a 1,87–1,89 mil millones de hectolitros en el periodo 2023–2024, se calcula una generación anual de aproximadamente 37 a 41 millones de toneladas de bagazo cervecerero a nivel global, lo que representa un volumen significativo de biomasa disponible para su valorización (Zeko-Pivač et al., 2022; Nyhan et al., 2023). A escala nacional, en Ecuador se reportó en 2021 una

producción aproximada de 120 000 toneladas de bagazo cervecero, asociada a la industria cervecera local (Pérez, 2021).

Tabla 2. *Producción mundial de cerveza y generación de bagazo cervecero por región en el año 2020.*

Producción	Cantidad del producto producido por región
Producción mundial en 2020 de bagazo cervecero	
Norte y Sur América	12.306 millones de toneladas
Asia	11.018 millones de toneladas
Europa	10.019 millones de toneladas
África	2.63 millones de toneladas
Australia/Oceanía	0.42 millones de toneladas

Nota. Adaptado de *The potential of brewer's spent grain in the circular bioeconomy: State of the art and future perspectives*, por Zeko-Pivač et al. (2022).

2.3.3. Composición

La composición del bagazo cervecero (BSG) puede variar significativamente en función de factores como la variedad de cebada, el tipo de lúpulo, los procesos de malteado y maceración, así como la presencia o ausencia de adjuntos durante la elaboración de la cerveza. Este subproducto presenta un alto contenido de humedad, cercano al 75%, y se clasifica como una biomasa lignocelulósica compleja, compuesta aproximadamente por 60% de carbohidratos (de los cuales el 50% corresponde a fibra dietaria), 30% de proteínas y alrededor del 10% de lípidos (Eche et al., 2025).

Está formado por una matriz lignocelulósica compuesta por hemicelulosa, celulosa y lignina, acompañadas de fracciones menores de proteínas, lípidos y minerales. Estudios reportan que la hemicelulosa representa entre el 20% y el 42% del contenido seco, seguida por

la celulosa (12%–33%) y la lignina (12%–22%) (Aradwad et al., 2025; Zeko-Pivač et al., 2022).

En cuanto a macronutrientes, el contenido de proteínas oscila entre aproximadamente 12% y 31% en base seca, con un perfil de aminoácidos esenciales caracterizado por una elevada proporción de lisina (10% –15%). Adicionalmente, el bagazo cervecero contiene lípidos, almidón residual y compuestos fenólicos, como el ácido ferúlico y el ácido *p*-cumárico, los cuales presentan actividad antioxidante (Hejna, 2021; Zeko-Pivač et al., 2022). Haciendo del BSG una materia prima interesante no solo para la fermentación de bioetanol, sino también para aplicaciones alimentarias y funcionales.

2.3.4. Usos tradicionales

Tradicionalmente, el bagazo cervecero ha sido destinado principalmente a la alimentación animal de bajo valor económico, debido a su composición nutricional, especialmente a su contenido proteico.

Este subproducto suele someterse a procesos como compostaje, secado, incineración, disposición en vertederos o fermentación anaeróbica. En Europa, se estima que aproximadamente el 70% del bagazo cervecero se utiliza como alimento para animales, mientras que el 20% se dispone en vertederos y el 10% se emplea para la producción de biogás, lo que refleja un aprovechamiento limitado de su potencial industrial (Aradwad et al., 2025).

En el ámbito alimentario, se han registrado avances significativos para la valorización del bagazo cervecero como ingrediente funcional, con el objetivo de aprovechar sus propiedades nutricionales y transformarlas en productos aptos para el consumo humano. Es así que el bagazo cervecero ha sido incorporado en el desarrollo de panes, galletas, pastas, fideos, leches fermentadas, yogures y otros alimentos, aportando beneficios nutraceuticos y

funcionales, lo que evidencia su potencial como materia prima alternativa dentro de la industria alimentaria (Nyhan et al., 2023).

2.4. Hidrólisis ácida

La hidrólisis ácida es un proceso químico utilizado como método de pretratamiento de biomasa lignocelulósica, en el cual se emplean ácidos como el sulfúrico (H_2SO_4) o, en menor medida, el clorhídrico (HCl) en concentraciones bajas (generalmente 0.5-5%) y altas temperaturas (100-200°C) para romper enlaces glucosídicos de los polisacáridos para liberar azúcares fermentables como glucosa y xilosa (Świątek et al., 2020; Woźniak et al., 2025).

Este método es una alternativa viable a nivel industrial por tener la capacidad de recuperar hasta el 80-90% de hemicelulosa lo cual es esencial para incrementar la accesibilidad de los polisacáridos estructurales para facilitar los procesos de bioconversión y la obtención de bioproductos a partir de una biomasa residual (Vojtová et al., 2024; Ferreira et al., 2025).

En la industria, la hidrólisis ácida diluida ha sido ampliamente aplicada como pretratamiento de residuos agrícolas y agroindustriales para la producción de bioetanol de segunda generación a gran escala, con producciones que alcanzan volúmenes significativos a nivel anual. Su bajo costo relativo, facilidad de implementación y elevada eficiencia en la liberación de azúcares fermentables la convierten en una alternativa atractiva para el desarrollo de procesos tecnológicos (Ferreira et al., 2025; Kululo et al., 2025).

2.4.2. Hidrólisis ácida del bagazo cervecero

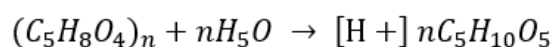
La hidrólisis ácida del bagazo cervecero tiene como objetivo disgregar la estructura lignocelulósica de esta biomasa residual, liberando azúcares simples fermentables, los cuales pueden ser aprovechados en procesos de fermentación alcohólica.

Esta metodología contribuye al desarrollo de procesos sostenibles para la valorización de residuos agroindustriales, permitiendo la conversión de esta materia prima en productos con valor agregado y reduciendo el impacto ambiental asociado a su disposición final

La hidrólisis con ácido diluido permite penetrar la estructura recalcitrante de la biomasa lignocelulósica del bagazo cervecero, rompiendo los enlaces β -1,4-glucosídicos entre celulosa, hemicelulosa y lignina, mediante protonación del oxígeno glucosídico, lo que facilita la adición de agua y la liberación de monosacáridos (Świątek et al., 2020).

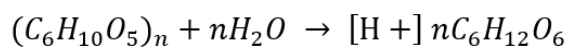
Este mecanismo ocurre principalmente en la hemicelulosa un heteropolímero cuya estructura amorfa y ramificada permite que se hidrolice fácilmente. Donde el xilano se despolimeriza dando lugar a la xilosa y arabinosa (Beluhan et al., 2023).

Ecuación 1. Hidrólisis ácida de la hemicelulosa para la liberación de azúcares fermentables



La celulosa debido a su estructura cristalina se hidroliza más lento, produciendo hexosas como la glucosa (Beluhan et al., 2023).

Ecuación 2. Hidrólisis ácida de la celulosa para la liberación de glucosa

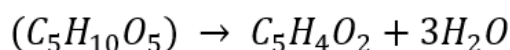


Es fundamental controlar las condiciones del proceso como la concentración de ácido, temperatura y tiempo de reacción.

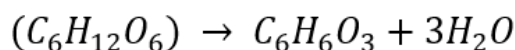
A temperaturas moderadas, la hidrólisis ácida favorece una liberación eficiente de azúcares fermentables con una degradación mínima de los monosacáridos, mientras que a temperaturas más elevadas (≥ 220 °C), se intensifican las reacciones secundarias de deshidratación y degradación (Świątek et al., 2020).

Se da lugar a la formación de diversos compuestos inhibidores, tales como furfural a partir de pentosas, 5-hidroximetilfurfural (HMF) derivado de hexosas, ácidos orgánicos (acético, levulínico y fórmico) y compuestos fenólicos provenientes de la lignina. Estos subproductos tienen un efecto negativo sobre el crecimiento microbiano y reducen la eficiencia de los procesos fermentativos posteriores (Świątek et al., 2020; Ferreira et al., 2025).

Ecuación 3. Formación de furfural a partir de pentosas durante la hidrólisis ácida



Ecuación 4. Formación de 5-hidroximetilfurfural (HMF) a partir de hexosas



2.5. Fermentación Anaeróbica

La fermentación anaeróbica es un proceso que ocurre en un biorreactor una vez que el oxígeno ha sido eliminado y reemplazado por gases inertes como nitrógeno o dióxido de carbono, formando un ambiente libre de oxígeno idóneo para el crecimiento y metabolismo de microorganismos anaerobios. Este tipo de fermentación suele ocurrir a una velocidad inferior en comparación con procesos aeróbicos, pero permite una conversión más eficiente del carbono hacia el producto final, debido a la menor formación de biomasa celular.

Históricamente, los fundamentos de la fermentación anaeróbica fueron establecidos por Louis Pasteur en el siglo XIX, quien demostró que ciertos microorganismos podían crecer y producir metabolitos en ausencia de oxígeno, sentando las bases del desarrollo de procesos industriales anaerobios (Mitchell & Nair, 2021).

La fermentación anaeróbica presenta ventajas significativas, como el bajo requerimiento energético para mantener las células en suspensión y la capacidad de los microorganismos anaerobios de utilizar una gran variedad de sustratos, entre ellos los residuos agroindustriales. Todo esto da paso a la reducción de los costos del proceso y a aumentar el rendimiento del producto, debido a que una mayor parte del carbono del sustrato se transforma en metabolitos de interés, como etanol.

Por esta razón, la fermentación anaeróbica ha sido aplicada ampliamente en importantes procesos industriales, entre ellos la producción de etanol por *Saccharomyces cerevisiae*, la fermentación láctica para conservación de alimentos, la digestión anaerobia de residuos orgánicos y el tratamiento de aguas residuales, siendo la producción anaerobia de etanol una de las aplicaciones más destacadas a nivel industrial.

Sin embargo, la fermentación anaeróbica también presenta limitaciones importantes, ya que si se emplean cultivos mixtos o microorganismos estrictamente anaerobios van a ser difíciles de estudiar y modelar debido a la inestabilidad de las comunidades microbianas frente a cambios ambientales y nutricionales. (Mitchell & Nair, 2021).

2.5.1. Tipos de Fermentación Anaeróbica

2.5.1.1 Fermentación Alcohólica

La fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico en el que azúcares fermentables son transformados en etanol y dióxido de carbono. Es ampliamente utilizado para la producción de bioetanol a partir de biomasa azucarada y lignocelulósica (Yan, 2024).

2.5.1.2 Fermentación Láctica

En este tipo de fermentación las bacterias ácido-lácticas convierten azúcares en ácido láctico, acumulándose en grandes cantidades bajo condiciones anaeróbicas y favoreciendo a la acidificación del medio (Arhin et al., 2023).

2.5.1.3 Fermentación Butírica

La fermentación butírica, es realizada principalmente por Clostridium, que convierte azúcares en ácido butírico, butanol, acetona y etanol bajo anaerobiosis y lleva a la obtención de biocombustibles y solventes biológicos (Schwarz et al., 2024).

2.5.1.4 Fermentación Propiónica

La fermentación propiónica convierte azúcares en ácido propiónico, acético y CO₂ a partir de bacterias del género Propionibacterium. Este es un punto clave en algunas rutas de digestión anaeróbica y en la producción de compuestos con valor alimentario e industrial (Rahimieh & Nosrati, 2024).

2.5.1.5 Fermentación Acetogénica

La fermentación acetogénica lleva a la producción de acetato a partir de sustratos orgánicos simples u otros productos de acidogénesis, siendo un paso intermediario importante antes de la metanogénesis en digestión anaeróbica (Dalbanjan et al., 2025).

2.5.1.6 Fermentación Metanogénica (Metanogénesis)

La fase metanogénica de la digestión anaeróbica sucede cuando microorganismos arqueales convierten acetato, hidrógeno y dióxido de carbono en metano (CH₄), siendo el paso final de la bioconversión de materia orgánica a biogás (Cheng et al., 2025).

Capítulo 3

Materiales y métodos

3.1. Diseño del estudio

El estudio se desarrolló mediante un diseño experimental completamente al azar, con un enfoque cuantitativo-comparativo, con el objetivo de evaluar la cinética fermentativa y viabilidad celular de *Saccharomyces cerevisiae* durante la fermentación alcohólica de hidrolizados de bagazo cervecero.

Se establecieron tres tratamientos experimentales, correspondientes a tres diferentes concentraciones del sustrato fermentable, obtenidas de la hidrólisis ácida diluida del bagazo cervecero. Cada tratamiento se realizó con dos repeticiones independientes utilizando frascos de vidrio hermético como unidades experimentales.

Posteriormente los hidrolizados fueron llevados a fermentación alcohólica mediante la inoculación de *Saccharomyces cerevisiae*, en condiciones controladas de laboratorio. Se realizó un seguimiento al proceso fermentativo mediante dos tiempos de muestreo a las 24 y 96 horas, con la finalidad de evaluar el comportamiento fermentativo en fase activa y fase avanzada de fermentación.

En cada tiempo de muestreo se evaluaron variables asociadas al desempeño fermentativo, como la conversión de azúcares mediante grados °Brix y la viabilidad celular de *Saccharomyces cerevisiae* mediante tinción de cloruro de trifeniltetrazolio (TTC). Con los datos obtenidos se realizó un análisis cinético comparativo, evaluando el efecto de la concentración del sustrato y el tiempo de fermentación sobre la actividad metabólica y comportamiento fermentativo de la levadura.

3.2. Población y muestra

La población del estudio corresponde al bagazo cervecero generado durante la elaboración de dos lotes de cerveza artesanal de mortiño, obtenido en cantidades suficientes para el desarrollo de los tratamientos experimentales. La materia fue conservada en congelación a -80°C , posteriormente secado, molido y tamizado para garantizar la estabilidad y homogeneidad en el proceso de hidrólisis ácida y fermentación alcohólica.

3.3. Variables

Las variables dependientes son:

- a. Conversión de azúcares
- b. Viabilidad celular de *Saccharomyces cerevisiae*

Las variables independientes son:

- a. Bagazo cervecero
- b. Concentración del sustrato fermentable
- c. Tiempo de fermentación

3.4. Recolección de datos

Durante la fase experimental, los datos relacionados con las variables del estudio se recopilaron de forma sistemática y organizada.

Para evaluar la cinética de fermentación, se tomó una muestra de cada tratamiento en los momentos especificados y se midió el total de sólidos disueltos ($^{\circ}\text{Bx}$) utilizando un refractómetro precalibrado.

Cada medición se registró en una hoja de registro de datos en la que se especificaba el tratamiento, el número de réplicas y tiempo de muestreo.

Al mismo tiempo, para evaluar la viabilidad de las células de *Saccharomyces cerevisiae*, las mismas muestras se tiñeron con cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) al 1 %, se incubaron, se midió la absorbancia utilizando un espectrofotómetro. Los valores de absorbancia se registraron en la hoja de datos y se vincularon a cada tratamiento y al momento del muestreo.

Todos los datos se digitalizaron y organizaron en Microsoft Excel, que permitió mantener la trazabilidad de las mediciones realizadas y apoyar el análisis e interpretación de los resultados mediante su representación gráfica.

3.5. Análisis proximales de materias primas

Previo a los análisis de determinación de grasas y cenizas, las muestras de mortíño y bagazo cervecero fueron sometidas a un proceso de secado con la finalidad de eliminar la humedad y estandarizar la base de análisis.

Las muestras de mortíño fueron secadas en estufa a 70°C durante 24 horas, mientras que las muestras de bagazo cervecero se secaron a 70°C durante 48 horas. Posteriormente fueron molidas, tamizadas y almacenadas en recipientes herméticos hasta su análisis.

3.5.1. Análisis cenizas

La determinación del contenido de cenizas se realizó conforme a la norma AOAC 923.03 (AOAC, 2023). Para ello, se pesaron 3 g de muestra previamente secada en un crisol, el cual fue colocado en una mufla (SNOL AB Umega) y sometido a incineración a 550 °C durante cinco horas. El proceso de calcinación se continuó hasta la obtención de cenizas de

color gris claro o blanco. Posteriormente, el crisol se retiró de la mufla, se dejó enfriar en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente y finalmente se procedió a su pesaje.

3.5.2. Análisis de grasas

El contenido de grasa se determinó mediante el método de extracción Soxhlet según AOAC 920.39, incorporando variantes metodológicas reportadas por Dhanhani et al. (2025).

Para el análisis, se pesaron 2 g de la muestra seca preparada y se colocaron en un dedal de extracción con la porosidad adecuada para permitir un flujo eficiente del disolvente. El dedal se colocó en el cuerpo principal del extractor Soxhlet, se fijó a un matraz redondo y se conectó al condensador.

Como disolvente de extracción se utilizó cloroformo, que se hizo circular bajo reflujo continuo. El tiempo de extracción varió, dependiendo de la eficiencia del sistema, entre 4 horas con una tasa de condensación de 5-6 gotas/segundo.

Una vez finalizado el proceso de extracción, el disolvente se evaporó mediante rotavapor (Hei-VAP Core). A continuación, el matraz con el extracto graso se secó durante 30 minutos en una estufa a 100 °C, se enfrió en un desecador y luego se pesó para determinar el contenido de grasa.

3.5.3. Análisis de humedad

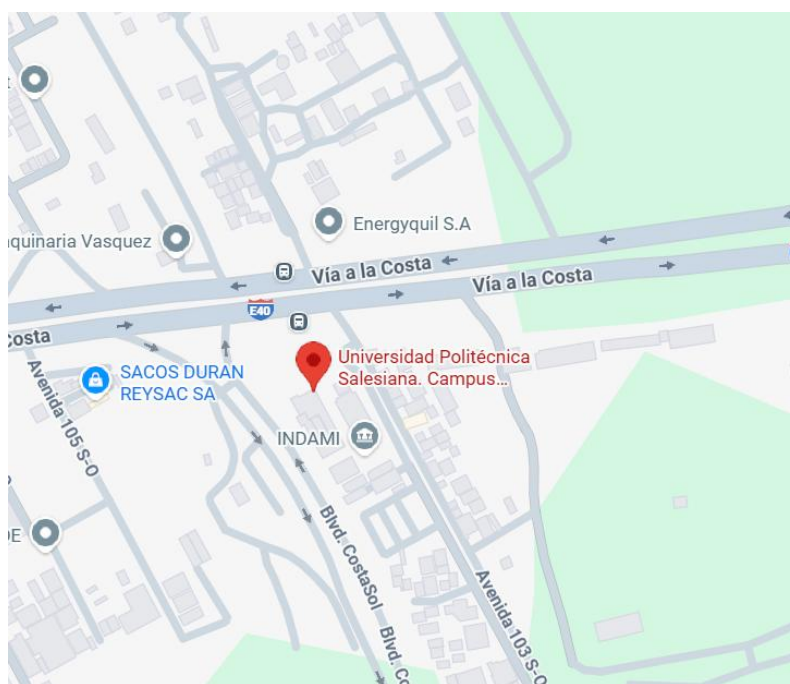
La determinación del contenido de humedad se realizó mediante una balanza de humedad (OHAUS MB23). Para ello, se pesaron 2–3 g de muestra de mortíño sobre el platillo de aluminio del equipo, distribuyendo la muestra de manera uniforme para evitar errores de lectura.

Posteriormente, el equipo procedió a calentar la muestra a una temperatura de 110 °C hasta alcanzar peso constante. El contenido de humedad fue registrado automáticamente por el equipo y expresado como porcentaje (%) en la pantalla digital.

3.6. Elaboración de cerveza artesanal de mortiño

Se produjeron dos lotes de cerveza artesanal a base de mortiño, cuyo proceso de elaboración se desarrolló en los laboratorios de la Universidad Politécnica Salesiana, sede Guayaquil, en el campus María Auxiliadora, ubicado en el kilómetro 19 de la vía a la Costa. La localización geográfica del sitio experimental corresponde a las coordenadas 2°11'31.1" S y 80°02'44.7" O, las cuales se presentan de manera referencial en la Figura 4.

Figura 4. Ubicación del laboratorio donde se desarrolló el proceso de elaboración de cerveza artesanal.



Fuente. (Google maps, 2026).

3.6.1. Producción de cerveza artesanal

La producción de la cerveza artesanal de mortiño se llevó a cabo siguiendo un proceso de elaboración estándar, que incluía las etapas de molienda, maceración, cocción, enfriamiento, fermentación y maduración, utilizando los ingredientes principales y en condiciones de laboratorio controladas.

Adicionalmente, se ejecutó un paso previo para la preparación del mortiño antes de su adición a la cerveza artesanal. El fruto fue sometido inicialmente a un proceso de limpieza manual, durante el cual se separaron impurezas y material vegetal no deseado. Posteriormente, el mortiño se llevó a ultracongelación a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ utilizando un ultracongelador (TSX Universal Serie ULT freezers, Thermo Scientific).

Una vez congeladas las muestras, estas fueron retiradas del ultracongelador y se procedieron a pesar 150g de las mismas, para posteriormente someterlas al proceso de liofilización con ayuda de un liofilizador (Lyovapor™ L-210). Este procedimiento se realizó con la finalidad de concentrar y preservar los compuestos bioactivos del mortiño.

Para el proceso de liofilización se establecieron condiciones específicas tanto para el secado primario como para el secado secundario, con el objetivo de reducir el contenido de humedad a valores bajos y garantizar la estabilidad del material. El proceso tuvo una duración aproximada de 800 minutos (≈ 13 horas). El secado primario se realizó con una temperatura de estante de $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, seguido de dos etapas de secado secundario: la primera a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 0,3 mbar, y la segunda a 0,1 mbar.

Una vez finalizado el proceso de liofilización, el mortiño fue envasado en bolsas tipo Ziploc y almacenado nuevamente en el ultracongelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de su utilización en el proceso de elaboración de la cerveza.

3.6.2. Proceso de producción de cerveza artesanal

Tabla 3. *Materias primas y cantidades empleadas en la elaboración de cerveza artesanal de mortiño estilo rubia.*

Materia prima	Cantidades
Malta	5 kg
Lúpulo	22 g
Levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	15 g
Agua purificada	32 lts
Mortiño Liofilizado	64 g

Fuente. (Los autores, 2026)

Molienda: Se pesó la cantidad necesaria de malta y se molieron los granos en el molino de rodillos (Malt Master). El molino se ajustó a una separación de 1 mm para garantizar que las cáscaras se trituraran durante la molienda, lo que facilita la posterior extracción del azúcar.

Maceración: Se añadieron 17 litros de agua purificada en un recipiente y se calentaron a 70°C mediante el sistema de recirculación. Posteriormente, se añadieron 5 kg de malta molida y se mezcló de forma homogénea. El proceso de maceración se mantuvo durante 60 minutos a temperatura constante.

Lavado: En una segunda olla, se calentaron 15 litros de agua a 70 °C. Quince minutos antes de finalizar la maceración, el agua de lavado se incorporó gradualmente a la olla principal. Posteriormente, la temperatura del macerado se elevó hasta 85 °C con el objetivo de favorecer la extracción de azúcares residuales.

Cocción: Una vez finalizada la maceración, el mosto se transfirió a una olla de cocción y se llevó a ebullición. La cocción se realizó durante 60 minutos a 100 °C. A los 45 minutos de iniciada la ebullición, se pesaron 22 g de lúpulo, los cuales se adicionaron de manera gradual para evitar derrames y asegurar una adecuada incorporación.

Enfriamiento: Al final del proceso de cocción, la olla se inclinó con el fin de separar el material turbio del mosto claro. El enfriamiento se llevó a cabo mediante un sistema de bombeo acoplado a un intercambiador de calor. El proceso continuó hasta que el mosto alcanzó una temperatura de 26 °C.

Fermentación: Se añadieron 15 gramos de levadura *Saccharomyces cerevisiae* al mosto en fermentación. El tanque de fermentación se selló con una trampa de aire (airlock) para permitir que los gases escaparan y se dejó fermentar en condiciones controladas.

Adición de mortiño: En el sexto día de fermentación se añadió mortiño liofilizado, previamente contenido en una malla, directamente al fermentador. El mortiño se retiró al día 14 de fermentación con el fin de evitar sabores indeseados asociados a una extracción excesiva de compuestos fenólicos.

Maduración: Una vez completado el proceso de fermentación, el líquido fermentado se trasvasó a un tanque de maduración, el cual fue sellado herméticamente y se le adicionó CO₂ para minimizar la oxidación del producto. Se mantuvo almacenado a 20°C durante un aproximado de un mes, hasta su envasado en botellas.

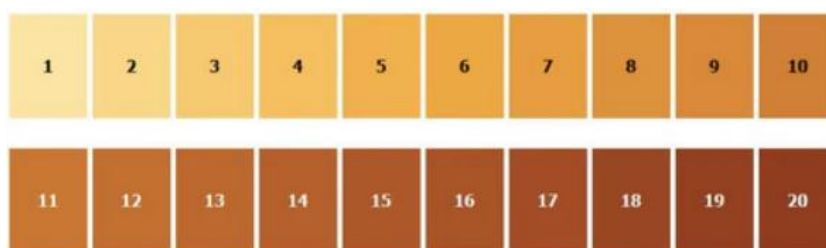
3.6.3. Parámetros para medir la calidad de la cerveza

Para la evaluación de la calidad de la cerveza artesanal, se elaboraron dos lotes experimentales: un lote control sin adición de mortiño y un lote experimental con adición de mortiño. Ambos lotes fueron sometidos a análisis físico-químicos y sensoriales básicos, que permiten caracterizar el producto final y confirmar su estabilidad y aceptabilidad. Los parámetros analizados fueron el color, pH, °Brix, densidad, contenido de alcohol y las características sensoriales, como el aroma.

Color

El color de ambas cervezas se evaluó de manera visual, en donde se consideró la tonalidad, claridad y uniformidad del producto. Este parámetro es reconocido por organismos cerveceros como la European Brewery Convention (EBC) y la American Society of Brewing Chemists (ASBC) como un atributo fundamental en la caracterización de cervezas, debido a su relación con la formulación, el tipo de materias primas y el proceso de elaboración.

Figura 5. Escala colorimétrica de referencia para la clasificación visual de la cerveza según estándares EBC y ASBC.



Fuente. (ASOCERV, 2026)

Para el análisis, cada muestra se sirvió en un vaso limpio y transparente, verificando la ausencia de turbidez excesiva y espuma residual que pudiera interferir en la observación. Esta evaluación permitió evidenciar el efecto de la adición de mortiño sobre la coloración final, así como identificar posibles alteraciones asociadas a oxidación, turbidez o fallas en el proceso.

Aroma

El análisis del aroma se realizó mediante una evaluación sensorial descriptiva. Para ello, se formó un grupo de diez evaluadores. Estos percibieron el olor de cada lote de cerveza y registraron de forma cualitativa las características aromáticas observadas, como la presencia de aromas de fermentación, aromas frutales y aromas indeseables.

pH

El pH de las cervezas se determinó utilizando un potenciómetro digital previamente calibrado. Para el análisis, se colocó una porción de cada lote de cerveza a temperatura

ambiente en vasos limpios y secos, manteniéndolos. Posteriormente, se sumergió el electrodo del potenciómetro en cada muestra y se esperó a que la lectura se estabilizará, registrándose finalmente los valores de pH correspondientes.

Determinación °Brix

El contenido de sólidos solubles totales se midió mediante un refractómetro. Se colocó una gota de cada muestra de cerveza sobre el prisma principal del equipo, se cerró la placa y se realizó la lectura directa mediante la escala que se puede observar mediante el ocular.

Determinación de densidad, alcohol y azúcares.

La determinación de estos parámetros se realizó mediante el uso de un densímetro digital (Densito 2 Go, Mettler Toledo). Para la medición se seleccionó el método correspondiente en el equipo y una parte de la muestra de cada lote de cerveza se colocaron en un vaso de precipitación limpio y el densímetro se sumergió en la muestra permitiendo que esta aspirara el líquido y realizara la lectura.

3.7. Metodología para la hidrólisis y la fermentación alcohólica

3.7.1. Hidrólisis ácida

El proyecto se enfoca en un estudio experimental que busca demostrar la eficiencia de la hidrólisis ácida sobre biomasa lignocelulósica (BSG) para la liberación de azúcares fermentables. Los parámetros establecidos están basados en los procedimientos NREL (Laboratorio Nacional de Energía Renovable) para análisis composicional y sacarificación.

El bagazo cervecero utilizado fue sometido a un tratamiento físico. La biomasa se secó a 70°C por 24 horas con la finalidad de eliminar el contenido de humedad y posteriormente se

trituro mediante el empleo de una licuadora convencional y se tamizó hasta obtener una partícula de un tamaño aproximado a los 2 mm.

La hidrólisis ácida fue llevada a cabo mediante un tratamiento con ácido sulfúrico diluido (H_2SO_4), con una relación sólido-líquido de 1:10, es decir, 28 g de bagazo cervecero por 280 mL de solución ácida. Se realizó un diseño experimental de tres tratamientos con concentraciones de ácido sulfúrico al 0.5%, 1% y 1.5% (v/v), con un tiempo de 30 minutos.

Para finalizar el tratamiento, la solución fue pasada por filtración al vacío para separar la fase líquida. El hidrolizado obtenido se neutralizó ajustando pH entre un rango de 5-7 (Tolerable para *Saccharomyces cerevisiae*) mediante la adición de hidróxido de sodio al 70% (NaOH). Se midió °Brix, que sirve como indicador de la liberación de azúcares fermentables.

3.7.2 Fermentación Alcohólica

Para el proceso de fermentación se realizó previamente la activación de la levadura, *Saccharomyces cerevisiae*, apta para la producción de alcohol. La activación de la levadura se realiza con el objetivo de garantizar la viabilidad y capacidad fermentativa antes de inocular el hidrolizado. Para esto, se pesó 0.5 g de azúcar y 15 g de levadura y se lo disolvió en 75 mL de agua destilada estéril sometido a altas temperaturas hasta llegar a una temperatura de 28°C y se dejó reposar aproximadamente 20 minutos hasta que se dé la activación metabólica de la levadura. Una vez activada la levadura, se afora hasta obtener un volumen de 250 mL dándonos un inóculo activo listo para la fermentación.

La fermentación alcohólica se llevó a cabo utilizando una relación 1:5 (v/v), utilizando 50 mL del hidrolizado antes obtenido y 250 mL del inóculo preparado. El diseño experimental aplicado consta de tres tratamientos por duplicado los cuales son sometidos a diferentes concentraciones del ácido y se evaluó en dos tiempos (24 y 96 horas de fermentación).

Finalmente, se analizó sólidos solubles mediante °Brix el cual nos indicará el consumo de azúcares durante el proceso fermentativo.

3.8. Evaluación de Cinética Fermentativa y Viabilidad Celular

3.8.1. Cinética Fermentativa

La cinética fermentativa se evaluó dando seguimiento al consumo de azúcares durante el proceso de fermentación, utilizando la variación de los °Brix como indicador indirecto de la actividad metabólica de *Saccharomyces cerevisiae*. Para esto, se elaboraron curvas de °Brix en función del tiempo; esto permite analizar el comportamiento del proceso fermentativo y comparar el desempeño de la levadura en los diferentes tratamientos (T1, T2 y T3) frente a diferentes concentraciones del hidrolizado (0.5%, 1% y 1.5%).

El muestreo se realizó a las 0, 24 y 96 horas de fermentación. Para esto, una vez inoculados, los matraces son agitados suavemente y se toman alrededor de 2 mL del caldo fermentativo con material estéril. Las muestras se centrifugaron durante 5 minutos a 5000 rpm para eliminar células y partículas, y el sobrenadante se utilizó para la medición de °Brix mediante refractometría. Este procedimiento se realizó en los tres tiempos establecidos, logrando así obtener las curvas de consumo de sustrato y evaluar la velocidad total de fermentación y la eficiencia del proceso en función del tiempo y la concentración del hidrolizado.

3.8.2. Viabilidad Celular

Para la viabilidad celular de *Saccharomyces cerevisiae* durante el proceso fermentativo, se empleó la tinción con cloruro de trifeniltetrazolio (TTC), adaptando un protocolo estándar para levaduras empleadas en la producción de bioetanol. Se tomó una alícuota de 2ml de la fermentación, la cual fue centrifugada a 5000 rpm por 5 minutos y posteriormente resuspendida en agua destilada estéril hasta alcanzar una concentración aproximada de 10^7 – 10^8 células/mL.

Para finalizar, se añadió TTC hasta llegar a la concentración final de 0,1 % (p/v) y se incubó la mezcla a 30°C durante 30 minutos en condiciones de oscuridad y agitación suave.

La medición de la viabilidad se realizó de forma cuantitativa. Este análisis se llevó a cabo mediante la extracción del formazán producido con solventes orgánicos y la medición de la absorbancia a 490 nm, calculando el porcentaje de viabilidad en comparación con controles. Las determinaciones se realizaron a 0, 24 y 96 horas de fermentación, permitiendo correlacionar la viabilidad celular con el consumo de sustrato medido en grados Brix, y así obtener una visión completa del desempeño fermentativo y del estado metabólico de la levadura.

Capítulo 4

Resultados y discusiones

4. 1. Resultado final del análisis proximal

4.1.1. Caracterización de mortíño y bagazo cervecero

Tabla 4. *Resultados de análisis proximal.*

Análisis	Unidades	Mortíño	Bagazo cervecero
Cenizas	%	1.8	2.85
Grasas	%	2.48	2.70
Humedad	%	66.4	-

Fuente. (Los autores, 2026)

Los resultados del análisis de las materias primas mortíño y bagazo de cerveza presentados en la tabla 4, muestran diferencias y similitudes significativas en su composición, lo que afecta directamente a su potencial como materia prima para procesos fermentativos como la producción de cerveza y bioetanol.

El contenido de cenizas, que es una medida del contenido mineral de los materiales, fue mayor en el grano de cerveza (2,85 %) que en el mortíño (1,8 %). Este alto contenido mineral en el bagazo se debe a su origen cerealista y al proceso de elaboración de la cerveza, en el que se concentran minerales como el fósforo, el calcio y el magnesio. Estos minerales pueden ser beneficiosos para el metabolismo microbiano, ya que actúan como coenzimas durante la fermentación alcohólica, favoreciendo así el crecimiento y la actividad de *Saccharomyces cerevisiae*.

En cuanto al contenido de grasas, ambas materias primas presentaron valores similares, siendo de 2,48 % para el mortíño y 2,70 % para el bagazo cervecero. Estos resultados indican una composición lipídica comparable entre ambos sustratos.

El análisis de humedad se realizó únicamente en la muestra de mortíño, la cual presentó un valor de 66,4 %, lo que indica su elevado contenido de agua y, por lo tanto, su mayor susceptibilidad al deterioro. Este análisis no se aplicó al bagazo cervecero debido a su naturaleza y a la característica propia de este subproducto de presentar altos niveles de humedad.

4.2. Propiedades físico-químicas de la cerveza

Tabla 5. Resultados de pruebas físico-químicas de las cervezas.

Análisis	Unidades	Cerveza artesanal	Cerveza artesanal de mortíño
°Brix	°Bx	5	6
pH	-	4.5	4.7
Densidad	g/cm ³	1.0084	1.0101
Azúcares	g/L	2.9	3.3
Alcohol	% v/v	3.25	3.9

Fuente. (Los autores, 2026)

Los resultados de las pruebas físico-químicas presentadas en la tabla 5, evidencian diferencias entre la cerveza artesanal y la cerveza artesanal de mortíño, lo cual sugiere que la incorporación del fruto influye en las características sensoriales del producto final.

En los grados °Brix la cerveza artesanal de mortíño obtuvo el valor mayor (6 °Brix) en comparación con la cerveza control (5 °Brix), en conjunto con estos datos, el contenido de azúcares

también demuestra un comportamiento similar, mostrando a la cerveza de mortiño con un valor superior de (3.3) con respecto a la cerveza artesanal base con (2.9).

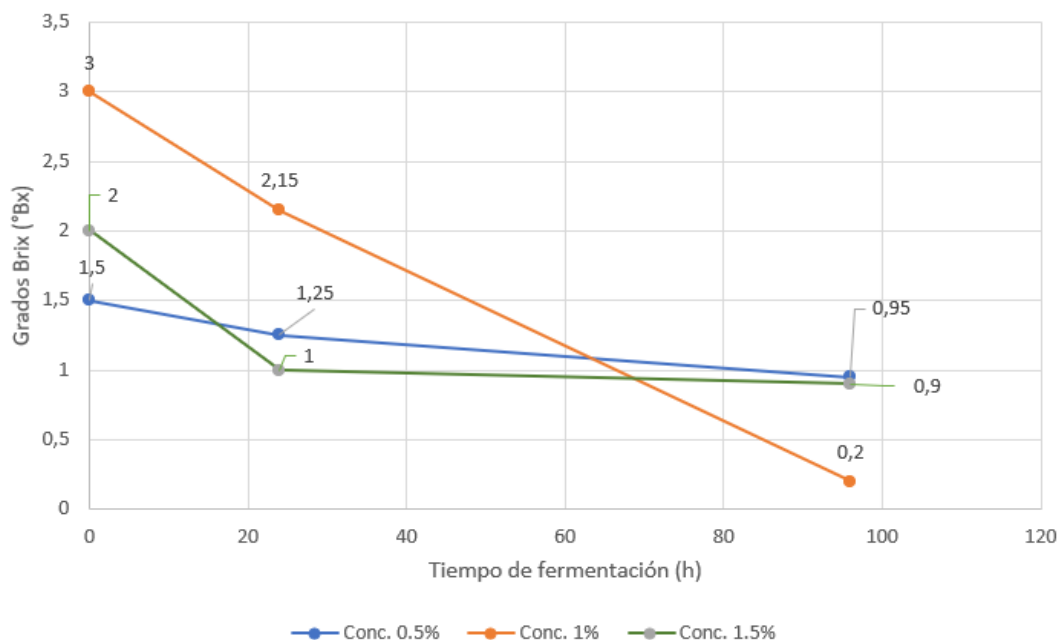
En cuanto al pH, ambos lotes de cerveza mostraron valores ácidos propios del proceso fermentativo, sin embargo, la cerveza de mortiño mostró un pH ligeramente superior con (4.7) frente a la cerveza artesanal con (4.5). Esto puede deberse a la presencia de compuestos fenólicos del mortiño.

La densidad y contenido alcohólico alcanzó un valor superior para la cerveza artesanal de mortiño, por lo cual se sugiere que la adición de este fruto en la producción de cerveza artesanal contribuye al aumento en la disponibilidad de azúcares fermentables.

Desde el punto de vista sensorial, el análisis visual permite identificar diferencias en la coloración de cervezas de acuerdo con las escalas de SRM y EBC. La cerveza artesanal presentó una coloración correspondiente a un valor aproximado de 18, es decir con tonalidad más oscura y con un perfil aromático caracterizado por notas amargas, intensas y ligeramente agrias. En contraste la cerveza artesanal elaborada con mortiño se ubicó en una tonalidad cercana a 6 SRM/ EBC, presentando un aroma dulce, suave y frutal.

4.3. Resultados cinética fermentativa *Saccharomyces cerevisiae*.

Figura 6. Cinética fermentativa de *Saccharomyces cerevisiae* durante la fermentación del hidrolizado ácido de bagazo cervecero a diferentes concentraciones, determinada por la variación de grados Brix en función del tiempo.



Fuente. (Los autores, 2026)

El estudio demostró que las concentraciones del ácido diluido (H_2SO_4) influyen en la actividad metabólica del organismo utilizado (*S. cerevisiae*) siendo la condición óptima el del tratamiento con una concentración de ácido sulfúrico al 1% en el cual se obtuvo un valor de $3^\circ Bx$ a las 0 horas y presentando una caída hasta llegar a $0,2^\circ Bx$ a las 96 horas, lo que se traduce en mayor actividad de la levadura y por ende una fermentación positiva y óptima (Figura 6). Esto es debido a que la concentración utilizada permite que se rompa la matriz lignocelulósica del bagazo de cerveza y por ende se dé la liberación de azúcares fermentables y; por otro lado, no inhibe la actividad de la levadura, permitiendo que esta genere una fermentación activa y positiva.

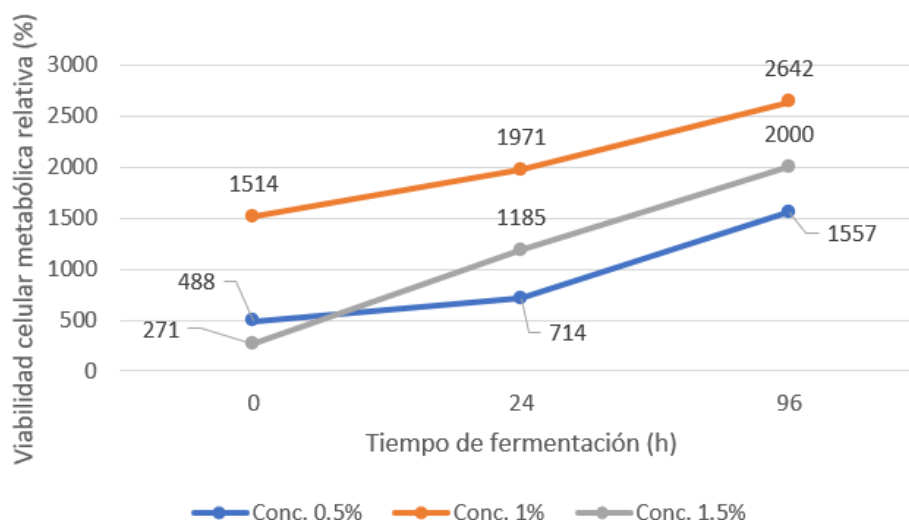
En el caso de la concentración al 0.5% de H_2SO_4 se puede deducir que la concentración de levadura utilizada era muy baja y esto no permitió que la matriz lignocelulósica se rompa y

que por ende no hay liberación de azúcares. A esta concentración se obtuvieron resultados de 1.5°Bx a las 0 horas hasta llegar a 0.95°Bx a las 96 horas de evaluación (Figura 6). En cuanto al tratamiento al 1.5% H₂SO₄ se puede concluir que si bien favorece a la liberación de azúcares también provocaría la formación de inhibidores. Esta concentración obtuvo resultados de 2°Bx a las 0 horas hasta 0.9°Bx a las 96 horas (Figura 6).

Estos resultados se pueden contrastar con la información de Rojas Chamorro, en cuyo estudio se refleja que la condición más favorable fue el tratamiento con una concentración del 1% de H₂SO₄ con parámetros similares a los utilizados en el presente estudio.

4.4. Viabilidad celular de la *Saccharomyces cerevisiae*.

Figura 7. Viabilidad celular metabólica relativa de *Saccharomyces cerevisiae* durante la fermentación alcohólica del bagazo cervecero.



La Figura 7 muestra la viabilidad celular metabólica relativa de *Saccharomyces cerevisiae* durante la fermentación alcohólica del bagazo cervecero, evaluada a diferentes concentraciones de ácido sulfúrico (0,5 %, 1 % y 1,5 %) en tiempos de 0, 24 y 96 horas de fermentación.

Desde el inicio del proceso (0 h), se observaron diferencias en la viabilidad celular entre los tratamientos. La concentración de 1 % de H_2SO_4 presentó el valor más alto de viabilidad metabólica relativa (1514 %), seguida por la concentración de 0,5 % (488 %) y 1,5 % (271 %).

A las 24 horas de fermentación, la viabilidad celular aumentó en todos los tratamientos, siendo la concentración de 1% como la de mayor respuesta metabólica (1971 %). La concentración de 1,5 % mostró un incremento considerable (1185 %), mientras que la concentración de 0,5 % presentó el menor valor relativo (714 %).

Al final del proceso fermentativo (96 h), se evidenció un incremento sostenido de la viabilidad celular en los tres tratamientos. La mayor viabilidad se registró nuevamente en la concentración de 1 % de H_2SO_4 (2642 %), seguida por 1,5 % (2000 %) y 0,5 % (1557 %). Los valores de viabilidad celular expresados en porcentaje corresponden a una viabilidad metabólica relativa, calculada con respecto a un control positivo ajustado a 0,5 unidades de la escala McFarland (100 %).

Por el lado de viabilidad celular se pudo observar que en el tratamiento de concentración al 1% de H_2SO_4 se dió una actividad metabólica favorable sujeta a la presencia o a una alta concentración de levaduras, dando a entender que el hidrolizado obtenido y al cual se añadió la levadura no era nocivo para el microorganismo usado, permitiendo que su desempeño sea favorable y que hay una mejor adaptación al medio que en comparación con las otras.

En el tratamiento con 0.5% de H_2SO_4 se observa la reducción de la actividad metabólica al existir una limitación en cuanto a la liberación de los azúcares fermentables, lo que sugiere un ambiente un poco más estresante para la levadura.

En el tratamiento con 1.5% de H₂SO₄ se notó una disminución en la viabilidad celular, es decir que la actividad metabólica de *S. cerevisiae* fue afectada posiblemente por la presencia de inhibidores obtenidos durante la hidrólisis ácida.

Capítulo 5

Conclusiones y recomendaciones

5.1. Conclusiones

Este estudio dio paso a la evaluación de la cinética fermentativa y a la viabilidad celular de *Saccharomyces cerevisiae* en el proceso de fermentación alcohólica del bagazo cervecero proveniente de la elaboración de cerveza artesanal de mortiño (*Vaccinium floribundum*), demostrando lo viable de este residuo como materia prima para la obtención de bioetanol. A partir de la elaboración de cerveza se consiguió un bagazo con características fisicoquímicas y composición proximal adecuadas para su aplicación biotecnológica.

A partir de este residuo, se obtuvo bioetanol gracias a la conversión de carbohidratos del bagazo en azúcares fermentables mediante la aplicación de hidrólisis ácida diluida y fermentación anaeróbica. Por otro lado, se observó que la concentración del ácido influyó en el desempeño fermentativo y la viabilidad de la levadura.

En conclusión, los datos obtenidos nos demuestran que el bagazo cervecero es una biomasa con potencial para procesos de valorización direccionados a la producción de biocombustibles.

5.2. Recomendaciones

Se recomienda tener en consideración las condiciones del pretratamiento ácido, ya que esto va a favorecer y maximizar la liberación de azúcares fermentables y minimizar la aparición de inhibidores que afecten nuestro proceso.

También, se sugiere la cuantificación por cromatografía de azúcares y etanol con la finalidad de obtener datos más precisos del proceso de fermentación en estudios futuros.

Por último, se recomienda la evaluación de otras cepas de *Saccharomyces cerevisiae* que tengan una tolerancia superior a ciertos compuestos formados (inhibidores) que se den durante la hidrólisis ácida y así tener una mayor eficiencia en el proceso fermentativo.

Bibliografía

- Agrawal, D., Gopaliya, D., Willoughby, N., Khare, S. K., & Kumar, V. (2022). Recycling potential of brewer's spent grains for circular biorefineries. *Current Opinion In Green And Sustainable Chemistry*, 40, 100748. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2022.100748>
- Aldaz, J. C., Andreu-Coll, L., Font, R. M., & García, F. H. (2024). The Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth): a review of its suitability as a promissory crop in the Ecuadorian Paramo and its potential uses, environmental role, and health benefits. *European Food Research and Technology*, 250(8), 2103–2109. <https://doi.org/10.1007/s00217-024-04546-4>
- Algazzali, V., Shellhammer, T. H., & Parker, D. A. (2021). Hop-derived compounds and their impact on beer bitterness and aroma. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 79(3), 210–220.
- Aradwad, P., Raut, S., Abdelfattah, A., Rauh, C., & Sturm, B. (2025). Brewer's spent grain: Unveiling innovative applications in the food and packaging industry. *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*, 24(3), e70150. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.70150>
- Arcentales-Bastidas, D., Silva, C., & Ramirez, A. (2022). The Environmental Profile of Ethanol Derived from Sugarcane in Ecuador: A Life Cycle Assessment Including the Effect of Cogeneration of Electricity in a Sugar Industrial Complex. *Energies*, 15(15), 5421. <https://doi.org/10.3390/en15155421>

- Arhin, S. G., Cesaro, A., Di Capua, F., & Esposito, G. (2023). Acidogenic fermentation of food waste to generate electron acceptors and donors towards medium-chain carboxylic acids production. *Journal of Environmental Management*, 348(119379), 119379. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119379>
- Assandri, D., Pampuro, N., Zara, G., Cavallo, E., & Budroni, M. (2020). Suitability of composting process for the disposal and valorization of brewer's spent grain. *Agriculture*, 11(1), 2. <https://doi.org/10.3390/agriculture11010002>
- Avila, J. M. S., Noboa, J. W. D., Rivera, F. R. P., & Quezada, J. P. S. (2020). Estimación del potencial de producción de bioetanol para los residuos de la corteza del cacao en Ecuador. *Ciencia Y Tecnología Agropecuaria*, 21(3), 1–20. https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1429
- Bamforth, C. W. (2021). *Beer: A quality perspective*. Academic Press.
- Briggs, D. E., Boulton, C. A., Brookes, P. A., & Stevens, R. (2021). *Brewing: Science and practice*. Woodhead PuBeluhan, S., Mihajlovski, K., Šantek, B., & Šantek, M. I. (2023). The Production of Bioethanol from Lignocellulosic Biomass: Pretreatment Methods, Fermentation, and Downstream Processing. *Energies*, 16(19), 7003. <https://doi.org/10.3390/en16197003>
- Brewers Association. (2023). *Craft brewer definitioblishing*.
- Bokulich, N. A., & Bamforth, C. W. (2021). The microbiology of malting and brewing. *Microbiology Spectrum*, 9(2), e00432-21.
- Cantos, M. Á. L., Villafuerte, A. N. M., Castro, C. R. P., & García-Loor, G. M. (2023). Proceso de Producción de Cerveza Artesanal. Explorando dos Formulaciones: IPA al Estilo Británico y Tripel Belga. *Revista Científica Y Arbitrada Del Observatorio*

Territorial Artes Y Arquitectura FINIBUS, 6(11), 1–14.
<https://doi.org/10.56124/finibus.v6i11.0001>

Caranqui-Aldaz, J. M., Muelas-Domingo, R., Hernández, F., & Martínez, R. (2022). Chemical Composition and Polyphenol Compounds of *Vaccinium floribundum* Kunth (Ericaceae) from the Volcano Chimborazo Paramo (Ecuador). *Horticulturae*, 8(10), 956. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8100956>

Cheng, Y., Pan, H., Zhang, J., Gao, M., Wang, Y., Lu, Y., Rao, Y., Yu, C., & Wu, C. (2025). Enhancing methane production in two-phase anaerobic digestion of perishable organic waste: Mini-review on acidogenic fermentation pathways and regulatory strategies. *Bioresource Technology*, 424(132253), 132253. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2025.132253>

Córdova, G. E., Figueroa, M. G. R., De La Cruz, E. V., Tarazona, J. P. H., Jara, M. R. A., Cotos, M. R. C., Llica, E. R., Aguilar, T. T., Gutiérrez, A. G., & Espichán, F. (2023). Caracterización fisicoquímica y capacidad antioxidante del extracto de *Vaccinium Floribundum* Kunth “Pushgay”. *Revista De La Sociedad Química Del Perú*, 89(3). <https://doi.org/10.37761/rsqp.v89i3.437>

Dalbanjan, N. P., Korgaonkar, K., Kadapure, A. J., Halladamani, S. B., Ramangouda, G., & Kumar S. K, P. (2025). Green energy from waste: Evaluating the sustainability of anaerobic biofuel technologies. *The Microbe*, 7(100410), 100410. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2025.100410>

Devi, A., Bajar, S., Sihag, P., Sheikh, Z. U. D., Singh, A., Kaur, J., Bishnoi, N. R., & Pant, D. (2023). A panoramic view of technological landscape for bioethanol production from various generations of feedstocks. *Bioengineered*, 14(1), 81-112. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2095702>

- Eche, V., Emenike, C. U., & Rupasinghe, H. P. V. (2025). Nutritional Value of Brewer's Spent Grain and Consumer Acceptance of Its Value-Added Food Products. *Foods*, 14(16), 2900. <https://doi.org/10.3390/foods14162900>
- Ferreira, L. L., Ramos, M. D., Milessi, T. S., Piva, V. F., Cabral, B. V., & Lemos, D. A. (2025). Effect of biomass particle size on brewers' spent grain pretreatment for simultaneous isomerization and fermentation. *Biomass And Bioenergy*, 205, 108570. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2025.108570>
- Fumi, M. D., Galli, R., & Lambri, M. (2022). Sustainable fining agents in beer production. *Beverages*, 8(4), 67.
- Gómez-Corona, C., Escalona-Buendía, H. B., & Chollet, S. (2022). Craft beer consumers: Preferences and sensory drivers. *Food Research International*, 152, 110925.
- Grand View Research. (2023). *Craft beer market size, share & trends analysis report*.
- Hejna, A. (2021). More than just a beer—the potential applications of by-products from beer manufacturing in polymer technology. *Emergent Materials*, 5(3), 765–783. <https://doi.org/10.1007/s42247-021-00304-4>
- Jácome, J., & Herrera, M. (2021). Panorama de la cerveza artesanal en Ecuador. *Revista Economía y Negocios*, 12(2), 45–56.
- Kululo, W. W., Habtu, N. G., Abera, M. K., Sendekie, Z. B., Fanta, S. W., & Yemata, T. A. (2025). Advances in various pretreatment strategies of lignocellulosic substrates for the production of bioethanol: a comprehensive review. *Discover Applied Sciences*, 7(5). <https://doi.org/10.1007/s42452-025-06748-1>
- Kunze, W. (2020). *Technology brewing and malting* (6th ed.). VLB Berlin.

- Llvisaca-Contreras, S. A., León-Tamariz, F., Manzano-Santana, P., Ruales, J., Naranjo-Morán, J., Serrano-Mena, L., Chica-Martínez, E., & Cevallos-Cevallos, J. M. (2022). Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth): An Underutilized Superplant from the Andes. *Horticulturae*, 8(5), 358. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8050358>
- Miller, J. L., Smith, K., & Johnson, R. (2022). Alternative malts and local grains in craft brewing. *Journal of Cereal Science*, 105, 103463.
- Mitchell, D. A., & Nair, L. S. (2021). *Bioprocessing for value-added products from renewable resources: New technologies and applications*. Elsevier.
- Palmer, J. J., & Kaminski, C. (2023). *Water: A comprehensive guide for brewers*. Brewers Publications.
- Pérez, R. (2021). Industria cervecera artesanal en Quito y la transformación de bagazo de la cerveza en harina. *Revista Conectividad*, 2(1), 57–70. <https://doi.org/10.37431/conectividad.v2i1.21>
- Pires, E. J., Teixeira, J. A., Brányik, T., & Vicente, A. A. (2021). Yeast diversity and its applications in craft beer brewing. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105, 4321–4335.
- ProEcuador. (2022). *Sector bebidas: Panorama de la cerveza artesanal ecuatoriana*.
- Rahimieh, A., & Nosrati, M. (2024). A review on biochemistry, microbiology and thermodynamic aspects of propionate: The key intermediate in the anaerobic digestion and wastewater treatment. *Desalination and Water Treatment*, 317(100191), 100191. <https://doi.org/10.1016/j.dwt.2024.100191>
- Ribeiro-Sanches, M. A., Stochi, V. A. L., Borges-Machado, A. L., Augusto, P. E. D., Polachini, T. C., & Telis-Romero, J. (2024). Valorization of brewer's spent grains (BSG) through alkaline hydrogen peroxide processing: Effect on composition, structure

and rheological properties. *Food And Bioproducts Processing*, 147, 239-250.
<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2024.07.008>

Rojas-Chamorro, J. A., Romero, I., López-Linares, J. C., & Castro, E. (2020). Brewer's spent grain as a source of renewable fuel through optimized dilute acid pretreatment. *Renewable Energy*, 148, 81–90. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.12.030>

Schwarz, I., Rupp, M., Frank, O., Daschner, A., & Weuster-Botz, D. (2024). (S)-2-Hydroxyisovalerate Production from d-Xylose with CO-Converting *Clostridium ragsdalei*. *Fermentation*, 10(11), 546. <https://doi.org/10.3390/fermentation10110546>

Shellhammer, T. H. (2020). Hop chemistry and beer flavor. *Annual Review of Food Science and Technology*, 11, 63–84.

Statista. (2024). *Craft beer market worldwide*.

Stewart, G. G. (2022). Biotechnological advances in brewing yeast. *Fermentation*, 8(10), 520.

Stewart, G. G., & Hill, A. E. (2022). Yeast physiology in brewing. *Journal of the Institute of Brewing*, 128(1), 1–10.

Świątek, K., Gaag, S., Klier, A., Kruse, A., Sauer, J., & Steinbach, D. (2020). Acid hydrolysis of lignocellulosic biomass: sugars and furfurals formation. *Catalysts*, 10(4), 437.
<https://doi.org/10.3390/catal10040437>

Woźniak, A., Kuligowski, K., Świerczek, L., & Cenian, A. (2025). Review of Lignocellulosic Biomass Pretreatment Using Physical, Thermal and Chemical Methods for Higher Yields in Bioethanol Production. *Sustainability*, 17(1), 287.

Yan S.D., 2024, The biochemical basis of ethanol fermentation and its industrial applications, *Bioscience Evidence*, 14(5): 238-249 (doi: 10.5376/be.2024.14.0025)

Zeko-Pivač, A., Tišma, M., Žnidaršič-Plazl, P., Kulisic, B., Sakellaris, G., Hao, J., & Planinić, M. (2022). The Potential of Brewer's Spent Grain in the Circular Bioeconomy: State of the Art and Future Perspectives. *Frontiers In Bioengineering And Biotechnology*, *10*, 870744. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.870744>

Anexos

Anexo 1. Limpieza y liofilización del mortiño.



Fuente. (Los autores, 2026)

A) Clasificación manual, limpieza y almacenamiento del fruto en ultracongelación. B) Pesaje del mortiño para ubicación en el liofilizador. C) Colocación de los frutos en una capa uniforme de papel aluminio para facilitar la extracción de humedad. D) Ubicación de las muestras en las cámaras del liofilizador.

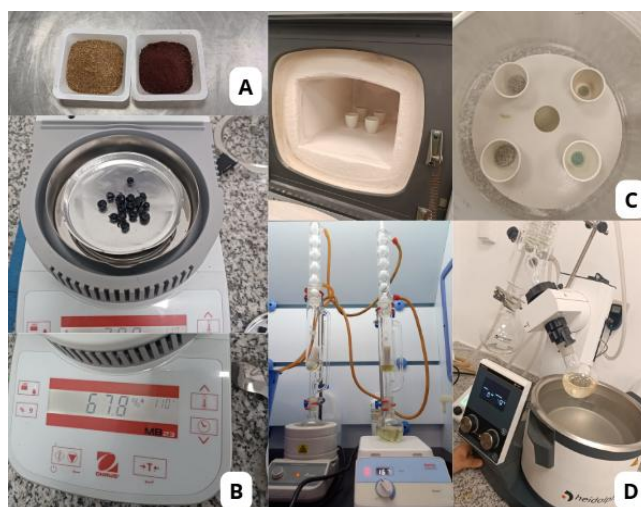
Anexo 2. Elaboración de cerveza artesanal.



Fuente. (Los autores, 2026).

A) Molienda de malta. B) Adición de malta molida a olla en recirculación. C) Hervido del mosto. D) pesaje de mortiño liofilizado. E) Integración de mortiño a la cerveza en fase de fermentación.

Anexo 3. Análisis proximal.



Fuente. (Los autores, 2026)

A) Obtención de muestras secadas y tamizadas. B) Análisis de humedad al mortíno. C) Análisis de cenizas y obtención de resultados. D) Ejecución de análisis de grasas por soxhlet y recuperación de solvente por rotavapor.

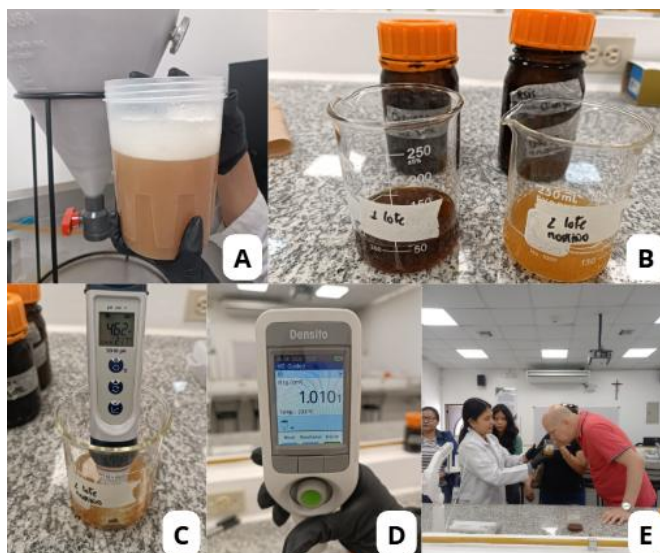
Anexo 4. Hidrólisis ácida y fermentación anaeróbica.



Fuente. (Los autores, 2026)

A) Obtención de bagazo cervecero. B) Secado, tamizado y pesaje del bagazo cervecero. C) hidrólisis ácida del bagazo a diferente concentración de H_2SO_4 . D) Filtración al vacío del hidrolizado. E) Ajuste de pH de los hidrolizados. F) Activación de levadura e inicio de fermentación alcohólica.

Anexo 5. Análisis físicoquímico y organoléptico de la cerveza artesanal.



Fuente. (Los autores, 2026).

A) Obtención de la muestra de cerveza, correspondiente a cada lote elaborado. B) Análisis visual de color y turbidez de la cerveza. C) Determinación del pH. D) Medición de la densidad. E) Evaluación sensorial del aroma de la cerveza, mediante la percepción olfativa de un panel de participantes.

Anexo 6. Medición de cinética fermentativa y viabilidad celular del bioetanol.



Fuente. (Los autores, 2026).

A) Observación de la generación de gases propios de la fermentación alcohólica. B) Toma de alícuotas del medio fermentativo en los tiempos establecidos. C) Centrifugación de las muestras, con el fin de separar la biomasa celular del sobrenadante. D) Medición de grados °Brix del sobrenadante. E) Incubación de muestra con reactivo TTC. F) Medición de la absorbancia de las muestras tratadas con TTC mediante espectrofotometría.