

Universidad de Costa Rica

Facultad de Ciencias Agroalimentarias

Escuela de Tecnología de Alimentos

Proyecto final de graduación presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos

Estudio observacional del efecto de la concentración de lúpulo y su tiempo de extracción mediante la técnica de *dry hopping* sobre el agrado en una cerveza estilo "American *Pale Ale*".

Elaborado por:
Mariano Calvo Montoya

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

San José, Costa Rica

Julio, 2020

Tribunal Examinador

MSc. Ileana Alfaro Álvarez
Directora del proyecto

PhD. Óscar Acosta Montoya
Asesor del proyecto

MSc. Marcia Cordero García
Asesora del proyecto

PhD. Érick Wong González
Presidente del Tribunal

PhD. Patricia Esquivel Rodríguez
Profesora designada

Dedicatoria

A Tía Sira y su espíritu inagotable que me enseñó a nunca rendirme.

A mis abuelas, mis padres y hermano, gracias por tanto amor y apoyo incondicional.

A la comunidad cervecera de Costa Rica, ¡Vamos a seguir haciendo grandes cosas!

Agradecimientos

Nuevamente a mi familia por darme una educación inigualable.

A la profe Ile, Marcia y Óscar por permitirme realizar mi trabajo final de graduación en el tema que tanto me apasiona, además de la guía y apoyo durante el proceso.

A la profe Elba por su asesoría y ayuda.

A Arturo, Laura, Bobby, Diana, Auro y Jane, compañeros y amigos de vida que hicieron de los años de universidad una experiencia increíble más allá de las aulas.

A Fuego Brew y Cervecería Escazú por el uso de sus instalaciones y equipo.

A Josh, amigo y mentor cervecero.

A Pat, Lola, Andrés y todo el equipo de Fuego que se han convertido en mi familia, gracias por el apoyo en este proceso y sobre todo en el panel sensorial.

A Jano, Sarah y todos los que me escucharon y aconsejaron en mis prácticas para la defensa oral.

Índice General

Tribunal Examinador	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Índice General.....	v
Índice de figuras.....	vii
Índice de cuadros.....	viii
1 Justificación.....	12
2 Objetivos	17
2.1 General	17
2.2 Específicos.....	17
3 Marco teórico.....	17
3.1 Proceso de elaboración de cerveza	17
3.1.1 Fermentación alcohólica del mosto.....	19
3.2 Generalidades del lúpulo	20
3.2.1 Compuestos del lúpulo.....	21
3.3 Adición de lúpulo post fermentación (<i>Dry hopping</i>)	22
3.3.1 Caracterización físico-química de la cerveza	24
3.4 Evaluación sensorial	24
3.4.1 Pruebas sensoriales orientadas al consumidor.....	24
3.4.2 Pruebas de aceptación	25
3.4.2.1 Escalas hedónicas: cuantificación de la aceptación	25
3.4.2.2 Prueba de agrado justo-correcto (<i>Just about right</i>).....	27
3.4.2.3 Usos y significancia de la escala justo-correcto	28
3.4.2.4 Limitaciones de la escala justo-correcto	29
3.4.3 Genética y agrado de compuestos amargos.....	30
3.4.4 Rueda de sabores.....	30
4 Materiales y métodos.....	31
4.1 Localización del proyecto.....	31
4.2 Materia prima	32
4.2.1 Cerveza Base.....	32
4.2.2 Lúpulos para <i>dry hopping</i>	33
4.3 Elaboración cerveza base	33
4.3.1 Formulación cerveza base	33
4.3.2 Descripción de etapas	36
4.3.3 Cerveza para pruebas preliminares	38
4.3.4 Cerveza para pruebas definitivas.....	38
4.4 Caracterización físico-química de la cerveza base	39
4.4.1 Descarbonatación de la muestra	39
4.4.2 Determinación de pH.....	39
4.4.3 Determinación del color (SRM: <i>Standard Reference Method</i>).....	39
4.4.4 Determinación del contenido de alcohol	39
4.4.5 Determinación de unidades de amargor (IBU).....	40
4.4.6 Pruebas para cervezas con adición de lúpulo post fermentación (<i>Dry hop</i>)	40
4.5 Pruebas preliminares de adición de lúpulo	41

4.5.1	Adiciones de lúpulos post fermentación por tiempos prolongados.....	41
4.5.2	Análisis de las pruebas preliminares de adiciones de lúpulos post fermentación por tiempos prolongados.....	42
4.6	Evaluación del efecto de la concentración de lúpulo post fermentación sobre la intensidad del sabor amargo y aroma de la cerveza <i>Pale Ale</i> en tiempos cortos de extracción.....	43
4.7	Determinación de sabor amargo y aroma ideales mediante la prueba justo-correcto (JAR).....	44
4.7.1	Definición de panelistas.....	44
4.7.2	Metodología de la prueba “justo-correcto” (JAR)	45
4.7.3	Prueba de detección de PROP.....	47
4.7.4	Análisis de datos obtenidos mediante la prueba “justo-correcto” (JAR).....	47
4.8	Evaluación del agrado general de la cerveza base, cerveza con <i>dry hopping</i> justo-correcto y cervezas “IPA” seleccionadas del mercado.	48
4.8.1	Selección de muestras del mercado para análisis prueba de agrado general.....	48
4.8.2	Definición de panelistas.....	48
4.8.3	Metodología de la evaluación de agrado.....	49
4.8.4	Análisis de datos de evaluación de agrado general.....	49
5	Resultados y Discusión.....	50
5.1	Pruebas preliminares: Efecto de la concentración de lúpulo post fermentación sobre la intensidad del sabor amargo y aroma de la cerveza <i>Pale Ale</i> en tiempos prolongados (4 a 7 días) de extracción.....	50
5.2	Resultados efecto de la concentración de lúpulo post fermentación sobre la intensidad del sabor amargo y aroma de la cerveza <i>Pale Ale</i> en tiempos cortos de extracción (48 horas).....	52
5.2.1	Resultados de la prueba “justo-correcto” para agrado por intensidad de sabor amargo. 52	
5.2.2	Resultados de la prueba “justo-correcto” para agrado por intensidad de aroma a lúpulo. 63	
5.2.3	Resultado de pruebas físicoquímicas de la cerveza base del estudio.	67
5.3	Resultados de la prueba de agrado general de las cervezas con tratamientos de adición de lúpulo post fermentación por tiempos cortos de extracción y muestras del mercado nacional.	68
6	Conclusiones y recomendaciones	72
7	Bibliografía.....	73
7.1.1	Referencias citadas	73
7.1.2	Referencias consultadas.....	82
8	Anexos.....	84

Índice de figuras

Figura 1. Proceso de elaboración de la cerveza “ <i>Pale Ale</i> ” con adición de lúpulo post fermentación (<i>dry hopping</i>). -----	35
Figura 2. Frecuencia de resultados registrados en la escala justo-correcto para la intensidad de sabor amargo para cada categoría, seleccionada por consumidores de cerveza artesanal. -----	53
Figura 3. Frecuencia de resultados registrados en la escala justo-correcto para la intensidad de sabor amargo para cada categoría, seleccionada por 45 consumidores de cerveza artesanal (PROP +), utilizando la escala JAR. -----	58
Figura 4. Frecuencia de resultados registrados en la escala justo-correcto para la intensidad de sabor amargo para cada categoría, seleccionada por 55 consumidores de cerveza artesanal (PROP -). -----	60
Figura 5. Frecuencia de resultados registrados en la escala justo-correcto para la intensidad de aroma para cada categoría, seleccionada por consumidores de cerveza artesanal utilizando la escala justo-correcto. -----	63
Figura 6. Rueda de sabores utilizada en pruebas preliminares de adición de lúpulo en tiempos prolongados. -----	86

Índice de cuadros

Cuadro I. Formulación de la cerveza estilo “American pale ale” a ser utilizada como base para la aplicación de distintas concentraciones y tiempos de <i>dry hopping</i> , formulación para 450 L de cerveza. -----	34
Cuadro II. Concentración de lúpulo y tiempo de extracción de los tratamientos preliminares prolongados de <i>dry hopping</i> utilizando lúpulo “El Dorado” para el estudio en la cerveza “pale ale”.-----	42
Cuadro III. Concentración de lúpulo para <i>dry hopping</i> utilizando lúpulo <i>El Dorado</i> con 48 horas de extracción para el estudio en la cerveza “pale ale”.-----	44
Cuadro IV. Frecuencia con que cada uno de los atributos provenientes del lúpulo obtiene una intensidad de 4 o superior y el promedio del atributo de las muestras de cerveza con distintos tratamientos preliminares de adición de lúpulo post fermentación para el estudio en la cerveza estilo “pale ale”.-----	51
Cuadro V. Resultados de la prueba binomial de los datos obtenidos de la prueba justo-correcto realizada a las muestras de cerveza pale ale con distintos tratamientos de <i>dry hopping</i> para determinar el agrado por intensidad de sabor amargo. -----	54
Cuadro VI. Resultados de la prueba binomial de los datos obtenidos de la prueba justo-correcto realizada a las muestras de cerveza pale ale con distintos tratamientos de <i>dry hopping</i> para determinar el agrado por intensidad de sabor amargo seleccionada por 45 consumidores de cerveza artesanal (PROP +) -----	59
Cuadro VII. Resultados de la prueba binomial de los datos obtenidos de la prueba justo-correcto realizada a las muestras de cerveza pale ale con distintos tratamientos de <i>dry hopping</i> para determinar el agrado por intensidad de sabor amargo seleccionada por 55 consumidores de cerveza artesanal (PROP -)-----	61
Cuadro VIII. Resultados de la prueba binomial realizada a los datos obtenidos de la prueba justo-correcto de las muestras de cerveza pale ale con distintos tratamientos de <i>dry hopping</i> para determinar el agrado por intensidad de aroma a lúpulo.-----	65
Cuadro IX. Parámetros físico químicos de la cerveza Pale Ale realizada para el estudio y dos cervezas comerciales del mercado. -----	67
Cuadro X. Resultados del análisis de varianza para la clase 1 de consumidores de cerveza artesanal (43 panelistas) que juzgaron los prototipos con tratamientos de <i>dry hopping</i> y las muestras comerciales para la evaluación del agrado general. Se utiliza $\alpha=0.05$.-----	68
Cuadro XI. Resultados de la prueba de comparación de medias de Tukey para determinar el agrado de cada muestra con tratamientos de <i>dry hopping</i> y las muestras comerciales. -	69

Cuadro XII. Resultados del análisis de varianza para la clase 2 de consumidores de cerveza artesanal (56 panelistas) que juzgaron los prototipos con tratamientos de *dry hopping* y las muestras comerciales para la evaluación del agrado general. Se utiliza $\alpha=0.05$.----- 71

Cuadro XIII. Media de agrado obtenido luego del análisis de varianza para la clase 2 de consumidores de cerveza artesanal (56 panelistas) que juzgaron los prototipos con tratamientos de *dry hopping* y las muestras comerciales para la evaluación del agrado general.----- 71

Resumen

Los cuatro ingredientes básicos de la cerveza son el agua, los cereales malteados, el lúpulo y la levadura. Cualquier variación en alguno de estos ingredientes dará un producto final con características distintas.

El lúpulo es la especia por excelencia utilizada para la cerveza, esta planta dará el sabor amargo característico de la bebida, gracias a las resinas presentes en sus flores. Estas resinas están compuestas por alfa ácidos que al isomerizarse con aplicación de calor se vuelven solubles y aportan dicho sabor amargo. Además, el lúpulo contiene aceites esenciales (terpenos en su mayoría) que pueden dar a la cerveza sabores y aromas muy apreciados.

Estos aceites son compuestos volátiles y termosensibles, por lo que de manera tradicional, el lúpulo se adiciona en varias etapas del proceso. Al inicio de la ebullición se adiciona con el fin de darle sabor amargo a la cerveza mientras que en las etapas tardías se adicionará con el fin de darles sabores y aromas a la bebida. Sin embargo, aún en las adiciones tardías ocurren pérdidas y deterioros de estos compuestos.

Una forma de obtener los compuestos aromáticos del lúpulo es su adición en el lado frío del proceso, a esta extracción se le conoce como *Dry hopping*. El proceso consiste en adicionar lúpulo en la cerveza luego de iniciado el proceso de fermentación. Esta extracción se realiza de muchas diversas maneras en la industria, algunas de las cuales emplean tiempos muy prolongados y cantidades importantes de lúpulo, que derivan en procesos ineficientes.

Debido a lo anterior, se busca evaluar tiempos y concentraciones de lúpulo aplicables en equipos industriales básicos, que permita mejorar las propiedades sensoriales de una cerveza estilo *Pale Ale*, estilo que se caracteriza por dar énfasis al sabor lupulado. Se utiliza el análisis sensorial como herramienta para

determinar el efecto la adición de lúpulo sobre el agrado de la cerveza, más específicamente a los consumidores.

Es sabido que las adiciones de lúpulo darán aroma y sabores a la cerveza, sin embargo, una extracción inadecuada podrá dar sabor amargo indeseado, por lo que se busca evaluar el efecto en estos dos atributos. Existe una escala de análisis sensorial, llamada escala justo-correcto (*Just about right*) que permite evaluar el efecto de los tratamientos que se realizan sobre un atributo en particular. Es decir, se logra evaluar el efecto de las distintas adiciones de lúpulo sobre el agrado por el aroma y por el sabor amargo de la bebida.

Se realiza un panel sensorial con 100 consumidores y se observó que un tiempo de 48 horas de contacto y una concentración de 7.5 g de aceite en lúpulos por HL de cerveza, obtiene una intensidad de aroma y de sabor amargo que el consumidor considera ideal al utilizar la escala de agrado justo-correcto.

Las cervezas realizadas con los tratamientos de *dry hopping* se comparan con cervezas de estilos IPA del mercado para comprobar que existe un efecto positivo en el perfil sensorial.

El panel sensorial de agrado arrojó dos grupos de consumidores, para el primer grupo, con una significancia del 5%, se obtiene que la muestra con adición de lúpulo con de 48 horas de contacto y una concentración de 7.5 g de aceite/ HL de cerveza obtiene un agrado igual a las muestras del mercado y superior a los otros tratamientos.

Por su lado, la segunda clase de consumidores obtiene un agrado igual para todas las muestras, con la misma significancia. Lo que indica que los tratamientos de afectan de manera negativa la cerveza y que su agrado es comparable con cervezas líderes del mercado.

1 Justificación

La cerveza es la bebida alcohólica más consumida a nivel mundial. En la actualidad existe una tendencia importante de consumo de cerveza artesanal (*craft beer*), por ejemplo, en Estados Unidos se reporta una producción de 2800 millones de litros anuales (24 millones de barriles de cerveza) (Watson & Herz, 2016). Costa Rica no escapa a esta tendencia, aumentando el consumo de cerveza en un 47% en los últimos seis años (Fernández, 2017).

Este aumento del consumo llegó en conjunto con un aumento en la cantidad de productores. En la actualidad la asociación de cerveceros artesanales del país cuenta con más de 100 asociados, de los cuales 39 se consideran micro cervecerías y un grupo de alrededor de 10 de ellas se encuentra trabajando en conjunto para exportar sus productos al mercado estadounidense y europeo (Avendaño Arce, 2018).

También es la bebida alcohólica con más historia, su producción y consumo se remonta hasta la época de Mesopotamia. El primer registro del uso de lúpulo en cerveza ocurrió en Alemania en 1079 y fue hasta la invención del microscopio en que Louis Pasteur identificó la levadura como responsable de la fermentación (Anderson, 2006).

A través de los años se desarrollaron gran variedad de estilos de cerveza que varían en color, sabor, aroma e historia. Actualmente Estados Unidos es el país líder en producción e innovación, además, es sede del Programa de Certificación de Jueces de Cerveza (BJCP), entidad que desarrolló una guía en donde clasifica todos los estilos de cerveza (Strong & England, 2015).

Los ingredientes esenciales de la cerveza son: agua, cereales malteados, lúpulo y levadura. El agua es el medio en el cual ocurrirán todos los procesos bioquímicos, iniciando con la maceración, en donde al ser mezclada con los

cereales permite extraer los azúcares para formar el mosto. Seguidamente se lleva a ebullición y se adiciona el lúpulo para obtener aromas y sabores deseables, el lúpulo adicionado al inicio será isomerizado a su forma soluble dando el amargor característico. Finalmente el mosto debe pasar por un proceso de fermentación en el que la levadura realiza transformaciones bioquímicas como la producción de alcohol y CO₂, para así obtener la cerveza (Briggs, Brookes, Stevens, & Boulton, 2004; Eaton, 2006).

En los últimos años se ha desarrollado una tendencia a buscar sabores más intensos que los estilos tradicionales dando mucho énfasis al uso de variedades nuevas y muy aromáticas de lúpulo en etapas post cocción, uso de frutas, fermentaciones alternativas, entre otros. En nuestro país, la tendencia se observa hacia el consumo y producción de estilos altamente lupulados, en donde las cervecerías líderes en venta tienen al menos una cerveza de este estilo en su catálogo.

El proceso de extracción de los componentes aromáticos del lúpulo en la etapa post cocción, conocido como *dry hopping*, consiste en adiciones de lúpulo a la cerveza una vez finalizada la etapa de ebullición (usualmente luego de la fermentación primaria) con el objetivo de impartir en ella sabores y aromas que de otro modo no sería posible obtener, mejorando así la calidad sensorial. Este proceso se suele aplicar en cervezas en donde se busca resaltar su contenido de lúpulo, principalmente estilos de fermentación alta (conocidas como “ales”) tales como “*American Pale Ale*” o “IPA” (De Keukeleirc, 2000).

Históricamente el término IPA se adjudicaba a las cervezas del estilo “*Indian Pale Ale*”, un estilo desarrollado en Inglaterra a finales de 1700, al que se le adicionaba lúpulo post fermentación para ser preservado en los viajes a la India. Actualmente el término IPA se redefinió y se emplea para los estilos de cerveza en donde destacan el sabor amargo y aroma del lúpulo (Strong & England, 2015).

Un estudio sobre la aplicación de lúpulo post cocción observa la transferencia de algunos de los principales terpenoides durante distintas etapas del proceso. Los niveles y composición de estos compuestos varían considerablemente en cada etapa. El estudio concluye que las adiciones de lúpulo post fermentación incrementan considerablemente la cantidad de compuestos que son responsables de sabores y aromas frutales y cítricos (Dresel *et al.*, 2013).

A pesar de lo anterior, el lúpulo tiene presentes algunos compuestos que podrían dar sensación de astringencia, sabor amargo intenso u otros sabores que no necesariamente se desean, esto puede llegar a la cerveza por una extracción inadecuada (Feng, 2014; Kishimoto, Wanikawa, Kono, & Shibata, 2006).

En nuestro país han existido dificultades para que las cervecerías de menor tamaño realicen adecuadamente el proceso de *dry hopping*. Algunos productores comentan que en sus productos existen sabores vegetales indeseados o sabor amargo excesivo (Rudd, 2018¹). Esto podría ser causado por tiempos muy prolongados de proceso, medición inexacta de lúpulo, falta de equipo y dificultad para realizar el proceso en ausencia de oxígeno. Es por esto por lo que se deben determinar las condiciones en las que mediante el *dry hopping* se obtenga una cerveza con intensidades de sabor amargo y aroma que el consumidor considere agradables.

Una de las principales metas de este proyecto es dar a los pequeños productores de cerveza artesanal una guía de las condiciones en las que se puede obtener una cerveza que el consumidor esté dispuesto a adquirir. La gran mayoría de micro cervecerías en la asociación de cerveceros artesanales de Costa Rica (ACACR) pertenecen a pequeños emprendedores con equipos

¹ Rudd, B. 4/8/2018. Entrevista personal. Dificultades para aplicar *dry hopping* en Costa Rica. San José, Costa Rica. Director de Innovación YCH Hops.

básicos y poco volumen de producción, por lo que no serían capaces de aplicar el lúpulo en las condiciones que la literatura recomienda: cortos tiempos, con agitación y ausencia de oxígeno (Feng, 2014; Wolfe, 2012). Debido a lo anterior, este trabajo se enfocará en determinar las condiciones de tiempo de extracción y cantidad de lúpulo, sin agitación, y reduciendo el oxígeno (utilizando una purga con CO₂) como se haría en las condiciones de una micro cervecería.

Para lograr determinar las condiciones de *dry hopping* que se buscan, se hará uso de la prueba de análisis sensorial llamada escala ideal justo correcto (*Just about right*). Esta es un acercamiento directo a la medida de la desviación de los niveles ideales de un atributo (Gacula, Rutenbeck, Pollack, Resurreccion & Moskowitz, 2007). Algunos autores describen esta escala como la que combina intensidad con el juicio hedónico (Rothman & Parker, 2009). En esta prueba los panelistas evaluarán las muestras con los distintos tratamientos de *dry hopping* e indicarán el nivel de agrado que sienten por cada uno de los atributos (sabor amargo y aroma).

Cabe mencionar que se ha asociado la capacidad genética de detección del 6-n-propiltiouracilo (PROP) con la aceptación de algunos alimentos amargos (Ly, 2001). Esto puede ser una fuente de variabilidad importante que se debe considerar en el estudio y se realizará una prueba a los panelistas para determinar si son capaces de detectar el compuesto y si esto tiene efecto sobre el agrado.

El análisis de los datos de la prueba JAR proveerá información sobre cuáles tratamientos darán los niveles ideales de cada atributo para la población de consumidores de cerveza artesanal. Sin embargo, es necesario evaluar si en efecto el producto final es aceptado por el consumidor. Por lo que se debe complementar con una segunda prueba de agrado general en la que los consumidores evalúan las muestras e indican qué tanto les gusta el producto (Lawless & Heymann, 2010). En esta prueba se incluirán cervezas comerciales y

una cerveza base sin tratamiento, de manera que se compruebe si el *dry hopping* tiene un efecto positivo sobre el producto final.

Contemplando todos estos aspectos, el objetivo de este trabajo final de graduación será evaluar el efecto de la concentración de lúpulo y su tiempo de extracción post fermentación en la cerveza sobre el agrado por sabor amargo y aroma y agrado general en la cerveza estilo "*Pale Ale*" o su variante "*Indian Pale Ale (IPA)*".

2 Objetivos

2.1 General

Evaluar el efecto de dos concentraciones y tiempos de extracción de lúpulo adicionado a la cerveza post fermentación, sobre el agrado en la cerveza estilo “*American Pale Ale*” o su variante “IPA”.

2.2 Específicos

- Determinar las condiciones de concentración de lúpulo y su tiempo de extracción que le otorguen a la cerveza agrado por su sabor amargo y por su aroma cercanos al ideal según consumidores al utilizar la escala “justo correcto” (JAR).
- Determinar el agrado general de las cervezas realizadas según lo obtenido en el primer objetivo para compararlo con cervezas de estilos similares (IPA y *American Pale Ale*) del mercado nacional.

3 Marco teórico

3.1 Proceso de elaboración de cerveza

La cerveza es la bebida acuosa fermentada producida a partir de granos malteados y especiada con lúpulo. Esta definición sencilla reúne sus cuatro ingredientes principales: agua, cereales, lúpulo y levadura. (De Keukeleirc, 2000). Una vez cosechada la cebada debe pasar por un proceso de malteado que consiste en permitir que germine para cambiar su composición física, producir enzimas y luego se someta a un proceso de secado que detenga la germinación, aumente su estabilidad y vida útil (Eaton, 2006).

El proceso de elaboración de cerveza da inicio con la molienda de los granos, esto para reducir el tamaño de partícula y facilitar la interacción con agua caliente. Esta mezcla da inicio al proceso denominado “maceración”. En este

proceso entre 62 y 69°C las enzimas (amilasas y proteasas) presentes en los granos malteados degradan los azúcares y proteínas complejas en azúcares simples y péptidos para formar un extracto soluble de malta denominado mosto (Eaton, 2006).

El mosto se debe separar de los granos, usualmente mediante un filtrado físico, utilizando la misma cáscara de los granos como cama filtrante. A estos granos se les realizan lavados de agua caliente (*sparging*) (alrededor de 71 °C) para obtener una mayor extracción y un mosto sin residuos sólidos listo para ser llevado a ebullición (Briggs *et al.*, 2004).

Con la ebullición (o cocción) se logran varios objetivos importantes: reducir a muy bajas cantidades las cargas de bacterias, mohos y levaduras salvajes, extraer los compuestos de amargor y aromas del lúpulo, coagular del exceso de proteínas y taninos que serán precipitados (lo que ayuda a la estabilidad de la espuma), formar color y aromas, así como también la eliminación de compuestos volátiles indeseados (tales como dimetilsulfato o DMS) (Anderson, 2006; Eaton, 2006).

Es durante la ebullición que se adiciona el lúpulo en la cerveza, el calor promueve la solubilidad y reacciones de varios componentes. Estos contribuyen a la estabilidad coloidal y formación de espuma al interactuar con proteínas y polipéptidos en solución, complementa la esterilización del mosto ya que tiene propiedades antibacteriales y brinda el sabor amargo característico una vez que sus alfa ácidos son isomerizados a sus formas *cis* y *trans* (De Keukeleirc, 2000; Roberts, Wilson, & Trellis, 2006).

Este proceso suele tomar alrededor de 60 a 90 minutos. Una vez cumplido este tiempo se debe enfriar el mosto prontamente, para evitar reabsorción de compuestos azufrados y evitar contaminaciones del ambiente (Briggs *et al.*,

2004). Posteriormente se inocula la levadura para dar inicio a la fermentación del mosto.

3.1.1 Fermentación alcohólica del mosto

Una vez que se tiene el mosto lupulado a temperatura de inoculación (según variedad y tipo de levadura) se debe empezar el proceso de fermentación, es acá donde se inocula la levadura y se permite que ocurran todos los cambios bioquímicos característicos de la fermentación, el proceso completo puede durar de 10 a 21 días (De Keukeleirc, 2000).

La levadura es el microorganismo encargado de transformar el mosto lupulado en cerveza y dar sus propiedades sensoriales. Tanto para levaduras del tipo *ale* y *lager* el proceso de fermentación es muy similar, este microorganismo utiliza los azúcares y proteínas para producir alcohol, CO₂, nuevas células de levadura y compuestos de sabor (ésteres, aldehídos, ácidos orgánicos, entre otros) (Munroe, 2006).

Al inicio de la fermentación la levadura se encuentra adaptándose a su nuevo medio e iniciando su reproducción (fase lag) donde se consumen las reservas de carbono y glucógeno para construir nuevas células. También se consume el oxígeno presente y prevalecen las condiciones anaerobias en las etapas posteriores (Briggs *et al.*, 2004; Munroe, 2006).

La levadura transporta azúcares a la célula para formar piruvato y metabolizarlo en etanol y dióxido de carbono que son excretados al medio. En las etapas finales de la fermentación conforme los azúcares se van agotando las células de levadura comienzan a flocular (precipitar). Una buena separación de levadura va a producir una cerveza limpia y fácil de manipular en las etapas siguientes (Eaton, 2006; Russell, 2006).

Durante la fermentación se producen algunos compuestos (intermediarios de la fermentación) que pueden ser desagradables en el producto final y deben ser reducidos o removidos, entre ellos se resalta el diacetilo, compuesto con sabor similar a la mantequilla que la levadura produce a partir del piruvato pero que con el debido tiempo será degradado por la misma levadura a acetoína y butanodiol, además, de compuesto azufrados (H_2S , SO_2 o DMS) que son volátiles y pueden ser arrastrados por el CO_2 liberado. (Munroe, 2006).

Las etapas post fermentación cuyo fin es obtener una cerveza más limpia se conocen como maduración y clarificación. Una vez terminadas estas etapas la cerveza puede ser carbonatada y empacada para su consumo (Barnes, 2006; Eaton, 2006).

Lo anterior resume, *grosso modo*, el proceso de elaboración de cerveza. Sin embargo, este proceso puede variar en temperaturas, tiempos, materias primas y cuanto factor el productor considere necesario u oportuno para obtener una cerveza de un estilo particular. Una nueva forma de empleo del lúpulo es su adición post ebullición, técnica conocida como *dry hopping*, esto con el objetivo de extraer su sabor y aroma sin la isomerización de sus compuestos.

3.2 Generalidades del lúpulo

El lúpulo, *Humulus lupulus*, pertenece a la familia *canabanacea*, se describe como dioica, es decir, que existen plantas hembras y machos, siendo las hembras las de importancia en la industria cervecera. Los conos de lúpulo consisten en un tallo central en el que se desarrollan estructuras similares a pétalos llamadas “brácteas” y “bractéolas”. Es en la base de las bractéolas que se desarrollan las glándulas de lupulina donde se encuentran los componentes más importantes en la elaboración de cerveza: las resinas y los aceites esenciales (Roberts *et al.*, 2006).

El lúpulo se suele comercializar fresco o en forma de pellets, siendo la segunda la más común por su alta estabilidad y vida útil. Para ello, luego de la cosecha,

debe someterse a un proceso de secado mediante aire caliente, buscando una humedad de 7 a 12% (Roberts *et al.*, 2006). El proceso da inicio con la molienda, preferiblemente a bajas temperaturas para evitar pérdidas de las resinas y aceites. La molienda resultante se recolecta en contenedores y se colocan en moldes que al aplicar presión con rodillos se da forma a los pellets (Hieronymus, 2012).

3.2.1 Compuestos del lúpulo

El lúpulo se compone principalmente de celulosa (>43%), resinas (15-20%), proteínas (15%), polifenoles (4%) y otros compuestos. La fracción de las resinas contienen la mayoría de los α -ácidos y β -ácidos, ellos consisten en series análogas de compuestos similares entre sí, conocidas como resinas “suaves”. Las tres formas mayores de α -ácidos son cohumulona, humulona y adhumulona, mientras que para los β -ácidos son colupulona, lupulona y adlupulona (Roberts *et al.*, 2006).

Dependiendo de la variedad, el lúpulo puede contener desde 0.4 a 2.5 ml/100 g de aceites esenciales (Mitter & Cocuzza, 2013), en variedades clásicas, y hasta 5 ml/100 g en variedades nuevas que se han desarrollado justamente buscando estos incrementos (Feng, 2014; Vollmer & Shellhammer, 2016).

Los mayores componentes de los aceites aromáticos son terpenos, dentro de los que el más abundante es el monoterpeno mirceno y los sesquiterpenos α -humuleno y β -cariofileno, estos tres compuestos forman alrededor del 80% del total de aceites. También están presentes diversa cantidad de compuestos oxigenados, incluyendo alcoholes, cetonas y ésteres (Forster & Gahr, 2013).

Un compuesto de mucha importancia en el perfil sensorial es el linalool, presente como dos enantiómeros, de los cuales, el R-linalol (D-2-linalool) es el que presenta importancia en el sabor final de la cerveza, ya que la cantidad presente

de este compuesto se relaciona con el carácter lupulado en el producto final (De Keukeleirc, 2000; Roberts *et al.*, 2006).

3.3 Adición de lúpulo post fermentación (*Dry hopping*)

La adición de lúpulo post hervor, ya sea en fermentación o posterior a ella es una práctica en cervecería que busca adicionar aromas y sabores de lúpulo sin el amargor asociado. Se realiza en el “lado frío” del proceso, es decir, no se realiza ningún proceso térmico. Una definición estricta de las condiciones en las que se realiza no es posible debido a la diversidad de prácticas actuales en distintas cervecerías (Wolfe, 2012).

El *dry hopping* se caracteriza por ser una extracción en frío de los compuestos volátiles y no volátiles del lúpulo a una matriz alcohólica (la cerveza). La técnica ha sido utilizada por cerveceros para incrementar la estabilidad de sabor y vida útil (Lafontaine & Shellhammer, 2018). Esta técnica se realiza cuando el lúpulo en conos, pellets o en extracto es añadido en alguna de las etapas de fermentación o en la maduración de la cerveza (Schnaitter *et al.*, 2016).

La estabilidad aromática del lúpulo es un tema de discusión importante en los cerveceros estadounidenses. Existen diversas publicaciones sobre la tecnología y técnicas de *dry hopping*. Se hace un énfasis en las dificultades que tienen los cerveceros para cuantificar la extracción y transferencia real de compuestos del lúpulo a la cerveza (Hieronymus, 2012; Borremans *et al.*, 2012 & Grinell, 2012 citados por Forster & Gahr, 2013).

Hieronymus (2012) recopiló información y testimonios de varias cervecerías de tamaño importante en Estados Unidos, Canadá e Inglaterra. La mayoría declara diferencias importantes según la variedad de lúpulo utilizado y momento de ser añadido.

Las posibles causas de las diferencias en aroma se deben a varios fenómenos, entre ellos: reacciones químicas (oxidación), interacción con otros ingredientes de la cerveza, reacciones enzimáticas, edad de la cerveza, empaque,

tecnologías empleadas (tiempos, temperaturas, técnicas de adición, cepa de levadura, conteo celular de levadura, entre otros) (Forster & Gahr, 2013).

Kishimoto *et al.*, (2006) realizaron una comparación de los compuestos volátiles en cervezas sin lúpulo y otras lupuladas con tres variedades distintas utilizando cromatografía de gases, olfatometría y análisis sensorial. Lograron identificar 27 compuestos provenientes del lúpulo responsables por el aroma asociado a flores, frutos cítricos, especias y vino. Estos compuestos pueden encontrarse presentes en el lúpulo o ser formados a partir de otros compuestos durante la fermentación.

Por otro lado, otra investigación analizó los compuestos de tres variedades de lúpulo (*Citra*, *Nelson Sauvin* y *Centennial*) y su contribución al aroma de la cerveza. Los aceites del lúpulo demostraron tener un patrón de composición similar, siendo los terpenos (tales como mirceno, β -cariofileno y α humuleno) los que se encuentran en mayor cantidad, mientras que el resto de los compuestos encontrados fueron terpenoides y ésteres alifáticos. El perfil aromático de cada cultivo de lúpulo fue distinguible y las diferencias entre variedades resultaron obvias (Feng, 2014).

Una evaluación de los factores que afectan la extracción de *flavor* (aroma y sabor) cuando se realiza *dry hopping* concluye que el tamaño y densidad de los pellets, en un periodo entre 24 horas y 7 días, no afecta de manera significativa las concentraciones de mirceno, linalool, humuleno, limonelo y geraniol (principales responsables del aroma y sabor del *dry hopping*) (Wolfe, 2012).

Este mismo estudio también sugiere que resulta favorable realizar extracciones en menores tiempos y con agitación, contrario a las prácticas usuales en las micro cervecerías. Asimismo se encontraron diferencias sensoriales importantes en aroma (intensidad y variedades), sabor amargo (intensidad y duración) y sensación de astringencia al aplicar agitación y reposo durante distintos tiempos de *dry hopping* (Wolfe, 2012).

Por otro lado, un estudio para la asociación de maestros cerveceros de América (MBAA) analizó el efecto de este tipo de adición de lúpulo en el sabor amargo de la cerveza y las unidades internacionales de amargor (IBU). Se comprobó que al adicionar lúpulo en *dry hopping* los resultados de la medición convencional espectrofotométrica de IBU son erróneos (Maye & Smith, 2016).

Lo anteriormente descrito se debe a que el proceso de *dry hopping* produce un aumento de alfa ácidos no isomerizados, que pueden afectar la percepción del sabor amargo, a un nivel mucho menos que su forma isomerizada, pero aun así tener un efecto perceptible. Estos compuestos interfieren con la prueba tradicional por lo que no se puede utilizar dicha prueba en cervezas con adiciones de lúpulo post fermentación (ASBC, 2011b; Maye & Smith, 2016).

3.3.1 Caracterización físico-química de la cerveza

Algunas propiedades físico químicas van a tener un efecto sobre la percepción de los sabores. En el caso de las cervezas es sabido que el dulce residual, contenido de alcohol y cantidad de lúpulo, juegan un papel importante en el sabor del brebaje obtenido. El dulzor y acidez pueden enmascarar la intensidad del sabor amargo, así como un bajo cuerpo (azúcar residual no fermentable), presencia de algunas sales o alto contenido de alcohol pueden más bien realzar dicha sensación (Meilgaard, 1982; Oladokun *et al.*, 2017). Por lo anterior; se van a monitorear algunos de estos parámetros en el presente estudio.

3.4 Evaluación sensorial

3.4.1 Pruebas sensoriales orientadas al consumidor

Las pruebas afectivas se clasifican en dos grandes grupos: las pruebas de aceptación y las pruebas de preferencia. Las pruebas de preferencia se basan en encontrar qué producto es elegido sobre otro, mientras que las pruebas de aceptación se conocen también como pruebas hedónicas y su objetivo es que el consumidor indique el nivel de agrado que siente hacia un producto (Lawless & Heymann, 2010). Para realizar las pruebas de aceptabilidad se pueden utilizar

pruebas de ordenamiento, escalas categorizadas y pruebas de comparación (Ramírez-Navas, 2012).

Algunos usos típicos de las pruebas con consumidores se dan cuando un producto está entrando al mercado, al reformular un producto (tanto en ingredientes, procesos o empaques) o al incursionar un producto de una categoría nueva comparándolo con la competencia. También es una oportunidad para recolectar información diagnóstica sobre los motivos por los que a un consumidor le agrada o desagrada un producto. Las razones del agrado se suelen evaluar con variedad de técnicas, tales como: cuestionarios abiertos, escalas de agrado o escalas justo-correcto (Lawless & Heymann, 2010).

Estas pruebas tienen como requisito que los panelistas sean consumidores del producto en estudio (Ramírez-Navas, 2012 citado por Jara, 2018) y no sería correcto utilizar un panel entrenado debido a que éste no se considera un consumidor típico (Clark, Costello, Drake, & Bodyfelt, 2009a).

Los métodos que utilizan una escala para medir el agrado sensorial de un producto tienen distintas ventajas sobre los métodos de escogencia de un producto. También permite determinar si el producto es gustado o no, en un sentido absoluto. Además, se puede inferir si existe superioridad de agrado de un producto sobre otro. Por estos motivos muchos profesionales del análisis sensorial consideran las pruebas de agrado una mejor opción que las pruebas de preferencia (Lawless & Heymann, 2010).

3.4.2 Pruebas de aceptación

3.4.2.1 Escalas hedónicas: cuantificación de la aceptación

Una de las formas más comunes de cuantificar el agrado es mediante el uso de la escala hedónica. Esta escala asume que existe preferencia del consumidor en un continuo y que puede ser categorizada en respuestas que se basan en gusto y disgusto (Lawless & Heymann, 2010).

Existen numerosos estudios que utilizan escalas lineales (escalas análogas visuales, VAS “*Visual Analog Scales*” por sus siglas en inglés) y desde los años 70 se convirtieron en el método estándar del análisis descriptivo (Lawless & Heymann, 2010). Recientemente otras versiones de las escalas con anclas y marcadores equidistantes en la escala fueron estudiadas por Villanueva y colegas. Se encontraron ventajas en la diferenciación de productos y segmentos de mercado al usar la escala de 9 puntos (Villanueva & Da Silva, 2009; Villanueva, Petenate, & Da Silva, 2005).

A pesar de lo descrito anteriormente, desde un punto de vista estadístico, las ventajas sobre escalas con otro número de puntos son pequeñas (Lawless, Popper, & Kroll, 2010). Una versión simplificada de la escala con 3 puntos fue usada por Wright (2007, citado por Lawless & Heymann, 2010) en donde los extremos fueron anclados como “el mayor agrado (desagrado) imaginable” obteniendo buenos resultados en discriminación y precisión.

Por su lado, Jara (2018) comparó el análisis tradicional, escala de 9 puntos, con un tipo de análisis basado en la teoría de detección de señales llamado el índice R para ordenamiento y además tradujo la escala del inglés a español costarricense. Concluyó que el índice R_{JM} obtiene mayores diferencias que los métodos tradicionales en dos tamaños de muestras.

A pesar de lo anterior, el objetivo de aplicar la prueba de agrado en la presente investigación es comparar muestras del mercado con algunos prototipos de cerveza con los distintos tratamientos de *dry hopping*, y comprobar si existe un mayor agrado de las muestras con tratamientos versus el control, además de esto, se utiliza una escala en español y otra en inglés, y no se puede asegurar que las traducciones tengan el mismo espacio psicológicos entre las distintas categorías, por lo que una escala lineal con tres anclas mitigará los posibles efectos de usar distintos idiomas y los espacios mencionados.

Por su lado, es sabido que la percepción del sabor y el agrado por distintos atributos va a ser distinto entre cada persona (Clark, Costello, Drake, & Bodyfelt,

2009b). Por lo que sería erróneo agrupar a todos los consumidores, para disminuir este efecto existen pruebas estadísticas que identifican similitudes y tendencias entre el total de respuestas de modo que se obtienen grupos similares. Uno de los ejemplos más utilizados es el análisis jerárquico de conglomerados, que permite identificar dichos grupos en pruebas con consumidores (MacFie & Piggott, 2011).

Estas pruebas consisten en medir las distancias entre cada una de las respuestas, mediante una métrica matemática (distancia euclidiana, distancia de bloques, entre otras) y definir un criterio de enlace (o aglomeración), el cual especifica la disimilitud como una función de las distancias, dos a dos, entre observaciones en los conjuntos. Existen varios criterios: agrupamiento máximo, mínimo y promedio, la suma de todas las varianzas intra-grupo, el decrecimiento en la varianza para los grupos que están siendo aglomerados (criterio de Ward); entre otros (Hastie, Tibshirani, & Friedman, 2009).

3.4.2.2 Prueba de agrado justo-correcto (*Just about right*)

Las escalas justo-correcto son comúnmente usadas en investigaciones con consumidores para identificar si un atributo particular del producto se percibe como muy intenso, poco intenso o en la intensidad justa o correcta. Esta prueba utiliza una escala que combina la intensidad de un atributo con el juicio hedónico (Rothman & Parker, 2009).

Este tipo de escalas son bipolares, es decir cuentan con anclas opuestas en los extremos y un punto central. Estas anclas suelen ser frases que indican la intensidad de un atributo en particular, por ejemplo: “muy poco dulce”, “poco salado”, “muy ácido” o “ácido en exceso”. Por su lado, el punto central suele ser etiquetado como el atributo evaluado seguido de “justo” o “correcto” (Lawless & Heymann, 2010). Las escalas justo-correcto miden el nivel de un atributo en relación a la intensidad teórica que cada persona considera ideal (Rothman & Parker, 2009).

Esta escala ha sido diseñada para medir la reacción de los consumidores hacia un atributo en particular, se ha popularizado su uso gracias a la información directa que brindan sobre un atributo y como este se pueda optimizar y es de gran utilidad para el desarrollo de productos o cambios en formulaciones (Gacula *et al.*, 2007).

3.4.2.3 Usos y significancia de la escala justo-correcto

Los datos obtenidos de las pruebas con consumidores se utilizan a menudo para ayudar al desarrollo de los productos. Estos pueden resultar de pruebas hedónicas o de aceptabilidad, medidas de preferencia, medidas de intensidad o fuerza de atributo y medidas justo-correcto (JAR). Las escalas de intensidad hedónica y de atributos proporcionan distintas clases de información, mientras que las escalas JAR pretenden combinar intensidad y aceptabilidad para relacionar la fuerza percibida de atributos específicos con el óptimo teórico del encuestado (Rothman & Parker, 2009).

Los investigadores de mercado han usado las escalas JAR de forma rutinaria desde la década de 1960, aunque no siempre se las denominó escalas JAR. Más recientemente, las escalas JAR se han utilizado junto con medidas de preferencia o aceptación como herramienta de diagnóstico para comprender la base de estas respuestas hedónicas, con el objetivo de proporcionar información sobre qué atributos de productos ajustar y en qué dirección (aumentar o disminuir). De esta manera, las escalas JAR proporcionan orientación al desarrollador del producto (Lawless, 2013; Lawless & Heymann, 2010).

El uso apropiado de las escalas JAR es cuando el objetivo de la investigación es entender la reacción del panelista respecto a la intensidad de un atributo específico, comparado a lo que el panelista considera es “ideal” en el producto evaluado. Son particularmente útiles cuando los componentes del producto no han sido variados de forma sistemática o su efecto sobre dicho producto no es lineal, cuando se compara un producto con su competencia o para evaluar prototipos (Gacula *et al.*, 2007; Rothman & Parker, 2009).

Algunas otras ventajas que ofrece el uso de esta escala son: sus resultados puede ser tomados como una guía para formulaciones, puede ayudar a identificar segmentos de poblaciones, ayuda a entender cuáles atributos tienen un impacto sobre el agrado del producto (al ser usadas en conjunto con una prueba de agrado). Su análisis puede ser desde muy sencillo hasta muy complejo según los objetivos de la investigación y recursos estadísticos disponibles (Rothman & Parker, 2009).

3.4.2.4 Limitaciones de la escala justo-correcto

Existe controversia sobre el uso de las escalas JAR debido a que tienen problemas y limitaciones con respecto a su utilidad e interpretaciones, entre ellas: la capacidad de los encuestados para comprender las anclas y los intervalos de las escalas, el número de puntos en la escala y los problemas psicológicos comunes del uso de escalas cuantitativas (Xion, Findlay, & Meullenet, 2007).

Al utilizar escalas en análisis sensorial hay riesgos de posibles errores, se podría mencionar los asociados a la relevancia que el panelista le da al atributo seleccionado, errores por expectativas en lugar de la percepción real, errores de contraste, errores de contexto, sesgo por centrado y frecuencia de las categorías de la escala, interpretación de los atributos, entre otras (Chinnasamy, Jin, & Clark, 2014; Lawless, 2013).

Además, existen riesgos que son únicos de las escalas JAR, entre ellos, cuando se sospecha que las respuestas son resultados de procesos cognitivos en vez de sensoriales, por ejemplo, un panelista puede que le guste el sabor de un postre tal cuál es; sin embargo, al ser encuestado puede que responda que es “muy dulce” por el estigma alrededor de los alimentos dulces (Rothman & Parker, 2009).

Otras limitaciones importantes serían la escogencia adecuada de atributos. Se conoce que existen atributos que el panelista rara vez seleccionará como justo-

correcto (cantidad de nueces en barras de chocolate por ejemplo), ya que puede haber sesgos de cada panelista, porque este no sepa qué es un punto “ideal” de un atributo. Por ejemplo, aspectos del tamaño de muestra y tiempo de consumo ya que puede que en una muestra pequeña el producto sea evaluado de una manera pero que al consumir una porción completa del producto la sensación sea distinta. Además los segmentos de poblacionales pueden ser problema si no son tomados en cuenta (Rothman & Parker, 2009).

3.4.3 Genética y agrado de compuestos amargos

Como se mencionó con anterioridad, se ha asociado la capacidad genética de detección del 6-n-propiltiouracilo (PROP) y otros compuestos, con una mayor sensibilidad a la percepción del amargo y con esto la aceptación de alimentos con esta característica (Ly, 2001). Sin embargo, los datos no siempre han sido constantes, pues utilizando métodos de detección de umbrales algunos estudios no han encontrado la relación entre la detección del PROP/PTC (fenil tiocabamida) y la sensibilidad a la cafeína, quinina y urea (Schifferstein & Frijters, 1991; Smagghe and Louis-Sylvestre, 1998, Citados por Ly, 2001).

Por lo anterior, es recomendable tener en cuenta este factor genético como una posible fuente de variabilidad entre los panelistas y así mitigar los posibles errores que esto pueda tener en la investigación.

3.4.4 Rueda de sabores

La cerveza es una matriz compleja con muchos compuestos distintos de aromas y sabores, solamente durante la fermentación se producen más de 100 ésteres aromáticos distintos (Russell, 2006). También se encuentran gran diversidad de compuestos provenientes de las maltas, el agua y los lúpulos. Al evaluar cervezas con adiciones de lúpulos post fermentación se han podido identificar mediante cromatografía de gases y olfatometría más de 50 compuestos en la cerveza provenientes de 3 variedades de lúpulos (Kishimoto *et al.*, 2006).

Por esta gran variedad de compuestos presentes se han desarrollado

descriptores en donde se agrupan varios de estos compuestos en grandes grupos. Meilgaard (1979) desarrolló una terminología con el fin de que cualquier panelista (o juez) pueda describir adecuadamente lo que está percibiendo. Se agruparon 14 clases de sensaciones (sabores y aromas) con 46 descriptores y más de 200 posibles compuestos responsables.

Con base en lo anterior, se desarrolló la rueda de sabores, que es una representación gráfica de las categorías y compuestos anteriores. Una versión simplificada, fue adaptada con fines didácticos por el instituto de Cervezas de América, esta presenta cinco círculos concéntricos y los 14 grupos de descriptores de sabores y sensaciones más usuales en la cerveza (Meilgaard, 1979, 1982). La rueda se muestra en el Anexo 2.

La rueda mencionada se utiliza para entrenamiento sensorial de estudiantes y jueces de cerveza. Los participantes indican en alguno de los 5 círculos la intensidad percibida de todos los grupos de descriptores, el objetivo es lograr identificar los sabores prominentes de la cerveza en cuestión.

Para la interpretación de los resultados, se dibuja una línea entre todos los puntos señalados por el juez y se observan aquellos descriptores con las mayores puntuaciones, estos son los utilizados para describir la cerveza. Se suele tomar una intensidad de 4 o superior para ser considerado un descriptor principal (Solis, 2018).

4 Materiales y métodos

4.1 Localización del proyecto

La elaboración de la cerveza base, con sus respectivas adiciones de lúpulo, se llevó a cabo en las instalaciones de Fuego Brew Company, en Dominical, Bahía Ballena de Osa, Puntarenas. Se cuenta con un equipo de 4 BBL (barriles de cerveza, aproximadamente 450 L), con fermentadores con control de temperatura y lo necesario para realizar la cerveza en forma profesional. La

cerveza de las pruebas preliminares se realizó utilizando las instalaciones de Cervecería Escazú, en San Rafael de Escazú, San José, en un equipo de 50 galones (aproximadamente 190 L).

Para los análisis físico químicos que se plantearon, se hizo uso del laboratorio de química de la Escuela de Tecnología de Alimentos de la Universidad de Costa Rica.

Para la prueba sensorial “justo correcto” y la posterior prueba de agrado general también se hizo uso de las instalaciones de Fuego Brew Company, en Dominical de Bahía Ballena, Osa, Puntarenas, Costa Rica. Esta localización se caracteriza por la visita frecuente de turistas, tanto nacionales como extranjeros, consumidores de cerveza artesanal, lo que le da a la investigación un grupo de estudio más diverso. Se utilizó el *taproom* del lugar, es decir una sala al lado de la cervecería, no abierta al público, que cuenta con luz blanca y divisiones físicas que brindaron al panelista privacidad. Además, esta localidad facilitó la logística del panel y permitió servir las muestras directo del grifo del sistema de dispensado, lo que asegura una temperatura y nivel de carbonatación adecuado.

4.2 Materia prima

4.2.1 Cerveza Base

Las maltas para elaborar la cerveza se compraron a “Garabito comercial”, un distribuidor de malta del país, ubicado en San José. Se utilizaron maltas de la marca Weyermann características del tipo de cerveza *Pale Ale*: una base de malta tipo pale (2 row), *caramunich*, *Carared malt*, *carapils malt*, lúpulo *Nugget* para amargor, lúpulo *El Dorado* para sabor y aroma, en adiciones tardías y *dry hopping* y levadura tipo Ale americana (Fermentis US05). Estos últimos insumos se importaron directamente de Estados Unidos, mediante la empresa Fuego Brew Company. Para la elaboración de la cerveza se empleó agua potable filtrada con carbón activado y hervida previo a su uso para eliminar exceso de carbonato de calcio y posibles restos de hipocloritos.

4.2.2 Lúpulos para *dry hopping*

Las variedades de lúpulo más utilizadas mundialmente son: *Cascade*, *Centennial*, *Chinook*, *Simcoe* y *Citra*. Mientras que los más utilizados por las cervecerías artesanales para realizar el *dry hopping* son *Cascade*, *Simcoe*, *El Dorado*, *Mosaic* y *Citra* (Wood, 2016). Los datos de los compuestos de interés que el productor reporta para las variedades más utilizadas de lúpulo se muestran en el Anexo 1.

Para este estudio se seleccionó el lúpulo de la variedad *El Dorado* pues cumple con las siguientes características, que lo hacen apto para ser usado en *dry hopping* (Mitter & Cocuzza, 2013; Roberts *et al.*, 2006; Wolfe, 2012):

- Se encuentra disponible y es de uso frecuente en el mercado nacional.
- Tiene un alto contenido de aceites totales con un alto porcentaje de los terpenoides aromáticos de interés.
- Presenta un alto porcentaje de alfa ácidos pero un bajo contenido de cohumulona (se ha demostrado que este alfa ácido es el que mayor sabor amargo-áspero, no deseado, aporta a la cerveza)(Roberts *et al.*, 2006).
- Es menos costoso que el *Citra* y otras variedades que cumplen con las características anteriores.

4.3 Elaboración cerveza base

4.3.1 Formulación cerveza base

En el Cuadro I se presenta la formulación para elaborar la cerveza. Se presentan los cereales a modo de porcentajes del total de maltas. El lúpulo se muestra en gramos junto con la indicación del tiempo que debe estar en ebullición. Se muestra también la cantidad de levadura y agua (total de maceración y lavados).

Cuadro I. Formulación de la cerveza estilo “American Pale Ale” a ser utilizada como base para la aplicación de distintas concentraciones y tiempos de *dry hopping*, para 450 L.

Ingrediente	Cantidad, detalles
Maltas	
<i>Pale Ale (2 row)</i>	83.2 %
Malta <i>Munich I</i>	4.8 %
Malta <i>carared</i>	4.8 %
Malta <i>carapils</i>	4.8 %
Malta <i>Caramunich I</i>	1.8%
Malta ácida	0.8 %
Lúpulos	
Nugget (19.4 IBU)	225 g, 60 minutos en hervor
El Dorado (8.6 IBU)	250 g, 10 minutos en hervor
El Dorado (~0 IBU)	350 g, post cocción a temperatura menor de 78° C, donde no ocurre isomerización, con agitación y formación de remolino
Levadura	
Fermentis US-05 (American SafeAle)	250 g
Agua	650 L

Diagrama de flujo

En la Figura 1 se muestran las etapas del proceso de elaboración de la cerveza base para el estudio.

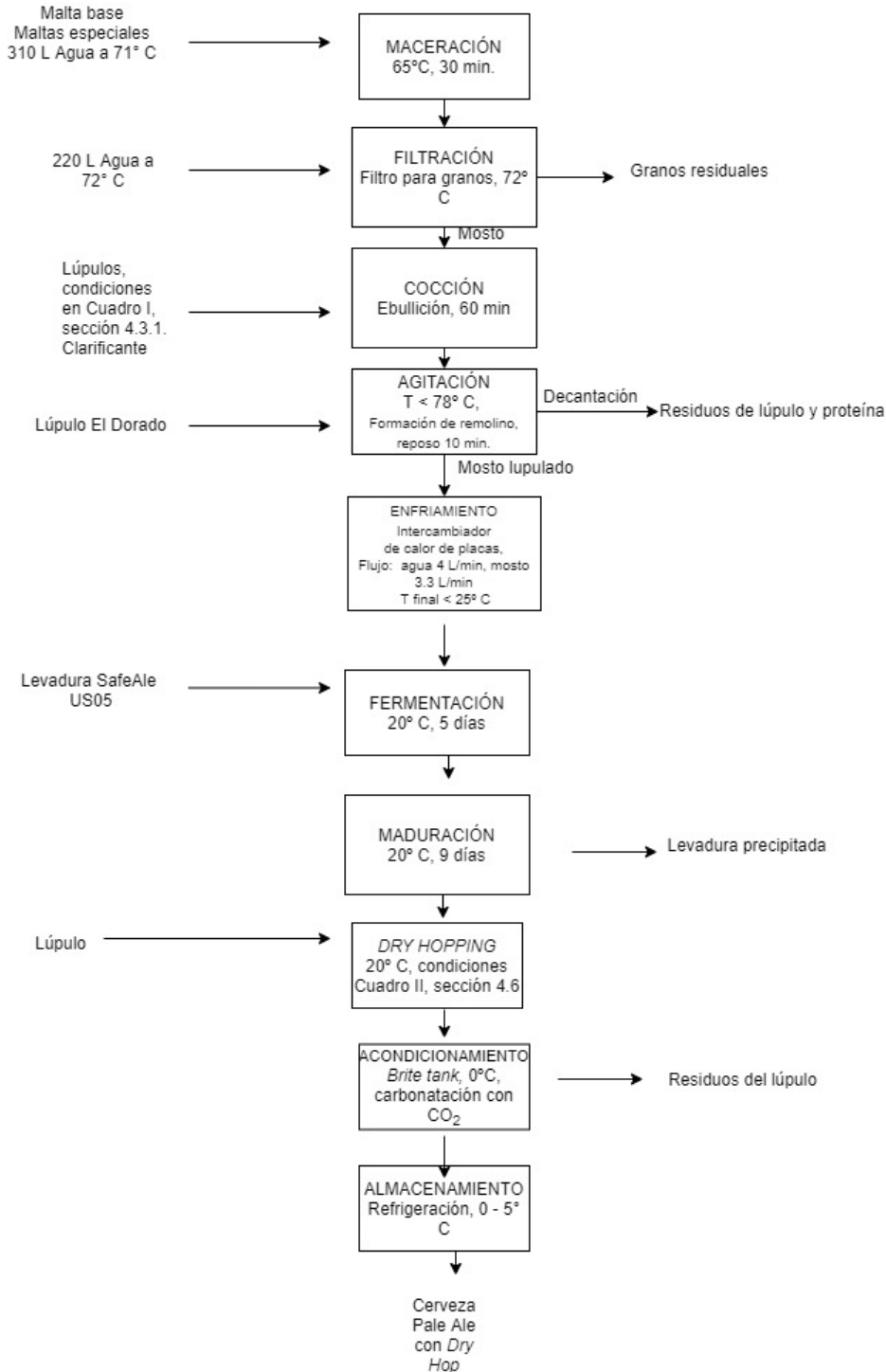


Figura 1. Proceso de elaboración de la cerveza Pale Ale con adición de lúpulo post fermentación (*dry hopping*).

4.3.2 Descripción de etapas

Maceración: Se calientan el agua a 71 °C y se mezclan con la mezcla de granos molidos descrita en el Cuadro I, sección 4.3.1, para alcanzar una temperatura de maceración de 65 °C, se mantiene esta temperatura durante treinta minutos para lograr la conversión deseada de carbohidratos y proteínas complejas a azúcares simples, péptidos cortos y aminoácidos libres (Eaton, 2006; Palmer, 2006).

Filtración: Se transfiere el mosto obtenido al recipiente para la cocción, reteniendo los granos en un filtro. Se realiza un lavado (*sparging*) a 72 °C con 220 L de agua o la cantidad necesaria para alcanzar un volumen de mosto de 450 L con una concentración aproximada de 12 °Brix (De Keukeleirc, 2000).

Cocción: Se llevan los 450 L de mosto a ebullición, por 60 minutos, en esta etapa se realizan las adiciones de lúpulo de amargor y aroma según el Cuadro I (Roberts *et al.*, 2006).

Adición post cocción de lúpulo: Al finalizar la ebullición se debe enfriar el mosto a menos de 78 °C. En ese momento se agita de modo que se genere un remolino y se adiciona el lúpulo destinado para este fin, luego de un reposo de 10 minutos, el material vegetal residual y las proteínas precipitan en el fondo gracias al efecto del remolino y se separan por decantación (Briggs *et al.*, 2004). Seguidamente se inicia el enfriamiento.

Enfriamiento: Se hace circular el mosto por un intercambiador de calor de placas por el que circula agua fría, el flujo de agua deberá ser de 4 L/min y el del mosto ligeramente menor, 3.3 L/min, esto para alcanzar una temperatura final de fermentación (Munroe, 2006).

Fermentación Primeria: Se recolecta el mosto lupulado en el tanque de fermentación y se le inocula la levadura (Fermentis US-05 American SafeAle). Se rehidratará primero la levadura en una muestra de mosto (post ebullición) de al menos 10 veces el peso total de la levadura a 28 °C por 30 minutos. Una vez añadida la levadura se deja fermentar y madurar por 14 días a 18-20 °C. Se debe obtener una concentración de azúcares final de 1.5 a 2 °Brix (De Keukeleirc, 2000).

Maduración: Una vez que la cerveza en el tanque alcanza la concentración de azúcares deseada (alrededor del día 5 a 7 de fermentación), se remueve el exceso de levadura que precipita en el cono del tanque y se permite que la levadura en disolución termine de convertir los intermediarios de la fermentación a etanol y CO₂ hasta alcanzar los 14 días de fermentación.

Dry Hopping: Una vez finalizada la fermentación se separa la cerveza en dos partes iguales en dos tanques de maduración, se ajustan a temperaturas de 20 °C, y se realizan las adiciones de lúpulo en pellets directamente según los tratamientos establecidos en el Cuadro II en la sección 4.5.1 para las pruebas preliminares y el Cuadro III en la sección 4.6 para las pruebas finales.

Acondicionamiento: Una vez cumplido el tiempo de extracción, se enfría la cerveza a 0 °C para que todas las partículas de levadura, lúpulo y proteína en suspensión precipiten, además acá se inicia la carbonatación forzada mediante el uso de CO₂ (Roberts *et al.*, 2006). Una vez que la cerveza está carbonatada se transfiere a sifones de acero inoxidable y se almacenan.

Almacenamiento: Se almacena la cerveza en sifones de acero inoxidable que protegen de luz y oxígeno, en cuarto frío a temperatura entre 0 y 5 °C.

4.3.3 Cerveza para pruebas preliminares

Se realizó un lote de cerveza estilo *Pale Ale* siguiendo el procedimiento descrito anteriormente escalando la receta para 120 L. Se colocaron 24 L de mosto con levadura en 5 fermentadores de 31.5 L (5 gal) y se dejó fermentar y madurar por 14 días. A cada uno de estos se les adicionó el lúpulo post fermentación y se permitió el tiempo de contacto establecido (ver tratamientos en Cuadro II sección 4.5.1). Luego se embotelló y se almacenó en refrigeración (5 °C aprox.) hasta el tiempo de hacer la prueba.

4.3.4 Cerveza para pruebas definitivas

Se realizó un lote de cerveza estilo *Pale Ale* de aproximadamente 450 L siguiendo el procedimiento descrito en la sección 4.3, se permitió un tiempo de fermentación y maduración de 14 días, finalizado este tiempo se separó una muestra de cerveza sin tratamiento de *dry hopping* como control. El resto de la cerveza fue separada en dos partes iguales en tanques de maduración (*brite tanks*), a cada tanque se le añadió la cantidad de lúpulo del tratamiento correspondiente (Cuadro III, sección 4.6). Una vez terminado el tiempo se enfrió a 0° C para detener la extracción y facilitar que las materias en solución precipitaran y su posterior separación por decantación en el cono del tanque. Las cervezas ya terminadas fueron carbonatadas con CO₂ y almacenadas en sifones de acero inoxidable en refrigeración hasta el momento de hacer el panel sensorial.

Las pruebas sensoriales se realizan a esa cerveza, proveniente de un único lote de cerveza base, dividido en 3 tanques, dos de ellos con una única adición de lúpulo y el control sin adición extra de lúpulo.

4.4 Caracterización físico-química de la cerveza base

4.4.1 Descarbonatación de la muestra

Las muestras analizadas debieron ser descarboxatadas para evitar interferencia del CO₂ en las determinaciones de pH, color y alcohol. Para descarboxatar la muestra se siguió el procedimiento oficial de la ASBC. La cerveza se atemperó en un baño de agua a 20°C. Se pipetearon 10 µL de TBP (tributil fosfato, agente antiespumante) en un Erlenmeyer de 500 mL. Se transfirieron aproximadamente 250 mL de la muestra atemperada y se añadieron otros 10 µL de TBP. Se cubrió el recipiente con papel aluminio con un agujero de 10 mm en el centro, se colocó el erlenmeyer en un baño ultrasónico por 20 minutos. La muestra queda lista para los posteriores análisis (ASBC, 2011d).

4.4.2 Determinación de pH

Se realizó una medición utilizando un pH-metro calibrado (Oakton pH 700), se sumergió el electrodo a una muestra de cerveza descarboxatada hasta obtener una medida estable, se realizó la medición por triplicado.

4.4.3 Determinación del color (SRM: *Standard Reference Method*)

Se realizó la medición de absorbancia mediante la metodología oficial de la ASBC, se utilizó un espectrofotómetro (Jasco V-630 Spectrophotometer) a 430 nm, en una cubeta de 1 cm, y se calibró utilizando agua como blanco. Se verificó que la muestra estuvo libre de turbidez, de lo contrario hubiera sido necesario clarificar por centrifugación o filtración. El dato de SRM se obtuvo con la siguiente fórmula: $SRM = 1.27 \times \text{Absorbancia a } 430 \text{ nm} \times 10$ (ASBC, 2011c).

4.4.4 Determinación del contenido de alcohol

Se determinó mediante la metodología de medición volumétrica (ASBC, 2011a). Se pipetearon 100 mL de cerveza descarboxatada a 20 °C en un balón de destilación y se adicionó 50 mL de agua, se conectó el balón con la muestra y el balón recolector del destilado al equipo de destilación, este último balón se colocó en un baño de agua-hielo. Se destiló más de 96 mL en un periodo de 60

minutos. Al finalizar la destilación se agitó bien el destilado y se aforó con agua destilada, se determinó la gravedad específica (GE) a 20° C y se reportan los gramos de alcohol por 100 mL correspondientes a la GE del destilado (ASBC, 2011a).

4.4.5 **Determinación de unidades de amargor (IBU)**

Se utilizó la metodología de extracción manual con isooctano, método internacional (ASBC, 2011b). Se midió con pipeta aforada 10 mL de cerveza carbonatada a 10° C y se colocó en un tubo de centrifuga de 50 mL. Se adicionó 1 mL de HCl 3 mol/L y se agitó suavemente. Se adicionó por la pared del tubo 20 mL de iso-octano (2,2,4-trimetilpentano) y 50 µL de alcohol octílico y se cerró de forma hermética. Se centrifugó por 20 minutos para promover la separación de capas (Eppendorf Centrifuge 5810).

Cuando se da la separación de capas, se toma con pipeta Pasteur o gotero de la capa superior el volumen necesario para llenar una cubeta de cuarzo de 1 cm. Se prepara un blanco con 20 mL de iso-octano y 50 µL de alcohol octílico. Se lee la absorbancia con un espectrofotómetro (Jasco V-630 Spectrophotometer) a 275 nm, ajustando primero el equipo con la medición del blanco y posteriormente midiendo las muestras. Con la siguiente ecuación, se determinan las unidades BU: $BU = Abs_{275} * 50$

Se mide la concentración de ácidos iso α por volumen de cerveza en ppm. 1 unidad BU equivale a 1 mg ácidos iso α /L de cerveza.

4.4.6 **Pruebas para cervezas con adición de lúpulo post fermentación (*Dry hop*)**

El análisis sensorial es la herramienta para monitorear el comportamiento del sabor amargo en las muestras. Lo anterior porque el tratamiento no afectará los parámetros del color, pH y contenido de alcohol medidos en la cerveza base (Forster & Gahr, 2013; Kishimoto *et al.*, 2006), mientras que si interferirá en la prueba de los IBU (Maye & Smith, 2016). Se recomienda para cervezas con

adiciones de lúpulo post fermentación realizar pruebas con cromatógrafo de gases y olfatometría (Wolfe, 2012).

4.5 Pruebas preliminares de adición de lúpulo

4.5.1 Adiciones de lúpulos post fermentación por tiempos prolongados

Se evaluaron dos concentraciones de lúpulo en dos distintos tiempos de extracción (Cuadro II). De acuerdo con los estudios realizados por Mitter & Cocuzza (2013), Schnaitter *et al.* (2016) y Wolfe (2012), estos tiempos prolongados (de 4 a 7 días) obtuvieron la máxima extracción de componentes de aroma y sabor.

Las condiciones evaluadas se muestran a continuación, en el Cuadro II. Se presentan las concentraciones de aceite en el pellet de lúpulo, la masa de dicho lúpulo y el tiempo de extracción durante los distintos tratamientos preliminares de *dry hopping*.

Cuadro II. Concentración de lúpulo y tiempo de extracción de los tratamientos preliminares prolongados de *dry hopping* utilizando lúpulo “El Dorado” para el estudio en la cerveza *Pale Ale*.

Tratamiento	Tiempo (días)	g aceite en lúpulo/ hl cerveza	g de lúpulo (en 5 gal)
1	4	5	41.33
2	4	7.5	62
3	7	5	41.33
4	7	7.5	62
5 (control)	Sin lúpulo en <i>dry hopping</i>		

Para calcular la masa de lúpulo se usó la siguiente fórmula:

$$g \text{ de lúpulo} = \frac{\left(\left(\frac{g \text{ aceite en lúpulo}}{hL \text{ cerveza}} \right) * (hL \text{ de cerveza}) \right)}{\frac{g \text{ aceite en lúpulo}}{g \text{ lúpulo}}}$$

Para los gramos de aceite en el lúpulo se toma el promedio de los valores que reporta el productor. Ver Cuadro XIX en Anexo 1.

4.5.2 Análisis de las pruebas preliminares de adiciones de lúpulos post fermentación por tiempos prolongados

Las muestras fueron evaluadas por 12 estudiantes del curso de Maestro Cervecerero (9 hombres y 3 mujeres entre 22 y 44 años), impartido por el Instituto de Cervezas de América, en las instalaciones del Instituto Tecnológico de Costa Rica. Todos los participantes son productores de cerveza artesanal con experiencia básica en análisis sensorial y descriptores de cerveza, además, la muestra incluye jueces certificados BJCP.

Se utilizó una rueda de sabores de cerveza, que incluye los descriptores más usuales en este producto. La escala fue desarrollada por Meilegaard (1979) y adaptada por el Instituto de Cervezas de América (2018) con fines didácticos y para entrenamiento de jueces de cerveza, en donde cada participante señala la intensidad con la que siente cada descriptor en la muestra, siendo esta la variable respuesta.

La escala consiste en una rueda con 14 descriptores. Cada descriptor pretende agrupar compuestos con sabores similares que pueden estar presentes en la cerveza. Consiste en cinco círculos concéntricos, cada círculo es una unidad de intensidad del atributo, siendo esta una escala de 0 a 5. Cada panelista indica en la escala la intensidad con la que percibe cada uno de los sabores descritos (ver escala en Anexo 2).

Para el análisis de la rueda de sabores se observaron las intensidades que cada juez indicó de cada descriptor, y con ellas se anotan la frecuencia con la que este atributo es destacado (puntuación de 4 o mayor) por el panelista y el promedio final de cada atributo. El objetivo del *dry hopping* es impartir sabores y aromas sin impactar negativamente el amargor. Es por esto por lo que aquellas muestras en donde el descriptor “*bitter*” sobresalió entre los atributos, se consideró que las combinaciones de tiempo y concentración extrajeron compuestos de sabor amargo que impactaron negativamente el perfil de sabor final.

4.6 Evaluación del efecto de la concentración de lúpulo post fermentación sobre la intensidad del sabor amargo y aroma de la cerveza *Pale Ale* en tiempos cortos de extracción.

Las pruebas finales se enfocaron en determinar la concentración de lúpulo que en un periodo de 2 días lograra obtener un aroma y sabor amargo ideal en la

prueba utilizando la escala “justo-correcto” con consumidores de cerveza artesanal.

Se escogió dicho lapso debido a que la literatura reporta que este tiempo debe ser suficiente y práctico a nivel industrial para realizar este proceso (Feng, 2014; Kishimoto *et al.*, 2006; Maye & Smith, 2016). Además de esto, en la fabricación de cerveza artesanal se realiza con frecuencia adiciones de lúpulo post fermentación similares a las del estudio, y de manera empírica se observó que en 48 horas de contacto entre el lúpulo y la cerveza ocurre un incremento en el sabor y aroma a lúpulo en el producto final.

En el Cuadro III se muestran las concentraciones de lúpulo que se adicionan en los tratamientos de *dry hopping* con un tiempo de extracción de 48 horas (2 días).

Cuadro III. Concentración de lúpulo para *dry hopping* utilizando lúpulo *El Dorado* con 48 horas de extracción para el estudio en la cerveza *Pale Ale*.

Tratamiento	g aceite en lúpulo/ hl cerveza	g de lúpulo / hl
1	5	170
2	7.5	255
3 (control)	Sin lúpulo en <i>dry hopping</i>	

4.7 Determinación de sabor amargo y aroma ideales mediante la prueba justo-correcto (JAR)

4.7.1 Definición de panelistas

Con el objetivo que esta investigación tuviera mayor impacto, la población consultada fue una muestra de los consumidores de cerveza artesanal, es decir, no se limitó a consumidores de los estilos IPA o *Pale Ale*. Además del posible

impacto en el número de consumidores, se presume que si se limita el estudio a personas que consuman estos estilos de cerveza, puede que exista alguna predilección por una alta intensidad de sabor amargo, lo que podría provocar un sesgo en el estudio.

Por otro lado, el panel sensorial se efectuó en playa Dominical, Osa, Puntarenas, una zona con alta afluencia de turistas (tanto locales como extranjeros), por lo que las escalas utilizadas fueron tanto en el idioma español como inglés. Se realizó un panel con 100 personas, consistió en una prueba de agrado usando la escala “justo-correcto” (JAR) donde se evaluó el agrado por intensidad de sabor amargo y aroma de la cerveza. El grupo consistió en 46 estadounidenses, 23 costarricenses, 6 argentinos, 4 alemanes, 4 canadienses y 17 personas con otras nacionalidades entre ellas: India, Holanda, Australia, Rusia, Nicaragua, Inglaterra, Suiza, Cuba, Italia y Bélgica y con edades entre los 22 y 70 años.

4.7.2 Metodología de la prueba “justo-correcto” (JAR)

Se le explicó a cada panelista que debía a examinar muestras de cerveza con distintos tratamientos y se le solicitó indicar cuánto le gusta el sabor amargo y el aroma a lúpulo que percibe, esto de acuerdo a si el atributo está con la intensidad ideal para que le guste (Lawless y Heymann, 2010).

De acuerdo con Rothman & Parker (2009) se debe asegurar que el consumidor es capaz de identificar el atributo a evaluar, por lo que al inicio de la prueba se facilitó al panelista de una muestra de extracto de lúpulo para que fuera capaz de reconocer el amargor que se busca en el producto, como ejemplo de la sensación (no de la intensidad ideal). Asimismo se les proveyó una muestra de pellets de lúpulo, que contiene los compuestos volátiles que al solubilizarse en la cerveza darán el aroma a lúpulo que se desea (Takoi, 2016).

Se presentaron las muestras correspondientes a los 2 tratamientos y una muestra control (cerveza sin lúpulo post fermentación), en recipientes de vidrio transparentes de 56 mL (2 onzas) codificados con tres dígitos. Los tratamientos se muestran en el Cuadro III, sección 4.6. Las muestras se entregaron de forma aleatoria y balanceada. Además, se proveyó al panelista una solución de etanol al 3% y agua para realizar enjuagues entre muestras y se les indicó expectorar las muestras en el recipiente provisto para dicho fin y esperar unos 20 segundos antes de continuar con la siguiente muestra para restaurar la saliva (Cubero Castillo & Noble, 2001).

Para medir el agrado respecto al sabor amargo de las muestras, se utilizó una escala lineal de 5 puntos, con indicaciones que van de “muy poco amargo para que guste” (1), “poco amargo para que guste” (2), “amargo justo” (3), “muy amargo para que guste” (4) y “amargo en exceso para que guste” (5).

De manera análoga para el aroma se adaptó la escala lineal estructurada de 5 puntos con indicaciones que van de “muy poco aromática para que guste” (1), “poco aromática para que guste” (2), “aroma justo” (3), “muy aromática para que guste” (4) y “aromática en exceso para que guste” (5). Ambas escalas han sido adaptadas de Rothman y Parker (2009) (ver escalas en Anexo 2).

De forma similar se utilizan las escalas en idioma inglés con indicaciones que van de: “*too little bitterness*” (1), “*slightly less bitter*” (2), “*Just about right*” (3), “*slightly too bitter*” (4) y “*much too bitter*” (5) para el caso del sabor amargo; y para el aroma se utilizaron las siguientes indicaciones: “*too little aroma*” (1), “*slightly less aromatic*” (2), “*Just about right*” (3), “*Slightly too aromatic*” (4) y “*much too aroma*” (5). Las variables respuesta son los valores que se obtuvieron en estas escalas.

4.7.3 Prueba de detección de PROP

Con el fin de monitorear si la capacidad genética de detectar algunos compuestos amargos tiene un efecto importante en el agrado hacia la cerveza, se realizó a los consumidores la prueba con el reactivo PROP (6-n-propiltiouracilo), utilizando el kit de detección PROP de Laboratorio Eisco. A cada panelista se le brindó una tira de papel filtro previamente impregnada en una solución del reactivo. Los panelistas indicaron en una encuesta si fueron capaces de detectar el característico sabor amargo luego de probar todas las muestras del panel sensorial.

4.7.4 Análisis de datos obtenidos mediante la prueba “justo-correcto” (JAR)

Para cada atributo evaluado se realizó un histograma donde se graficaron las frecuencias de los resultados de manera que se visualiza cuál tratamiento se encuentra más cercano a lo que el consumidor considera ideal. Un punto de referencia para aceptar una intensidad como ideal es cuando el 80% de los resultados se encuentran en esta categoría (Gacula *et al.*, 2007; Rothman & Parker, 2009).

A los resultados que no alcanzaron el 80% se les realizó una prueba binomial, en donde se compara si hay diferencias significativas entre la categoría “ideal” o JAR y los otros puntos de la escala, de haberla indica que la intensidad del atributo es percibida como ideal para la mayoría de los consumidores. En aquellos que no se encontró diferencia significativa entre el punto ideal de la escala y las otras categorías significa que el atributo no está en la intensidad que el consumidor considera ideal, y se aplicó nuevamente una prueba binomial comparando los extremos superior e inferior del JAR, para determinar en qué dirección se puede ajustar el producto (Rothman y Parker 2009; Lawless y Heymann 2010). Para el procesamiento de los datos se utilizó el programa Excel y tablas binomiales.

El procedimiento se realizó para los datos totales de la prueba JAR y para los datos divididos según la capacidad del panelista de detectar el PROP, esto para determinar si existen subgrupos de consumidores.

4.8 Evaluación del agrado general de la cerveza base, cerveza con *dry hopping* justo-correcto y cervezas “IPA” seleccionadas del mercado.

4.8.1 Selección de muestras del mercado para análisis prueba de agrado general

Las cervezas utilizadas para comparar el agrado general deben tener características similares entre sí, para evitar sesgo, por lo que se buscó reducir posibles diferencias visuales o de sabores intensos entre las muestras (Lawless & Heymann, 2010).

En conjunto con dos jueces reconocidos por el programa de certificación internacional BJCP (*Beer Judge Certification Program*, Estados Unidos), se seleccionaron 2 muestras de cerveza artesanal que resaltan por su contenido de lúpulo y cumplen con las características establecidas (aroma, apariencia, sabor, sensación en boca, color, amargor y contenido alcohólico) en esta guía de estilos para “*Pale Ale*” e “IPA”. Las cervezas seleccionadas fueron “Urán IPA” de Os Beer Company, de San José, con distribución a todo el país y “Talok IPA” de Fuego Brew Company.

4.8.2 Definición de panelistas

Se realizó un panel sensorial con 100 consumidores de cerveza artesanal. Para asegurar que sean consumidores de este producto se les realizó la pregunta de si lo consumen y con qué frecuencia (Sidel & Stone, 2005). Se seleccionaron aquellos que consumen el producto al menos dos veces por mes.

Esta prueba se realizó seguidamente de la prueba JAR, con los mismos panelistas, en la misma ubicación física y con una escala en idioma español y otra en inglés descrita en la sección 4.8.3.

4.8.3 Metodología de la evaluación de agrado

Se realizó una evaluación del agrado utilizando una escala lineal de 10 cm, con 3 anclas: “me disgusta muchísimo” (0), “ni me gusta ni me disgusta” (5) y “me gusta muchísimo” (10); y para el caso de la escala en Inglés las anclas utilizadas fueron: “*dislike extremly*”(1), “*Neither like nor dislike*” (5) y “*Like extremly*” (10). Ambas escalas fueran adaptadas de Lawless & Heymann, (2010) y se muestran en el anexo 4.

A cada panelista se le solicitó evaluar el agrado percibido de cada muestra de cerveza artesanal, marcando una línea vertical en la escala provista. Las muestras fueron presentadas en recipientes de vidrio transparentes de 56 mL (2 onzas) codificados con tres dígitos a una temperatura de aproximadamente 5° C, en un mismo set de forma aleatoria y balanceada. Además, se proveyó al panelista con una solución de etanol al 3 % y agua para realizar enjuagues entre muestras. Se les solicitó que expectorasen la muestra en el recipiente provisto para dicho fin y esperar unos 20 segundos antes de continuar con la siguiente muestra para que se restaure la saliva (Cubero Castillo & Noble, 2001).

4.8.4 Análisis de datos de evaluación de agrado general

Se realizó un análisis jerárquico de conglomerados (*Clusters*) utilizando XLStat para determinar subgrupos de distintas preferencias dentro de los panelistas. Se utiliza como método de disimilitud la distancia euclidiana y como criterio de enlace el criterio de Ward. A los dos subgrupos obtenidos se les realizó un análisis de varianza de una vía y una prueba de comparación de medias (Fisher LSD) que permitió determinar las diferencias significativas, con un $\alpha = 95 \%$, entre las medias de las muestras. Para el análisis de datos se usó del programa estadístico JMP 4.

5 Resultados y Discusión

5.1 Pruebas preliminares: Efecto de la concentración de lúpulo post fermentación sobre la intensidad del sabor amargo y aroma de la cerveza *Pale Ale* en tiempos prolongados (4 a 7 días) de extracción.

La prueba realizada buscaba determinar los atributos con los que los panelistas identificaban la cerveza, con el fin de definir si el amargor era de una intensidad adecuada para el estilo, por lo que a continuación, en el Cuadro IV, se presenta la frecuencia con la que cada atributo proveniente del lúpulo fue seleccionado con una intensidad superior a 4 y el promedio del atributo para los 12 panelistas participantes.

Como se observa en el cuadro mencionado, las pruebas preliminares con tiempos prolongados dieron como resultado cervezas en las que los panelistas consideraron el sabor amargo como una característica destacada, se observaron otros atributos del lúpulo también presentes en la cerveza, como lo son los sabores florales y cítricos.

A pesar de lo anterior, para la muestra control, sin adición de lúpulo post fermentación, el sabor amargo no es una característica principal, por lo que se concluye para el lote elaborado, de una sola medición de los lúpulos añadidos, que los tratamientos prolongados de *dry hopping* incrementaron la intensidad del sabor amargo que los panelistas detectaron.

Cuadro IV. Frecuencia con que cada uno de los atributos provenientes del lúpulo obtiene una intensidad de 4 o superior y el promedio del atributo de las muestras de cerveza con distintos tratamientos preliminares de adición de lúpulo post fermentación para el estudio en la cerveza estilo *Pale Ale*.

Tratamiento	Atributo	Promedios	Frecuencia de intensidad de 4 o superior
<i>5g aceite/ 4 días</i>	Frutal/cítrico	2.8	4
	Amargo	4.2	10
	Lupulado	4.1	10
	Floral	3.8	7
<i>7.5g aceite/ 4 días</i>	Frutal/cítrico	3.1	8
	Amargo	4.6	11
	Lupulado	3.9	11
	Floral	2.5	7
<i>5g aceite/ 7 días</i>	Frutal/cítrico	3.1	7
	Amargo	4.5	11
	Lupulado	4.2	11
	Floral	3.4	7
<i>7.5g aceite/ 7 días</i>	Frutal/cítrico	4.0	10
	Amargo	4.8	12
	Lupulado	4.5	11
	Floral	2.8	6
<i>Control (Sin lúpulo post fermentación)</i>	Frutal/cítrico	2.0	3
	Amargo	2.3	4
	Lupulado	3.2	5
	Floral	2.4	5

*Para un total de 12 panelistas

Al evaluar los tiempos prolongados de extracción se observó que los componentes de aroma y sabor están presentes; sin embargo, se extraen también compuestos con sabor amargo. Algunos estudios (Feng, 2014; Kishimoto *et al.*, 2006; Maye & Smith, 2016; Wolfe, 2012) evaluaron tiempos de extracción menores y obtuvieron, en algún grado, los compuestos y características sensoriales buscados. En su mayoría concluyen que 2 días de *dry hopping* estático son suficientes y prácticos a nivel industrial para realizar este proceso y obtener la extracción deseada.

5.2 Resultados efecto de la concentración de lúpulo post fermentación sobre la intensidad del sabor amargo y aroma de la cerveza *Pale Ale* en tiempos cortos de extracción (48 horas).

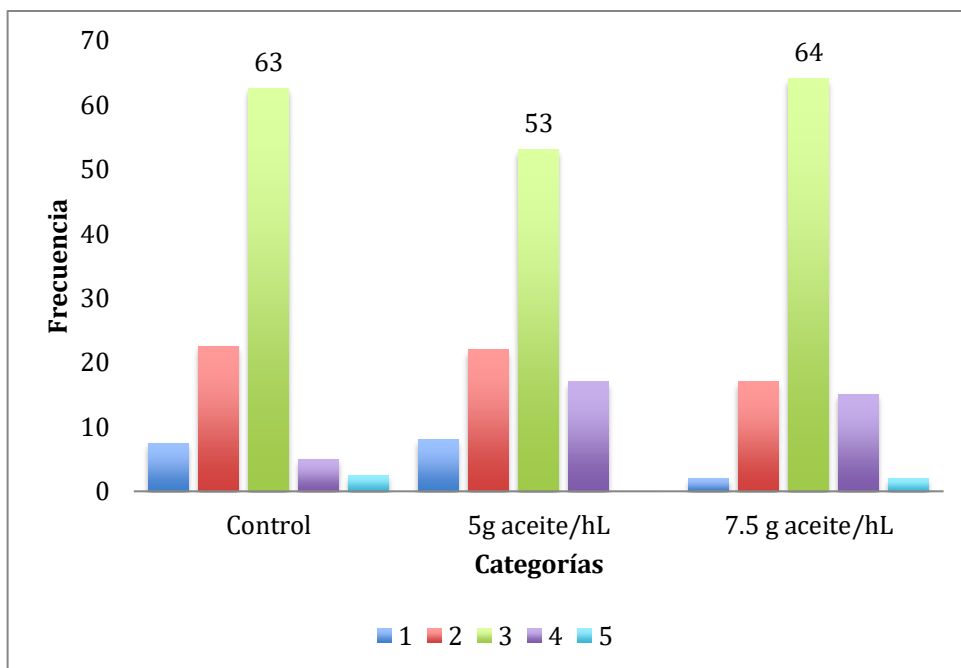
5.2.1 Resultados de la prueba “justo-correcto” para agrado por intensidad de sabor amargo.

La Figura 2 presenta los resultados de la prueba de agrado por intensidad de sabor amargo al utilizar la escala justo-correcto, los resultados muestran la frecuencia con que los consumidores seleccionaron cada una de las distintas categorías de intensidad de sabor amargo para cada muestra de cerveza en la escala lineal de 5 puntos justo-correcto.

La Figura 2 facilita observar las escogencias del total de los panelistas en la prueba de agrado por sabor amargo. Se observa que ninguna de las muestras alcanzó el 80% de puntuación en el punto central tomado como referencia para catalogarlo como ideal (Rothman & Parker, 2009), por lo que se procede a realizar la prueba binomial que se presenta en el Cuadro V.

Cabe resaltar que las puntuaciones obtenidas tanto por el control como por el tratamiento con la mayor cantidad de lúpulo (7.5 g de aceite/hL) tuvieron valores muy similares, lo que parece indicar que esta adición no incrementa la sensación de sabor amargo en la cerveza.

En el caso de la adición menor de lúpulo (5 g de aceite/hL) se observa un menor número de puntuaciones en el punto central de la escala y un incremento en los extremos, en este caso la prueba binomial permite determinar hacia qué dirección se puede ajustar el producto.



*Los números coinciden con las categorías utilizadas en la escala, donde el 3 es el punto central y los extremos inferiores indican falta de intensidad de sabor amargo y los superiores indican un exceso.

Figura 2. Frecuencia de resultados registrados en la escala justo-correcto para la intensidad de sabor amargo para cada categoría, seleccionada por consumidores de cerveza artesanal.

A continuación, en el Cuadro V se presenta la prueba binomial donde se determina si existe diferencia significativa entre el punto central de la escala y los extremos para las tres muestras de cerveza, así como también los análisis pertinentes para la muestra que no obtiene diferencia significativa para un p de 0.05.

El Cuadro V muestra el número de respuestas en el punto central de la escala, es decir el punto “ideal”, así como también el número de respuestas fuera de este punto y su sumatoria. La prueba binomial compara si existen diferencias significativas entre este punto y la posibilidad estadística que el dato obtenido haya sido así por azar (Lawless & Heymann, 2010; Rothman & Parker, 2009).

Cuadro V. Resultados de la prueba binomial de los datos obtenidos de la prueba justo-correcto realizada a las muestras de cerveza *Pale Ale* con distintos tratamientos de *dry hopping* para determinar el agrado por intensidad de sabor amargo.

Muestra	Número de respuestas en el punto JAR	Respuestas de intensidad menor a JAR	Respuestas de intensidad mayor a JAR	Número de respuestas fuera del JAR	Valor crítico prueba binomial JAR vs Otras categorías $\alpha=0.05$	Diferencias entre JAR y otros puntos	Valor crítico prueba binomial Extremos inferiores vs superiores $\alpha=0.05$	Diferencias entre extremos de la escala
Control	63	30	8	38	42	Si	-	-
5 g aceite/hL	53	30	17	47	42	No	18	Si, el producto es percibido como poco amargo
7.5 g aceite/hL	64	19	17	36	42	Si	-	-

Como se indica en el cuadro, tanto la muestra control (sin *dry hopping*) como el tratamiento de 7.5 g de aceite/hL obtuvieron diferencia significativa entre el punto central y el resto, por lo que se puede decir que los panelistas consideraron la intensidad de sabor amargo como correcta en ambas cervezas.

El caso de la muestra de 5 g de aceite/hL de cerveza obtuvo que no se encontró diferencia significativa (es decir, p mayor a 0.05) entre el punto central de la escala y los otros puntos. Es por esto por lo que se realiza nuevamente una prueba binomial, esta vez comparando los puntos superiores versus inferiores de la escala. Se obtuvo diferencia significativa entre estos para p de 0.05, siendo los puntos menores los de mayor puntuación, es decir, la muestra es percibida con una intensidad de sabor amargo menor a la que el consumidor considera ideal para esta cerveza.

Este fenómeno observado no era esperado ya que todas las muestras provenían del mismo lote, con una misma cantidad de iso alfa ácidos, mayores responsables de la intensidad de sabor amargo (Roberts *et al.*, 2006), la diferencia radicaba en los tratamientos post fermentación.

Se presume que estas diferencias se pueden dar porque el panelista puede asociar los compuestos aromáticos del lúpulo con un sabor amargo más intenso. Se han estudiado el efecto de la composición de la cerveza (contenido de alcohol y azúcares presentes) y algunos compuestos en el lúpulo (humulonas, humulionas e iso-humulonas) tendrán un efecto en la intensidad y percepción del sabor amargo; sin embargo, los iso-alfa ácidos continúan siendo los principales contribuyentes al sabor amargo (Hahn, Lafontaine, Pereira, & Shellhammer, 2018).

Otra posible causa por qué en esta muestra los panelistas reportan una reducción en la sensación de sabor amargo, es porque los compuestos provenientes del lúpulo no fueron lo suficientemente intensos, lo que puede

indicar una extracción ineficiente durante el *dry hopping* causada por la poca cantidad de pellets de lúpulo en este tratamiento (Lafontaine & Shellhammer, 2018). Por otro lado, existe la posibilidad que una menor masa de lúpulo requiera de un mayor tiempo de extracción para dar las características sensoriales buscadas por lo que en futuras investigaciones puede ser recomendable realizar una evaluación en ese tiempo.

Históricamente las cantidades de lúpulos utilizados en este proceso se medían como la masa total de dicha planta, sin importar la cantidad de aceites que contuvieran; sin embargo, con el desarrollo de nuevas variedades con mucho mayor contenido de aceites, se vuelve un factor a tomar en consideración (Hieronymus, 2012; Wolfe, 2012). Al plantear la concentración a utilizar de esta manera es posible que la cantidad (masa) de lúpulo utilizada fuera poca en el lote experimental y no se lograra extraer suficientes compuestos aromáticos. Sin embargo, la prueba de agrado será la que confirme la aceptación de dicha cerveza.

Por otro lado, otro factor que puede reducir la intensidad de la sensación de amargo es la oxidación de la cerveza, al oxidarse los alfa ácidos, estos se degradan y pierden su carácter amargo (Briggs *et al.*, 2004; De Keukeleirc, 2000). Además, se producen algunos compuestos que pueden generar sensación de dulzor como el 2-nonelal, característico en cerveza oxidada o añejada (Roberts *et al.*, 2006).

La oxidación es el principal factor en determinar la vida útil de una cerveza, por lo que el productor busca reducir el riesgo de que esto ocurra mediante el uso de CO₂ durante cada etapa del proceso, sin embargo, si la purga con dicho gas es ineficiente puede quedar oxígeno residual que dará inicio a dichas reacciones de oxidación en el producto terminado.

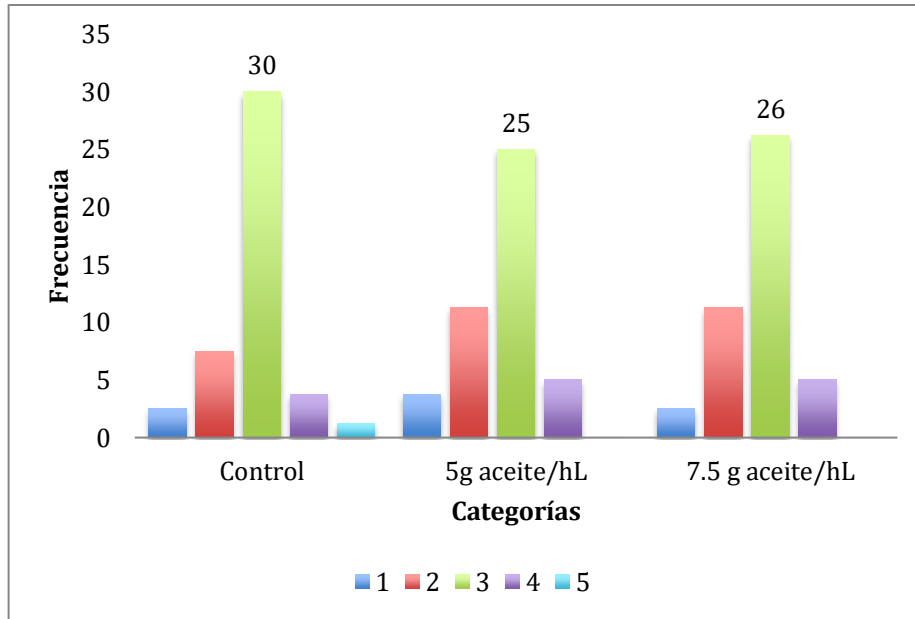
Por otro lado, se realizó también el análisis agrupando a los panelistas según su capacidad de detectar el compuesto n-propiltiouracilo (PROP), ya que se presume que este factor genético puede tener efecto sobre la aceptación o rechazo del consumo de sustancias de sabor amargo (Ly, 2001). Para comprobar si esto ocurre se desglosan los resultados según dicho criterio.

La Figura 3 presenta los resultados de la prueba de agrado por intensidad de sabor amargo al utilizar la escala justo-correcto, de los 45 panelistas probadores del amargo (PROP positivos). Los resultados se muestran como la frecuencia con que los consumidores seleccionaron cada una de las distintas categorías de intensidad de sabor amargo para cada muestra de cerveza en la escala lineal de 5 puntos justo-correcto.

La Figura 3 permite observar que la muestra control obtuvo el mayor número de selecciones en el punto central de la escala, mientras que las muestras con adición de lúpulos obtuvieron resultados menores en dicho punto. Cabe resaltar que para ambas muestras también se observan más puntuaciones en los puntos menores de la escala que en los superiores.

Para este segmento poblacional se observó que el lúpulo adicional no incrementó la percepción de la intensidad del sabor amargo de las muestras respecto al control. Se realizó también la prueba binomial y se obtuvo que ambas muestras con lúpulo son percibidas con una intensidad de sabor amargo bajas, resultados que se muestran a continuación en el Cuadro VI.

Por los resultados de dicho cuadro se sospecha que este grupo de consumidores presentan tolerancia al sabor amargo y al percibir el aroma a lúpulo lo asocian a una mayor intensidad.



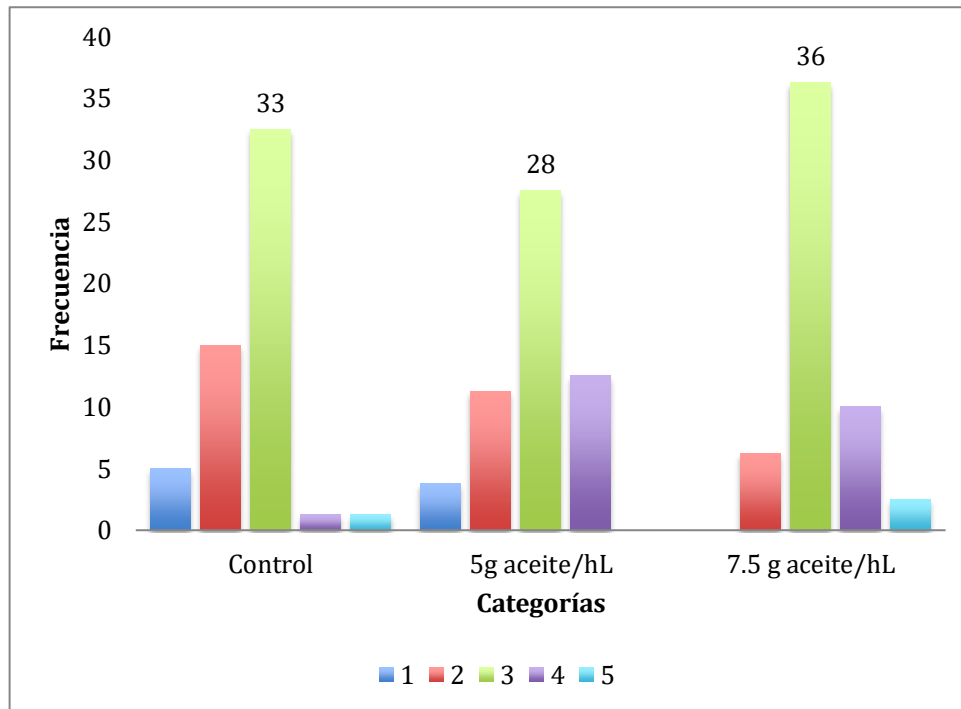
*Los números coinciden con las categorías utilizadas en la escala, donde el 3 es el punto central y los extremos inferiores indican falta de intensidad de sabor amargo y los superiores indican un exceso.

Figura 3. Frecuencia de resultados registrados en la escala justo-correcto para la intensidad de sabor amargo para cada categoría, seleccionada por 45 consumidores de cerveza artesanal (PROP +), utilizando la escala JAR.

Cuadro VI. Resultados de la prueba binomial de los datos obtenidos de la prueba justo-correcto realizada a las muestras de cerveza *Pale Ale* con distintos tratamientos de *dry hopping* para determinar el agrado por intensidad de sabor amargo seleccionada por 45 consumidores de cerveza artesanal (PROP +)

Muestra	Número de respuestas en el punto JAR	Respuestas de intensidad menor a JAR	Respuestas de intensidad mayor a JAR	Número de respuestas fuera del JAR	Valor crítico prueba binomial JAR vs Otras categorías 0.05	Diferencias entre JAR y otros puntos	Valor crítico prueba binomial Extremos inferiores vs superiores 0.05	Diferencias entre extremos de la escala	Observaciones
Control	30	11	5	16	17	Si	-	-	Muestras percibidas como intensidad de amargor baja
5g aceite/hL	25	15	5	20	17	No	6	Si	
7.5 g aceite/hL	27	14	5	18	17	No	6	Si	

De modo análogo, la Figura 4 presenta los resultados de la prueba de agrado por intensidad de sabor amargo al utilizar la escala justo-correcto, de los panelistas que fueron incapaces de detectar el compuesto n-propiltiouracilo (PROP), es decir, los que se conocen como no probadores del amargo.



*Los números coinciden con las categorías utilizadas en la escala, dónde el 3 es el punto central y los extremos inferiores indican falta de intensidad de sabor amargo y los superiores indican un exceso.

Figura 4. Frecuencia de resultados registrados en la escala justo-correcto para la intensidad de sabor amargo para cada categoría, seleccionada por 55 consumidores de cerveza artesanal (PROP –).

En la Figura 4 se observa una tendencia de resultados que coincide con los resultados totales, en dónde el control y la adición mayor de lúpulo (7.5 g aceite/hL) obtienen resultados muy similares, mientras que la otra muestra con el tratamiento de *dry hop* presenta menor escogencia en el punto central. A continuación, en el Cuadro VII se realiza la prueba binomial que comprueba si hay diferencias significativas entre los puntos centrales de la escala versus los extremos de cada muestra.

Cuadro VII. Resultados de la prueba binomial de los datos obtenidos de la prueba justo-correcto realizada a las muestras de cerveza *Pale Ale* con distintos tratamientos de *dry hopping* para determinar el agrado por intensidad de sabor amargo seleccionada por 55 consumidores de cerveza artesanal (PROP –)

Muestra	Número de respuestas en el punto JAR	Respuestas de intensidad menor a JAR	Respuestas de intensidad mayor a JAR	Número de respuestas fuera del JAR	Valor crítico prueba binomial JAR vs Otras categorías 0.05	Diferencias entre JAR y otros puntos	Valor crítico prueba binomial Extremos inferiores vs superiores 0.05	Diferencias entre extremos de la escala	Observaciones
Control	33	20	1	21	21	Si			Control y muestra de 7.5 g aceite/hL obtienen intensidad de sabor amargo adecuada
5g aceite/hL	28	15	13	28	21	No	10	No	
7.5 g aceite/hL	36	6	10	16	21	Si			

Al realizar la prueba binomial a este segmento se obtuvo diferencia significativa, para un $p= 0.05$, entre el punto central de la escala y los extremos, tanto para la muestra control como para la muestra de 7.5 g de aceite/hL, es decir; este segmento lo considera como una intensidad de sabor amargo ideal (Rothman & Parker, 2009).

Por su lado, para la muestra de 5 g de aceite/hL no se obtuvo diferencia significativa para dicho valor de p , entre el punto central y los extremos y tampoco entre los extremos superior e inferior. Lo anterior indica que el tratamiento no alcanza la intensidad de sabor amargo que este grupo de panelistas considera ideal, sin embargo, obtuvieron puntuaciones similares en el extremo superior e inferior de la escala, por lo que se cree que la concentración debe ser ajustada moderadamente para alcanzar el ideal (Rothman & Parker, 2009).

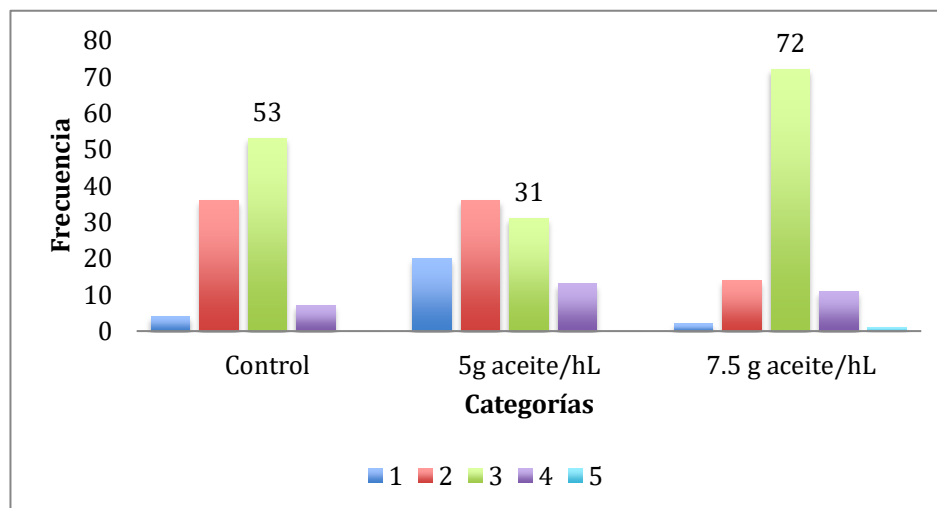
A pesar de todo lo anterior, el objetivo de la prueba justo-correcto era determinar si el tratamiento de adición de lúpulo post fermentación afectaba de manera negativa la intensidad de sabor amargo en las cervezas y aunque no todas las muestras obtuvieron una intensidad de atributo “ideal” se pudo observar que en ningún caso la muestra obtuvo puntuaciones en los extremos superiores de la escala indicando un sabor amargo en exceso.

Se concluye que los tratamientos de *dry hopping* en un periodo de 48 horas, con las concentraciones evaluadas, no afectan de manera negativa la intensidad de sabor amargo en la cerveza estilo *Pale Ale* y logra la intensidad que un grupo importante de panelistas considera adecuada.

A continuación, se presentan los resultados del efecto que los tratamientos tienen sobre el aroma de la cerveza.

5.2.2 Resultados de la prueba “justo-correcto” para agrado por intensidad de aroma a lúpulo.

La Figura 5 presenta los resultados de la prueba de agrado por intensidad de aroma a lúpulo al utilizar la escala justo-correcto, se muestran como la frecuencia con que los consumidores seleccionaron cada una de las distintas categorías de intensidad de aroma a lúpulo en la escala lineal de 5 puntos justo-correcto.



*Los números coinciden con las categorías utilizadas en la escala, dónde el 3 es el punto central y los extremos inferiores indican falta de intensidad de aroma a lúpulo y los superiores indican un exceso.

Figura 5. Frecuencia de resultados registrados en la escala justo-correcto para la intensidad de aroma a lúpulo para cada categoría, seleccionada por consumidores de cerveza artesanal utilizando la escala justo-correcto.

La figura 5 permite observar que el tratamiento de 7.5 g de aceite/hL obtiene una intensidad de aroma que el 72% de consumidores consideró ideal en la cerveza. Por lo tanto, se presume que es un tratamiento efectivo para lograr transferir los compuestos volátiles que se desean en la cerveza. La prueba de agrado general podrá confirmar si el consumidor puntúa esta cerveza mejor que el control.

Por su lado, las muestras de 5g de aceite/hL y el control obtuvieron resultados alejados del ideal con una inclinación a los extremos inferiores de la escala, por lo que se sospecha que la intensidad de aroma fue insuficiente para el consumidor. La prueba binomial podrá confirmar la existencia de diferencias significativas, e indicar si el atributo debe aumentar o disminuir (Rothman & Parker, 2009). Dicha prueba se presenta en el Cuadro VIII.

Dicho cuadro confirma que para la muestra de 7.5 g de aceite/hL existe diferencias significativas entre el punto central de la escala y el resto de puntos, y esta supera el 70% por lo que se puede concluir que el consumidor lo considera como una intensidad de aroma a lúpulo ideal (Lawless & Heymann, 2010; Rothman & Parker, 2009). Es esperable que de la adición con más lúpulo (7.5 g/ hL) se extraiga hacia la cerveza más compuestos volátiles que se traducen en aroma y sabor (Briggs *et al.*, 2004).

Además, el análisis de intensidad de sabor amargo demostró que este no se afecta de manera negativa por lo que se considera que un tratamiento con esta concentración de lúpulo y 48 horas de extracción tienen un resultado positivo en la cerveza.

Respecto a las otras dos muestras, se confirma que no existió diferencia significativa, para p de 0.05, entre el punto central y el resto, es decir la mayoría de panelistas no consideraron la intensidad del aroma a lúpulo como ideal.

En el caso del control esto era muy esperable puesto que uno de los principales objetivos de la adiciones de lúpulo post fermentación es precisamente impartir aromas a la cerveza y la muestra únicamente tenía el aroma proveniente de los lúpulos adicionados en el lado caliente de la preparación de la cerveza, en dónde estos compuestos volátiles se ven afectados por el calor (Dresel *et al.*, 2013; (Hahn *et al.*, 2018).

Cuadro VIII. Resultados de la prueba binomial realizada a los datos obtenidos de la prueba justo-correcto de las muestras de cerveza *Pale Ale* con distintos tratamientos de *dry hopping* para determinar el agrado por intensidad de aroma a lúpulo.

Muestra	Número de respuestas en el punto JAR	Respuestas de intensidad menor a JAR	Respuestas de intensidad mayor al JAR	Número de respuestas fuera del JAR	Valor crítico prueba binomial JAR vs Otras categorías con $\alpha=0.05$	Diferencias entre JAR y otros puntos	Valor crítico prueba binomial extremos inferiores vs superiores con $\alpha= 0.05$	Diferencias entre extremos de la escala	Observaciones
Control	53	40	7	47	42	No	18	Si	Control y dosis menor de lúpulo presentan baja intensidad de aroma
5g aceite/hL	31	56	11	67	42	No	27	Si	
17.5 g aceite/hL	72	16	12	28	42	Si			

Por su lado, para la adición de lúpulo de 5 g de aceite /hL se esperaba que obtuviera un agrado por intensidad de aroma mayor al control, caso que no ocurrió. Esto puede ser porque el consumidor de cerveza artesanal espera aromas más intensos en sus cervezas estilo *Pale Ale* o puede ser otro indicador que la extracción durante el *dry hopping* fue insuficiente o que en efecto ocurrió una oxidación de dicha muestra, los aromas provenientes del lúpulo se pueden ver degradados por reacciones con el oxígeno (Roberts *et al*, 2006), por lo que se sospecha que pudo ocurrir este fenómeno en la muestra.

También se puede afectar la muestra por factores de temperatura ambiental (pérdida de volátiles) (Wolfe, 2012) o que el tratamiento haya sido insuficiente para que la intensidad del aroma obtenido genere un efecto notorio y agradable a los consumidores. Con la información que se cuenta no se puede concluir con certeza el motivo por el cuál este tratamiento obtuvo un menor agrado por intensidad de aroma a lúpulo menor al control, pero se puede concluir que no cumplió su principal meta y se recomienda utilizar la adición de 7.5 g de aceite/hL o realizar pruebas a futuro con mayores concentraciones de aceites esenciales.

5.2.3 Resultado de pruebas fisicoquímicas de la cerveza base del estudio.

Cuadro IX. Parámetros fisicoquímicos de la cerveza *Pale Ale* realizada para el estudio y dos cervezas comerciales del mercado.

Cerveza	Prueba	Resultado
<i>Pale Ale</i> base	pH	4.50 (s=0.15)
	Alcohol (%v/v)	5.2 (±0.2)
	Color (SRM)	7.4 (±0.1)
	Unidades de amargor (mg iso alfa ácido/L cerveza)	26 (±1)
Talok IPA	pH	4.20 (s=0.12)
	Alcohol (%v/v)	5.8 (±0.2)
	Color (SRM)	11.0 (±0.1)
	Unidades de amargor (mg iso alfa ácido/L cerveza) <small>*reportados por productor</small>	50
Urán IPA	pH	4.50 (s=0.10)
	Alcohol (%v/v)	6.2 (±0.2)
	Color (SRM)	7.4 (±0.1)
	Unidades de amargor (mg iso alfa ácido/L cerveza) <small>*reportados por productor</small>	67

En la actualidad los cerveceros artesanales se enfocan en crear cervezas que posean un balance entre los diversos sabores y sensaciones en boca que permitan disfrutar al máximo dicha bebida. Se monitorearon parámetros visuales (color) y sensoriales para comprobar si dichos factores influyen en los resultados del agrado general.

Cabe mencionar que el pH y color de las muestras obtienen valores muy similares entre sí, mientras que el alcohol y unidades de amargor (IBU) si

presentan algunas diferencias que pueden llegar a ser de consideración (Lafontaine & Shellhammer, 2018). Los valores de IBU de las cervezas comerciales son los reportados por el productor puesto que el método utilizado de espectrofotometría para la cerveza base se ve interferido por el lúpulo no isomerizado puesto que ambas sustancias absorben luz a la misma longitud de onda (Maye & Smith, 2016) .

5.3 Resultados de la prueba de agrado general de las cervezas con tratamientos de adición de lúpulo post fermentación por tiempos cortos de extracción y muestras del mercado nacional.

Se realizó un análisis de conglomerados jerárquicos para determinar subgrupos entre los panelistas, se obtienen 2 clases de consumidores una con 43 jueces (22 PROP – y 22 PROP +) y la otra con 56 (33 PROP – y 23 PROP +). A cada una de ellas se le realizó el respectivo análisis de varianza y posteriores pruebas correspondientes. A continuación, el Cuadro X presenta dicho análisis para la primera clase.

Como se observa en el cuadro mencionado se obtiene una probabilidad asociada mucho menor a la significancia definida de 0.05, es decir, existe diferencia significativa para el agrado obtenido en los tratamientos para este grupo de consumidores. Por lo que se realiza una prueba de comparación de medias de Tukey, que se presenta en el Cuadro XI.

Cuadro X. Resultados del análisis de varianza para la clase 1 de consumidores de cerveza artesanal (43 panelistas) que juzgaron los prototipos con tratamientos de *dry hopping* y las muestras comerciales para la evaluación del agrado general. Se utiliza $\alpha=0.05$.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Prob > F
Tratamiento	4	223.8	55.9	14.9	<.0001
Error	210	787.0	3.7		
C. Total	214	1010.8			

Cuadro XI. Resultados de la prueba de comparación de medias de Tukey para determinar el agrado de cada muestra con tratamientos de *dry hopping* y las muestras comerciales.

Tratamiento/Muestra	Media
Fuego Talok	8.1 ^A
Urán (Os Beer Co)	7.4 ^A
7.5 g aceite/hL	7.2 ^A
Control	5.6 ^B
5g aceite/ hL	5.5 ^B

Los valores con letra distinta presentan diferencias significativas con $\alpha=0.05$

Los dos cuadros anteriores muestran que este grupo de panelistas encontró diferencias entre las muestras de cervezas con *dry hopping* y las muestras del mercado, en el Cuadro XI se observa las medias obtenidas para cada muestra.

Por su lado, las dos muestras del mercado y el tratamiento de mayor concentración de lúpulo (7.5g aceite/hL) obtuvieron un agrado similar entre sí, y significativamente distinto al control y la muestra con menor contenido de lúpulo (5g aceite/hL).

Las muestras control y el tratamiento de menor concentración de lúpulo (5g aceite/hL) obtuvieron las menores puntuaciones de agrado para este grupo de panelistas, lo que coincide con lo obtenido en las pruebas justo correcto, donde estas muestras obtuvieron que la intensidad de aroma a lúpulo era insuficiente.

Se observa que las dos muestras del mercado (de estilos IPA) y la muestra de mayor concentración de lúpulo fueron las de mayor puntuación, lo que hace sospechar que este grupo de consumidores presenta una predilección por los sabores asociados al lúpulo. Cabe mencionar que en Estados Unidos se ha observado que el consumo de lúpulo (cervezas más lupuladas) ha ido en

incremento en las últimas décadas (Hieronymus, 2012; Magalhães, Carvalho, Cruz, Guido, & Barros, 2009) y esta tendencia se repite en la variedad de cervezas artesanales en los supermercados de nuestro país.

Lo anterior indica que, para este grupo de personas, el tratamiento de adición de lúpulo de 7.5g aceite/hL, con 48 horas de contacto, tiene un efecto positivo sobre el agrado de la cerveza respecto al control y dicho agrado es similar al de estas cervezas del mercado que también tienen adiciones de lúpulos post fermentación.

Estos datos, en conjunto con los resultados de la prueba justo-correcto, permiten concluir que sí ocurre una extracción de los compuestos de aroma y sabor del lúpulo y que estos afectan de manera positiva el agrado general de la cerveza *Pale Ale*, para este grupo de consumidores, para el lote realizado bajo una única medición de concentración de lúpulo.

Por otro lado, se realizó el análisis de varianza de forma análoga a la clase 2 de consumidores obtenida en el análisis de conglomerados, los resultados se muestran a continuación en el Cuadro XII.

Se puede apreciar en el Cuadro XII que, para este grupo de consumidores, no hay diferencia significativa para un valor $p=0.05$ entre las muestras analizadas, es decir, las 5 muestras presentan un agrado similar entre sí, obteniendo un promedio de agrado de 4.6. Las medias de cada muestra se muestran en el Cuadro XIII.

Como se comentó con anterioridad, el análisis de varianza no arrojó diferencia significativa entre las muestras para este grupo de jueces con un valor $p=0.05$. Esto puede significar varias cosas: los panelistas no eran consumidores de este estilo de cervezas y ninguna muestra fue de su agrado; el sabor amargo opacó cualquier diferencia detectable para estos jueces o la percepción de la intensidad

de sabor amargo no resultó lineal a la cantidad de lúpulo y se ve afectada por otras sustancias presentes en la planta (Hahn *et al.*, 2018).

Otras posibles causas podrían ser que las diferencias entre tratamientos no eran lo suficientemente intensas para generar una diferencia en el agrado (Dresel, Dunkel, & Hofmann, 2015) o que las muestras pudieron incrementar su temperatura durante el panel y provocar un sesgo en el agrado general.

Cuadro XII. Resultados del análisis de varianza para la clase 2 de consumidores de cerveza artesanal (56 panelistas) que juzgaron los prototipos con tratamientos de *dry hopping* y las muestras comerciales para la evaluación del agrado general. Se utiliza $\alpha=0.05$.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Prob > F
Tratamiento	4	17.35	4.34	0.89	0.47
Error	275	1,332.22	4.84		
Total	279	1,349.57			

Cuadro XIII. Media de agrado obtenido luego del análisis de varianza para la clase 2 de consumidores de cerveza artesanal (56 panelistas) que juzgaron los prototipos con tratamientos de *dry hopping* y las muestras comerciales para la evaluación del agrado general.

Muestra	Media
5g aceite/ hL	4.93
Urán Os beer Co	4.40
Fuego Talok	4.63
7.5 g aceite/ hL	4.24
Control	4.78

También se debe tener en cuenta que la cerveza artesanal y en especial los estilos con altos contenidos de lúpulo son relativamente nuevos en los mercados (tanto nacional como en el mundo), por lo que el consumidor tiene diversas expectativas y aficciones distintas hacia este producto, lo que se puede ver

reflejado en indiferencia hacia un producto que no cumple las expectativas personales.

A pesar de lo anterior, al no obtener diferencia entre el agrado, se puede decir que el tratamiento no afecta de forma negativa a la cerveza y su agrado es comparable con cervezas con tratamientos de adición de lúpulo post fermentación de estilos similares en el mercado.

Por lo anterior, las pruebas sensoriales realizadas indican que el efectuar una adición de lúpulo a una concentración de 7.5g de aceite/ hL de cerveza, por un periodo de 48 horas a 20°C logra extraer los compuestos volátiles de lúpulo, mejorando el agrado general, la intensidad de aroma y sin afectar de manera negativa la intensidad del sabor amargo de una cerveza estilo *Pale Ale*, cuyo agrado es comparable con cervezas lupuladas del mercado nacional.

6 Conclusiones y recomendaciones

Para el lote de cerveza realizada, con sus respectivos tratamientos de adición de lúpulo post fermentación, según la metodología descrita en este documento son válidas las siguientes conclusiones y recomendaciones:

- Tiempos prolongados (mayores de 4 días) de contacto entre lúpulo y cerveza post fermentación va a afectar de forma negativa la intensidad del sabor amargo y astringencia de la cerveza, mientras que los tiempos cortos de extracción (48 horas), tendrán un efecto positivo en la intensidad de aroma y sabor a lúpulo en la cerveza.
- En 48 horas de contacto, sin agitación y a temperatura de fermentación (20 °C), una concentración de 7.5 g de aceite en pellets de lúpulo por hectolitro de cerveza va a lograr extraer los compuestos volátiles que logran una intensidad de aroma a lúpulo que el consumidor considera agradable.

- El proceso anterior también va a lograr un nivel de agrado general en una cerveza *Pale Ale* comparable con cervezas del mercado.
- Cantidades bajas de lúpulo no logran obtener la mejora buscada en el perfil sensorial.
- Estas condiciones son fáciles de replicar en cualquier equipo de fabricación de cerveza a escala de micro cervecería.
- Se recomienda utilizar combinaciones de lúpulo de distintas variedades ya que cada variedad presenta compuestos volátiles diferentes que pueden interactuar entre sí y formar aromas y sabores más complejos y apreciados.
- Se recomienda realizar adiciones de lúpulo según su contenido de aceite y no según su masa, buscando concentraciones mayores a 7.5 g de aceite/hL.
- Al realizar adiciones de lúpulo post fermentación, se recomienda complementar el estudio mediante el monitoreo del comportamiento de los compuestos presentes en el lúpulo mediante técnicas instrumentales tales como HPLC con olfatometría.
- Se recomienda realizar al producto final un monitoreo en el tiempo de almacenamiento en botella, ya que los compuestos volátiles provenientes del lúpulo son altamente sensibles a la oxidación.
- Se recomienda hacer pruebas sensoriales con adiciones aún mayores de lúpulo.

7 Bibliografía

7.1.1 Referencias citadas

- Anderson, R. G. 2006. History of Industrial Brewing. En F. G. Priest & G. G. Stewart. Handbook of Brewing (pp. 1–37). Taylor & Francis.
- ASBC (American Society of Brewing Chemist). 2011a. ASBC Methods of Analysis. Alcohol (libro electrónico). St. Paul, MN, Estados Unidos. DOI: 10.1094/ASBCMOA-Beer-4

- ASBC (American Society of Brewing Chemist). 2011b. ASBC Methods of Analysis. Beer Bitterness (libro electrónico). American Society of Brewing Chemist. St. Paul, MN, Estados Unidos. DOI: 10.1094/ASBCMOA-Beer-23
- ASBC (American Society of Brewing Chemist). 2011c. ASBC Methods of Analysis. Color (libro electrónico). St. Paul, MN, Estados Unidos. DOI:1094/ASBCMOA-Bottles-3
- ASBC (American Society of Brewing Chemist). 2011d. ASBC Methods of Analysis. Sampling (libro electrónico). St. Paul, MN, Estados Unidos. DOI: 10.1094/ASBCMOA-Beer-1
- Avendaño Arce, M. 2018. Cerveceros Artesanales de Costa Rica trabajan en clúster para exportar a Estados Unidos (en línea). La Nación. Recuperado el 20 de julio de 2019, de <https://www.nacion.com/economia/negocios/cerveceros-artesanales-de-costa-rica-trabajan-en/OGS6NU4UHFCCFFCTYRZD54LP5HY/story/>
- Barnes, Z. C. 2006. Brewing Process Control (en línea). *En* Priest, F.G & Stewart, G.G (Eds.), *Handbook of Brewing* (pp. 77–90). Taylor & Francis. Consultado: 12 Julio 2018. Disponible en: <https://doi.org/10.1201/9781420015171.fmatt>
- Borremans, Y., Van Opstaele, F., Van Holle, A., Van Nieuwenhove, J., Jaskula-Goiris, B., De Clippeleer, J., Naudts, D., De Keukeleire, D., De Cooman, L. & Aerts, G. 2012. Analytical and sensory assessment of the flavour stability impact of dry-hopping in single-hop beers; 10º Simposio: Trends in Brewing, Gent, Bélgica.
- Briggs, D. E., Brookes, P., Stevens, R., & Boulton, C. 2004. *Brewing: Science and Practice* (en línea). Consultado: 8 ene. 2018. Disponible en: DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.2344>
- Chinnasamy, B., Jin, L., & Clark, S. 2014. Use of just-about-right scales and penalty analysis to determine appropriate concentrations of stevia sweeteners for vanilla yogurt (en línea). *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3262–3272. Consultado: 14 de marzo 2019. Disponible en:

<https://doi.org/10.3168/jds.2013-7365>

Clark, S., Costello, M., Drake, M., & Bodyfelt, F. 2009. The Sensory Evaluation of Dairy Products (en línea). 2da edición. New York, NY: Springer US. Consultado: 11 julio 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-0-387-77408-4>.

Cubero Castillo, E., & Noble, A. C. 2001. Effect of Compound Sequence on Bitterness Enhancement (artículo electrónico). *Chem Senses*, 1(26), 419–424. Oxford University Press.

De Keukeleirc, D. 2000. Fundamentals of Beer And Hop Chemistry (en línea). *Química Nova*, 23(1), 108–112. Consultado: 21 ene. 2018. Disponible en: DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000100019>

Dresel, M., Dunkel, A., & Hofmann, T. 2015. Sensomics Analysis of Key Bitter Compounds in the Hard Resin of Hops (*Humulus lupulus* L.) and Their Contribution to the Bitter Profile of Pilsner-Type Beer (en línea). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(13), 3402–3418. Consultado 16 de octubre 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b00239>

Dresel, M., Praet, T., Opstaele, F. Van, Holle, A. Van, Nieuwenhove, J. Van, Naudts, D., Kahosl, L., De Keukeleirc, D., Aerts, G. & De Cooman, L. 2013. From Wort to Beer: The Evolution of Hoppy Aroma of Single Hop Beers produced by Early Kettle Hopping , Late Kettle Hopping and Dry Hopping (en línea). Consultado: 14 ene. 2017. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/271848239_From_wort_to_beer_The_evolution_of_hoppy_aroma_of_single_hopped_beers_produced_by_early_kettle_hopping_late_kettle_hopping_and_dry_hopping

Eaton, B. 2006. An Overview of Brewing (en línea). *En* Priest, F.G & Stewart, G.G (Eds.), *Handbook of Brewing* (pp. 77–90). Taylor & Francis. Consultado: 23 nov 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.1201/9781420015171.fmatt>

Feng, S. 2014. Aroma-Active Compounds in ‘Centennial’, ‘Citra’ and ‘Nelson Sauvin’ Hop Varieties and Their Aroma Contribution to Dry-Hopped Beer (en

- linea). Thesis MSc. Oregon, Estados Unidos. Oregon State University. Consultado: 23 feb. 2018. Disponible en: <https://ir.library.oregonstate.edu/downloads/ms35tf087>
- Fernández, E. 2017. Más consumo impulsa la industria de cerveza en Costa Rica (en línea). *El financiero*. Consultado: 7 dic 2017 Disponible en: <https://www.elfinancierocr.com/negocios/mas-consumo-impulsa-la-industria-de-cerveza-en-costa-rica/64BLROG6H5HIZF3EUBLIDZR5FY/story/>
- Forster, A., & Gahr, A. 2013. On the fate of certain hop substances during dry hopping (en línea). *Brewing Science*, 66(7–8), 93–103. Consultado: 24 marzo 2018. Disponible en: http://www.agraria.com.br/extranet/arquivos/agromalte_arquivo/fatos_substancias_dry_hopping_brewingscience_-_ing.pdf
- Gacula, M., Rutenbeck, S., Pollack, L., Resurreccion, A. V. A., & Moskowitz, H. R. 2007. The just-about-right intensity scale: Functional Analyses and Relation to Hedonics (en línea). *Journal of Sensory Studies*, 22(2), 194–211. Consultado: 21 marzo 2018. Disponible en DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2007.00102.x>
- Hahn, C.D., Lafontaine, S.R., Pereira, C.B., & Shellhammer, T.H. 2018. Evaluation of Nonvolatile Chemistry Affecting Sensory Bitterness Intensity of Highly Hopped Beers (en línea). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(13), 3505–3513. Consultado: 16 de octubre 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05784>
- Hastie, T., Tibshirani, R., & Friedman, J. 2009. Cluster Analysis. En *The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference and Prediction* (pp. 501–527). Springer. Consultado: 22 de marzon del 2020. Disponbiel en: https://doi.org/10.1007/b94608_4.
- Hieronymus, S. 2012. For the love of hops; The practical guide to aroma, bitterness and the culture of hops. Brewers Publications, Colorado, Estados Unidos. 205-224.
- Jara, F. 2018. *Comparación del análisis tradicional de la escala hedónica de 9 puntos, que da resultados sesgados, con un nuevo tipo de análisis basado*

- en la teoría de detección de señales llamado el índice R para ordenamiento (en línea)*. Tesis de licenciatura. Universidad de Costa Rica. Consultado: 14 de junio 2019. Disponible en: <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/handle/123456789/5714>
- Kishimoto, T., Wanikawa, A., Kono, K., & Shibata, K. 2006. Comparison of the Odor-Active Compounds in Unhopped Beer and Beers Hopped with Different Hop Varieties (en línea). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(23), 8855–8861. Consultado: 14 Julio 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf061342c>
- Lafontaine, S. R., & Shellhammer, T. H. 2018. Impact of static dry-hopping rate on the sensory and analytical profiles of beer (en línea). *Journal of the Institute of Brewing*, 434–442. Consultado: 22 noviembre 2018. Diponible en: <https://doi.org/10.1002/jib.517>
- Lawless, H. T. 2013. Product Optimization, Just-About-Right (JAR) Scales, and Ideal Profiling. En Lawless, H. T. *Quantitative Sensory Analysis* (pp. 273–296) John Wiley & Sons. Consultado 24 junio 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/9781118684818.ch13>
- Lawless, H. T., & Heymann, H. 2010. *Sensory Evaluation of Food Principles and Practices* (en línea). 2da ed. Springer. NY, Estados Unidos. Consultado: 24 agosto 2017. Disponible en: DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5>
- Lawless, H. T., Popper, R., & Kroll, B. J. 2010. A comparison of the labeled magnitude (LAM) scale, an 11-point category scale and the traditional 9-point hedonic scale (en línea). *Food Quality and Preference*, 21(1), 4–12. Consultado: 13 de junio 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2009.06.009>
- Ly, A. & Drewnosky, A. 2001. PROP (6-n-Propylthiouracil) Tasting and Sensory Responses to Caffeine, Sucrose, Neohesperidin Dihydrochalcone and Chocolate (en línea). *Chem. Senses* 26: 41–47. Consultado: 10 septiembre 2018. Disponible en: <https://academic.oup.com/chemse/article/26/1/41/465385>
- MacFie, H.J.H. & Piggott, J.R. 2011. *Preference mapping: Principles and*

potential applications to alcoholic beverages. *En: Alcoholic Beverages: Sensory Evaluation and Consumer Research* pp. (436–476). Consultado: 22 de marzo 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-85709-051-5.50021-3>.

Magalhães, P.J., Carvalho, D.O., Cruz, J.M., Guido, L.F., & Barros, A.A. 2009. Fundamentals and health benefits of xanthohumol, a natural product derived from hops and beer (en línea). *Natural Product Communications*, 4(5), 591–610. Consultado: 19 de octubre 2019. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1934578X0900400501>

Maye, J. P., & Smith, R. 2016. Dry Hopping and Its Effects on the International Bitterness Unit Test and Beer Bitterness (en línea). *Technical Quarterly*, 53(3), 134–136. Consultados: 21 agosto 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.1094/TQ-53-3-0808-01>

Meilgaard, M. C. 1979. Beer Flavour Terminology (en línea). *Journal of the Institute of Brewing*, 85, 38–42. Consultados: 2 de Febrero 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1979.tb06826.x>

Meilgaard, M. 1982. Prediction of Flavor Differences between Beers from Their Chemical Composition (en línea). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30(6), 1009–1017. Consultado: 3 de febrero 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf00114a002>

Mitter, W., & Cocuzza, S. 2013. Dry Hopping a Study of Various Parameters: Consequences of the Applied Dosing Method (en línea). *Brewing and Beverage Industry International*. 4. 70–74. Consultado: 13 abril 2017. Disponible en: <https://www.scribd.com/document/339586067/Dry-Hopping-a-Study-of-Variou-Parameters>

Munroe, J. H. 2006. Fermentation. *En* Priest, F.G & Stewart, G.G (Eds.), *Handbook of Brewing* (pp. 487–524). Taylor & Francis. Consultado: 23 nov 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.1201/9781420015171.fmatt>

Oladokun, O., James, S., Cowley, T., Dehrmann, F., Smart, K., Hort, J., & Cook, D. 2017. Perceived bitterness character of beer in relation to hop variety and the impact of hop aroma (en Línea). *Food Chemistry*, 230, 215–224.

- Consultado 21 febrero 2020. Disponible en:
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.031>
- Palmer, G. H. 2006. Barley and Malt. *En* Priest, F.G & Stewart, G.G (Eds.), Handbook of Brewing (pp. 139–160). Taylor & Francis. Consultado: 23 nov 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.1201/9781420015171.fmatt>
- Ramírez Navas, J. S. 2012. Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor (en línea). *Revista ReCiTelA*, 12(1), 83–102. Consultado: 29 de mayo 2019. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/257890512>
- Roberts, T. R., Wilson, R. J. H., & Trellis, L. 2006. Hops. *En* Priest, F.G & Stewart, G.G (Eds.), Handbook of Brewing (pp. 181–278). Taylor & Francis. Consultado: 23 nov 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.1201/9781420015171.fmatt>
- Rothman, L., & Parker, M. J. 2009. Just-About-Right (JAR) Scales: Design, Usage, Benefits and Risks (libro electrónico). ASTM International. Pennsylvania, Estados Unidos. Consultado: 11 de abril 2018.
- Russell, I. 2006. Yeast. *En* Priest, F.G & Stewart, G.G (Eds.), Handbook of Brewing (pp. 281–324). Taylor & Francis. Consultado: 11 enero 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1201/9781420015171.fmatt>
- Schifferstein, H.N. & Frijters, J.E. 1991. The perception of the taste of KCl, NaCl and quinine HCl is not related to PROP-sensitivity. *Chem. Senses*, 16, 303–317.
- Schnaitter, M., Kell, A., Kollmannsberger, H., Schüll, F., Gastl, M., & Becker, T. 2016. Scale-up of Dry Hopping Trials: Importance of Scale for Aroma and Taste Perceptions (en línea). *Chemie-Ingenieur-Technik*, 88(12), 1955–1965. Consultado: 21 Diciembre 2018. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/cite.201600040>
- Sidel, J. L., & Stone, H. 2005. Sensory Science : Methodology (en línea). *En* H. Y., Hui (Ed.), Handbook of Food Science, Technology, and Engineering (pp. 1–24). CRC Press. Consultado: 16 junio 2017. Disponible en : <https://trove.nla.gov.au/work/19775188>
- Smaghe, K. & Louis-Sylvestre, J. 1998. Influence of PROP-sensitivity on taste

- perceptions and hedonics in French women. A study performed without retronasal olfaction. *Appetite*, 30, 325–339.
- Solis, R. 2018. Análisis sensorial. *In*: Curso Maestro Cervecerero. Instituto de Cervezas de América. Cartago, Costa Rica.
- Strong, G., & England, K. 2015. Beer Judge Certification Program 2015 Style Guidelines (en línea). Beer Judge Certification Program. Consultado: 22 junio 2018. Disponible en: https://www.bjcp.org/docs/2015_Guidelines_Beer.pdf
- Takoi, D. K. 2016. Varietal Difference of Hop Derived Flavour Compounds in Dry Hopped Beers (en línea). *Brauwelt International*, 69 (February), 234–239. Consultado: 14 enero 2018. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/296467444_Varietal_Difference_of_Hop-Derived_Flavour_Compounds_in_Late-HoppedDry-Hopped_Beers
- Taylor, D. G. 2006. Water. *En* Priest, F.G & Stewart, G.G (Eds.), *Handbook of Brewing* (pp. 93-135). Taylor & Francis. Consultado: 23 nov 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.1201/9781420015171.fmatt>
- Villanueva, N. D. M., & Da Silva, M. A. A. P. 2009. Comparative performance of the nine-point hedonic, hybrid and self-adjusting scales in the generation of internal preference maps (en línea). *Food Quality and Preference*. 20(1), 1–12. Consultado: 14 de julio 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2008.06.003>
- Villanueva, N. D. M., Petenate, A. J., & Da Silva, M. A. A. P. 2005. Performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales (en línea). *Food Quality and Preference*, 16(8), 691–703. Consultado: 13 de julio 2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2005.03.013>
- Vollmer, D., & Shellhammer, T. H. 2016. Influence of Hop Oil Content and Composition on Hop Aroma Intensity in Dry-Hopped Beer (en línea). *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 74(4):242-249. Disponible en: <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2016-4123-01>
- Watson, B., & Herz, J. 2016. National Beer Sales & Production Data. Consultado:

3 de noviembre de 2017. Disponible en:
<https://www.brewersassociation.org/statistics/national-beer-sales-production-data/>

Wolfe, P. 2012. A Study of Factors Affecting the Extraction of Flavor When Dry Hopping Beer (en línea). Thesis MSc. Oregon, Estados Unidos. Oregon State University. Consultado: 23 feb. 2018. Disponible en:
<https://ir.library.oregonstate.edu/downloads/jq085p11m>

Wood, J. 2016. The Top Hops, According to New Survey from the Brewers Association. Consultado: 7 enero 2018. Disponible en:
<https://www.craftbeer.com/craft-beer-muses/brewers-association-releases-2016-hop-usage-survey>

Xion, R., Findlay, C., & Meullenet, J.F. 2007. Analysis of Just About Right Data. En: Multivariate and Probabilistic Analyses of Sensory Science Problems (pp. 207–235). Jhon Wiley & Sons. Consultado: 24 de junio 2019. Disponible en:
<http://ebookcentral.proquest.com/lib/sibdilibroebooks/detail.action?docID=468622>.

7.1.2 Referencias consultadas

- Baxter, E. & Hughes, P. 2001. Beer Quality, Safety and Nutritional Aspects. Ed Ilustrada. Royal Society of Chemistry. United Kingdom.
- Bellisle, F. & Lucas, F. 1987. The Measurement of Food Preferences in Humans: Do Taste and Spit Tests Predict Consumption? *Physiology & Behavior* 39 (6): 739- 743.
- Bower, J. & Boyd, R. 2002. Effect of Health Concern and Consumption Patterns on Measures of Sweetness by Hedonic And Just About Right Scales. *Journal Of Sensory Studies* 18: 235-248.
- Carpenter, R., Hasdell, T. & Lyon, D. 2002. Análisis Sensorial en el Desarrollo y Control de la Calidad de Alimentos. 2ed. Acribia, Zaragoza.
- Eyres, G.T., Marriott, P. J. & Dufour, J.P. 2007. Comparison of Odor-Active Compounds in the Spicy Fraction of Hop (*Humulus lupulus*) Essential Oil from Four Different Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 6252–6261.
- García García, J. A., Reding Bernal, A., & López Alvarenga, J. C. 2013. Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica (en línea). *Investigación en Educación Médica*, 2(8), 217–224. Consultado: 15 marzo 2018. Disponible en DOI:[https://doi.org/10.1016/S2007-5057\(13\)72715-7](https://doi.org/10.1016/S2007-5057(13)72715-7)
- Haley, J. & Peppard, T. L. 1983. Differences in Utilization of the Essential Oil of Hops During The Production of Dry Hopped and Late Hopped Beers. *Journal of the Institute of Brewing* 89(2): 87-91.
- Joslyn, M. 2012. *Methods in Food Analysis: Applied to Plant Products*. Elsevier. California, Estados Unidos.
- King, A. J. & Dickinson, J. R. 2008. Biotransformation of Hop Aroma Terpenoids by Ale and Lager Yeasts. *FEMS Yeast Research*. 3, 53–62.
- Mcketta, J. 1977. *Encyclopedia of Chemical Processing and Design*. Ed ilustrada. Chemical Processing and Design Encyclopedia. CRC Press. Boca Ratón, Estados Unidos.

- Peyton, J. 2015. Beer O' Clock. An Insider's Guide to History, Craft, and Culture. Skyhorse Publishing, Inc. Estados Unidos de Norteamérica.
- Spencer, I. 1999. Brewing. Royal Society of Chemistry. New York, Estados Unidos de Norteamérica.
- Vanderhaegen, B. 2006. The Chemistry of Beer Aging – A Critical Review. Food Chemistry, Vol 95, 357.
- Verzele, M. & Keukeleire, D. 1991. Chemistry and Analysis of Hop and Beer Bitter Acids; Developments in Food Science; Elsevier Science Publishers, Vol. 27.

8 Anexos

Anexo 1.

Contenido de sustancias de interés en los posibles lúpulos a utilizar en los tratamientos de *dry hopping*.

Cuadro XIV. Contenido de alfa ácidos, cohumulona, contenido total y relativo de aceites en el lúpulo Citra reportados por su productor, Yakima Valley Hops.

Parámetro	Cantidad
Álfa ácidos (%)	10 – 15
Cohumulona (%)	20 – 35
Aceite Total (ml/ 100 g)	1.5 – 3
Mirceno (%)	60 – 70
Humuleno (%)	7 – 12
Cariofileno (%)	5 – 8
Farneseno (%)	<1

Cuadro XV. Contenido de alfa ácidos, cohumulona, contenido total y relativo de aceites en el lúpulo Cascade reportados por su productor, Yakima Valley Hops.

Parámetro	Cantidad
Álfa ácidos (%)	4.5 – 8.9
Cohumulona (%)	33 – 40
Aceite Total (ml/ 100 g)	0.8 – 1.5
Mirceno (%)	45 – 60
Humuleno (%)	8 – 16
Cariofileno (%)	4– 6
Farneseno (%)	4 – 8

Cuadro XVI. Contenido de alfa ácidos, cohumulona, contenido total y relativo de aceites en el lúpulo Centennial reportados por su productor, Yakima Valley Hops.

Parámetro	Cantidad
Álfa ácidos (%)	9.5 – 11.5
Cohumulona (%)	28 – 30
Aceite Total (ml/ 100 g)	1.5 – 2.5
Mirceno (%)	45 – 55
Humuleno (%)	10 – 18
Cariofileno (%)	5 – 8
Farneseno (%)	0 – 1

Cuadro XVII. Contenido de alfa ácidos, cohumulona, contenido total y relativo de aceites en el lúpulo Simcoe reportados por su productor, Yakima Valley Hops.

Parámetro	Cantidad
Álfa ácidos (%)	12 – 14
Cohumulona (%)	15 – 20
Aceite Total (ml/ 100 g)	2 – 2.5
Mirceno (%)	60 – 65
Humuleno (%)	10 – 15
Cariofileno (%)	5 – 8
Farneseno (%)	0 – 1

Cuadro XVIII. Contenido de alfa ácidos, cohumulona, contenido total y relativo de aceites en el lúpulo Chinook reportados por su productor, Yakima Valley Hops.

Parámetro	Cantidad
Álfa ácidos (%)	12 – 14
Cohumulona (%)	29 – 34
Aceite Total (ml/ 100 g)	1.5 – 2.7
Mirceno (%)	35 – 40
Humuleno (%)	18 – 25
Cariofileno (%)	9 – 11
Farneseno (%)	0 – 1

Cuadro XIX. Contenido de alfa ácidos, cohumulona, contenido total y relativo de aceites en el lúpulo El Dorado reportados por su productor, Yakima Valley Hops.

Parámetro	Cantidad
Álfa ácidos (%)	13 – 17
Cohumulona (%)	28 – 33
Aceite Total (ml/ 100 g)	2.5 – 3.3
Mirceno (%)	55 – 60
Humuleno (%)	10 – 15
Cariofileno (%)	6 – 8
Farneseno (%)	0.1

Anexo 2

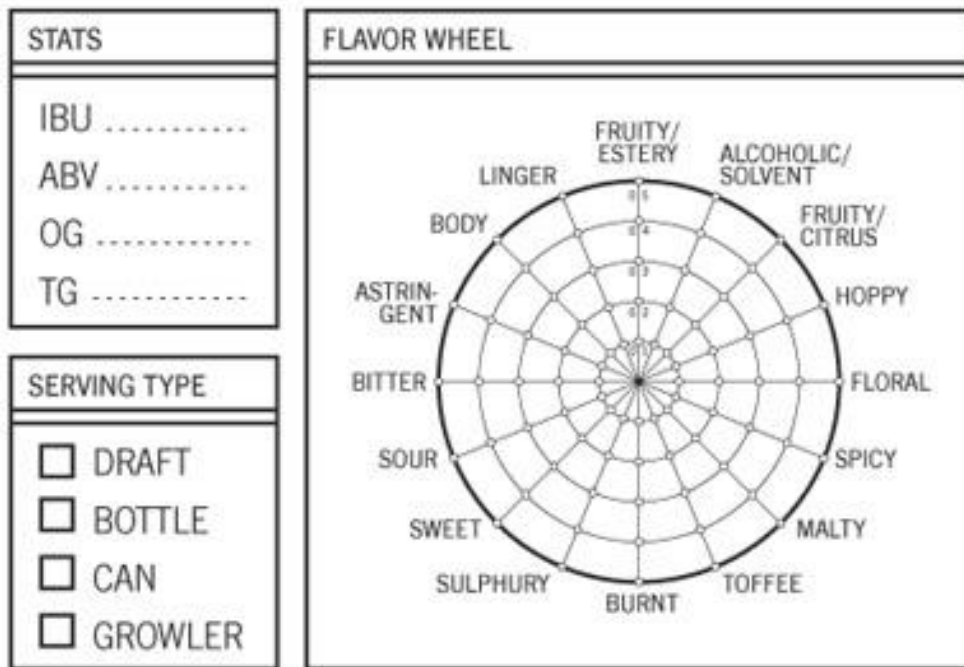


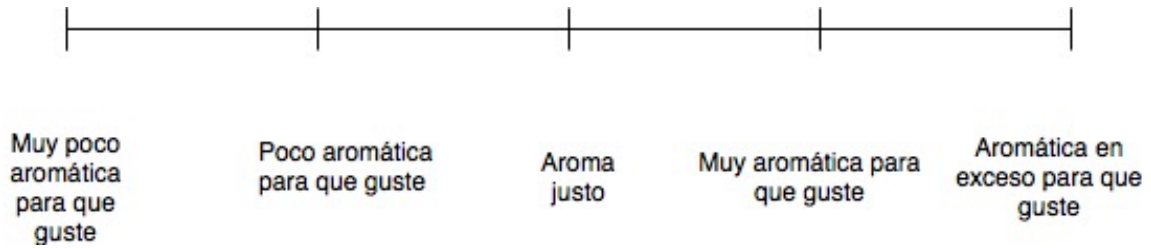
Figura 7. Rueda de sabores utilizada en pruebas preliminares de adición de lúpulo en tiempos prolongados.

Anexo 3

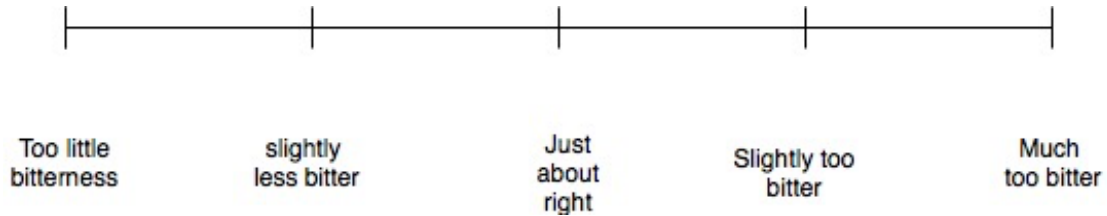
Escala para determinación de la intensidad de sabor amargo ideal mediante la prueba justo-correcto (JAR) en español.



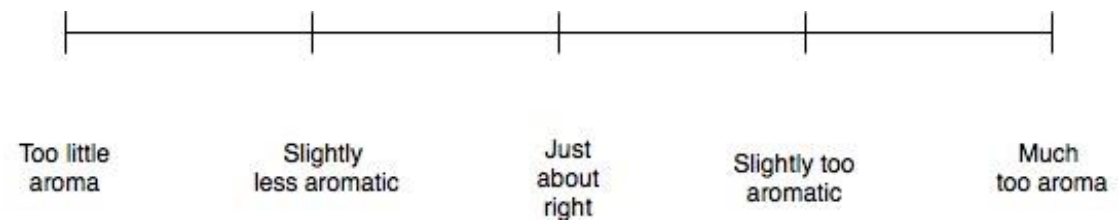
Escala para determinación de intensidad aroma ideal mediante la prueba justo-correcto (JAR) en español.



Escala para determinación de la intensidad de sabor amargo ideal mediante la prueba justo-correcto (JAR) en idioma inglés.



Escala para determinación de intensidad aroma ideal mediante la prueba justo-correcto (JAR) en inglés.



Anexo 4

Escala de nueve puntos para determinación de agrado general de las cervezas a evaluar.

