

# Valuation and use of a new variety of barley for brewing craft beer

## Valoración y uso de una nueva variedad de cebada para elaboración de cerveza artesanal

Fabiola Araceli Guzmán-Ortiz<sup>1</sup>; Armando Soto-Carrasquel<sup>2</sup>; Patricia López-Perea<sup>3</sup>; Alma Delia Román-Gutiérrez<sup>2\*</sup>

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, <sup>1</sup>Cátedra CONACyT, <sup>2</sup>Área Académica de Química. Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5, Ciudad del Conocimiento, Mineral de la Reforma, Hidalgo, C. P. 42183, MÉXICO.

<sup>3</sup>Universidad Politécnica de Francisco I. Madero. Domicilio Conocido, Tepatepec, Francisco I. Madero, Hidalgo, C. P. 42660, MÉXICO.

\*Corresponding author: aroman@uaeh.edu.mx, tel. 771 717 2000 ext. 2514.

### Abstract

**Introduction:** In recent years the brewing industry has shown great growth, which makes it necessary to generate knowledge about the use of new varieties of barley produced in Mexico.

**Objective:** To evaluate the potential of Doña Josefa barley to brew gourmet-type beer with different flavor notes according to the type of malt.

**Methodology:** Five malts were prepared: Pilsen, Vienna, Melano, Café and Chocolate. Their diastatic power, concentration of total and reducing sugars and content of  $\beta$ -glucans were analyzed. Subsequently, Pilsen was mixed with each of the other malts to obtain beer worts, from which different craft beers were brewed and later physically evaluated and compared sensorially with commercial beers.

**Results:** Pilsen malt had the highest concentration of total sugars (67.09 g-100 g<sup>-1</sup> malt) and Melano the lowest (24 g-100 g<sup>-1</sup> malt). Vienna malt had the lowest diastatic power. The beers showed an alcohol content between 4 and 7 %, associated with the pH trend. Sensorially, only the Café and Chocolate beers were accepted by consumers.

**Study limitations:** Only one type of fermentation (lager) and one strain of yeast were used.

**Originality:** Doña Josefa barley is a new variety that has greater resistance to disease and is slightly larger than those currently used to produce beer.

**Conclusions:** The malting provided suitable conditions for making different brewing malts from the Doña Josefa barley. The malts had total and reducing sugar values appropriate for brewing beers. Chocolate beer had the same level of acceptance as a commercial beer.

**Keywords:** *Hordeum vulgare*, sugars,  $\beta$ -glucans, malt, wort, Pilsen.

### Resumen

**Introducción:** En los últimos años la industria cervecera ha presentado gran crecimiento, lo que hace necesario generar conocimiento sobre el uso de nuevas variedades de cebadas producidas en México.

**Objetivo:** Evaluar el potencial de la cebada Doña Josefa para elaborar cerveza tipo gourmet con notas diferentes de sabor de acuerdo con el tipo de malta.

**Metodología:** Se elaboraron cinco maltas: Pilsen, Viena, Melano, Café y Chocolate, se analizó su poder diastásico, su concentración de azúcares reductores, totales y  $\beta$ -glucanos. Posteriormente, se mezcló la Pilsen con cada una de las otras maltas para obtener mostos cerveceros, a partir de los cuales se elaboraron distintas cervezas artesanales; estas se evaluaron físicamente y se compararon sensorialmente con cervezas comerciales.

**Resultados:** La malta Pilsen presentó la concentración de azúcares totales más alta (67.09 g-100 g<sup>-1</sup> de malta), y la Melano la más baja (24 g-100 g<sup>-1</sup> de malta). Por su parte, la malta Viena tuvo el menor poder diastásico. Las cervezas mostraron un contenido alcohólico entre 4 y 7 %, asociado a la tendencia de pH. Sensorialmente, solo las cervezas Café y Chocolate tuvieron aceptación por los consumidores.

**Limitaciones del estudio:** Solo se usó un tipo de fermentación (lager) y una cepa de levadura.

**Originalidad:** La cebada Doña Josefa es una variedad nueva que presenta mayor resistencia a enfermedades y es ligeramente más grande que las usadas actualmente para producir cerveza.

**Conclusiones:** El malteado permitió tener condiciones adecuadas para elaborar distintas maltas cerveceras a partir de la cebada Doña Josefa. Las maltas presentaron valores de azúcares totales y reductores adecuados para elaborar cervezas. La cerveza Chocolate tuvo el mismo nivel de aceptación que una cerveza comercial.

**Palabras clave:** *Hordeum vulgare*, azúcares,  $\beta$ -glucanos, malta, mosto, Pilsen.

## Introduction

Barley (*Hordeum vulgare*) is produced almost everywhere in the world, with 70 % of its production going to the malting industry and the remaining 30 % to cattle feed (Akar, Avci, & Dusunceli, 2004). The barley used for brewing must have high starch percentages (60 to 80%), as it is the compound that gives rise to the fermentable extract; in addition, the type of barley is one of the most important factors in the development of flavor. During malting, cereal grains undergo a series of chemical and structural changes, which lead both to the release of fermentable carbohydrates and to the production of precursors related to the organoleptic properties (color, aroma and flavor) desired for beer production (Chandra, Proudlove, & Baxter, 1999). The malt produced during this process provides saccharides, proteins, free amino nitrogen and enzymes, which favor fermentation (Bokulich & Bamforth, 2013; Fox, 2009).

Depending on the roasting applied to the grains, different types of malt can be obtained, such as base, crystal or caramel, special, amber, chocolate and black malts. The main difference between the first three is color, since in base malts, such as Ale and Lager, some enzymes tolerate the drying process because it is carried out under low temperature conditions, which minimizes color formation (Briggs, Boulton, Brookes, & Stevens, 2004). On the contrary, in the making of special malts, the high temperature promotes the formation of free sugars and amino acids; the interaction of these and other substances form melanoidins by Maillard reaction (Briggs et al., 2004). Therefore, special malts, such as Chocolate and Café, are rich in melanoidins (Čechovská, Konecny, & Valisek, 2012), which also impart aroma to beers. Roasted malts generate products such as methylpyrazines, furfural, pyrrole, 5-methyl furfural, benzaldehydes and maltol. In clear malts, such as Crystal, compounds such as isomaltol, 2-furanmetanol and 2-hydroxy-2-cyclopenten-1-one are produced that provide specific characteristics to beer (Yahya, Linforth, & Cook, 2014).

The brewing industry has shown high growth, mainly in the craft beer brewing market, where the process must be more careful due to the little technology used in making it. However, the characteristics of this type of beer vary compared to a commercial beer. Some important variation factors are the care and dedication of the master brewer during production (Bernáldez-Camiruaga, 2013), gasification and barley quality, the last affecting both physical and chemical characteristics. Therefore, barley must have enough starch, and enzymes to hydrolyze it, to leave simple sugars available for fermentation; however, not all barleys have these characteristics.

## Introducción

La cebada (*Hordeum vulgare*) se produce en casi todo el mundo; el 70 % de su producción se destina a la industria maltera, y el 30 % restante a la alimentación de ganado (Akar, Avci, & Dusunceli, 2004). La cebada utilizada para elaborar cerveza debe tener altos porcentajes de almidón (60 a 80 %), ya que es el compuesto que da origen al extracto fermentable; además, el tipo de cebada es uno de los factores más importantes en el desarrollo del sabor. Durante el malteado, los granos de cereal experimentan una serie de cambios químicos y estructurales, los cuales conducen tanto a la liberación de carbohidratos fermentables como a la producción de precursores relacionados con las propiedades organolépticas (color, olor y sabor) deseadas para la producción de cerveza (Chandra, Proudlove, & Baxter, 1999). La malta producida durante este proceso proporciona sacáridos, proteínas, nitrógeno amino libre y enzimas, que favorecen la fermentación (Bokulich & Bamforth, 2013; Fox, 2009).

Dependiendo del tostado aplicado a los granos se pueden obtener diferentes tipos de malta, como las maltas base, cristal o caramelo, especiales, amber, chocolate y negra. La principal diferencia entre las tres primeras es el color, ya que en las maltas base, como las Ale y Lager, algunas enzimas toleran el proceso de secado debido a que se realiza en condiciones de temperaturas bajas, lo que minimiza la formación de color (Briggs, Boulton, Brookes, & Stevens, 2004). Por el contrario, en la elaboración de maltas especiales, la temperatura elevada promueve la formación de azúcares libres y aminoácidos; la interacción de éstos y otras sustancias forman melanoidinas por la reacción de Maillard (Briggs et al., 2004). Por ello, las maltas especiales, como Chocolate y Café, son ricas en melanoidinas (Čechovská, Konecny, & Valisek, 2012), las cuales también otorgan aroma a las cervezas. En las maltas tostadas se generan productos como metilpirazinas, furfural, pirrol, 5-metil furfural, benzaldehídos y maltol. En las maltas claras, como Cristal, se producen compuestos como isomaltol, 2-furanmetanol y 2-hidroxí-2-ciclopenten-1-ona que aportan características específicas a la cerveza (Yahya, Linforth, & Cook, 2014).

La industria cervecera ha presentado un crecimiento alto, principalmente en el mercado de elaboración de cerveza artesanal, donde el proceso debe ser más cuidadoso debido a la poca tecnología que se emplea para su elaboración. Sin embargo, las características de este tipo de cervezas varían en comparación con una cerveza comercial. Algunos factores de variación importantes son el cuidado y dedicación del maestro cervecero durante la elaboración (Bernáldez-Camiruaga, 2013), la gasificación y la calidad de la cebada; este último afecta tanto las características

The demand for barley for beer production has increased the production of this cereal, mainly in rainfed agricultural areas, which has led to the need to obtain varieties with higher yields, tolerance to major diseases, and malting and brewing quality. The new varieties are an alternative with higher yields and greater tolerance to foliar diseases (Zamora-Díaz et al., 2008). In this sense, the Doña Josefa variety was obtained as an alternative to improve yields, as well as the agricultural conditions for planting in the rainy season. Currently there are few data on the production of different malts from this variety, so the conditions for its use in brewing craft beer are unknown. Due to the above, the aim of this work was to evaluate the potential of the Doña Josefa barley variety to produce gourmet-type beer with different flavor notes according to the type of malt.

## Materials and methods

### Raw material

Doña Josefa barley variety from the Coatlaco area, belonging to the municipality of Almoloya, Hidalgo, Mexico (19° 42' 12" NL, 98° 24' 12" WL, and between 2600 and 3300 masl), was used. The barley was obtained from a simple random sampling. All determinations were made in triplicate.

To obtain the malt, the barley grains were soaked for 24 h at 20 °C, then placed in an automatic germinator (developed by the *Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada* of the *Instituto Politécnico Nacional*) for 48 h at 20 °C, and finally dried and roasted in a stove (model 6957, Thermo Scientific™, USA) according to the type of malt to be obtained (Table 1).

### Malt extract

Once the different types of malt had been obtained, the extract was obtained in accordance with method 4.5.1 of the European Brewery Convention (EBC, 2003). First, 90 mL of water were added to 12.5 g of

físicas como las químicas. Por lo anterior, la cebada debe tener la cantidad suficiente de almidón, y enzimas que permitan hidrolizarlo, para dejar azúcares simples disponibles para la fermentación; sin embargo, no todas las cebadas cumplen con estas características.

La demanda de cebada para la producción de cerveza ha incrementado la producción de éste cereal, principalmente en zonas de temporal, lo que ha ocasionado la necesidad de obtener variedades con mayor rendimiento, tolerancia a las principales enfermedades, calidad maltera y cervecera. Las nuevas variedades son una alternativa con rendimientos superiores y mayor tolerancia a enfermedades foliares (Zamora-Díaz et al., 2008). En este sentido, la variedad Doña Josefa se obtuvo como una alternativa para mejorar los rendimientos, así como las condiciones agrícolas para su siembra en temporal. Actualmente existen pocos datos sobre la producción de diferentes maltas a partir de esta variedad, por lo que se desconocen las condiciones para su uso en la elaboración de cerveza artesanal. Debido a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial de la cebada variedad Doña Josefa para elaborar cerveza tipo gourmet con diferentes notas de sabor de acuerdo con el tipo de malta.

## Materiales y métodos

### Materia prima

Se utilizó cebada variedad Doña Josefa de la zona de Coatlaco, perteneciente al municipio de Almoloya, Hidalgo, México (19° 42' 12" latitud norte, 98° 24' 12" longitud oeste, y entre los 2600 y 3300 m de altitud). La cebada se obtuvo a partir de un muestreo aleatorio simple. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Para la obtención de la malta, los granos de cebada se remojaron por 24 h a 20 °C, después se colocaron en un germinador automático (desarrollado por el Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del Instituto Politécnico Nacional) por 48 h a

**Table 1. Drying and roasting conditions for making special malts.**

**Cuadro 1. Condiciones de secado y tostado para elaborar maltas especiales.**

| Malts / Maltas | Drying temperature (°C) / Temperatura de secado (°C) | Drying time (h) / Tiempo de secado (h) | Final roasting temperature (°C) / Temperatura de tostado final (°C) | Roasting time (h) / Tiempo de tostado (h) |
|----------------|--|--|---|---|
| Viena          | 50-60  | 24                                     | 105   | 2   |
| Pilsen         | 80-85  | 24                                     | Not applicable / No aplica  | Not applicable / No aplica                |
| Melano         | 50-60  | 24                                     | 130   | 2   |
| Café           | 50-60  | 24                                     | 200   | 2   |
| Chocolate      | 50-60  | 24                                     | 230   | 2   |

ground malt at  $65 \pm 0.5$  °C, maintaining this thermal condition for 90 min. Subsequently, the temperature was raised to 70 °C and 100 mL of water were added.

### Malt analysis

**Total sugars (TS; g·100 g<sup>-1</sup> of sample).** This determination was made in accordance with the method described by Dubois, Gilles, Hamilton, and Rebers (1956). First, 1 mL of malt extract, previously diluted with distilled water (1:100), and 1 mL of 5 % phenol (J.T. Baker) were placed in a test tube, where the mixture was stirred. Subsequently, 5 mL of concentrated sulfuric acid (J.T. Baker) were added, stirred and left to cool for 15 min. Absorbance was measured at 490 nm in a UV-vis spectrophotometer (Genesys, Thermo Scientific™, USA).

**Reducing sugars (RS; g·100 g<sup>-1</sup> of sample).** They were obtained using the 3,5-dinitrosalicylic (DNS) technique (Sigma Aldrich) (Miller, 1959). First, 1 mL of malt extract, previously diluted with distilled water (1:10), and 3 mL of DNS were placed in a test tube. Subsequently, the tube was immersed in a vessel with boiling water for 3 min, it was removed and 6 mL of distilled water were added, and then it was stirred and allowed to stand for 10 min. Absorbance was measured at 550 nm in the UV-vis spectrophotometer.

**β-glucans (%).** This compound was determined using enzymatic methods 3.10.1 and 4.16.1 (EBC, 2003). The malt was milled, sieved with a mesh size of 0.5 mm and 120 mg were placed in a test tube. The sample was moistened with 0.2 mL of 50 % ethanol (J.T. Baker), 4 mL of sodium phosphate buffer (20 mM, pH 6.5) were added and then it was immediately placed in water at 100 °C for 60 s. Subsequently, the tube was vortexed and incubated for 2 min in water at 50 °C. It was removed from the water bath, 0.2 mL of lichenase were added, vigorously stirred and incubated for 1 h at 50 °C, with stirring every 15 min. After this time, 5 mL of sodium acetate buffer (200 mM, pH 4) were added and vortexed. The sample was allowed to stand for 15 min and subsequently centrifuged for 10 min at 1000 rpm. Three aliquots of 0.1 mL each were taken from the supernatant and placed separately in three 12 mL tubes. Then 0.1 mL of sodium acetate buffer (50 mM, pH 4) was added to tube 1 (blank), and 0.1 mL of β-glucosidase (previously prepared with 50 mM sodium acetate buffer) was added to tubes 2 and 3. The tubes were closed and incubated for 10 min at 50 °C. After this time, 3 mL of glucose oxidase/peroxidase (GOPD) reagent were added to each tube and incubated at 50 °C for 20 min. Finally, absorbance was measured at 510 nm. The results were expressed according to the following equation:

$$\beta - \text{glucans} = \Delta A \times \frac{F}{W} \times 27 \quad (1)$$

20 °C, y finalmente se secaron y tostaron en una estufa (modelo 6957, Thermo Scientific™, EUA) de acuerdo con el tipo de malta a obtener (Cuadro 1).

### Extracto de malta

Una vez obtenidos los distintos tipos de malta, se obtuvo el extracto de acuerdo con el método 4.5.1 de la *European Brewery Convention* (EBC, 2003). A 12.5 g de malta molida se adicionaron 90 mL de agua a  $65 \pm 0.5$  °C, manteniendo esta condición térmica por 90 min. Posteriormente, la temperatura se elevó a 70 °C y se adicionaron 100 mL de agua.

### Análisis de la malta

**Azúcares totales (AT; g·100 g<sup>-1</sup> de muestra).** Esta determinación se realizó de acuerdo con el método descrito por Dubois, Gilles, Hamilton, y Rebers (1956). En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de extracto de malta, previamente diluido con agua destilada (1:100), y 1 mL de fenol al 5 % (J.T. Baker), la mezcla se agitó en vórtex. Posteriormente, se adicionaron 5 mL de ácido sulfúrico concentrado (J.T. Baker), se agitó y se dejó enfriar por 15 min. Se midió la absorbancia a 490 nm en un espectrofotómetro UV-vis (Genesys, Thermo Scientific™, EUA).

**Azúcares reductores (AR; g·100 g<sup>-1</sup> de muestra).** Se obtuvieron a partir de la técnica del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (Sigma Aldrich) (Miller, 1959). En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de extracto de malta, previamente diluido con agua destilada (1:10), y 3 mL de DNS. Posteriormente, el tubo se sumergió en un recipiente con agua en ebullición durante 3 min, se retiró y se adicionaron 6 mL de agua destilada, se agitó y se dejó reposar durante 10 min. Se midió la absorbancia a 550 nm en el espectrofotómetro UV-vis.

**β-glucanos (%).** La determinación de este compuesto se llevó a cabo por los métodos enzimáticos 3.10.1 y 4.16.1 (EBC, 2003). La malta se molió, se tamizó con tamaño de malla de 0.5 mm y se colocaron 120 mg en un tubo de ensayo. La muestra se humedeció con 0.2 mL de etanol al 50 % (J.T. Baker), se añadieron 4 mL de amortiguador fosfato de sodio (20 mM, pH 6.5) e inmediatamente se colocó en agua a 100 °C por 60 s. Posteriormente, el tubo se agitó en vórtex y se incubó por 2 min en agua a 50 °C. Se retiró del baño de agua, se agregaron 0.2 mL de liquenasa agitando vigorosamente y se incubó durante 1 h a 50 °C, con agitación cada 15 min. Después de este tiempo, se añadieron 5 mL de amortiguador de acetato de sodio (200 mM, pH 4) y se agitó en vórtex. La muestra se dejó reposar por 15 min y posteriormente se centrifugó durante 10 min a 1000 rpm. Del sobrenadante se tomaron tres alícuotas de 0.1 mL cada una y se colocaron por separado en tres tubos de 12 mL. Al tubo 1 (blanco) se le añadió 0.1 mL de

where  $\Delta A$  is the absorbance of the sample minus the absorbance of the blank,  $F$  is the conversion factor for the values in the D-glucose standard solution (100  $\mu\text{g}$  of glucose/absorbance of 100  $\mu\text{g}$  glucose) and  $W$  is the moisture of the sample. The latter was determined with a thermobalance (MB45, Ohaus®, USA) at 105 °C.

**Diastatic power (WK).** It was estimated using method 4.12 (EBC, 2003). This analysis consists of extracting the  $\alpha$  and  $\beta$  amylase enzymes from the malt with water at 40 °C. A standard solution of starch was then hydrolyzed with these enzymes and the amount of reducing sugars formed by the iodometric method was estimated. For the extraction, 2 g of ground malt were placed with 48 mL of water at 40 °C for 1 h. The sample was then cooled and filtered with Whatman paper no. 40. From this extract, 0.5 mL were taken and added to 10 mL of a starch solution (20  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  at pH 4.3). Hydrolysis was performed for 30 min at 20 °C and stopped with 0.4 mL of NaOH (1 M) (J.T. Baker), using thymophthalein as the indicator (pale blue color). Subsequently, an aliquot of 0.5 mL was taken and 2.5 mL of iodine (0.1 M) (J.T. Baker) and 0.3 mL of NaOH (J.T. Baker) were added; this mixture was maintained for 15 min. Finally, 0.45 mL of sulfuric acid ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) (0.5 M) (J.T. Baker) were added, titrating the solution with sodium thiosulfate ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) (0.1 M) (J.T. Baker). The results were obtained from the following equations:

$$DP1 = F (V_b - V_T) \quad (2)$$

$$DP2 = \frac{DP1 \times 100}{100 - M} \quad (3)$$

where  $DP1$  is the diastatic power of the sample (WK),  $DP2$  is the diastatic power in malts (WK),  $V_b$  is the titration value of iodine that did not react with the blank,  $V_T$  is the titration value of iodine that did not react with the sample,  $F$  is the correction factor and  $M$  is the moisture of the malt (%) determined with a thermobalance (MB45, Ohaus®, USA) at 105 °C.

### Making of beer worts

The malts were mixed with water at a controlled temperature of 60 °C and different beer worts were made, with Pilsen malt as a base, at a ratio of 80:20 (80 % Pilsen malt and 20 % other malt): Pilsen-Chocolate (PCH), Pilsen-Café (PC), Pilsen-Viena, (PV) and Pilsen-Melano (PM) (Table 2).

**Table 2. Proportion of malt and water for beer worts.**

**Cuadro 2. Proporción de malta y agua para la elaboración de los mostos cerveceros.**

| Wort/Mosto        | Malt:water ratio (% v/v)/Relación malta:agua (% v/v) |
|-------------------|--|
| Pilsen: Chocolate | 1:7  |
| Pilsen: Café      | 1:7  |
| Pilsen: Viena     | 1:5  |
| Pilsen: Melano    | 1:5  |

amortiguador de acetato de sodio (50 mM, pH 4); a los tubos 2 y 3 se les agregó 0.1 mL de  $\beta$ -glucosidasa (previamente preparada con amortiguador acetato de sodio 50 mM). Los tubos se cerraron y se incubaron por 10 min a 50 °C. Transcurrido este tiempo, se agregaron 3 mL del reactivo de glucosa oxidasa/peroxidasa (GOPOD) a cada tubo y se incubaron a 50 °C durante 20 min. Finalmente, se midió absorbancia a 510 nm. Los resultados se expresaron de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\beta - \text{glucans} = \Delta A \times \frac{F}{W} \times 27 \quad (1)$$

donde  $\Delta A$  es la absorbancia de la muestra menos la absorbancia del blanco,  $F$  es el factor de conversión para los valores en la solución estándar D-glucosa (100  $\mu\text{g}$  de glucosa/absorbancia de 100  $\mu\text{g}$  de glucosa) y  $W$  es la humedad de la muestra. Esta última se determinó con una termobalanza (MB45, Ohaus®, EUA) a 105 °C.

**Poder diastásico (WK).** Se estimó por medio del método 4.12 (EBC, 2003). Este análisis consiste en extraer las enzimas  $\alpha$  y  $\beta$  amilasas de la malta con agua a 40 °C. Posteriormente, se hidrolizó una solución estándar de almidón con estas enzimas y se estimó la cantidad de azúcares reductores formados por el método yodométrico. Para la extracción se colocaron 2 g de malta molida con 48 mL de agua a 40 °C por 1 h. En seguida, la muestra se enfrió y filtró con papel Whatman núm. 40. De este extracto se tomaron 0.5 mL y se adicionaron a 10 mL de una solución de almidón (20  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  a pH 4.3). La hidrólisis se llevó a cabo por 30 min a 20 °C y se detuvo con 0.4 mL de NaOH (1 M) (J.T. Baker), utilizando timofaleína como indicador (color azul claro). Posteriormente, se tomó una alícuota de 0.5 mL y se adicionaron 2.5 mL de yodo (0.1 M) (J.T. Baker) y 0.3 mL de NaOH (J.T. Baker); esta mezcla se mantuvo durante 15 min. Finalmente, se agregaron 0.45 mL de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) (0.5 M) (J.T. Baker), titulando la solución con tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) (0.1 M) (J.T. Baker). Los resultados se obtuvieron a partir de las siguientes ecuaciones:

$$DP1 = F (V_b - V_T) \quad (2)$$

$$DP2 = \frac{DP1 \times 100}{100 - M} \quad (3)$$

donde  $DP1$  es el poder diastásico de la muestra (WK),  $DP2$  es el poder diastásico en maltas (WK),  $V_b$  es el valor de titulación de yodo que no reaccionó con el blanco,  $V_T$  es

## Brewing

**Yeast propagation.** First, 0.2 g of yeast (*Sacharomyces cerevisiae*), previously hydrated with 10 mL of wort, were weighed and placed in 100 mL of sterile Pilsen wort. The inoculated wort was placed in an incubator (Max Q 4000, Thermo Scientific™, USA) at 25 °C for 12 h with constant stirring at 200 rpm.

**Wort cooking and hopping.** The prepared worts (Table 2) were kept under stirring for 90 min at  $60 \pm 5$  °C. They were then allowed to cool to room temperature and filtered with Whatman paper no. 41. The filtered worts were boiled for 30 min; half of the hops were added at the first 5 minutes to make the beer bitter, and the rest of the hops were added at the first 25 minutes of boiling. At the end of the boiling time, the worts were removed, allowed to cool, filtered and sterilized at 121 °C for 15 min.

**Wort inoculation.** The activated yeast was inoculated into the sterile worts by taking 5 % of the culture and placing it in 250 mL of sterile wort.

**Fermentation and maturation.** The inoculated wort was left to ferment in an incubator (Ambi-Hi-Lo Chambers, Cole Parmer®, USA) for 5 days at 15 °C. Once the fermentation process was completed, the sample was filtered and transferred to sterile amber bottles. The hermetically sealed bottles were kept refrigerated for 15 days at 5 °C, and finally sterilized in an autoclave at 121 °C for 15 min.

**Determination of beer quality.** In each of the beers brewed, the pH (EBC method 1.5, 2003), ethanol (EBC methods 9.3 and 9.2, 2003) and color were measured at a wavelength of 430 nm (EBC method 8.5, 2003), and finally a sensory analysis was performed by means of an affective test to determine the level of liking of the beer. A five-point hedonic scale with 100 panelists was used.

## Statistical analysis

An analysis of variance and Tukey's mean comparison tests ( $P \leq 0.05$ ) were performed using MiniTab 17 (Granato, de Araújo-Calado, & Jarvis, 2014). The data were expressed as the mean plus the standard deviation of the replicas (three for each analysis).

## Results and discussion

### Malt analysis

**Moisture and diastatic power.** The moisture of the malts after roasting varied between 1.94 and 4.42 % (Table 3). All malts were significantly different ( $P < 0.05$ ) because the drying and roasting process was different

el valor de titulación de yodo que no reaccionó con la muestra,  $F$  es el factor de corrección y  $M$  es la humedad de la malta (%) determinada con termobalanza (MB45, Ohaus®, USA) a 105 °C.

### Elaboración de mostos cerveceros

Las maltas se mezclaron con agua a una temperatura controlada de 60 °C y se realizaron diferentes mostos cerveceros con la malta Pilsen como base a una proporción de 80:20 (80 % de malta Pilsen y 20 % de otra malta): Pilsen-Chocolate (PCH), Pilsen-Café (PC), Pilsen-Viena, (PV) y Pilsen-Melano (PM) (Cuadro 2).

### Elaboración de cerveza

**Propagación de la levadura.** Se pesaron 0.2 g de levadura (*Sacharomyces cerevisiae*), hidratada previamente con 10 mL de mosto, y se colocaron en 100 mL de mosto Pilsen estéril. El mosto inoculado se colocó en una incubadora (Max Q 4000, Thermo Scientific™, EUA) a 25 °C por 12 h con agitación constante a 200 rpm.

**Cocción del mosto y lupulación.** Los mostos preparados (Cuadro 2) se mantuvieron en agitación durante 90 min a  $60 \pm 5$  °C. Posteriormente, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se filtraron con papel Whatman núm. 41. Los mostos filtrados se sometieron a ebullición durante 30 min; en los primeros 5 min se agregó la mitad de lúpulo para dar amargor a la cerveza, y a los 25 min de ebullición se agregó el resto de lúpulo. Al terminar el tiempo de ebullición se retiraron los mostos, se dejaron enfriar, se filtraron y se esterilizaron a 121 °C por 15 min.

**Inoculación del mosto.** La levadura activada se inoculó en los mostos estériles; para ello se tomó 5 % del cultivo y se colocó en 250 mL de mosto estéril.

**Fermentación y maduración.** El mosto inoculado se dejó fermentar en una incubadora (Ambi-Hi-Lo Chambers, Cole Parmer®, EUA) por 5 días a 15 °C. Una vez terminado el proceso de fermentación, la muestra se filtró y se pasó a botellas estériles color ámbar. Las botellas cerradas herméticamente se mantuvieron en refrigeración por 15 días a 5 °C, y finalmente se esterilizaron en una autoclave a 121 °C por 15 min.

**Determinación de la calidad de la cerveza.** En cada una de las cervezas elaboradas se midió el pH (método 1.5 de la EBC, 2003) el etanol (métodos 9.3 y 9.2 de la EBC, 2003) y el color a una longitud de onda de 430 nm (método 8.5 de la EBC, 2003). Finalmente se realizó un análisis sensorial mediante una prueba afectiva para conocer el nivel de agrado de la cerveza. Para ello se usó una escala hedónica de cinco puntos con 100 panelistas.

**Table 3. Drying temperature, moisture content and diastatic power of the processed malts.****Cuadro 3. Temperatura de secado, contenido de humedad y poder diastásico de las maltas elaboradas.**

| Malt/Malta | Final drying temperature (°C)/<br>Temperatura de secado final (°C) | Moisture before roasting (%)/<br>Humedad antes de tostar (%) | Moisture after roasting (%)/<br>Humedad después del tostado (%) | Diastatic power (WK)/<br>Poder diastásico (WK) |
|------------|--|--|---|--|
| Viena      | 50-60  | 42.9   | 2.78 ± 0.02 c <sup>z</sup>                                      | 342.09 ± 0.001 b                               |
| Pilsen     | 80-85  | 43.03  | 4.42 ± 0.02 a   | 455.02 ± 39.51 a                               |
| Melano     | 50-60  | 46.03  | 2.91 ± 0.02 b   | 454.95 ± 39.50 a                               |
| Café       | 50-60  | 44.12  | 2.46 ± 0.01 d   | 432.14 ± 39.5 ab                               |
| Chocolate  | 50-60  | 45.29  | 1.94 ± 0.03 e   | 440.60 ± 40.38 a                               |

Average values ± standard deviation. <sup>z</sup>Means with the same letters within each column do not differ statistically (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Valores promedio ± desviación estándar. <sup>z</sup>Medias con letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

for each. The moisture content present in the malts is important because it ensures stability during storage. The processed malts are special, since they are oriented to obtain a specific color and aroma, according to the type of roasting applied. The degree of enzymatic inactivation depends on the thermal stability of each malt, so it is necessary to control the baking or roasting processes to produce a wort with the desired composition (Varman & Sutherland, 1994).

The diastatic power was 342 to 455 WK (Table 3), and only the Vienna malt showed significant difference ( $P < 0.05$ ). Similar results could be related to germination time, which was the same for all malts, so enzymatic activity was similar in all samples. Farzaneh, Ghodsvali, Bakhshabadi, Zare, and Carvalho (2017) mention that when germination time increases, diastatic power increases, as it represents the activity of all starch bioconversion factors, including  $\alpha$  and  $\beta$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase and limit dextrinase enzymes. On the other hand, Nielsen and Munck (2003) found lower concentrations than those in this study (from 254.7 to 292.5 WK). EBC (2003) indicates that a diastatic power between 200 and 600 WK ensures the obtaining of sugars necessary for fermentation. In this sense, all the malts produced complied with the suggested levels; therefore, the malts obtained from Doña Josefa barley are suitable for fermentation.

**$\beta$ -glucans.** The Vienna malt presented a  $\beta$ -glucans percentage of 5.76 %, being the highest percentage and statistically different (Figure 1). Pilsen malt (base) obtained 2.79 % and Melano 2.8 %, which does not represent a significant difference ( $P > 0.05$ ) between them, while the Café and Chocolate malts had values of 0.98 and 0.62 %, respectively. This could be caused by the depolymerization of the  $\beta$ -glucans during the different roasting temperatures. Boulton and Quian (2001) mention that during the malting process the average percentage of  $\beta$ -glucans in malts is 4, and it is possible that they may decrease during the wort boiling

### Análisis estadístico

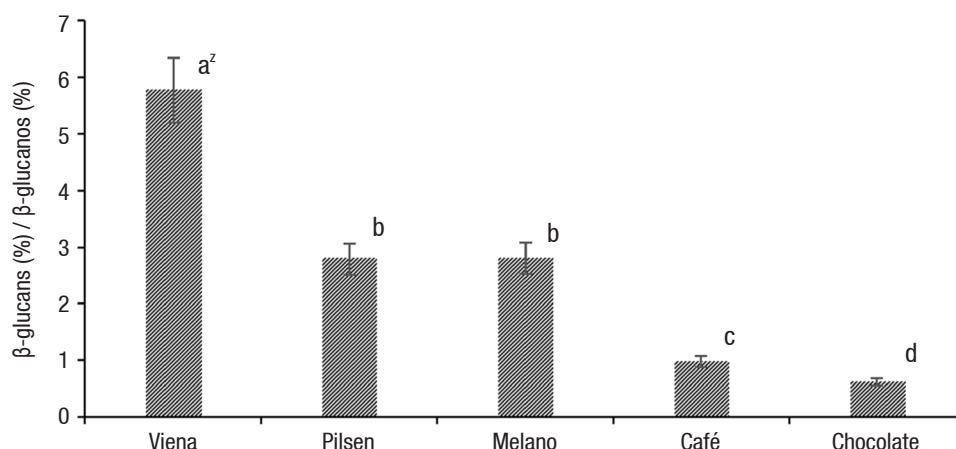
Se realizó un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ), mediante el programa MiniTab 17 (Granato, de Araújo-Calado, & Jarvis, 2014). Los datos se expresaron como la media más la desviación estándar de las réplicas (tres para cada análisis).

### Resultados y discusión

#### Análisis de malta

**Humedad y poder diastásico.** La humedad de las maltas después del tostado varió entre 1.94 y 4.42 % (Cuadro 3). Todas las maltas fueron significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ) debido a que el proceso de secado y tostado fue diferente para cada una. El contenido de humedad presente en las maltas es importante porque asegura estabilidad durante su almacenamiento. Las maltas elaboradas son especiales, ya que están direccionadas a obtener color y aroma específico, de acuerdo con el tipo de tostado aplicado. El grado de inactivación enzimática depende de la estabilidad térmica de cada malta, por lo que es necesario controlar los procesos de horneado o tostado para producir un mosto con la composición deseada (Varman & Sutherland, 1994).

El poder diastásico fue de 342 a 455 WK (Cuadro 3), y únicamente la malta Viena presentó diferencia significativa ( $P < 0.05$ ). Los resultados similares pudieron estar relacionado con el tiempo de germinación, el cual fue el mismo para todas las maltas, que pudo casionar que la actividad enzimática fuera similar en todas las muestras. Farzaneh, Ghodsvali, Bakhshabadi, Zare, y Carvalho (2017) mencionan que cuando incrementa el tiempo de germinación, aumenta el poder diastásico, ya que representa la actividad de todos los factores de bioconversión del almidón, incluidas las enzimas  $\alpha$  y  $\beta$ -amilasa,  $\alpha$ -glucosidasa y dextrinasa limitada. Por otro lado, Nielsen y Munck (2003) encontraron



**Figure 1. Percentage of  $\beta$ -glucans in Doña Josefa barley malts. <sup>2</sup>Means with the same letters between columns do not differ statistically (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Bars indicate standard deviation.**

**Figura 1. Porcentaje de  $\beta$ -glucanos en maltas de cebada Doña Josefa. <sup>2</sup>Medias con letras iguales entre columnas no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Las barras indican desviación.**

process due to the  $\beta$ -glucanase enzyme. Farzaneh et al. (2017) report concentrations of 1.4 % in 3-day germination malts and 0.7 % in 7-day malts. Nielsen and Munck (2003) obtained concentrations of 3.48 to 4.05 % in malts made from spring barley and 3.09 to 3.60 % in those made from winter barley.

Café and Chocolate malts had values below those reported in the literature, which is favorable due to the problems that can be generated in the filtrate, such as the increase in the viscosity of the worts and, possibly, the precipitation of a gel during maturation in the bottle (Huerta-Zurita, Zamora-Díaz, Solano-Hernández, & López-Cano, 2014; Varman & Sutherland, 1994).

**Total and reducing sugars.** The TS represent the amount of starch degraded during maceration as a function of time and temperature, which are used for fermentation (Olsen, 2008). Figure 2 shows that the content of TS was higher in the Pilsen (67.09 g·100 g<sup>-1</sup>) and Chocolate (61.23 g·100 g<sup>-1</sup>) malts, which is related to the drying and roasting conditions because Pilsen had the highest temperature in the drying process (80 to 85 °C) and Chocolate the highest temperature in the roasting process (230 °C), which can facilitate the hydrolysis of starch into simpler sugars (Farzaneh et al., 2017). The Café (27.81 g·100 g<sup>-1</sup>) and Melano (24 g·100 g<sup>-1</sup>) malts had the lowest TS values, which were significantly different ( $P < 0.05$ ) from the rest of the malts. This could be mainly due to the low starch degradation during maceration.

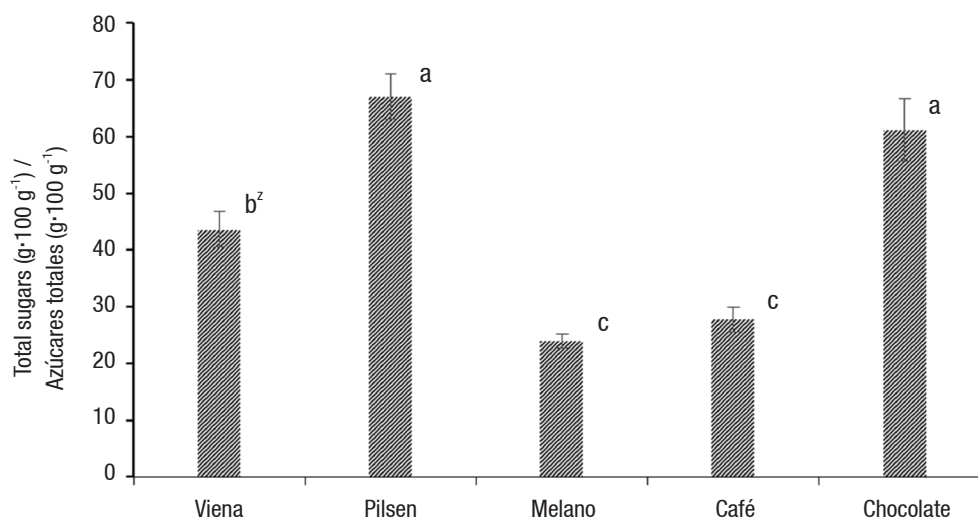
Pilsen malt can be used as a base for brewing due to its high total sugar content and neutral color. The Café and Chocolate malts presented dark color and flavor with bitter notes, which can provide special characteristics to the beer.

concentraciones menores a las de este estudio (de 254.7 a 292.5 WK). EBC (2003) menciona que un poder diastásico entre 200 y 600 WK asegura la obtención de azúcares necesarios para la fermentación. En este sentido, todas las maltas elaboradas cumplieron con los niveles sugeridos; por lo tanto, las maltas obtenidas a partir de cebada Doña Josefa son adecuadas para la fermentación.

**$\beta$ -glucanos.** La malta Viena presentó un porcentaje de  $\beta$ -glucanos de 5.76 %, siendo el porcentaje más alto y estadísticamente diferente (Figura 1). La malta Pilsen (base) obtuvo 2.79 % y la Melano 2.8 %, las cuales no presentaron diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre ellas, mientras que las maltas Café y Chocolate presentaron valores de 0.98 y 0.62 %, respectivamente. Lo anterior pudo ser ocasionado por la despolimerización de los  $\beta$ -glucanos durante las diferentes temperaturas de tostado. Boulton y Quian (2001) mencionan que durante el proceso de malteado, el porcentaje promedio de  $\beta$ -glucanos en las maltas es de 4, y es posible que pueda disminuir durante el proceso de cocción del mosto por la enzima  $\beta$ -glucanasa. Farzaneh et al. (2017) reportan concentraciones de 1.4 % en maltas de 3 días de germinación y de 0.7 % en maltas de 7 días. Nielsen y Munck (2003) obtuvieron concentraciones de 3.48 a 4.05 % en maltas de cebada cultivada en primavera y de 3.09 a 3.60 % en maltas de cebada cultivada en invierno.

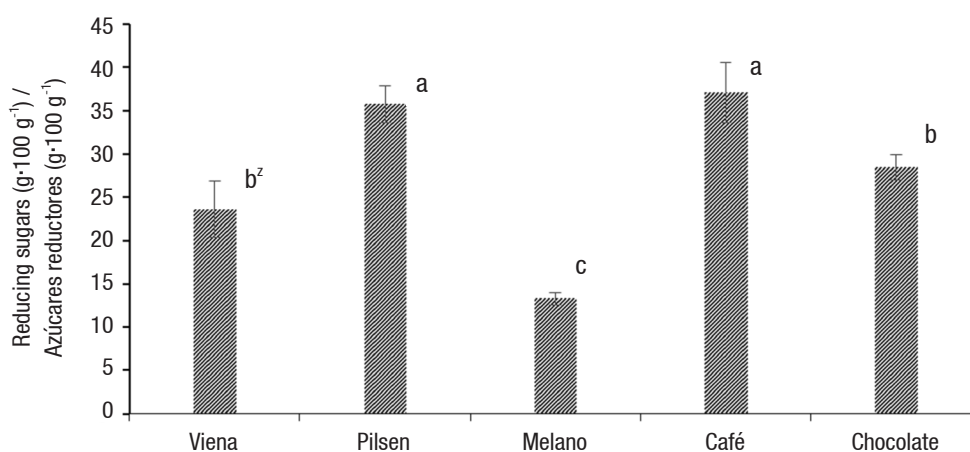
Las maltas Café y Chocolate tuvieron valores por debajo de lo reportado en la literatura, lo que es favorable debido a los problemas que se pueden generar en el filtrado, como el aumento en la viscosidad de los mostos y, posiblemente, la precipitación de un gel durante la maduración en la botella (Huerta-Zurita, Zamora-Díaz, Solano-Hernández, & López-Cano, 2014; Varman & Sutherland, 1994).





**Figure 2.** Total sugar content present in different Doña Josefa barley malts. <sup>2</sup>Means with the same letters between columns do not differ statistically (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Bars indicate standard deviation.

**Figura 2.** Contenido de azúcares totales presentes en diferentes maltas de cebada Doña Josefa. <sup>2</sup>Medias con letras iguales entre columnas no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Las barras indican desviación estándar.



**Figure 3.** Reducing sugar content in Doña Josefa barley malts. <sup>2</sup>Means with the same letters between columns do not differ statistically (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Bars indicate standard deviation.

**Figura 3.** Contenido de azúcares reductores presentes en maltas de cebada Doña Josefa. <sup>2</sup>Medias con letras iguales entre columnas no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Las barras indican desviación estándar.

Pilsen and Café malts had the highest RS values (35.76 and 37.08  $\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ , respectively), and Melano had the lowest values (13.26  $\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ) (Figure 3). The roasting time and temperature of the grain are the main factors that affected the amount of sugars present. The Café and Chocolate malts were only used as adjuncts to give sensory characteristics to the beer, because they provide aroma, flavor and specific color due to the Maillard reactions generated in the roasting.

### Beer analysis

**pH.** This parameter is of great importance for the fermentation and flavor of beer. The pH values of the beers oscillated between 4.31 and 4.47 (Figure 4),

**Azúcares totales y reductores.** Los AT representan la cantidad de almidón degradado durante la maceración en función del tiempo y temperatura, y son usados para la fermentación (Olsen, 2008). En la Figura 2 se observa que el contenido de AT fue mayor en las maltas Pilsen (67.09  $\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ) y Chocolate (61.23  $\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ), lo cual está relacionado con las condiciones de secado y tostado, debido a que la Pilsen tuvo la mayor temperatura en el proceso de secado (80 a 85 °C) y la Chocolate la mayor temperatura en el proceso de tostado (230 °C); esto pudo facilitar la hidrólisis del almidón a azúcares más simples (Farzaneh et al., 2017). Las maltas Café (27.81  $\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ) y Melano (24  $\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ) presentaron los valores más bajos de AT, los cuales fueron significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ) al resto

which agree with the findings reported by Madrid (1994), who indicates that the beer should have a pH between 4 and 5. The control and monitoring of this parameter is necessary because the increase of the pH in the beer can cause problems in reactions such as saccharification, since it causes deficiency in the enzymatic activity, which limits the availability of sugars and intensifies bitterness. The increase in pH can be caused by autolysis and ammonia production, which occur with old yeast (Ros, 1980). Briggs et al. (2004) report average values of 4.3 for pale beers and 4.46 for dark beers. Di Ghionno, Sileoni, Marconi, de Francesco, and Perretti (2017) found similar pH values in teff beers (4.23).

**Alcohol.** The percentage of alcohol in the brewed beers ranged from 4.3 to 6.73 % (Figure 4). The beers with the highest percentage were Vienna and Chocolate (6.73 and 6.29 %, respectively), followed by Café and Melano; the latter presented the lowest value (4.5 %) and was significantly different ( $P < 0.05$ ) to the others. The beers with the highest percentage of alcohol were the same ones that had the highest amount of TS, this associated with the time and temperature of drying and roasting. The tendency of the percentage of alcohol was similar to that of the pH, which is directly related to the activity of the yeast. It has been reported that the ideal pH of *Saccharomyces cerevisiae* is 4 to 5.5 (Narendranath & Power, 2005; Salari & Salari, 2017), which agrees with the values obtained.

On the other hand, the level of hydrolysis of sugars caused by temperatures during roasting may have influenced the variation in alcohol content (Kunze,

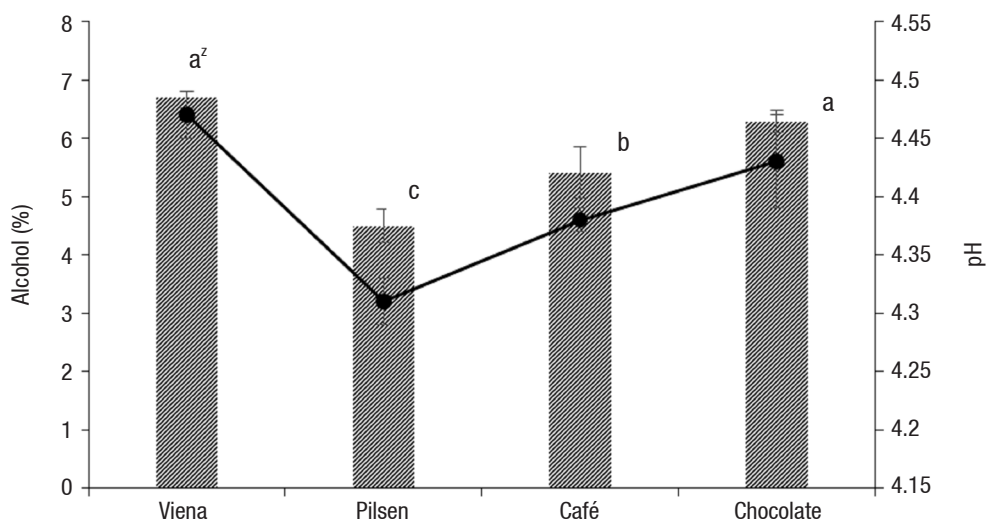
de las maltas, probablemente ocasionado por la poca degradación de almidón durante la maceración.

La malta Pilsen puede ser usada como base para la elaboración de cerveza debido a sus contenidos altos de azúcares totales y al color neutro. Las maltas Café y Chocolate presentaron color oscuro y sabor con notas amargas, lo que puede proporcionar características especiales a la cerveza.

Las maltas Pilsen y Café tuvieron los valores más altos de AR (35.76 y 37.08 g·100 g<sup>-1</sup>, respectivamente), y la Melano presentó los valores más bajos (13.26 g·100 g<sup>-1</sup>) (Figura 3). El tiempo y temperatura de tostado del grano son los principales factores que afectaron la cantidad de azúcares presentes. Las maltas Café y Chocolate se utilizaron únicamente como adjuntos para dar características sensoriales a la cerveza, debido a que proporcionan aroma, sabor y color específico por las reacciones de Maillard generadas en el tostado.

#### Análisis de la cerveza

**pH.** Este parámetro es de gran importancia para la fermentación y el sabor de la cerveza. Los valores de pH de las cervezas oscilaron entre 4.31 y 4.47 (Figura 4), los cuales concuerdan con lo reportado por Madrid (1994), quien indica que la cerveza debe tener un pH entre 4 y 5. El control y monitoreo de este parámetro es necesario debido a que el aumento del pH en la cerveza puede causar problemas en reacciones como la sacarificación, ya que provoca deficiencia en la actividad enzimática, lo que limita la disponibilidad de azúcares e intensifica el amargor. El incremento en el pH puede ser



**Figure 4.** Percentages of alcohol and pH values in craft beers brewed from Doña Josefa barley. <sup>2</sup>Means with the same letters between columns do not differ statistically (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Bars indicate standard deviation.

**Figura 4.** Porcentajes de alcohol y valores de pH en cervezas artesanales de cebada Doña Josefa. <sup>2</sup>Medias con letras iguales entre columnas no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Las barras indican desviación estándar.

1996). Briggs et al. (2004) mention that beers can have an alcohol percentage of up to 8.4, while Di Ghionno et al. (2017) reported values of 4.68. Despite the differences between the alcohol content of the beers, all comply with the percentage established in the NOM-142-SSA1/SCFI-2013 standard for alcoholic beverages (from 2 to 20 %), and within that reported for beers (6.2 % in dark beers and 4.5 % in pale beers).

**Color.** Café beer presented a darker color, significantly different ( $P < 0.05$ ) to the others (Table 4), and according to its value (35.62) it can be classified as a Dark Lager. Vienna and Melano beers had very similar colors, without significant difference ( $P > 0.05$ ) between them (15.88 and 16.26, respectively). The values of these beers were the lowest, which places them as Weissbier-type beers. Finally, the Chocolate presented an intermediate color (27.73) with a copper tonality, classifying it as a Double IPA beer.

The difference in color intensity between beers is associated with roasting temperatures, since when a malt has been subjected for a long time to the roasting temperature it generates a dark color in the beer (Kunze & Manger, 2006). In addition, during boiling, when sugars are combined with amino acids (most of which come from malt and a small amount from hops), a reaction takes place that forms melanoidins and darkens the wort. The different roasting conditions, in addition to the color, allowed different aromas and flavor profiles to be given to the beers.

**Sensory analysis.** A sensory analysis was performed by means of an affective test of liking with a five-point hedonic scale. First, the four craft beers were evaluated and then compared with two commercial beers of the same style as those brewed (Figures 5 and 6). According to the results obtained, the judges preferred the Café and Chocolate beers in terms of color, flavor and aroma, with 56 % preference over the Vienna and Melano beers (23 and 21 %, respectively) (Figure 5). In addition, it was observed that the Café and Chocolate beers were statistically different ( $P < 0.05$ ) to the other two.

The judges' comments focused mainly on two factors: the first referred to the lack of foam in the beers and the second to the bitter taste. The first could be due

ocasionado por autólisis y producción de amoníaco, los cuales ocurren con levadura vieja (Ros, 1980). Briggs et al. (2004) reportan valores promedio de 4.3 para cervezas claras y 4.46 para cervezas oscuras. Di Ghionno, Sileoni, Marconi, de Francesco, y Perretti (2017) encontraron valores similares de pH en cervezas teff (4.23).

**Alcohol.** El porcentaje de alcohol de las cervezas elaboradas varió de 4.3 a 6.73 % (Figura 4). Las cervezas con mayor porcentaje fueron Viena y Chocolate (6.73 y 6.29 %, respectivamente), seguidas de Café y Melano; esta última presentó el valor más bajo (4.5 %) y significativamente diferente ( $P < 0.05$ ) a las demás. Las cervezas con mayor porcentaje de alcohol fueron las mismas que presentaron la mayor cantidad de AT, esto asociado al tiempo y temperatura de secado y tostado. La tendencia del porcentaje de alcohol fue similar a la del pH, lo que se relaciona directamente a la actividad de la levadura. Se ha reportado que el pH ideal de *Saccharomyces cerevisiae* es de 4 a 5.5 (Narendranath & Power, 2005; Salari & Salari, 2017), lo que concuerda con los valores obtenidos.

Por otra parte, el nivel de hidrólisis de los azúcares ocasionado por las temperaturas durante el tostado pudo haber influido en la variación del contenido de alcohol (Kunze, 1996). Briggs et al. (2004) mencionan que las cervezas pueden tener un porcentaje de alcohol de hasta 8.4, mientras que Di Ghionno et al. (2017) reportaron valores de 4.68. A pesar de las diferencias en el contenido de alcohol de las cervezas, todas cumplen con el porcentaje establecido en la norma NOM-142-SSA1/SCFI-2013 para bebidas alcohólicas (de 2 a 20 %), y dentro de lo reportado para cervezas (6.2 % en cervezas oscuras y 4.5 % en cervezas claras).

**Color.** La cerveza Café presentó un color más oscuro, significativamente diferente ( $P < 0.05$ ) a las demás (Cuadro 4), y de acuerdo con su valor (35.62) puede ser clasificada como tipo Dark Lager. Las cervezas Viena y Melano presentaron colores muy similares, sin diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre ambas (15.88 y 16.26, respectivamente). Los valores de estas cervezas fueron los más bajos, lo que las ubica como cervezas tipo Weissbier. Finalmente, la Chocolate presentó un color intermedio (27.73) con una tonalidad cobre, clasificándola como una cerveza tipo Double IPA.

**Table 4. Color of Doña Josefa barley beers according to the European Brewery Convention (EBC, 2003).**

**Cuadro 4. Color de las cervezas de cebada Doña Josefa de acuerdo con European Brewery Convention (EBC, 2003).**

| Beer / Cerveza | EBC                         |
|----------------|-----------------------------|
| Viena          | 15.88 ± 0.47 c <sup>z</sup> |
| Melano         | 16.26 ± 0.19 c              |
| Café           | 35.62 ± 0.24 a              |
| Chocolate      | 27.73 ± 0.79 b              |

Average values ± standard deviation. <sup>z</sup>Means with the same letters do not differ statistically (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Valores promedio ± desviación estándar. <sup>z</sup>Medias con letras iguales no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

to the lack of CO<sub>2</sub> generated during fermentation (Kunze & Manger, 2006), or to the characteristics of the container, due to a possible release of CO<sub>2</sub>. The second factor could be due to the fact that they are dark malts and thus give a characteristic flavor to the beer, which is caused by the chemical reactions generated in the roasting, since there is degradation of phenolic compounds, Maillard reactions, caramelization and presence of furaneol,

La diferencia en la intensidad del color entre las cervezas está asociada a las temperaturas de tostado, ya que cuando una malta ha sido sometida durante mucho tiempo a la temperatura de tostado se genera una coloración oscura en la cerveza (Kunze & Manger, 2006). Además, durante la cocción, cuando los azúcares se combinan con aminoácidos (que en su mayoría provienen de la malta y en pocas cantidades del

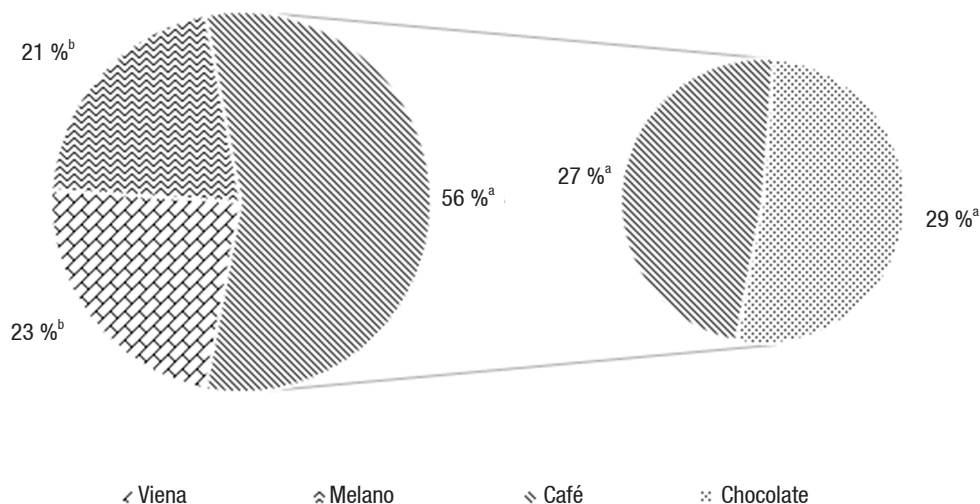


Figure 5. Sensory analysis of Doña Josefa barley beers. <sup>a</sup>Means with the same letters do not differ statistically (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Figura 5. Nivel de agrado de las cervezas de la cebada Doña Josefa. <sup>a</sup>Medias con letras iguales no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

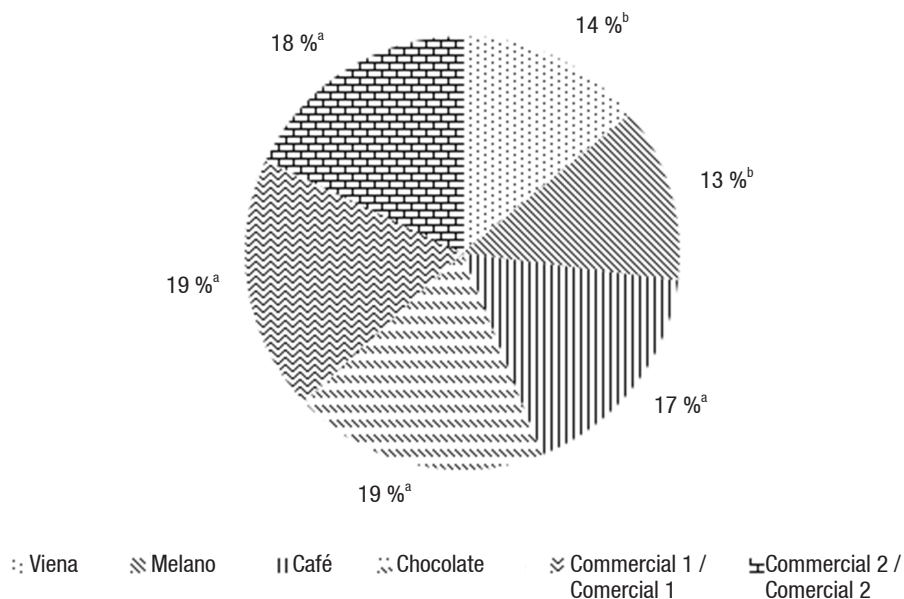


Figure 6. Sensory analysis of craft beers made with Doña Josefa barley, compared with commercial beers. <sup>a</sup>Means with the same letters do not differ statistically (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

Figura 6. Nivel de agrado de las cervezas artesanales, elaboradas con cebada Doña Josefa, comparadas con cervezas comerciales. <sup>a</sup>Medias con letras iguales no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

maltose and isomaltol (Bamforth, Russell, & Stewart, 2009; Kunze & Manger, 2006). However, their aroma and color were acceptable to the judges.

On the other hand, the craft beers were compared with commercial beers, one of the same style as the Vienna and Melano beers, denoted as beer 1, and the other one of the Café and Chocolate style, denoted as beer 2 (Figure 6). The Chocolate beer had a similar percentage in the level of liking as commercial beer 2 with 18 %, although the Chocolate beer's lack of effervescence could affect its level of preference. For its part, the Café beer scored 17 % in terms of level of liking, which is below the commercial beers. The Vienna and Melano beers were statistically different (14 and 13 % acceptance, respectively) to the rest of beers, and did not have the same preference as commercial beer 1, which obtained 19 % acceptance by the judges. Among the main factors that affected the craft beers was the lack of effervescence, which could be due to the filtration processes, stabilization and low CO<sub>2</sub> levels. It must be taken into account that the gasification of craft beers occurs naturally during fermentation in the bottle, while the industrial ones are injected with carbon dioxide. This is one of the main drawbacks of craft beers; however, they were accepted by the judges.

## Conclusions

All the malts made from Doña Josefa barley were suitable for fermentation. The diastatic power values of the malts obtained ranged between 342 and 455 WK. The content of  $\beta$ -glucans in the malts indicated that the malting process was adequate, which avoided problems during brewing. The Pilsen malt was used as a base for the different beer-making mixtures, and the other malts were ideal for giving the beers greater color and aroma. The alcohol content was highest in Vienna, followed by Chocolate, Café and Melano, and all met the NOM-142-SSA1/SCFI-2013 standard. The color was associated with the roasting temperatures, which allowed the style of the beer to be determined. The Café was typified as a Dark Lager beer, Vienna and Melano as Weissbier beers, and Chocolate was identified as a Double IPA beer.

Regarding sensory analysis, the judges preferred the beers in the following order: Chocolate, Café, Vienna and Melano. On the other hand, when comparing craft beers with commercial ones, Chocolate had an acceptance percentage equal to that of commercial beer 2. In general, the objective was achieved by generating malts with different flavor notes and, in addition, it was proven that the new variety Doña Josefa has the potential to be used in the brewing of gourmet-type beer.

## Acknowledgments

The authors thank the *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología* (CONACYT) for the funding granted through

lúpulo), sucede una reacción que forma melanoidinas y oscurecen el mosto. Las diferentes condiciones de tostado, además del color, permitieron dar diferentes aromas y perfiles de sabor a las cervezas.

**Análisis sensorial.** Se realizó un análisis sensorial mediante una prueba afectiva de agrado con una escala hedónica de cinco puntos. Primero se evaluaron las cuatro cervezas artesanales y posteriormente se compararon con dos cervezas comerciales del mismo estilo a las elaboradas (Figuras 5 y 6). De acuerdo con los resultados obtenidos, los jueces prefirieron las cervezas Café y Chocolate en cuanto a color, sabor y olor, con 56 % de preferencia sobre las cervezas Viena y Melano (23 y 21 %, respectivamente) (Figura 5). Además, se observó que las cervezas Café y Chocolate fueron estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ) a las otras dos.

Los comentarios de los jueces se enfocaron principalmente en dos factores; el primero referido a la falta de espuma en las cervezas y el segundo al sabor amargo. El primero pudo ser debido a la falta de CO<sub>2</sub> generado durante la fermentación (Kunze & Manger, 2006), o a las características del envase, debido a una posible liberación del CO<sub>2</sub>. El segundo factor pudo deberse a que son maltas oscuras y aportan un sabor característico a la cerveza, el cual es ocasionado por las reacciones químicas que se generan en el tostado, ya que hay degradación de compuestos fenólicos, reacciones de Maillard, caramelización y presencia de furaneol, maltos e isomaltol (Bamforth, Russell, & Stewart, 2009; Kunze & Manger, 2006); sin embargo, su olor y color fue aceptable para los jueces.

Por otra parte, se compararon las cervezas artesanales con las comerciales, una del mismo estilo que las cervezas Viena y Melano, denotada como cerveza 1, y la otra del estilo de Café y Chocolate, denotada como cerveza 2 (Figura 6). La cerveza Chocolate tuvo un porcentaje similar en el nivel de agrado que la cerveza comercial 2 con 18 %, aunque la falta de efervescencia de la Chocolate pudo afectar su nivel de preferencia. Por su parte, la Café tuvo un 17 % en cuanto a nivel de agrado, lo cual está por debajo de las cervezas comerciales. Las cervezas Viena y Melano fueron estadísticamente diferentes (14 y 13 % de aceptación, respectivamente) al resto de cervezas, y no tuvieron la misma preferencia que la cerveza comercial 1, que obtuvo 19 % de aceptación por los jueces. Dentro de los principales factores que afectaron a las cervezas artesanales fue la falta de efervescencia, que se pudo deber a los procesos de filtración, estabilización y bajos niveles de CO<sub>2</sub>. Se debe tener en cuenta que la gasificación de las cervezas artesanales se produce de forma natural durante la fermentación en la botella, mientras que las industriales se inyectan con gas carbónico. Esta es una de las principales desventajas de las cervezas artesanales; sin embargo, presentaron aceptación por parte de los jueces.

the FOMIX-2012-01-192649 projects and CONACYT 1232 chairs.

### End of English version

## References / Referencias

- Akar, T., Avci, M., & Dusunceli, F. (2004). *BARLEY: Post-Harvest Operations Organisation*. Turkey: Food and Agriculture Organization of the United Nations. Retrieved from [http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/inpho/docs/Post\\_Harvest\\_Compndium\\_-\\_BARLEY.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/inpho/docs/Post_Harvest_Compndium_-_BARLEY.pdf)
- Bamforth, C., Russell, I., & Stewart, G. (2009). *Beer: A quality perspective*. London: Academic Press.
- Bernaldez-Camiruaga, A. I. (2013). Cerveza artesanal en México: ¿soberanía cervecera y alimentaria? *Culinaria, Revista virtual especializada en gastronomía*, 6, 56-63. Retrieved from [http://web.uaemex.mx/Culinaria/seis\\_ne/PDF%20finales%206/cerveza%20artesanal%20ok.pdf](http://web.uaemex.mx/Culinaria/seis_ne/PDF%20finales%206/cerveza%20artesanal%20ok.pdf)
- Bokulich, N. A., & Bamforth, C. W. (2013). The microbiology of malting and brewing. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 77(2), 157-172. doi: 10.1128/MMBR.00060-12
- Boulton, C., & Quian, D. (2001). *Brewing yeast and fermentation*. Reino Unido: Blackwell Science.
- Briggs, D. E., Boulton, C. A., Brookes, P. A., & Stevens, R. (2004). *Brewing: Science and practice*. Cambridge England: CRC Press. doi: 10.1002/jsfa.2344
- Čechovská, L., Konecny, M., & Valisek, J. (2012). Effect of Maillard reaction on reducing power of malts and beers. *Czech Journal of Food Sciences*, 30(6), 548-556. doi: 10.17221/288/2012-CJFS
- Chandra, G. S., Proudlove, M. O., & Baxter, E. D. (1999). The structure of barley endosperm-an important determinant of malt modification. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(1), 37-46. doi: 10.1002/(SICI)1097-0010(199901)79:1<37::AID-JSFA168>3.0.CO;2-X
- Di Ghionno, L., Sileoni, V., Marconi, O., de Francesco, G., & Perretti, G. (2017). Comparative study on quality attributes of gluten-free beer from malted and unmalted teff (*Eragrostis tef* [zucc.] trotter). *LWT - Food Science and Technology*, 84, 746-752. doi: 10.1016/j.lwt.2017.06.044
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., & Rebers, P. A. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356. doi: 10.1021/ac60111a017
- European Brewery Convention (EBC). (2003). *Analytica-EBC*. Germany: Author.
- Farzaneh, V., Ghodsvali, A., Bakhshabadi, H., Zare, Z., & Carvalho, I. S. (2017). The impact of germination time on the some selected parameters through malting process. *International Journal of Biological Macromolecules*, 94, 663-668. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.10.052
- Fox, G. P. (2009). Chemical composition in barley grains and malt quality. In: *Genetics and improvement of barley malt quality* (pp. 63-98). Heidelberg, Berlin: Springer. doi: 10.1007/978-3-642-01279-2\_3

## Conclusiones

Todas las maltas de la cebada Doña Josefa fueron adecuadas para la fermentación. Los valores del poder diastásico de las maltas obtenidas oscilaron entre 342 y 455 WK. El contenido de  $\beta$ -glucanos en las maltas indicó que el proceso de malteado fue adecuado, lo que evitó problemas durante la elaboración de la cerveza. La malta Pilsen se usó como base para las diferentes mezclas en la elaboración de cerveza, y las otras maltas fueron ideales para darle mayor color y olor. El contenido de alcohol fue mayor en Viena, seguida de Chocolate, Café y Melano, y todas cumplieron con la norma NOM-142-SSA1/SCFI-2013. El color estuvo asociado a las temperaturas de tostado, lo que permitió determinar el estilo de la cerveza. La Café se tipificó como cerveza tipo Dark Lager, Viena y Melano como cervezas tipo Weissbier, y la Chocolate se identificó como una cerveza tipo Double IPA.

Con respecto al análisis sensorial, los jueces prefirieron las cervezas en el siguiente orden: Chocolate, Café, Viena y Melano. Por otra parte, al comparar las cervezas artesanales con las comerciales, la Chocolate tuvo un porcentaje de aceptación igual a la cerveza comercial 2. En general, el objetivo se cumplió al generar maltas con notas de diferente sabor y, además, se comprobó que la nueva variedad Doña Josefa tiene el potencial para ser usada en la elaboración de cervezas tipo gourmet.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento otorgado a través de los proyectos FOMIX-2012-01-192649 y cátedras CONACYT 1232.

### Fin de la versión en español

- Granato, D., de Araújo-Calado, V. M., & Jarvis, B. (2014). Observations on the use of statistical methods in Food Science and Technology. *Food Research International*, 55, 137-149. doi: 10.1016/j.foodres.2013.10.024
- Huerta-Zurita, R., Zamora-Díaz, M. R., Solano-Hernández, S., & López-Cano, M. L. (2014). Friabilidad de malta y predicción de calidad en el mejoramiento genético de cebada maltera (*Hordeum vulgare* L.). *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5(4), 577-590. Retrieved from [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342014000400004](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342014000400004)
- Kunze, W., & Manger, H. J. (2006). *Tecnología para cerveceros y malteros*. Germany: Editorial VLB Berlin.
- Kunze, W. (1996). *Technology brewing and malting*. Germany: Editorial VLB Berlin.
- Madrid, A. (1994). *Proceso de producción de la cerveza. Nuevo manual de industrias Alimentarias*. Madrid, España: Editorial Mundi-Prensa.

- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426-428. doi: 10.1021/ac60147a030
- Narendranath, N. V., & Power, R. (2005). Relationship between pH and medium dissolved solids in terms of growth and metabolism of lactobacilli and *Saccharomyces cerevisiae* during ethanol production. *Applied and environmental microbiology*, 71(5), 2239-2243. doi: 10.1128/AEM.71.5.2239-2243.2005
- Nielsen, J. P., & Munck, L. (2003). Evaluation of malting barley quality using exploratory data analysis. I. Extraction of information from micro-malting data of spring and winter barley. *Journal of Cereal Science*, 38, 173-180. doi: 10.1016/S0733-5210(03)00023-7
- NOM-142-SSA1/SCFI-2013. (2013). Secretaria de Salud, Secretaria de comercio y fomento industrial, Norma Oficial Mexicana. Bebidas alcohólicas. Especificaciones sanitarias. Etiquetado sanitario y comercial. Retrieved from <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/142ssa15.html>
- Olsen, H. S. (2008). Enzymes in brewing. *Biokemisk Forening*. Retrieved from <http://www.biokemi.org/biozoom/issues/522/articles/2368>
- Ros, J. (1980). *Estabilidad coloidal de la cerveza*. Pamplona, España: Laboratorio Industrial de Bioquímica S.A.
- Salari, R., & Salari, R. (2017). Investigation of the best *saccharomyces cerevisiae* growth condition. *Electronic Physician*, 9(1), 3592-3597. doi: 10.19082/3592
- Varman, A. H., & Sutherland, J. P. (1994). *Bebidas, tecnología, química y microbiología*. Zaragoza, España: Acibia.
- Yahya, H., Linforth, R. S. T., & Cook, D. J. (2014). Flavour generation during commercial barley and malt roasting operations: A time course study. *Food Chemistry*, 145, 378-387. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.08.046
- Zamora-Díaz, M., Solano-Hernández, S., Gómez-Mercado, R., Rojas-Martínez, I., Ireta-Moreno, J., Garza-García, R., & Ortiz-Trejo, C. (2008). Adabella: variedad de cebada maltera para valles altos de la mesa central de México. *Agricultura técnica en México*, 34(4), 491-493. Retrieved from [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0568-25172008000400012&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0568-25172008000400012&script=sci_arttext&tlng=pt)