

**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA**

GRADO EN INGENIERÍA AGROALIMENTARIA Y AGROAMBIENTAL



ELABORACIÓN DE CERVEZA ARTESANA CON BRÓCOLI

**TRABAJO FIN DE GRADO
JULIO 2018**

AUTOR: JEFFERSON SEBASTIAN ANDRADE MACAS

TUTOR: PEDRO JAVIER ZAPATA COLL

Resumen

La cerveza es una bebida alcohólica de baja graduación consumida por el hombre desde tiempos inmemoriales. Su consumo se relaciona con el placer y forma parte de numerosas reuniones sociales, lo que hace que en la actualidad tenga un papel importante en el motor económico del país. En los últimos tiempos se ha producido un auge en el consumo de las denominadas cervezas artesanas, aportando así un mayor conocimiento a los consumidores sobre diferentes cervezas que presentan unas características sensoriales muy diversas. Además, este tipo de cervezas son concebidas como unas cervezas más saludables, ya que el procesado de estas es más respetuoso con los compuestos bioactivos.

En nuestro ensayo, hemos adicionado brócoli para aumentar esta funcionalidad de la cerveza, ya que este vegetal se encuentra entre los más beneficiosos para la salud humana según han descrito numerosos autores.

La adición de brócoli posterior a la fermentación, y la maceración de éste ha provocado ligeros cambios en los parámetros físico-químicos de la cerveza, ha llevado consigo un incremento de las propiedades antioxidantes, y ha incluido nuevas características sensoriales, dando como resultado una nueva cerveza que puede enriquecer las posibilidades de los consumidores incrementando los beneficios para la salud, aunque siempre teniendo en cuenta que al ser una bebida alcohólica su ingesta debe ser moderada.

Abstract

Beer is a low alcoholic beverage consumed by humanity since ancient times. It's consumption is related to pleasure and is part of numerous social gatherings, which makes it currently have an important role in the economic engine of the country. In recent time there has been a rise in the consumption of denominated *craft beer*, thus providing greater knowledge to consumers about different beers that have very different sensory characteristics. In addition, these types of beers are conceived as healthier beers, since the processing of these beers is more friendly to bioactive compounds.

For this reason, we added broccoli to increase this functionality of beer, as this vegetable is among the most beneficial for human health as described by many authors.

The addition of broccoli after fermentation, and the maceration of this has caused slight changes in the physical-chemical parameters of beer, has led to an increase in the antioxidant properties of beer, and has included new sensory characteristics in the beer, resulting in a new beer that can enrich the possibilities of consumers increasing the health benefits, although always taking into account that being an alcoholic beverage your intake should be moderate.

Palabras clave: Brócoli, Cerveza, Ale, actividad antioxidante, compuestos bioactivos, fermentación, fenoles.

Key words: Broccoli, Beer, Ale, antioxidants activity, bioactive compounds, fermentation, phenols.

Índice

1. Introducción	1
1. 1. Cerveza	1
1. 1. 1. Historia de la cerveza	1
1. 1. 2. Importancia económica de la industria cervecera en la actualidad	2
1. 1. 3. Definición de la cerveza	3
1. 1. 4. Ingredientes de la cerveza	4
1. 1. 5. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de la cerveza	5
1. 1. 6. Tipos de cerveza	7
1. 1. 7. Cervezas híbridas	8
1. 1. 8. Propiedades funcionales de la cerveza	9
1. 2. Brócoli (<i>Brassica Oleracea var. Itálica</i>)	11
1. 2. 1. Origen.....	11
1. 2. 2. Encuadramiento taxonómico	11
1. 2. 3. Descripción botánica	12
1. 2. 4. Valor nutricional	13
1. 2. 5. Formas de consumo de Brócoli	13
1. 2. 6. Propiedades funcionales	13
1. 2. 7. Importancia económica del brócoli	15
2. Objetivos	17
3. Materiales y métodos	18
3. 1. Materiales	18
3. 2. Métodos	19
3. 3. Diagrama de flujo de cerveza con brócoli	21
3. 4. Determinaciones analíticas	21
3. 4. 1. Densidad	21
3. 4. 2. pH	21
3. 4. 3. Porcentaje de alcohol por volumen	22
3. 4. 4. Determinación de color °EBC	22
3. 4. 5. Determinación de amargor	22
3. 4. 6. Determinación de la acidez	22
3. 4. 7. Determinación de fenoles totales por el reactivo Folin-Ciocalteu	23
3.4. 8. Determinación de la capacidad antioxidante.....	23
3.4. 9. Análisis sensorial	24
3.4. 9. 1. Fase visual:.....	25
3.4. 9. 2. Fase olfativa:.....	25

3.4. 9. 3. Fase gustativa:	25
4. Resultados y discusión	26
4. 1. Densidad y grado alcohólico	26
4. 2. pH	28
4. 3. Color °EBC	28
4. 4. Amargor	30
4. 5. Acidez.....	31
4. 6. Contenido en polifenoles totales.....	31
4. 7. Actividad antioxidante	32
4. 8. Análisis sensorial	33
5. Conclusión.....	34
6. Bibliografía.....	35



ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1: Actividad enzimática de la malta.....	6
Ilustración 2: Diagrama de flujo del proceso de elaboración de la cerveza	7
Ilustración 3: Superficie y producción de brócoli en el mundo.....	15
Ilustración 4: Producción según el continente.....	16
Ilustración 5: Producción por países	16
Ilustración 6: Producción/Rendimiento de coliflor y Brócoli en España.....	17
Ilustración 7: Equipo empleado para la elaboración de cerveza	18
Ilustración 8: Diagrama de flujo de cerveza con brócoli. Fuente: http://cerveceriajagger.com	21
Ilustración 9: Medida de los fenoles totales de las muestras de cerveza.....	23
Ilustración 10: Diferenciación de las fases hidrofílicas y lipofílicas.....	24
Ilustración 11: Cerveza con brócoli (izquierda) cerveza control (derecha).....	26
Ilustración 12: Valores representados en porcentaje de alcohol. Fuente: Tinto García-Moreno, 2004.....	27
Ilustración 13: Valores representados de pH.....	28
Ilustración 14: Representación de los valores de color en la escala EBC.....	30
Ilustración 15: Valores representados en unidades de amargor	30
Ilustración 16: Valores para las coordenadas de la acidez, expresada en % de ácido láctico	31
Ilustración 17: Concentración de fenoles en los dos tipos de cerveza	32
Ilustración 18: Resultados de Actividad Antioxidante Total Hidro y Lipofílica.	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diferencias sensoriales entre cerveza Ale y Lager.....	8
Tabla 2: Clasificación taxonómica del brócoli	12
Tabla 3: Composición química de 100 g de parte comestible de brócoli. Fuente: USDA Nutrient Database, 2009.....	13
Tabla 4: Grado alcohólico final cervezas con diferente densidad original y el efecto sobre la apreciación de su sabor.....	27
Tabla 5: El Color de la Cerveza. Fuente: Javier Fernandez, 2015.	29
Tabla 6: Resultados del análisis sensorial	34

1. Introducción

1. 1. Cerveza

1. 1. 1. Historia de la cerveza

El surgimiento de la cerveza no se conoce completamente, incluso ha sido objeto de leyendas, que van desde el Dios egipcio Osiris hasta Gambrinus “Rey de Bravante”. Sin embargo, los restos de cerveza más antiguos datan alrededor del año 9000 A. C., 3000 años antes de los primeros restos que evidencian la fabricación de pan, dos alimentos responsables de que el ser humano pasase a ser sedentario, al dominar los cultivos de cebada y trigo respectivamente para su fabricación, creando así las primeras civilizaciones. En el 7000 A. C. los cazadores-recolectores de Mesopotamia (actual Irak) cultivan y cosechan una antigua forma de cereal, que se supone que se utilizaba para fabricar una primitiva forma de cerveza. Los restos arqueológicos más antiguos de producción de cerveza en Europa fueron descubiertos en el yacimiento del valle de Ambrona (Soria, España) y datan de alrededor de 2400 A. C., según el trabajo arqueológico del equipo dirigido por Miguel Ángel Rojo Guerra.

Así mismo las primeras evidencias escritas sobre la elaboración de cerveza fueron encontradas en Mesopotamia, donde varios registros sumerios la mencionan, destaca el Código de Hammurabi y se recogen normas sobre la fabricación de la cerveza: el precio del producto, la concentración adecuada y las sanciones a quienes adulteraran la bebida. También cabe destacar unas tablas babilónicas de arcilla que datan del año 4300 A. C. en las que incluyen detalles de una receta para una bebida alcohólica hecha con cereales y el Papiro de Zosimo, en el que se encuentra la receta de cerveza más antigua conocida.

Los egipcios recogieron los métodos de los sumerios y se propusieron la mejora del color y aroma con la adición a esta bebida de azafrán, miel, jengibre y comino. Además, descubren y añaden la malta a sus cervezas. En esta época, la cerveza era elaborada por los sacerdotes y mujeres del imperio egipcio y era considerada un regalo de Osiris. En el antiguo Egipto era muy apreciada por los faraones y sus élites, pero también era consumida de manera abundante por los constructores de pirámides, a quienes les proporcionaba la energía, minerales y vitaminas suficientes para continuar con la construcción de tales monumentos funerarios.

El conocimiento de la elaboración de cerveza pasó de los egipcios a los griegos y luego de éstos a los romanos, británicos, anglos y sajones. Los romanos consideraron la cerveza una bebida de categoría inferior al vino, por lo que se centraron en la elaboración de este último, lo que no significaba que no se elaborara cerveza, sobre todo en las regiones del norte, más propicias para el cultivo de la cebada que para el de la viña. Los historiadores romanos como Tácito, detalló por escrito la cerveza: “Los germanos beben un horrible jugo hecho de cebada o trigo fermentado, brebaje que guarda una apariencia muy lejana con el vino” (Wolfgang, 2006). Así pues, en el norte de Europa fue extendiéndose el consumo de esta bebida y tomando la forma de lo entendido actualmente como cerveza. El abad Adalhard, del monasterio benedictino de Corbie, en el norte de Francia, escribe unos estatutos referentes al funcionamiento del monasterio, entre los que se incluyen recolectar suficiente lúpulo para la elaboración de cerveza, el primer vínculo documentado entre el lúpulo y la elaboración de cerveza.

Con el advenimiento del cristianismo, donde los monasterios fueron las primeras cervecerías comerciales. En 1040 se funda la primera cervecería en la abadía de Weihstepha, Babiera, donde el proceso de elaboración de cerveza se convirtió en una aventura comercial para los monjes. Muchos de ellos continúan hoy en día elaborando cervezas.

En la Edad Media, la manera en que los pueblos de Europa prevenían infecciones procedentes de la ingesta de aguas contaminadas, era precisamente mediante la ingestión de la cerveza, incluso a bebés y niños pequeños, debido al proceso de hervido por el que pasa ésta bebida durante su producción, donde se elimina todo tipo de bacterias, incluidas las que provocaban el cólera y otras enfermedades infecciosas.

Más tarde comenzaron a surgir cervecerías no monásticas en Alemania, donde se llevó la elaboración de esta bebida a un nivel superior de calidad. Es en esta época cuando se elaboró la conocida Ley de la Pureza de la Cerveza de 1516, decretada en Baviera por el duque Guillermo IV, en la que se establecía que su composición sería exclusivamente agua, malta de cebada y lúpulo. Esta Ley es considerada como la regulación alimentaria más antigua del mundo.

Mientras tanto, en España, el emperador Carlos I trajo a sus maestros cerveceros de Flandes para que elaborasen cerveza y proveer a la Corte de ésta. Este hecho es considerado por muchos como la introducción “oficial” de la cerveza en España.

En el siglo XVIII, la Revolución Industrial estaba transformando el mundo y la cerveza no fue una excepción. La introducción del termómetro, densímetro y la refrigeración generaron grandes avances en su producción, que terminaron por definir la forma de hacer cerveza industrialmente y de darle un aspecto similar al que posee en la actualidad, además de permitir su elaboración en cualquier época del año, abaratando el producto y popularizándolo todavía más. La culminación del proceso de fabricación de cerveza llegó tras el conocimiento de los mecanismos de desarrollo microbiano y de la fermentación, propiciados por el químico francés Louis Pasteur, que permitieron un mayor control sobre el proceso de fermentación y conservación de la cerveza.

La primera mitad del siglo XX con el estallido de las dos guerras mundiales la industria cervecera sufrió un periodo difícil y de cierto declive, acompañado también por periodos de prohibición de consumo de alcohol en diversos países, conocido como la Ley seca en EE. UU. donde la Decimoctava Enmienda de la Constitución ilegaliza la venta, fabricación y transporte de alcohol. A partir de 1950, la industria cervecera entró en un periodo de intensa competencia, reduciendo todavía más el número de cervecerías y deteriorando más la calidad de la cerveza.

Actualmente, el mundo está presenciando una revolución gracias al Renacimiento de la Cerveza Artesanal, que comenzó en 1963 al retirar los impuestos sobre la elaboración de cerveza casera por el político británico Reggie Maudling, eliminado la exigencia de una licencia, se ha ido extendiendo con el tiempo por el resto del mundo. Por todos los países están surgiendo cada vez más cervecerías independientes que tratan de procurar la calidad de este producto y siguen métodos tradicionales de elaboración.

1. 1. 2. Importancia económica de la industria cervecera en la actualidad

En este apartado se muestra la importancia del sector cervecero, respaldado por los datos obtenidos a partir del Convenio entre el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, la Asociación de Cerveceros de España y la de Malteros de España.

El sector cervecero español es un referente dentro del panorama agroalimentario nacional por su contribución a la economía, gracias fundamentalmente al vínculo del consumo de cerveza con la hostelería y el turismo. De hecho, la cerveza es la bebida con contenido alcohólico con mayor impacto económico a través de los empleos que genera directa e indirectamente y los ingresos recaudados por el Estado mediante los impuestos que gravan su consumo según el

informe socioeconómico del sector de la cerveza en España del 2016. El valor de la cerveza en el mercado supera los 14.600 millones de euros, que representan un 1,4 % del PIB.

La reforma impositiva del 2013 sobre las bebidas alcohólicas excluyó el vino y la cerveza con el objetivo de minimizar el impacto sobre la hostelería en tanto que, junto con el café, son los productos más consumidos en bares y restaurantes con menos de 10 empleados, suponiendo la cuarta parte de su facturación.

La cerveza contribuye a la creación de más de 257.000 puestos de trabajo, de los cuales 224.300 se encuentran en el sector hostelero y 20.900 en los sectores abastecedores (el 22% en la agricultura). Además, 6.000 empleos se crean directamente en las propias compañías cerveceras.

Mediante los impuestos que gravan el consumo de cerveza, las arcas del Estado ingresan cerca de 3.400 millones de euros, un 44% por encima de la recaudación de las bebidas destiladas. Más de 2.600 millones del total de ingresos proceden del consumo en bares y restaurantes, en su mayor parte gracias a las cotizaciones a la Seguridad Social e IRPF (58%) derivadas del empleo que crea y el IVA en el sector hostelero (36%).

La aportación vía impuestos está determinada por la fiscalidad que soporta la cerveza que, tras la última reforma del IVA, alcanza el 21% incluso en su variedad sin alcohol.

La facturación del sector, por su parte, según el informe de consumo de 2016 el consumo per cápita se sitúa en 18,7 L/persona/año, una cantidad superior a un 2,2% al consumo por persona del año 2015. Siendo Andalucía, el sur de Extremadura, Ceuta y Melilla la zona del país líder en ventas.

En España es el cuarto productor de cerveza en Europa, por detrás de Reino Unido, Alemania y Polonia. En la Unión Europea, España es el quinto consumidor de cerveza y el primero en consumo y producción cerveza sin alcohol asociándose a las relaciones sociales.

1. 1. 3. Definición de la cerveza

El diccionario de la Real Academia de la Lengua Española define la cerveza como: “Bebida alcohólica hecha con granos germinados de cebada u otros cereales fermentados en agua, y aromatizada con lúpulo, boj, casia, etc.”

Según el Código Alimentario Español, en el Real Decreto 2484/1967, modificado en 2012, la cerveza es una bebida natural obtenida por fermentación alcohólica de un extracto acuoso de cebada malteada. Las materias primas necesarias para la fabricación de cerveza son cuatro: malta de cebada, agua, levadura y lúpulo, aunque la mayoría de las cervezas comerciales utilizan, además, otra fuente de hidratos de carbono (habitualmente un cereal no malteado), antioxidantes, estabilizante de espuma y colorante que permite intensificar y uniformizar el color del producto final.

El proceso de fabricación de la cerveza se basa esencialmente en el malteado controlado del grano de cebada para permitir la posterior extracción acuosa de un mosto azucarado, este mosto, al que se le adiciona el lúpulo, se somete a un proceso de fermentación alcohólica con la levadura cervecera (Hough, 2001), finalmente se acondiciona para su envasado y expedición (Ferrán-Lamich, 2002).

1. 1. 4. Ingredientes de la cerveza

Los ingredientes básicos a partir de los cuales se elabora cerveza son:

- **Malta:** Es un cereal que se deja germinar durante un proceso de malteado. Los principales cereales malteados son cebada, trigo, avena y centeno debido a su alto contenido en azúcares fermentables y su menor contenido en grasa, enranciamiento o contaminación por microorganismos durante la germinación.
La cebada es el cereal malteado más utilizado, existen tres variedades; dos carreras, de cuatro carreras y de seis carreras, en referencia al número de hileras de granos por espiga. La cebada de dos carreras es la variedad más empleada en la elaboración de cerveza al tener pocas proteínas y produce más almidón fermentable.
Existen dos tipos de maltas; en primer lugar, las maltas denominadas base como la Pilsner y la Pale, entre otras, las cuales representa la mayor aportación de azúcares en la elaboración y el color amarillo pálido base. En segundo lugar, las maltas coloreadas como Cristal, Chocolate y Tostada que son las encargadas de dar cuerpo, carácter y color.
- **Lúpulo (*Humulus lupulus*):** Es una planta trepadora de la cual se utilizan las flores femeninas secas. Posee constituyentes químicos como resinas humulonas y lupulonas, aceites esenciales responsables del amargor, sabor y aroma característicos de la cerveza que proviene de la secreción glandular. Las resinas del lúpulo pueden dividirse en blandas y duras. Dentro de las blandas se encuentran los ácidos α que son las de mayor importancia, ya que a partir de ellos se forman los compuestos que otorgan el tono amargo.
- **Agua:** Es el ingrediente principal, representando el 90% de la cerveza. Como consecuencia, la calidad y el perfil químico del agua que se utilice tiene un efecto sobre la cerveza a elaborar. Las cervezas de baja fermentación necesitan agua blanda, mientras que las cervezas de alta fermentación necesitan agua dura, es decir, con bastante presencia de sales como el calcio y el magnesio. Las sales poseen varias funciones como la estabilización enzimática durante macerado, extracción lúpulo, precipitación proteínas y taninos, crecimiento y metabolismo levaduras.
- **Levadura:** Es un hongo unicelular que transforma el mosto dulce obtenido en dióxido de carbono y etanol. La levadura también produce diversos subproductos que afectan al sabor y al aroma de la cerveza terminada como esteroides, aceites y diacetilo. En la actualidad hay dos tipos de levadura:
 - **Levadura de alta fermentación:** La levadura que se usa para este tipo de fermentación son cepas de la especie *Saccharomyces cerevisiae*. La temperatura óptima es de 16 a 24°C durante 4 a 6 días en la que los microorganismos se sitúan en la parte superior durante y después de la fermentación creando una capa que aísla el mosto del exterior. Se evita la contaminación bacteriana y entrada de oxígeno. Se producen gran cantidad de esteroides complejos, dando lugar a una gran variedad de sabores y aromas.
 - **Levadura de baja fermentación:** La cepa de las levaduras empleadas se denomina *Sacchamyses pastorianus*. La temperatura óptima es de 7 a 15°C, mientras que la duración puede ser de varios días hasta semanas o meses. La levadura baja al fondo de la cuba de fermentación. Tiende a producir cervezas con sabores limpios y neutros al no producir subproductos.
- **Adjuntos:** Se hace referencia a cualquier sustancia carbohidratada diferente de la malta que confiere azúcares al mosto, cuyos objetivos son abaratar costes de la cerveza,

producir cervezas ligeras y menos coloreadas, dar dulzor y para aumentar el grado alcohólico.

- Otras especies: La mezcla de varias hierbas y especias, regaliz, cilantro, jengibre y cáscaras de naranja se utilizan en lugar del lúpulo para dar variedad de aromas, sabores y proteger la cerveza de las bacterias.

1. 1. 5. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de la cerveza

En este apartado se explicará el proceso general de elaboración de cerveza, aunque siempre puede haber modificaciones teniendo en cuenta las características que cada productor quiera darle a su cerveza.

1. **Malteado:** Corresponde a las primeras etapas de la germinación y su objetivo es la germinación controlada del grano de cebada mediante la cual se activa y genera la carga enzimática como α -amilasas y β -glucanasas hidrolizan el almidón en maltosa y proteasas degradan las proteínas del endospermo.
Para ello, la cebada se empapa en agua durante 2 días a 10 - 16°C, aumentando su contenido en agua hasta un 45%. Posteriormente la cebada germina parcialmente durante 3 - 5 días bajo condiciones controladas de temperatura y aireación. Para el malteado lo ideal es el grano vestido de cebada para proteger al germen durante el malteado. Las glumillas facilitan la separación del mosto al actuar como capa filtrante. El malteado da una gran riqueza en almidón y una adecuada proporción de proteínas y sustancias nitrogenadas. Además, el color de la malta viene determinado por la temperatura de secado durante el malteado, de forma que temperaturas más altas producen maltas más oscuras.
2. **Secado-Horneado:** Tiene como objetivo detener las transformaciones bioquímicas para que el grano sea estable para almacenarse. Este proceso suele durar dos días y conlleva la disminución de la humedad dentro de un 1 - 5%. El proceso tiene una 1ª etapa con un secado lento a 50 - 70°C eliminando la humedad hasta un 10%. La 2ª etapa se aumenta la temperatura a 80 - 110°C en donde se producen cambios de color y propiedades organolépticas.
3. **Maceración:** La cebada malteada se tritura y se mezcla con agua a temperatura controlada para lograr la hidrólisis de almidón por las amilasas y las proteasas activadas durante la germinación (Ilustración 1). En general, las enzimas mencionadas actúan en un abanico de temperaturas, pero todas tienen su temperatura óptima, por otra parte, resultan dañinas a determinadas temperaturas levadas.
 - **Proteasas:** Degradan las grandes moléculas proteicas en sencillos componentes proteicos de pequeño peso molecular. Tiene una temperatura óptima de 40 - 60°C y es nociva a partir de 70°C.
 - **Amilasa:** Degradan el almidón en azúcares y dextrinas. Presenta dos formas: α -Amilasa para la generar dextrinas con temperatura óptima 62-65°C y nociva a partir de 70°C y la β -Amilasa tiene acción sacarogénica, su óptimo está entre 72 - 75°C y es nociva a 80°C.

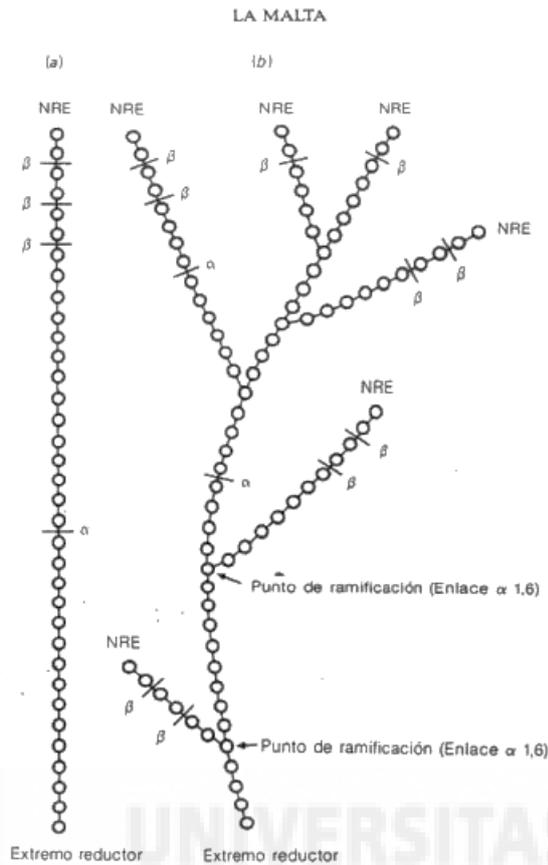


Ilustración 1: Actividad enzimática de la malta

En la Ilustración 1 puede verse la representación de las dos formas de almidón que se dan en la cebada. Cada círculo representa una unidad de glucosa y posibles puntos de ataque para las amilasas. NRE indica un extremo no reductor.

El almidón se encuentra formado por moléculas de amilosa y amilopectina. La mayoría de los enlaces químicos del almidón son α 1 - 4, también existen puntos de ramificación en donde son α 1-6. Ambas moléculas poseen en sus extremos, un solo grupo reductor, lo que las iguala como si fueran un azúcar simple como la glucosa en poder reductor (Rodríguez, 2003).

La enzima α -amilasa ataca a la amilopectina y a la amilosa al azar, en cualquier punto de la molécula, menos cerca de los puntos de ramificación y tampoco cerca de los extremos no reductores. Por lo tanto, origina carbohidratos complejos llamados dextrinas. La enzima β -amilasa, en cambio ataca a las dextrinas, amilopectinas, amilosas por sus extremos no reductores, cortando dos unidades de glucosa que se denominan maltosa. Por lo tanto, se la denomina enzima sacarificante y a la α -amilasa enzima dextrinificante se denomina maltosa. Esto quiere decir que la enzima α -amilasa actúa generando lugares (extremos no reductores) para que corte la enzima β -amilasa y se produzcan moléculas de maltosa.

De este modo en la maceración se obtienen azúcares fermentables, aminoácidos, vitaminas etc., a partir de la cebada malteada, dando lugar a lo que se conoce como mosto.

4. Ebullición: El mosto separado del grano, se hierve junto con el lúpulo, que se añade en diferentes intervalos para dar el amargor, sabor y aroma típico de la cerveza. Se detiene

la actividad enzimática y precipitación de fosfato cálcico, por lo tanto, disminución del pH, se coagulan las proteínas y los taninos. Obteniendo un mosto esterilizado.

5. Fermentación: Una vez clarificado y enfriado el mosto, se trasiega a un fermentador y se inocula la levadura para el comienzo del proceso. La fermentación consiste en la transformación de los azúcares del mosto en alcohol y anhídrido carbónico.
6. Carbonatación: Tras la fermentación, la cerveza se puede filtrar para eliminar los residuos sólidos, además de gasificarse con CO₂ una vez almacenada en tanques. Posteriormente se procederá al embotellado. Otro método es añadir azúcar de cebado para condicionar la cerveza y añadir carbonatación en botella directamente.

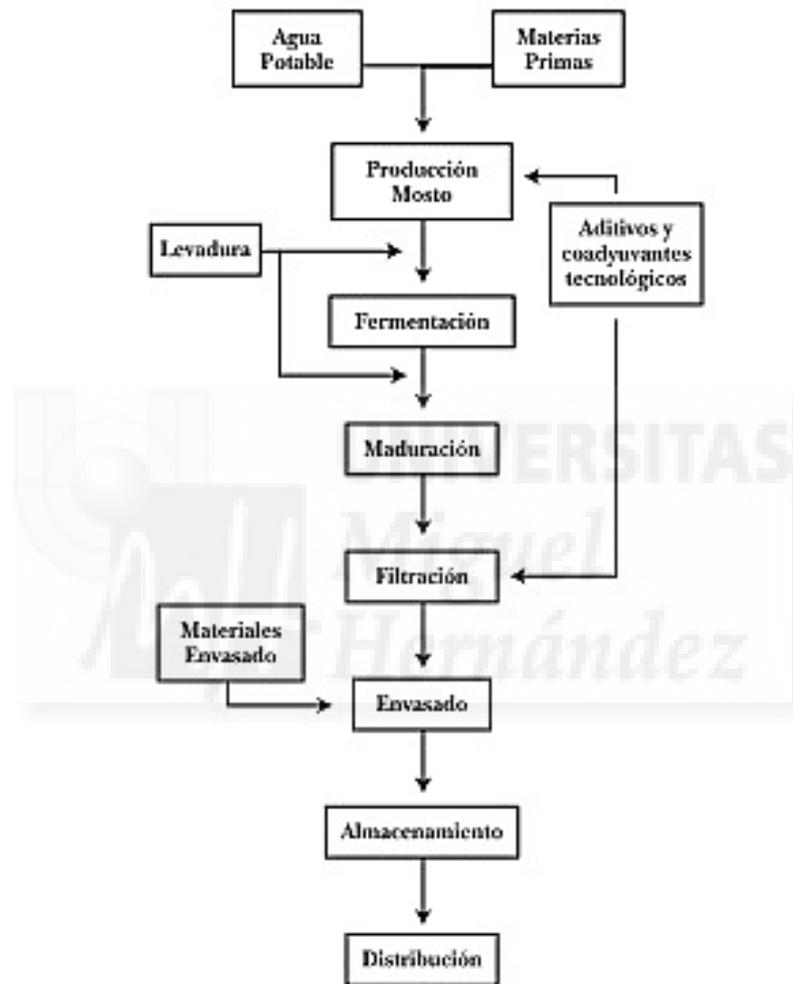


Ilustración 2: Diagrama de flujo del proceso de elaboración de la cerveza

1. 1. 6. Tipos de cerveza

A la hora de elaborar una cerveza existen numerosas variables a tener en cuenta, lo que hace que sea un producto de difícil clasificación. De este modo, una cerveza se puede clasificar según los siguientes criterios: fermentación, ingredientes, aspecto, procedimientos de elaboración, procedencia o denominación de origen y otros aspectos menos importantes.

La clasificación de J. S. Hough es la más sencilla, agrupando las cervezas en dos grandes grupos: Lager, de baja fermentación, y Ale, de alta fermentación, en las que se incluyen las cervezas de fermentación espontánea denominadas Lambic. Existen parámetros que pueden presentar variaciones y seguir formando parte de una cerveza tipo, dependen entre otras cosas, de la cantidad y tipo de malta que se utilice, del lúpulo y de la maduración que experimente.

En primer lugar, se encuentran las cervezas tipo Ale: tradicionalmente inglesa que pertenece al grupo de cervezas que utilizan levaduras de fermentación alta y fabricada en las Islas Británicas. Se elaboran sustituyendo gran parte de la cebada por grano de trigo. Resultan muy refrescantes, de bajo contenido alcohólico y de color amarillo pálido.

- Pale: cerveza clara. Fabricadas a partir de maltas pálidas y fuertemente aromatizadas con lúpulo, habitualmente poco dulces.
- Bitter: Cerveza amarga. Término usado para cervezas Pale Ale de barril.
- Brown: Cerveza amarga. Fabricada con maltas que proporcionan un color intenso, generalmente más dulce y menos cargadas de lúpulo que las pálidas.
- Mild. Cerveza suave. Habitualmente equivalentes, para la cerveza de barril, a las pardas. Sin embargo, en algunas zonas se fabrican cervezas Mild muy molidas.
- Stout: Son las más oscuras, algunas intensamente amargas y otras, en cambio, dulces.
- Lambic: Originarias de la zona flamenca de Bélgica, se fabrican a partir de cebada malteada y trigo crudo. Utilizan cepas salvajes de levadura, lo cual provoca una fermentación espontánea semejante al vino. Se caracterizan por tener muy poco gas y un aroma y paladar ácidos y vinosos.
- Porter: Originaria del Londres del siglo XVIII y era consumida en las calles y entres los mozos del río. Cervezas de fermentación alta, muy oscuras, casi negras, densas, cremosas, dulzonas y con un sabor tostado o torrefacto. Se sirven a temperatura ambiente.
- Stout: Del mismo tipo que la Porter, pero una versión más fuerte y más cuerpo, aunque no necesariamente de graduación más alta. La Stout más popular del mundo es la irlandesa "Guinness".

Por otro lado, están las cervezas tipo Lager, cervezas de baja fermentación (entre 6 – 13°C). Es la variedad más difundida en el mercado. Muy refrescantes, con un marcado sabor a lúpulo y, generalmente, rubias con matices dorados oscuros.

- Pale: Fabricadas con malta pálida, carentes de sabor dulce y aromatizadas con lúpulo.
- Dark: Fabricadas con maltas oscuras, algunas veces ligeramente dulces y más fuertes que las pálidas.
- Marzen, Borck: Cervezas de gran fuerza, fabricadas solo en ciertas épocas del año.

Dentro de esta familia se encuentra la variedad Kriek, Frambozen (cervezas de frutas). El añadir fruta a la cerveza es una tradición muy antigua en Bélgica. Se remonta a más de 400 años, siendo las cerezas y las frambuesas las frutas más utilizadas.

Tabla 1. Diferencias sensoriales entre cerveza Ale y Lager

DIFERENCIAS SENSORIALES	
Ale	Lager
Sabor más robusto	Sabor más ligero
Afrutadas y aromáticas	Carbonatadas o crujientes
Sabor y aroma complejos	Sabor y aroma más sutil, equilibrado y limpio
Se sirve entre 7 y 12°C	Se sirve entre 3 y 7°C
Más amargas	Más suaves

1. 1. 7. Cervezas híbridas

Las cervezas híbridas o que contienen aditivos, no pueden definirse como lager, ale o cerveza de trigo, aunque comparten cualidades y técnicas de elaboración, es decir, son cervezas

perfectas para experimentar. Se puede usar cualquier ingrediente para añadir una variedad de aromas y sabores como son las semillas de cardamomo, bayas de enebro, fresas, cerezas, piel de naranja, flores de sauco, vainas de vainilla, etc. En la actualidad, se añaden ingredientes cuatro días después de la fermentación en el depósito o en el hervido del mosto junto al lúpulo pero se pierden características debido a las altas temperaturas.

A menudo utilizan una combinación de métodos de fermentación como por ejemplo al añadir cerezas (u otra fruta) a la cerveza y dejarlas macerar en ella por lo que ocurren tres cosas; se produce una re-fermentación, debido a los azúcares de la fruta, el sabor de la propia fruta es absorbido por la cerveza y hay un gran cambio en el color de ésta, que pasa a ser rosado o rojizo. El periodo de maceración suele durar varias semanas, aunque algunos productores dejan la fruta mucho más tiempo.

Las cervezas tradicionales belgas de frutas están hechas con cerezas y se conocen como “kriek”, el nombre flamenco de una variedad de cerezas. También es tradicional utilizar frambuesas, recibiendo entonces el nombre de “framboise”. Este tipo de cerveza, que es una bebida tradicional de verano en el área de Bruselas, se conoce como el “champagne rosado” del mundo de la cerveza, por su color, delicadeza y burbujeo, sirviéndose en copas aflautadas, como el cava o champagne. Suelen tener de 5 a 7% de alcohol. Además de lambic, existen cervezas de frutas que utilizan como base otros estilos de cerveza, como “gueuze” u “oud bruin” belga.

Recientemente se ha elaborado una cerveza Ale Ambar enriquecida con bayas de goji, al igual que el brócoli, es una baya con gran impacto en la alimentación saludable. Se evaluaron los efectos sobre el contenido de compuestos bioactivos y propiedades sensoriales al añadir baya goji en diferentes etapas de la elaboración obteniendo una alta intensidad de color, sabor a caramelo y café, una alta actividad antioxidante y contenido en bioactivos tales como rutina y 2-O-β-D-glucopiranosil-L-ácido ascórbico. El consumo moderado de esta cerveza mostró impactos beneficiosos en el sistema inmune humano y produce cambios favorables en los varios biomarcadores cardíacos como el perfil lipídico plasmático, el estado antioxidante total en plasma, así como los niveles de apolipoproteína A1, adiponectina y fibrinógeno (Gorinstein et al., 2007).

1. 1. 8. Propiedades funcionales de la cerveza

La cerveza es una bebida fermentada tradicional que está presente en la dieta desde hace miles de años. Es una bebida de baja graduación alcohólica y se produce industrialmente a partir de ingredientes que apenas han cambiado en el transcurso de los siglos. Su posible relación con la salud no ha sido estudiada hasta tiempos muy recientes y sus efectos se achacan, sobre todo, a la presencia en la misma de sustancias antioxidantes como los polifenoles y las melanoidinas, además de otras sustancias nutritivas (folatos, carbohidratos, magnesio, etc.) y no nutritivas como la fibra.

Dentro de las bebidas que contienen polifenoles destaca la cerveza, cuya actividad antioxidante global oscila entre unos valores mínimos y máximos comprendidos en el intervalo 2 - 56mg según la Capacidad Antioxidante Equivalente de vitamina C (CEAC). Estos datos indican que se trata de una bebida con una capacidad antioxidante global significativa, ya que posee valores similares a otras bebidas alcohólicas, como el vino, y no alcohólicas, como el mosto. De los estudios realizados se desprende que el tipo de cerveza no influye en el poder antioxidante, ya que cervezas negras, rubias y sin alcohol presentan valores similares (González San José et al., 2001).

Los polifenoles predominantes de la cerveza son los ácidos ferúlicos, p-cúmico, vanílico y protocatecúico, pero también se encuentran pequeñas cantidades de ácidos catequina, p-hidroxibenzoico, clorogénico, cafeico y sinapico (Leitao et al., 2011). Los compuestos fenólicos presentes en la cerveza se originan principalmente de la malta (70 - 80%) y en menor medida del lúpulo (Callemien y Collin, 2010). Contribuyen sustancialmente al color, sabor y estabilidad de una cerveza. Los ácidos fenólicos de la cerveza se absorben rápidamente en el tracto intestinal humano y están presentes en la sangre como glucurónidos y conjugados de sulfato (Nardini et al., 2006).

Los compuestos fenólicos protegen de la oxidación a las Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL) desempeñando un papel clave en la prevención de la aterosclerosis. También pueden prevenir la trombosis, inhibiendo la agregación plaquetaria, la permeabilidad y fragilidad capilar (Mazza, 2000). Este efecto se ha demostrado mediante experimentos con animales in vitro e in vivo. En muchos casos se inhibe la AMP (adenosín monofosfato) y como resultado se incrementan los niveles de cAMP (adenosín monofosfato cíclico). Así mismo, se reduce el nivel de calcio, se inhibe el "factor de activación plaquetario", se promueve la captación de los radicales libres y se reduce la liberación de enzimas que favorecen la agregación plaquetaria (Meltzer & Malterud, 1997; Craig, 1996).

Los compuestos fenólicos también son considerados como reguladores del sistema inmune y anti-inflamatorios, probablemente debido a la modulación del metabolismo del ácido araquidónico, reduciendo los niveles de tromboxano. También modulan la actividad enzimática de la ciclo-oxigenasa, lipoxigenasa, fosfolipasa A2, hialuronidasa e inhiben la acción de la angiotensina convertasa, mieloperoxidasa, productora del hipoclorito y otros prooxidantes, y xantinoxidasa que produce los radicales superóxidos entre otras. Dichos efectos les otorgan un amplio potencial para su utilización con fines médicos (Craig, 1996). Son numerosos los estudios que han mostrado que este tipo de compuestos poseen propiedades antioxidantes, inhibiendo la peroxidación lipídica y captando radicales libres como hidroxilo, superóxido y alcoxi radical.

Los efectos beneficiosos de la ingesta de un elevado número de alimentos ricos en compuestos fenólicos como cerveza, fresas, espinacas, vino tinto, etc. se pueden evaluar a corto plazo ya que aumentan la capacidad antioxidante en suero (Cao et al., 1998; Velioglu et al., 1998; Kähkönen et al., 1999), lo que avala el creciente interés por el consumo de alimentos ricos en estos compuestos (Hertog et al., 1995).

Desde un punto de vista bioquímico, los compuestos fenólicos también tienen un especial interés debido a su potencial anti-carcinógeno, bien estimulando el bombeo de ciertos agentes cancerígenos hacia el exterior de las células o bien mediante la inducción de enzimas de detoxificación (Mazza, 2000). En la bibliografía científica son múltiples las referencias que demuestran que los flavonoides tienen efectos citostáticos en varios sistemas in vitro y son capaces de regular ciertos procesos importantes en el desarrollo del cáncer. Los flavonoides tienen actividad anti-promotora, efecto anti-invasivo, e inhiben enzimas como la tirosina proteinkinasa, la ornitina descarboxilasa ATP-dependiente y la DNA topoisomerasa. Varios trabajos de investigación demuestran que los isoflavonoides de la soja, especialmente la genisteína, pueden tener efecto protector frente a diferentes tipos de cáncer (mama, colon y piel). Este hecho, se ha relacionado con el efecto estrogénico de los isoflavonoides, mediante diferentes mecanismos bioquímicos (Barnes, 1995; Herman et al., 1995).

En lo que respecta al lúpulo, existen numerosos estudios sobre su papel en diferentes patologías. Así, según los resultados obtenidos por Milligan et al., (2002), se encuentra que la

humulona del lúpulo inhibe la resorción ósea, lo que produce una elevada protección frente a la osteoporosis, y posee una pronunciada actividad anti-inflamatoria. La humulona inhibe además la angiogénesis, es decir, reduce la formación de nuevos vasos sanguíneos, proceso clave en la proliferación de tumores, así como en el crecimiento descontrolado de células endoteliales, un marcador de riesgo cardiovascular.

En cuanto al valor nutritivo de la cerveza, su valor calórico se debe a su contenido en alcohol etílico (7 Kcal/g), y a su extracto seco residual, constituido fundamentalmente por maltodextrinas (4 Kcal/g) procedentes de la hidrólisis del almidón y que la levadura no pudo metabolizar. Una cerveza de 5° aportaría aproximadamente 450 Kcal/L, de las que dos terceras partes corresponden al alcohol contenido y el resto a las maltodextrinas. La ingesta de un litro diario de cerveza aportaría un 17% de las necesidades energéticas diarias de un hombre y el 22 % en el caso de la mujer. La cerveza sin alcohol tiene obviamente un valor calórico mucho más bajo, del orden de 140 Kcal/L (Hughes, 2003).

El consumo moderado de cerveza está recomendado para retrasar la menopausia al aumentar el contenido de estrógenos y evitar la osteoporosis por su alto contenido de silicio asimilable. Protege el corazón favoreciendo el colesterol bueno y tiene propiedades antioxidantes y diuréticas. Además, su contenido en maltodextrina la hace compatible con el deporte. La formulación de bebidas con maltodextrinas corrige la posibilidad de hipoglucemia, porque la maltodextrina se metaboliza lentamente liberando unidades de glucosa que pasan progresivamente a la sangre y dan lugar a un pico de concentraciones de glucosa en sangre menos elevado y más extendido (Nestor y Bague Serrano, 2011).

1. 2. Brócoli (*Brassica Oleracea var. Itálica*)

1. 2. 1. Origen

El brócoli, *Brassica Oleracea var. italica*, también conocido como brécol, cuyo origen aparente está ubicado en el Mediterráneo oriental, concretamente Asia Menor, Líbano, Siria, etc (Maroto et al., 2007). La expansión como cultivo en Europa se inició en Italia a partir del siglo XVI, con una posterior diseminación que se les atribuye a los comerciantes y navegantes del Mediterráneo como los griegos, romanos y musulmanes entre otros (Gray, 1982).

Su nombre proviene del término italiano “brocco” que quiere decir brote, retoño. Este término hace referencia a la capacidad que tiene el brócoli de rebrotar y a los brotes laterales que se dan después del corte de la cabeza principal.

En la actualidad está presente en todo el mundo y se estudian sus ingredientes funcionales pudiendo aportar beneficios a la salud (Hasperué et al., 2011). En España el cultivo del brócoli a gran escala data de principios de la década de 1970 cultivada por las empresas exportadoras de la Comunidad Valenciana, posteriormente se extendió a otras regiones como Murcia y Navarra.

1. 2. 2. Encuadramiento taxonómico

Taxonómicamente el brócoli se encuadra en las siguientes categorías según Arthur Cronquist en *An Integrated System of Classification of Flowering Plants* (1981):

Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Dilleniidae</i>

Orden	<i>Brassicales</i>
Familia	<i>Brassicaceae</i>
Género	<i>Brassica</i>
Especie	<i>oleracea</i>

Tabla 2: Clasificación taxonómica del brócoli

La denominación botánica del brócoli es *Brassica oleracea* L. var. *Italica* Plenck.

En otros idiomas se conoce al brócoli como:

Inglés: Broccoli

Francés: Chou-brócoli

Árabe: Armobit froji

Portugués: Brocolos

Alemán: Brokkoli

Italiano: Cavolo Broccolo

1. 2. 3. Descripción botánica

En general, la familia de las crucíferas presenta características morfológicas similares.

- Las hojas son de color verde oscuro, rizadas, festoneadas con ligerísimas espículas, de lámina foliar amplia, cerosas, insertas en forma alterna y a distancias cortas, formando entrenudos cortos, lo que permite forma de roseta.
- La raíz es pivotante muy corta, las ramificaciones de esta se encuentran muy próximas a la superficie, extendiéndose alrededor del tallo de 45 a 60 cm.
- Los tallos son herbáceos y cilíndricos, el tallo principal es relativamente grueso (3 - 6 cm diámetro), de 20 a 50 cm de alto, sobre el cual se disponen las hojas en forma helicoidal, con entrenudos cortos.
- El brócoli remata sus tallos principales en una masa globulosa de botones florales de color verde. Lateralmente y en las axilas de las hojas se pueden desarrollar brotes de inflorescencias, de tamaño menor que el de la inflorescencia principal, que aparecen de forma paulatina y escalonada, generalmente tras el corte de la cabeza principal. La intensidad de rebrotado axilar de los diferentes cultivares de brócoli es muy variable en función de su genotipo.
- Las flores son de color amarillo sobre inflorescencias racimosas de polinización alógama.
- La semilla es redondeada, de color parduzco y de un diámetro que oscila entre 1,5 a 2 mm aproximadamente.
- Las inflorescencias están dispuestas en racimos y sin brácteas, con flores hermafroditas.
- El cáliz posee cuatro sépalos libres, en dos series, a veces los internos con base gibosa, en la cual se deposita el néctar segregado por los nectarios situados al pie de los estambres.
- Corola posee cuatro pétalos dispuestos en un mismo nivel formando una cruz. Esta disposición es la que da nombre a la familia.
- El androceo tiene seis estambres, cuatro en una serie y dos en otra.
- El gineceo posee dos carpelos soldados a los bordes en un ovario generalmente monolocular pero que durante su desarrollo pasa a ser bilocular.
- La polinización de las plantas de la familia de las crucíferas es cruzada, realizada principalmente por abejas y diferentes insectos polinizadores.
- El fruto es una silicua (pequeña vaina) de color verde oscuro cenizo, que mide de 3 a 4 cm y que contiene de tres a ocho semillas.

1. 2. 4. Valor nutricional

En concreto, el brócoli es un vegetal bajo en calorías (27 - 32 Cal/100 g), con alto valor nutricional debido a su riqueza en vitaminas, antioxidantes, fitoquímicos (Jeffery y Araya, 2009). Además, presenta alto contenido en minerales como el calcio, magnesio y fósforo (Tabla 3).

Componente	Brócoli	Unidad
Agua	89,30	%
Carbohidratos	6,64	g
Fibra	2,60	g
Proteínas	2,82	g
Lípidos	0,37	g
Calcio	47,00	mg
Fósforo	66,00	mg
Magnesio	21,00	mg
Potasio	316,00	mg
Sodio	33,00	mg
Selenio	2,50	µg
Zinc	0,41	mg
Vitamina C	89,20	mg
Folatos	63,00	µg
Vitamina A	623,00	IU
Vitamina E (α tocoferol)	0,78	mg
Vitamina K (filoquinona)	101,60	µg
Valor energético	34,00	Cal

Tabla 3: Composición química de 100 g de parte comestible de brócoli. Fuente: USDA Nutrient Database, 2009

1. 2. 5. Formas de consumo de Brócoli

El brócoli es una hortaliza en forma de roseta de hojas cuya parte comestible está formada por un grupo de yemas florales. Respecto al consumo, Estados Unidos es el principal consumidor de brócoli y en Europa son los países del Norte, encabezados por el Reino Unido, los que más lo demandan tanto en fresco como congelado. España, el mayor productor de Europa, con un consumo menor, ha experimentado un crecimiento exponencial en los últimos años.

Se consume en fresco en ensaladas, sopas, tortas, entre otras. El consumo al natural implica una cadena de frío simple o un proceso de congelación IQF. Industrialmente el brócoli es utilizado en la elaboración de curtidos. En los últimos años se le ha dado una mayor importancia a su consumo debido a los resultados de investigaciones que afirman su efectividad en la prevención y control del cáncer. Esto puede establecer el desarrollo de subproductos que permita favorecer los estados de salud a través de la ingesta de alimentos funcionales enriquecidos con brócoli en un futuro próximo.

1. 2. 6. Propiedades funcionales

El brócoli (*Brassica oleracea L. var itálica*) es una verdura muy valorada por su riqueza en vitaminas A, C, E y K, minerales, antioxidantes (Yuan et al., 2010), compuestos bioactivos como glucosinolatos y sus productos de degradación, isotiocianatos, ácidos fenólicos, flavonoides y polisacáridos (Domínguez-Perles et al., 2011; Femenia et al., 2000; Schäfer et al., 2017). En este sentido, el brócoli es una buena opción, siendo la principal fuente dietética de glucosinolatos, compuestos de nitrógeno-azufre y derivados fenólicos (glucósidos flavonoides y ácidos hidroxicinámicos) (Neveu et al., 2010).

Los glucosinolatos son derivados de aminoácidos y estos son metabolitos secundarios que contienen azufre de las plantas y son especialmente frecuentes en plantas de la familia *Brassicaceae* (Aires y Delmas., 2015). Su aprovechamiento es a través de sus inflorescencias que poseen un sabor característico debido a la presencia de glucosinolatos, a estos compuestos se les denomina fitoquímicos y se le atribuyen propiedades anticancerígenas (Brown et al., 2002; Farnham et al., 2005). Los glucosinolatos predominantes son la glucorafanina glucosinilada alifática y el glucosilato de indol, como la glucobrassicina y la neoglucobrassicina (Radojčić Redovniković et al., 2012; Latte et al., 2011). Para convertirse en moléculas biológicamente activas, los glucosinolatos deben ser hidrolizados por la enzima mirosinasa. La mirosinasa siempre acompaña a los glucosinolatos presentes en las verduras, y dentro del tejido vegetal intacto se localizan en compartimentos distintos. Cuando la estructura de los tejidos se daña, durante la masticación, corte o procesamiento, se libera mirosinasa y entra en contacto con glucosinolatos, lo que provoca una rápida hidrólisis que forma isotiocianatos, tiocianatos, nitrilos, epitiocianilos u oxazolidin-2-tionas. La naturaleza del producto de hidrólisis depende de la estructura de los glucosinolatos, es decir, la estructura de la cadena lateral y las condiciones de reacción como el pH, en presencia de iones ferrosos y proteínas epitioespecíficas (Bones y Rossiter, 2006). Los productos de degradación más interesantes formados en el brócoli son el sulforafano y el indol-3-carbinol (I3C, el producto de hidrólisis derivado de la glucorafanina y la glucobrassicina, receptivo), reconocidos como compuestos quimiopreventivos y anticancerígenos (Weng et al., 2008).

Los estudios clínicos en humanos se han centrado principalmente en estas actividades antitumorales, con mecanismos que incluyen la regulación positiva de las enzimas de desintoxicación de fase II, así como la acción directa sobre el ciclo celular, que causa la apoptosis de las células cancerosas (Fine, 2000). En 2017, se evaluó la actividad antioxidante y antiproliferativa de extractos de brócoli (Kristina Radošević et al., 2017) confirmó el potencial antitumoral de los extractos obtenidos actividad biológica al probar el efecto antiproliferativo en dos líneas de células tumorales humanas (MCF-7 y HeLa), así como un efecto protector contra el estrés oxidativo inducido.

Hay evidencia sobre las propiedades antiinflamatorias de las verduras crucíferas en humanos por contener quercetina, un flavonoide que actúa reduciendo la inflamación producida por los procesos alérgicos y que parece ser que disminuye el crecimiento de algunos tipos de cáncer y protege a los pulmones de distintos agentes agresivos, como contaminantes del ambiente e incluso el humo de tabaco (Nestor et al. 2011).

Los estudios epidemiológicos y de casos y controles con una dieta rica en vegetales Brassica, han sugerido un riesgo reducido de varios cánceres (Capuano et al, 2017). De hecho, los estudios epidemiológicos han demostrado una asociación inversa entre el consumo de verduras Brassica y el riesgo de cáncer (Day et al., 1994). De los estudios de casos controlados, el 56% demuestra una fuerte asociación entre el aumento del consumo de brócoli y la protección contra el cáncer (Verhoeven et al, 1996).

Las especies de Brassica también contienen fenoles, un grupo de más de 8000 compuestos naturales diferentes que se caracterizan por la presencia de uno o más anillos de benceno hidroxilados. Los fenoles en los alimentos vegetales son importantes debido a su actividad antioxidante y las actividades de eliminación de radicales libres y, en general, los efectos positivos sobre la salud humana. Entre los fenoles, los flavonoides exhiben la mayor actividad antioxidante y comprenden el mayor grupo de compuestos fenólicos (Balasundram et al., 2006). Además, se considera que estos vegetales poseen altos niveles de actividad antioxidante, y se

considera que sus compuestos fenólicos son los principales antioxidantes dietéticos (Roy et al., 2009).

En particular, se ha demostrado que los glucosinolatos y sus productos de degradación, principalmente sulforafano, exhiben efectos beneficiosos también en enfermedades cardiovasculares y neurológicas.

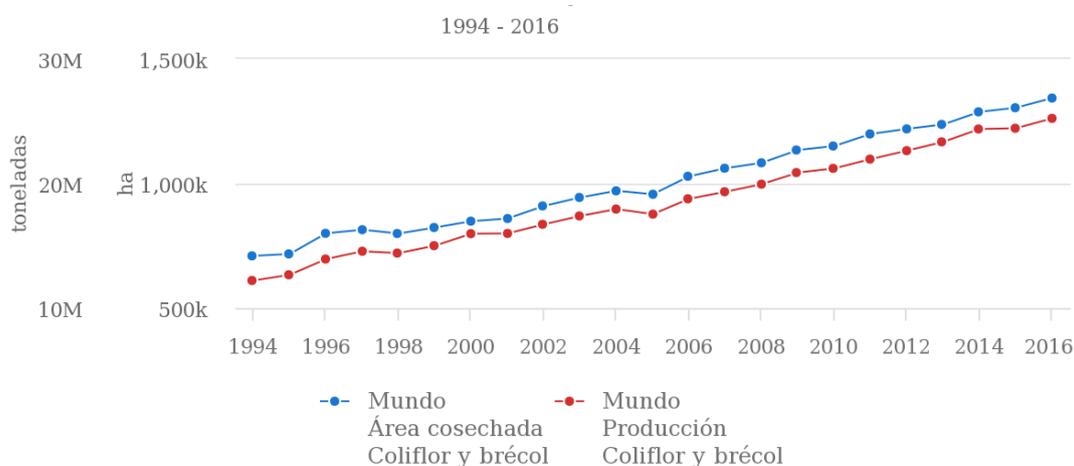
Por lo tanto, el brócoli es una fuente de proteínas, aminoácidos, lípidos, fibra dietética, azúcares, vitaminas que ayudan al buen funcionamiento del sistema inmune e interviene en el mecanismo de coagulación sanguíneo y en el metabolismo óseo y minerales esenciales N, K, Ca, Fe (Ares et al, 2013). Con estas características, el brócoli o sus subproductos se establece como un ingrediente en el desarrollo de alimentos funcionales, ya que implementaron el contenido en glucosinolatos, ácidos hidroxicinámicos y flavonoles, como moléculas bioactivas adicionales en la fermentación de cerveza lo que permitió establecer su utilidad para incrementar la capacidad antioxidante y antitumoral específica de nuevos alimentos funcionales que los incorporen subproductos de brócoli como ingrediente bioactivo.

El brócoli es un alimento remineralizante, previene dolencias cardiacas, es diurético, laxante, antianémico y actúa como depurador de la sangre por su alto contenido en ácido fólico presente en la formación y maduración de los glóbulos rojos y blancos. Entre los vegetales más consumidos, el brócoli parece ser uno de los mejores inductores de las enzimas de desintoxicación de mamíferos asociado con un riesgo reducido de desarrollar diversas condiciones y enfermedades crónicas (Domínguez-Perles et al., 2011).

Todos estos efectos beneficiosos guiaron varias investigaciones para proponer subproductos de brócoli como ingredientes en sopas (Alvarez-Jubete et al., 2014), productos fermentados (Bekhit et al, 2013), harinas (Campas-Baypoli et al., 2009), y té enriquecido (Dominguez-Perles et al., 2011) y pasta (Oliviero y Fogliano, 2016).

1. 2. 7. Importancia económica del brócoli

Los campos de las zonas bajas de la cuenca mediterránea fueron los primeros lugares donde se desarrolló el cultivo del brócoli, que ha ido proliferando a lo largo de los siglos y en los últimos años experimentado un crecimiento exponencial desde 1994-2016 según la FAO. Sus rendimientos están más en función del número de plantas por área que por el tamaño o peso de cada inflorescencia (Bolaños, 2001).



Source: FAOSTAT (may. 10, 2018)

Ilustración 3: Superficie y producción de brócoli en el mundo

Según datos facilitados por la FAO, para el año 2016, los principales productores de brócoli a nivel mundial se fraccionan en varios continentes, siendo Asia el mayor productor con un 75,2%. Asia es el continente con mayor superficie de brócoli cultivado, aproximadamente 520.145 hectáreas, seguido por América y Europa. La producción mundial es de unos 25 millones de toneladas.

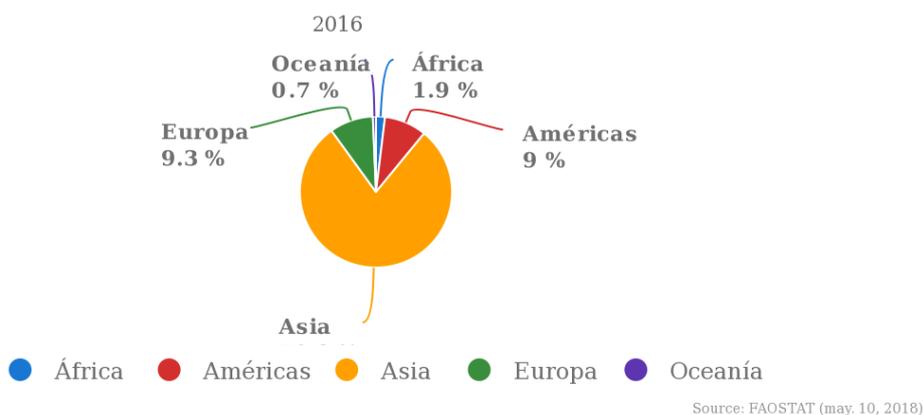


Ilustración 4: Producción según el continente

En orden decreciente de la producción de los 10 principales países, China con 10.180.881 toneladas, India, EE. UU., España e Italia, tal y como se desprende del gráfico que se presenta a continuación. En Europa con una producción 23,41 toneladas y 13,41 mil hectáreas, el principal país productor es España de 605.161 toneladas y 32.977 hectáreas seguido de Italia con unas 24.000 hectáreas de cultivo.

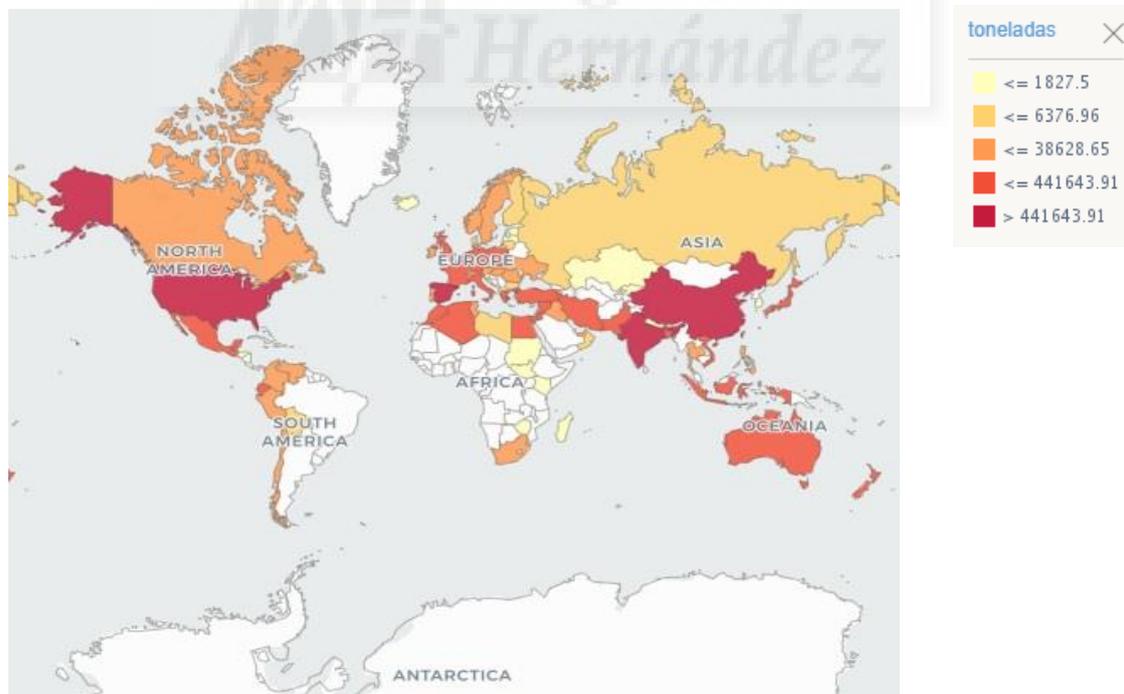
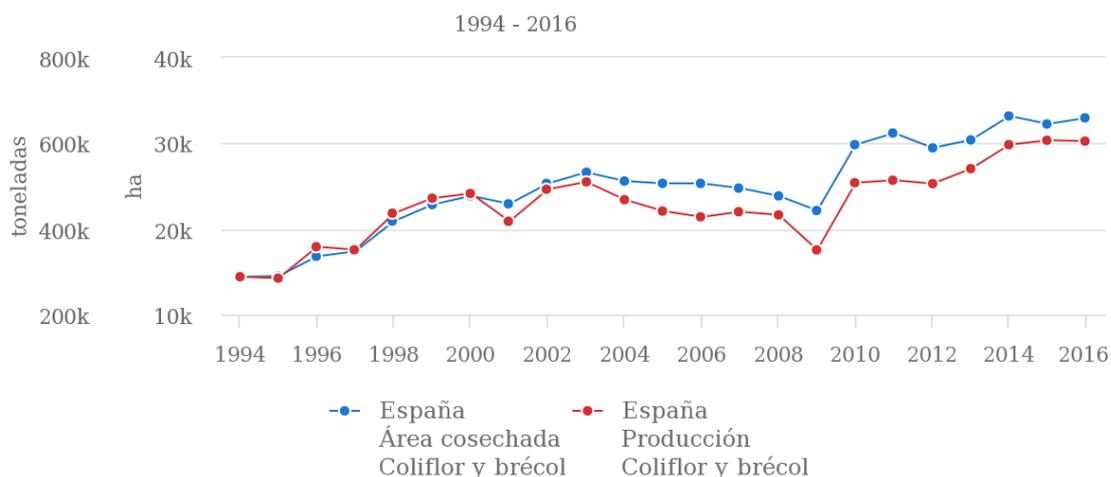


Ilustración 5: Producción por países

En los últimos años el brócoli es el cultivo hortícola que más se ha desarrollado en España, (Tabla 6) pasando de ser un desconocido a ser la hortaliza con una mayor tasa de desarrollo, ocupando según el Anuario de Estadísticas del 2016 una superficie de 25.599 hectáreas. Los consumidores conscientes de la salud tienen una demanda creciente de plántulas de brócoli para prevenir las condiciones de salud (Fahey et al., 2002) más allá de la nutrición básica.



Source: FAOSTAT (may. 10, 2018)

Ilustración 6: Producción/Rendimiento de coliflor y Brócoli en España

Los precios percibidos por los agricultores prácticamente son los mismos desde que se comenzó con el cultivo en los años 90, han provocado que el agricultor, para poder seguir cultivando brócoli, haya tenido que adaptarse a esta situación abaratando los costes de recolección.

Desde un punto de vista económico, los intereses agrícolas en los cultivos de brócoli han aumentado en las regiones del suroeste de España en los últimos años. El brócoli se ha convertido en una alternativa interesante para las producciones de invierno ya que las mismas tierras usadas para los cultivos de verano podrían usarse para el cultivo de brócoli. Por lo tanto, el beneficio de la misma tierra aumenta notoriamente.

Los precios medios del brócoli tienen cierta variación, pero de media se conservan estables desde hace ya bastantes años, la campaña de exportación de brócoli empieza a finales de octubre y se alarga hasta principios de junio. En los meses de verano la producción se desplaza a otras zonas de Europa, principalmente Inglaterra y Holanda. España empieza a producir, otra vez, a finales de octubre. El precio de referencia es 0,52€/kg de media según Soltir en el levante español, siendo un valor bastante estable a lo largo de los años.

2. Objetivos

El objetivo de este trabajo es elaborar un nuevo alimento que sea capaz de combinar las propiedades beneficiosas tanto de la cerveza, con un creciente interés en los últimos años y aceptada a nivel de consumo, como el brócoli, un cultivo poseedor de una gran popularidad en el espectro de la alimentación saludable por sus propiedades beneficiosas. El trabajo consiste en la caracterización de esta cerveza de tipo Brown Ale, con la incorporación de la inflorescencia de la pella del brócoli en la etapa post-fermentación con el fin de desarrollar una bebida característica sensorial deseable y alta capacidad funcional, así aumentar la gama de productos del brócoli. Para ello, se evaluó la calidad sensorial de las cervezas obtenidas y se determinaron las actividades antioxidantes y las concentraciones de compuestos bioactivos de las cervezas analizado.

3. Materiales y métodos

3. 1. Materiales

En la realización de este trabajo se utiliza tres maltas diferentes: Pale Ale, Caramel/Crystal, Chocolate, dos tipos de lúpulo: Chinook y Centennial y brócoli fresco.

En lo que respecta a los diferentes tipos de malta que se utilizaron para la elaboración:

- Pale Ale Malt: Malta base ligeramente coloreada que supone el volumen principal de cereales en la receta y proporcionan la mayor parte de azúcares fermentables. Contiene suficiente carga enzimática para realizar la conversión de azúcares en el macerado.
- Caramel/Crystal Malt: Malta especial utilizada en pequeña cantidad en el macerado. Este tipo de malta, de baja capacidad enzimática y relativamente pocos azúcares fermentables, aporta color a caramelo y mejora la capacidad de retención de espuma en el producto final.
- Chocolate Malt: Malta especial con un alto grado de tostado aporta un intenso color marrón y presenta aromas que recuerdan al chocolate, pero, en el producto final, resaltan los aromas y sabores acafetados y a frutos secos tostados.

Respecto a los dos tipos de lúpulo empleados:

- Chinook: Lúpulo de origen americano con buena tasa de α -ácidos de entorno 11-15 %, un sabor y olor agrio de pomelo y pino. Es conocido por tener un sabor final picante e ideal por su amargor.
- Centennial: Lúpulo de origen estadounidense con aroma herbáceo, cítrico y resinoso, siendo un lúpulo de tono medio y un nivel de α -ácidos 7 – 12%.

Levadura: Se emplea la levadura seca o liofilizada Safale US-05 (11,5gr) muy empleada en Estados Unidos. Produce cervezas bien balanceadas, con bajos niveles de diacetilo y un paladar final limpio, fresco y vivaz. Sedimentación: media. Peso específico final: medio. Temperatura recomendada de fermentación 15 - 24°C

Brócoli: Se incorpora él brócoli al tratarse de un alimento vegetal que alberga una concentración muy alta de compuestos bioactivos en una proporción del 10% respecto al volumen de cerveza.



Ilustración 7: Equipo empleado para la elaboración de cerveza

3. 2. Métodos

1. Limpieza. Durante el proceso de elaboración, se pasa por distintas superficies las cuales suelen estar contaminadas por sales inorgánicas como calcio y magnesio, y por productos orgánicos como restos de levadura, proteínas desnaturalizadas que son fuente de alimento y genera protección a los microorganismos contaminantes. Por ello, antes de empezar hay que asegurarse de que todo el equipo y los materiales a usar estén limpios y desinfectados. La regla principal es limpiar primero e higienizar después. Se elimina toda la suciedad del equipo con esponja y detergente y a continuación se higieniza con StarSan, es decir, ácido aniónico, con el que se enjuaga todas las superficies del equipo con una acción espumante de manera muy eficaz y no deja restos que puedan perjudicar el producto.
2. Molienda de la malta. Consiste en la trituración del grano de cebada malteada por acción mecánica de un molino. Se muele la malta hasta el punto óptimo de romper el grano sin llegar a hacer harina, ya que es necesario que la cascarilla permanezca tan entera como se posible y el endospermo se muele hasta un tamaño de partículas que permita la fácil liberación del extracto. La cascarilla sirve como prefiltro eficaz y permeable en la recuperación del mosto de la masa. Por otra parte, la cascarilla rota libera más sustancias tánicas deseables.
3. Calentamiento del agua. Se deposita 50 litros de agua desionizada en la olla donde se calienta a 80°C. Según la ecuación de la calorimetría al trasegar el agua al macerador y una temperatura de la malta molida de 20°C para obtener una temperatura final aproximada de 70°C, ideal para el macerado. Al tratarse de un agua desionizada se realiza un aporte de sales de calcio y magnesio, procurando que se disuelvan completamente.
4. Maceración. Con la temperatura objetivo se realiza una infusión de la malta en el macerador, añadiendo las diferentes maltas de manera que se mezcle con el agua teniendo aspecto de papilla pastosa, para ello en su adición no hay que dejar de remover. Para el caso de la maceración simple se añade primero 50L de agua, durante unos 60 minutos para completar la sacarificación. Después se lleva a cabo un lavado de los azúcares fermentables con 20 litros de agua a una temperatura no superior a los 77°C para evitar la disolución de taninos del cereal.
5. Filtrado. Se realiza un trasiego del mosto sin el bagazo (cáscara que queda después de haber extraído). Este trasiego es efectuado a través de una malla metálica o filtro además de las cascarillas del bagazo que actúan como filtro natural en un recirculado de un tercio del volumen que pasa a un depósito de pulmón. Obtenemos un mosto mucho más clarificado.
6. Cocción. Se trasiega el mosto filtrado a una olla donde se lleva a cabo la ebullición de éste durante 60 minutos. La adición de los diferentes lúpulos confiere las características: el lúpulo chinook da amargor al inicio de la ebullición, el sabor en los 15 últimos minutos y olor al pagado el lúpulo con el aporte del lúpulo centennial como indica la receta.
7. Whirlpool. Consiste en un proceso muy sencillo en la elaboración de cerveza artesana, y que sin duda permite conseguir un producto final distinto. Esta práctica se basa principalmente en remover el mosto de forma circular para crear un remolino justo después de la cocción. Este remolino provoca que las partículas y los sólidos del mosto se acumulen en el centro de la cuba, creando un cono y favorecer así la obtención de un mosto más limpio.
8. Enfriado del mosto. El mosto debe ser rápidamente enfriado a temperaturas adecuada para la fermentación (20 - 26°C) antes de añadir la levadura y así evitar la posible

- contaminación por gérmenes indeseables. Esto se logra a través de un intercambiador de calor de placas donde el agua actúa como medio refrigerante, pasa por los otros espacios de forma alternada con el mosto sin llegar a tocarse. Las ondulaciones de las placas garantizan un flujo turbulento, lo que se pretende conseguir es que el mosto alcance una temperatura de unos 20°C.
9. Inicio de la fermentación. Se inocula la levadura, en este caso una levadura liofilizada Safale US-05 11,5gr. en los diferentes fermentadores 25L de capacidad y se remueve el mosto para que se oxigene la mezcla y la levadura pueda actuar correctamente. A continuación, se cierra el fermentador y se coloca el Airlock o válvula de fermentación con metabisulfito potásico y ácido cítrico en el interior hasta la mitad más o menos, lo cual permite salir el CO₂ producido en la fermentación. Después se dejan los fermentadores a 12 y 25°C según corresponda para que tenga lugar el inicio del proceso.
 10. Fermentación. Transcurridas 24 horas después de haber añadido la levadura, el mosto comienza a fermentar, esto se observa por una capa de espuma en la parte superior del mosto al tratarse una cerveza de alta fermentación como la Brow Ale. La válvula de fermentación empieza a burbujear siendo los dos primeros días los más intensos, después será más lenta y disminuirá la acción de la válvula. Una vez concluido el proceso de fermentación se comprueba con una medida de la densidad.
 11. Clarificado por frío. Tras la fermentación, se trasladan los fermentadores a la cámara de frío, para favorecer la precipitación de la levadura al fondo debido a la parada de su actividad.
 12. Trasiego de la cerveza. Se trasiega la cerveza de un fermentador a otro con el fin de eliminar el lecho de levadura que se forma durante la fermentación. Para ello no se debe mover el cubo donde está la cerveza, para no desplazar el sedimento. El trasiego se realiza dentro de la campana de extracción para evitar cualquier posible contaminación de nuestra cerveza.
 13. Incorporación del brócoli:
 - I. Cortado. La parte de interés del brócoli en el ensayo es la pella, por lo que se corta seguido de su extracción. Se corta la inflorescencia del brócoli en cubos de unos 4 x 4mm.
 - II. Limpieza del brócoli. El brócoli es lavado en un depósito con agua y cloro (100 ppm), a continuación, se lava a mano solo con agua para eliminar cualquier impureza.
 - III. Maceración junto con cerveza. Una vez secado el brócoli, se vierte en el tanque de fermentación durante 72 horas. Conociendo la densidad final 1010g/L de la cerveza se añade 10% de brócoli por cada litro.
 - IV. Trasiego para eliminación de restos de brócoli. Se realiza un nuevo trasiego de un depósito de fermentación a otro para eliminar de los cubos el brócoli que se deja macerar junto con la cerveza.
 14. Reposo y precipitación de sólidos en suspensión. Se deja el fermentador durante dos semanas una temperatura de 16 - 20°C para la precipitación de los posibles sólidos en suspensión tras el último trasiego.
 15. Embotellado. En este último paso, se debe colocar el cubo de fermentación en un lugar elevado. En este paso se emplea un llenador de goma que se acopla al grifo del cubo y facilita el llenado de botellas. Una vez llena la botella, a pesar de presentar un aspecto claro, la cerveza sigue contando con la presencia de levadura en su interior para llevar a cabo la fermentación de azúcares (sacarosa) extra y que así carbonate por lo que se adiciona unos 8 g/L, tras este paso se coloca una chapa en el cuello y se cierra mediante una chapadora manual.

16. Fermentación en botella. La cerveza se carbonata a la vez que madura, por lo que es necesario dejar reposar durante 1 mes antes de consumirlas, donde se obtiene la espuma y acidez de la burbuja que acompaña a la cerveza.

3. 3. Diagrama de flujo de cerveza con brócoli



Ilustración 8: Diagrama de flujo de cerveza con brócoli. Fuente: <http://cerveceriajagger.com>

3. 4. Determinaciones analíticas

3. 4. 1. Densidad

En la determinación de este parámetro se utiliza un densímetro con una probeta para medir la gravedad específica, o densidad de un líquido. El densímetro consiste en un vástago de vidrio con una escala y un bulbo pesado en un extremo, y se coloca en una muestra de cerveza de 200 ml aproximadamente, donde flota a un nivel determinado dependiendo de la densidad de dicha cerveza (Wolfgrand K. 2006). Dado que el alcohol es menos denso que el azúcar, el densímetro flotará a nivel inferior cuando progrese la fermentación. Tomando una lectura antes de la fermentación (Gravedad de origen) y una después (gravedad final), siempre que la cerveza se atempere previamente a 20°C y se desgasifique por completo.

3. 4. 2. pH

El análisis del pH se basó en la determinación de la concentración de iones hidrógeno con un medidor de pH ajustado a 4,0 y a 7,0 con una solución tampón, según la Asociación oficial de análisis químicos (AOAC). Para llevar a cabo esta determinación, se introdujeron los electrodos, previamente lavados, en la muestra de cerveza, y se midió el pH, haciendo uso de un pH-metro Metrohm 760 Sample Changer. Como en la medida anterior, la cerveza se atempere previamente a 20°C y se desgasificó por completo para medir la acidez de la cerveza con el pH-metro ambas muestras, tanto control como la cerveza con adición de brócoli.

3. 4. 3. Porcentaje de alcohol por volumen

APV es la fuerza alcohólica media como el porcentaje de volumen de alcohol por volumen de cerveza (Hughes, G., 2014). La lectura de la gravedad, además de saber cuándo ha finalizado la fermentación, también permite calcular cuánto azúcar se ha convertido en alcohol y determinar la graduación alcohólica. Como se ha comentado anteriormente, se miden dos densidades, una en la etapa inicial y la segunda en la etapa final de la fermentación. Se multiplica la diferencia entre estas dos lecturas por 105, obteniendo el porcentaje de alcohol por peso y para pasar de dicha unidad a APV se multiplica por 1,25. Se utiliza a razón la siguiente fórmula:

$$APV(\%) = \frac{(Densidad\ inicial - Densidad\ final)}{1000} \cdot 105 \cdot 1,25$$

3. 4. 4. Determinación de color °EBC

Para determinar el color se realizó según el protocolo de la AOAC, utilizando el método Espectrofotométrico. El método se basa en medir la absorbancia a las longitudes de onda de 430 nm y 700 nm a 20°C en la cerveza previamente desgasificada. Cuando el cociente obtenido de absorbancia a 430 y 700 nm es mayor o igual a 25, la muestra está libre de turbidez visible y se puede realizar el cálculo para la determinación de color.

Las unidades de °EBC (European Brewing Convention) de color corresponden:

$$^{\circ}EBC = 25 \times Abs_{430nm}$$

3. 4. 5. Determinación de amargor

La determinación se basa en el método químico. Se transfiere 0,5 de cerveza fría (10°C) a un eppendorf, donde las sustancias más amargas son extraídas con 1mL de iso-octano en un medio acidificado con 25 µL de HCL 6N mediante centrifugación a una velocidad de 3.000 rpm durante 5 minutos. Posteriormente, se mide la absorbancia de la fase orgánica, la capa de iso-octano a 275 nm. Finalmente se obtiene las unidades de amargor °IBU.

Las unidades de amargor corresponden:

$$IBU = 50 \times Abs_{275nm}$$

3. 4. 6. Determinación de la acidez

La acidez titulable se determina por valoración potenciométrica mediante un pH-metro Metrohm 760 Sample Changer, de sensibilidad ± 0,01 complementado con una impresora modelo DP40-24N. Se valora con hidróxido sódico a 0,1 N hasta alcanzar un pH de 8,1 (AOAC, 2000). El análisis se realiza en un 1 mL de cerveza desgasificada y se disuelve en 25 mL de agua destilada. Los resultados se expresan en gramos del ácido mayoritario / 100 gramos de muestra. Las medidas se analizan por duplicado en cada muestra.

$$Acidez (\% \text{ ácido láctico}) = \frac{Vol.\ de\ NaOH \times Norm.\ de\ NaOH \times meq.\ \acute{A}cido\ láctico \times 100}{Volumen\ de\ muestra}$$

Siendo:

- Normalidad del hidróxido sódico.
- Volumen de hidróxido de sodio 0,1 N utilizado en la valoración.
- Factor del hidróxido de sodio.
- Meq. Ácido láctico= 0.09.
- Peso de la muestra tomada en gramos.
- Volumen de la muestra en mL.

3. 4. 7. Determinación de fenoles totales por el reactivo Folin-Ciocalteu

La determinación de los compuestos fenólicos se realiza por el método analítico del reactivo Folin-Ciocalteu (Ilustración 9). En la extracción, de acuerdo con el protocolo de Tomás-Barberán et al. (2001), se usa metanol/agua (8:2) que contiene fluoruro sódico (NaF) 2 mM (para inactivar la actividad polifenoloxidasas y evitar la degradación fenólica), la cuantificación se realiza por duplicado, expresando los resultados en miligramos de ácido gálico equivalente por 100 g de peso fresco.

El método consiste en añadir a cada tubo de ensayo 200 μ L de cerveza y tampón Fosfato 50 Mm, pH 7,5 hasta completar un volumen de 500 μ L. A continuación, se añaden 2,5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu 1/10 (100 mL de Folin-fenol + 900 mL de H₂O ultrapura) y se agita. Al cabo de 5 minutos de reposo, la reacción se detiene con la adición de 2 mL de carbonato sódico (Na₂CO₃) y se vuelve a agitar para homogeneizar.

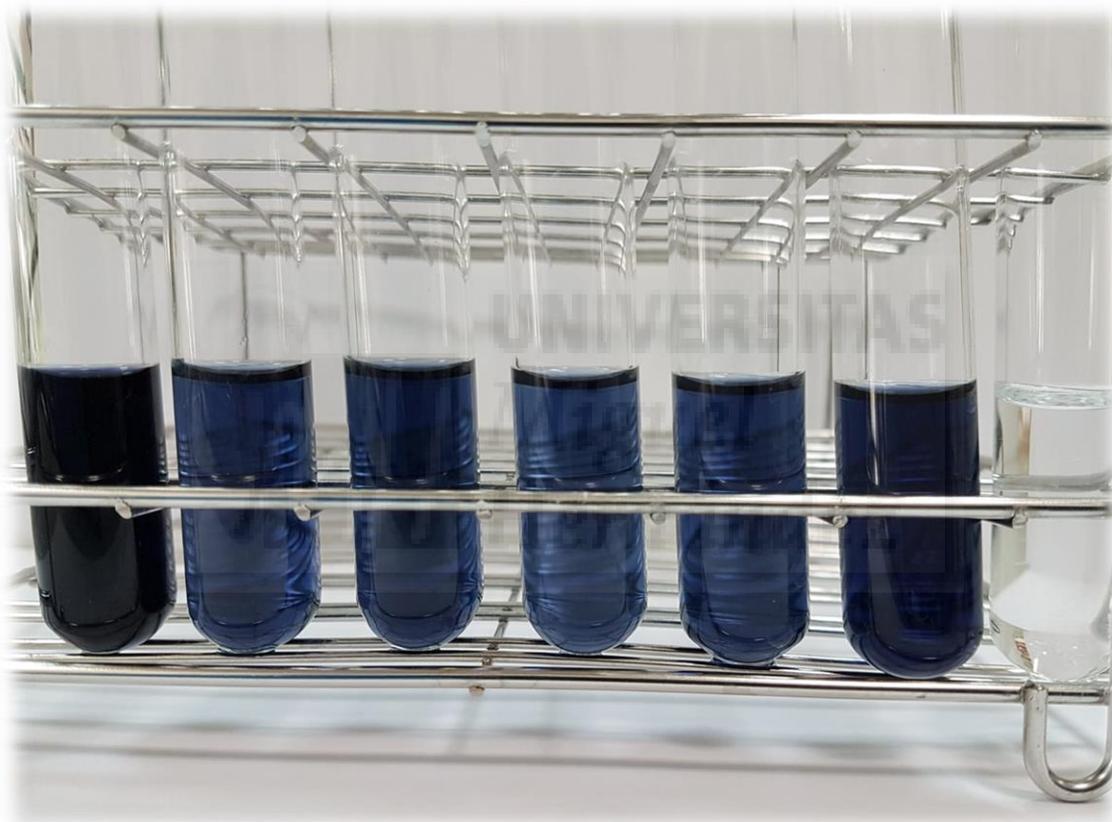


Ilustración 9: Medida de los fenoles totales de las muestras de cerveza

Seguidamente, se introducen los tubos de ensayo durante 5 minutos en un baño de agua a 55°C. Finalmente, se vierte cada una de las muestras en cubetas y se hacen las lecturas en el espectrofotómetro modelo Uvikon XS, Bio-Tek Instruments donde la absorbancia producida por la coloración azul se media a 760 nm. Las muestras se cuantifican utilizando ácido gálico como estándar y los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de ácido gálico por cada 100 ml.

3.4. 8. Determinación de la capacidad antioxidante

Para la determinación de la capacidad oxidativa se colocan tubos de centrifuga en hielo para minimizar las reacciones químicas y enzimáticas, especialmente la degradativas. Se añaden 10ml

de tampón fosfato para la extracción de la fase hidrofílica en los tubos de centrifuga con 2,5 mL de muestra y se homogeniza. A continuación, se adicionan 5ml acetato de etilo para la extracción de la fase lipofílica y se vuelve a homogenizar, utilizando un politrón IKAT 18 basic ultra-Turrax. Posteriormente, se centrifuga con las condiciones a 10.000 rpm durante 10 minutos a 4°C.

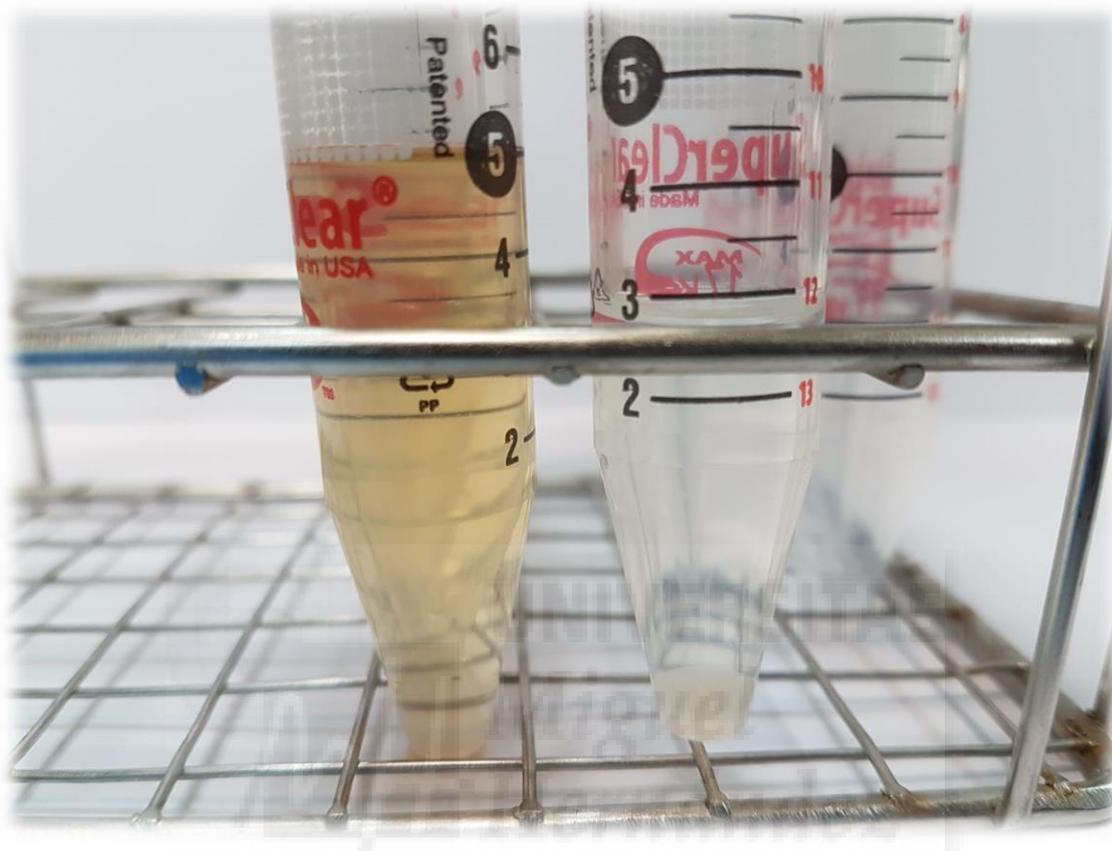


Ilustración 10: Diferenciación de las fases hidrofílicas y lipofílicas

Transcurrido el tiempo de centrifugado, se observa una fase líquida en la parte inferior y una fase grasa en la parte superior, se separan en tubos falcón (Ilustración 6). Se separan ambas fases para su posterior determinación.

Para la determinación de la actividad antioxidante de ambas fases se añadieron 25 μ l de ABTS, 25 μ l de H_2O_2 y 25 μ l de peroxidasa en una cubeta de plástico de 1,5 mL de capacidad y se agita para producir la reacción entre ellos. A continuación, se añaden 880 μ l de tampón glicina, en el caso de la fase hidrofílica, o de etanol absoluto para el caso de la fase lipofílica. Se homogeniza y se realiza la medida a tiempo 0. Una vez tomada la medida inicial, se añaden 25 μ l de muestra de fase hidrofílica o 50 μ l de fase lipofílica y se anota la disminución de la absorbancia medidas en el espectrofotómetro, modelo Uvikon XS, Bio-Tek Instruments, donde la absorbancia producida por la coloración verde se mide a 730 nm.

3.4. 9. Análisis sensorial

Para realizar este estudio participaron 10 panelistas entrenados (hombres y mujeres, con edades comprendidas entre 23 y 60 años) miembros de los grupos de investigación de Calidad y Seguridad Alimentaria y Post-recolección de la Universidad Miguel Hernández de Elche (Alicante, España). Las muestras se sirvieron en jarras de cristal a una temperatura de 12 °C ya que las cervezas de fermentación alta deben servirse a una temperatura entre 12 y 16 °C, de

esta manera se puede apreciar su aroma y su bouquet. Se procedió a realizar un análisis descriptivo sensorial.

Los panelistas, sentados en una mesa redonda, evaluaron individualmente cada una de las muestras y seleccionaron los atributos de aroma y flavor presentes, sus intensidades, orden de aparición y post-gusto. Estos resultados se ponen en común y se discuten hasta llegar a un “consenso” sobre cada muestra. Entre cada una de las muestras se pone a la disposición de los panelistas agua y galletas sin sal, para limpiar el paladar. La sala de pruebas disponía de una combinación de luz natural y luz no natural (fluorescente), y se fijó una temperatura de 24°C.

Para la evaluación de las muestras se realiza una única sesión de una hora aproximadamente. El panel utilizó una escala numérica para cuantificar la intensidad de los atributos estudiados, donde 0 representa una intensidad extremadamente baja, y 10 representa extremadamente alta, con incrementos de 1 unidad. Los atributos analizados se clasifican según las diferentes fases sensoriales:

3.4. 9. 1. Fase visual:

Se recomienda utilizar un fondo blanco, ya sea un papel o un mantel de dicho color. El panelista sujeta el vaso de cara a la luz y se fija si el color es claro, o más bien turbio. El color puede oscilar desde blanco al negro, pasando por rojizo y tostado/caramelo. Se toma como referencia una tabla de colores.

3.4. 9. 2. Fase olfativa:

Se valora el tipo de aroma, así como su intensidad, en función del tipo de levadura, y de la fermentación y/o evolución de la cerveza (tiempo en cada fase de la elaboración, a mayor tiempo, mayor complejidad e integración del aroma).

Aroma a cereal (malta o trigo) y a lúpulo: El panelista se ha de fijar en el tipo de aroma marcado por el tipo y cantidad de ingrediente empleado. El lúpulo es un mundo aparte ya que, debido a la gran variedad de lúpulos existentes, la cerveza puede tomar diversos aromas como herbáceos, florales, terrosos o resinosos. Además, en función de la cantidad, puede otorgar notas más o menos amargas. Normalmente, las cervezas doradas olerán más a lúpulo, mientras que las oscuras tienden a tener un olor más pronunciado a malta tostada, chocolate o café, según el grado de tostado.

Aromas a frutales y/o especias: Aquellos que, como consecuencia de la fermentación, estabilizados durante el proceso de maduración, otorgan notas picantes o afrutadas comunes en cervezas Ale, o con segunda fermentación en botella, que suelen ser difíciles de precisar.

3.4. 9. 3. Fase gustativa:

Primero, se da un primer sorbo para impregnar la boca de cerveza y estimular las papilas gustativas. En el segundo sorbo cuando se identifica las notas gustativas. La clasificación de las notas es muy similar a la de la fase olfativa.

Gusto a cereales: Sea trigo o malta, se reconoce en un primer momento notas a pan o galleta tostados. Las cervezas Ale, con malta tostada, se perciben notas a chocolate o caramelo dependiendo de la cantidad y del grado de tostado.

Gusto a lúpulo: Si se encuentra en grandes cantidades, la sensación es de amargor e invade toda la boca, tapando otros sabores. En cambio, si hay poco es menos amarga y se pueden predecir los azúcares residuales de la cerveza. Las de trigo suelen ser más dulces.

Gusto a frutas y/o especias: Se aprecia si se añade a la receta o como resultado del proceso de fermentación. Se obtienen notas como cilantro, canela, clavo, y diversas frutas (en ocasiones ácidas a la par que refrescante). Al igual que con el aroma, se debe decir si estas notas están balanceadas con otros sabores de la cerveza.



Ilustración 11: Cerveza con brócoli (izquierda) cerveza control (derecha)

4. Resultados y discusión

4. 1. Densidad y grado alcohólico

La densidad de la cerveza, haciendo referencia a la masa de todos sus componentes sobre un volumen, se calcula con un densímetro, siendo la densidad inicial 1056 g/L que se vio atenuada por la acción de la levadura, teniendo en cuenta que la atenuación es distinta según el tipo de levadura empleada y la cantidad de azúcares que puedan ser o no metabolizados por ésta. En la fermentación primaria la levadura consume la mayoría de los azúcares contenidos en el mosto provocando una densidad final de 1010 g/L. Estos descensos de densidad se consideran dentro de los valores normales en la elaboración de este tipo de cerveza, si bien se ha observado que la temperatura a la cual se realiza la fermentación es un factor a tener en cuenta (Hoche et al., 2014).

En cuanto al grado alcohólico se forma durante la etapa de fermentación del mosto, mediante el cual la levadura, en un proceso anaeróbico, convierte la glucosa en etanol y dióxido de carbono.



Los principales productos de fermentación son etanol y CO₂, como se ha comentado anteriormente también se forman numerosos subproductos del crecimiento de levaduras, que contribuyen al aroma de la cerveza.

El porcentaje de azúcares fermentables (maltosa, maltotriosa, sacarosa, glucosa y fructosa) en el extracto total determina el límite de atenuación, que establece el alcohol que contendrá la cerveza. La densidad final se reducirá considerablemente respecto a la densidad original, por lo que se calcula, de forma aproximada el grado alcohólico de la cerveza en el momento que se conozca la densidad original del mosto. Los resultados obtenidos fueron:

Densidad inicial	Densidad final
1060	1010

En función de los resultados obtenidos en la densidad, mediante el siguiente cálculo se determina la graduación alcohólica:

$$APV(\%) = \frac{(1060 - 1010)}{1000} \cdot 105 \cdot 1,25 = 6,56\%$$

Tabla 4: Grado alcohólico final cervezas con diferente densidad original y el efecto sobre la apreciación de su sabor

DO	Alcohol %(v/v)	Sabor
1036-1040	3.5 - 4.5	Muy suave
1044-1048	4.6 - 5.1	Suave
1049-1059	5.2 - 6	Equilibrado
1060-1080	6.7 - 8	Fuerte
>80	>8	Muy fuerte

Se ha considerado para todos los casos una cerveza con una densidad final de 1010.

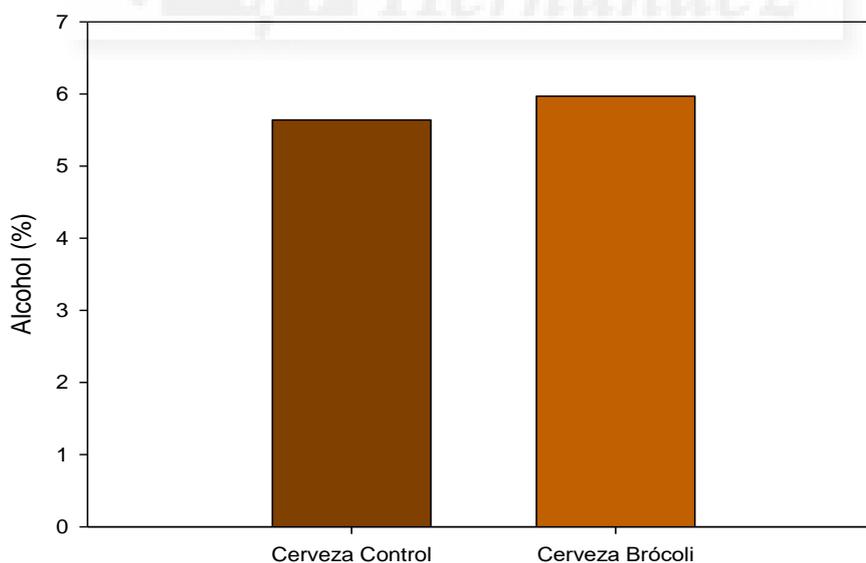


Ilustración 12: Valores representados en porcentaje de alcohol. Fuente: Tinto García-Moreno, 2004

En el ensayo, la adición del brócoli en la fase posterior incrementó la densidad del mosto, por lo que el grado alcohólico de la cerveza experimental fue mayor que el control, pero ambas quedan en la misma escala en cuanto a la clasificación de las cervezas por su contenido en alcohol

basándonos en la clasificación de García-Moreno en función del grado alcohólico, se califican ambas como unas cervezas con un sabor equilibrado.

4. 2. pH

El pH es un factor de importancia para las reacciones bioquímicas que se desarrollan durante el proceso; en todos los pasos de la fabricación hay disminución del pH y los amortiguadores minerales del agua que contrarrestan en parte este cambio. Depende de diversos factores como el tipo de malta y agua, en este caso agua desionizada, es decir, agua ligeramente acida y su tratamiento con ácidos y/o sales como es el aporte de sales de calcio y magnesio.

Según Real Decreto 678/2016, de 16 de diciembre, por el que se aprueba la norma de calidad de la cerveza y de las bebidas de malta, establece en el Artículo 6 en Características de los productos terminados que el pH debe ser igual o inferior a 5,5, es decir, la cerveza control como la que posee brócoli están dentro de lo que exige la ley.

Se obtuvo un pH de 3,75 en la cerveza control y un pH de 4,31 en la cerveza con brócoli por lo que está dentro del rango aceptado de pH ya que las cervezas varían de 3,5 a 5.

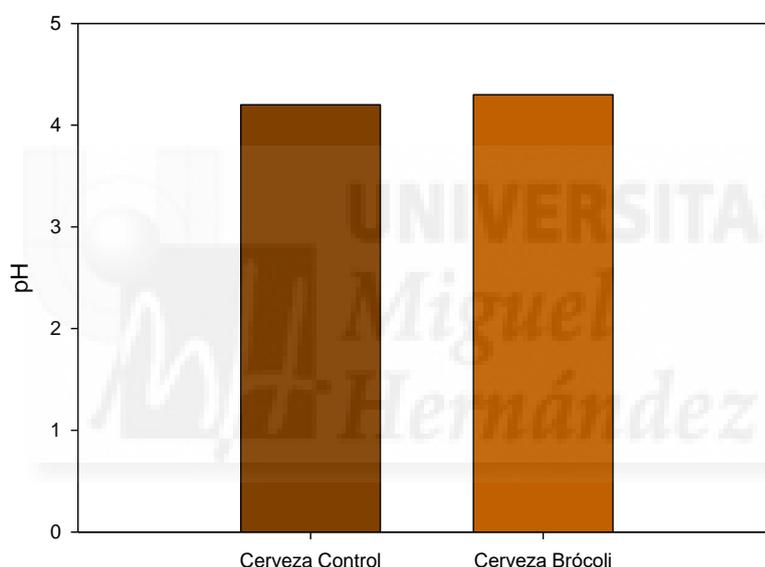


Ilustración 13: Valores representados de pH

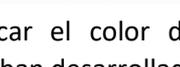
Un pH elevado es desfavorable para reacciones importantes como la sacarificación, ya que provoca un trabajo deficiente de las enzimas generándose menos azúcares, la coagulación de proteínas durante la ebullición es menos intensa, el amargor es más astringente por mayor extracción de taninos (polifenoles) desde la cáscara del grano en el proceso de maceración y filtración. Además, un elevado pH conlleva un mayor riesgo desde el punto de vista microbiológico (Rodríguez, 2003).

4. 3. Color °EBC

De entre todos los atributos de la cerveza, el color es uno de los más interesantes, pues es el principal atributo del aspecto de la cerveza, da idea del estilo de ésta y la diferencia de otras bebidas. El color de la cerveza se debe principalmente a las maltas utilizadas. Además, el lúpulo contiene taninos y compuestos fenólicos los cuales ayudan en el proceso de clarificación (Rodríguez, 2003).

Sin embargo, el auge de las cervezas artesanas, cervezas caseras y con ello de la cultura cervecera, ayuda a conocer y a ver un amplio, rico e infinito arco iris de color que va desde el amarillo pálido de la cerveza de trigo hasta el profundo negro de una Imperial Stout, pasando por el amarillo luminoso de una cerveza lager o el cobrizo profundo de una Pale Ale. Como se ve en la siguiente escala de EBC se aprecian las diferencias:

Tabla 5: El Color de la Cerveza. Fuente: Javier Fernandez, 2015.

Color de la cerveza	EBC	Ejemplos
	4	Pale lager, Witbier, Pilsener, Berliner Weisse
	6	Maibock, Blonde Ale
	8	Weissbier
	12	American Pale Ale, IPA
	16	Weissbier, Saison
	20	English Bitter, ESB
	26	Biere de Garde, Double IPA
	33	Dark lager, Vienna lager, Marzen, Amber Ale
	39	Brown Ale, Bock, Dunkel, Dunkelweizen
	47	Irish Dry Stout, Doppelbock, Porter
	57	Stout
	69	Foreign Stout, Baltic Porter
	79	Imperial Stout

Con el fin de cuantificar el color de la cerveza según la AOAC se utiliza el método Espectrofotométrico, se han desarrollado la escala European Brewing Convention (EBC), con un valor de 19°EBC en la cerveza control y 17°EBC para la cerveza con brócoli.

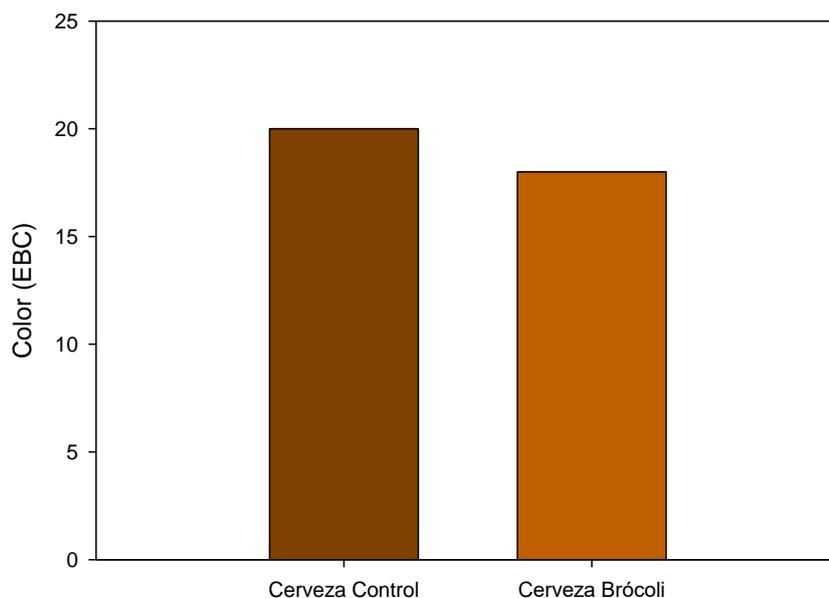


Ilustración 14: Representación de los valores de color en la escala EBC

4. 4. Amargor

El lúpulo imparte el sabor típico a la cerveza debido a su contenido de aceites esenciales y resinas amargas. En la determinación del amargor, mide la cantidad de ácidos alfa extraídos del lúpulo y convertidos en sustancias amargas solubles durante la ebullición del mosto (Rodríguez., 2003). En este caso, la cerveza control posee un mayor amargor con 19°IBUs, mientras que la cerveza con brócoli es menor con 17°IBUs.

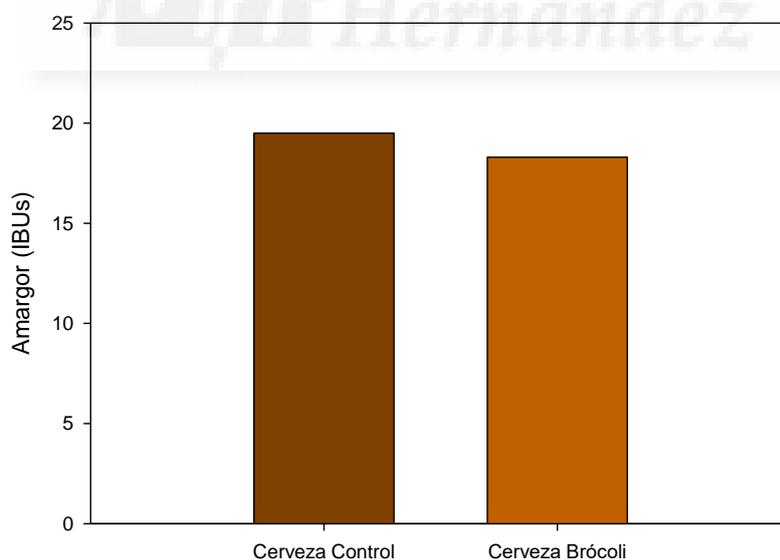


Ilustración 15: Valores representados en unidades de amargor

Del total de α -ácidos que contiene el lúpulo, aproximadamente un 25-30 % llega hasta el producto final la otra parte se queda adherida a los restos de proteínas coaguladas tras la cocción. Así mismo la adición de brócoli produce polímeros en los cuales hayan sido ligados los iso- α -ácidos, reduciendo de este modo el amargor de la cerveza.

4. 5. Acidez

Según el Real Decreto 678/2016, de 16 de diciembre, por el que se aprueba la reglamentación Técnico-sanitaria para la elaboración, circulación y comercio de la cerveza se establece que la acidez total, previa eliminación del anhídrido carbónico, expresada en ácido láctico, no será superior al 0,3 %. El anhídrido carbónico contenido no debe ser inferior a tres gramos por litro. La cerveza constituye, por tanto, un medio poco adecuado para el desarrollo de las bacterias; el número de géneros y especies que la contaminan ordinariamente es limitado.

Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente figura:

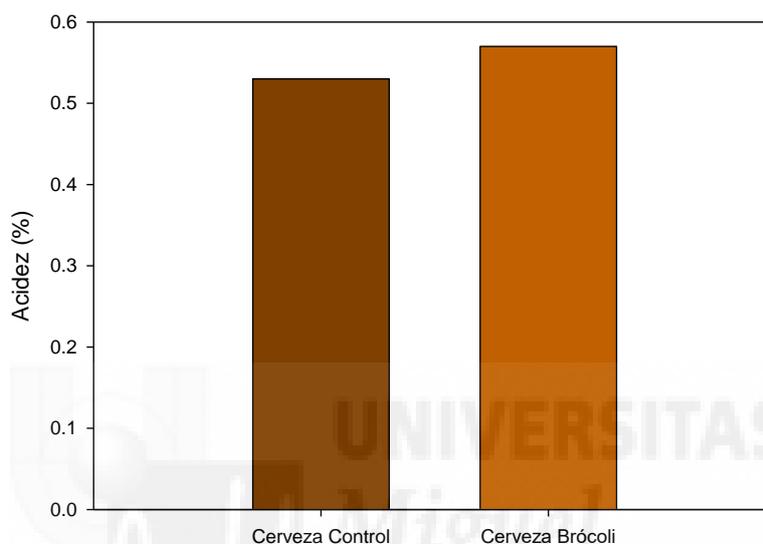


Ilustración 16: Valores para las coordenadas de la acidez, expresada en % de ácido láctico

Se observa una ligera acidez en la cerveza macerada con brócoli, esto podría ser debido a una mayor concentración de ácidos orgánicos aportados por el vegetal. Sin embargo, en otros ensayos en los que se evaluaba el contenido de sulforafano en fermentados de brócoli (Campas-Baypoli et al, 2011), se incrementaba la acidez debido al aumento de ácidos orgánicos producidos por la levadura durante el proceso de la fermentación, y este fenómeno también puede ser el responsable del incremento observado en las cervezas objeto de estudio.

4. 6. Contenido en polifenoles totales

Los compuestos fenólicos juegan un importante papel en las características sensoriales de la cerveza, así contribuyen a su sabor, astringencia, color y aroma, además de ser responsables, al menos parcialmente, de la turbidez de éstas.

Para un proceso de extracción eficiente, es importante que la pared celular sea permeable y se rompa extensamente. El tejido intacto protege los componentes y reduce la tasa de degradación (Zhao et al., 2014). Los compuestos fenólicos son moléculas altamente reactivas, y los procesos culinarios como cortar y picar afectan a su contenido. Con el tamaño de partícula reducido y el área de superficie aumentada, la difusión puede jugar un papel importante para que el rendimiento de extracción se pueda aumentar en un momento dado (Zhao et al., 2007).

En cuanto al contenido de polifenoles totales, este se expresa en miligramos de equivalentes de ácido gálico por cada 100 ml con el fin de poder conocer la cantidad de estos compuestos bioactivos por la adición de brócoli. La cerveza con mayor contenido en fenoles totales es la

cerveza control, mientras que la cerveza con brócoli mostró una menor concentración de estos compuestos bioactivos.

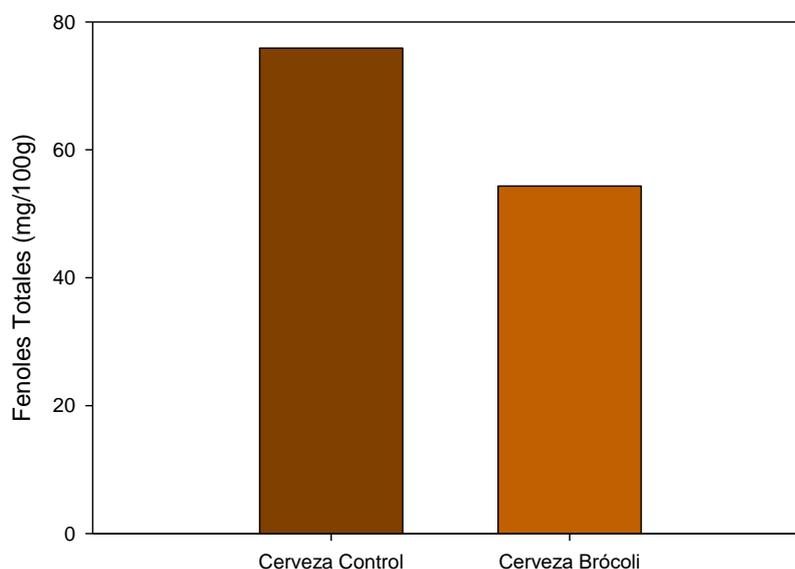


Ilustración 17: Concentración de fenoles en los dos tipos de cerveza

Esta reducción en el contenido de compuestos fenólicos por la adicción de brócoli podría ser debida a que la concentración de éstos no depende exclusivamente de las materias primas empleadas en la elaboración, sino que las prácticas de elaboración también inducen importantes cambios. Así, los contenidos de compuestos fenólicos descritos en la bibliografía varían notablemente de unos artículos a otros, oscilando entre 50 y 350 mg/L. En general, se ha encontrado que las proantocianidinas de diverso grado de polimerización suelen ser los compuestos fenólicos predominantes.

El brócoli se consume generalmente después del tratamiento térmico, como el vapor o la ebullición, que comúnmente causa la degradación térmica y / o la lixiviación de glucosinolatos y fenólicos. La cantidad de glucosinolatos y fenólicos que se pierde depende del método de cocción (Palermo et al., 2014). Los métodos de cocción también afectan la actividad de la mirosinasa, que puede inhibir parcial o completamente la formación de los productos de degradación de glucosinolatos beneficiosos. En este sentido, podría ser que estos compuestos bioactivos característicos de las brásicas, hayan sufrido modificaciones durante el proceso de fermentación, y en unos primeros estudios realizados en el grupo, se ha encontrado que las formas en las que han quedado los fitoquímicos tras el proceso de fermentación son más asimilables para las personas, ya que en su mayoría son isotiocianatos (datos preliminares no mostrados), lo que nos indicaría un importante efecto de la levadura utilizada en la biodisponibilidad de dichos compuestos bioactivos.

4. 7. Actividad antioxidante

Durante años en el ámbito de los alimentos se ha definido a los agentes “antioxidantes” como aquellas sustancias que en bajas cantidades actúan previniendo o retardando la oxidación de materiales fácilmente oxidables tales como las grasas. Las sustancias con actividad antioxidante presentes en la cerveza provienen esencialmente de las materias primas empleadas en su elaboración, estando ya presentes en aquellas u obteniéndose por modificación y

transformación de sus constituyentes. Entre estas sustancias destacan los polifenoles, que provienen esencialmente de la cáscara de la cebada malteada y del lúpulo. (González-San José et al, 2001).

Se ha medido la actividad antioxidante de la fase hidrofílica y lipofílica en los distintos tipos de cerveza. Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

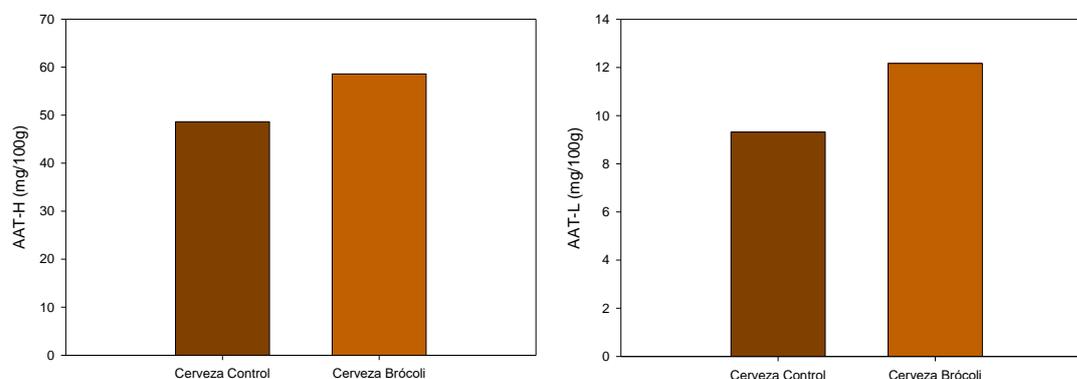


Ilustración 18: Resultados de Actividad Antioxidante Total Hidro y Lipofílica.

La muestra de cerveza producida presenta una gran actividad antioxidante en la fase liposoluble, la cerveza con brócoli presenta una mayor capacidad antioxidante debido a una concentración de ABTS, reducida por los antioxidantes de ésta.

La cerveza es una mezcla compleja de sustancias bioactivas, cuyas moléculas están sometidos a muchas reacciones durante almacenamiento en botella (Siquiera et al., 2011). Así la cerveza con brócoli, la mirosinasa puede interactuar con los glucosinolatos, hidrolizarlos (Verkerk et al., 2009) e integrándolos a la cerveza, por lo tanto, posee una mayor actividad antioxidante.

4. 8. Análisis sensorial

El análisis sensorial es el examen de los atributos de la cerveza mediante los sentidos (vista, olfato, gusto y tacto), obteniendo datos cuantificables y objetivos. Es una herramienta útil para medir atributos en cerveza artesanal. En nuestro caso, se tomó la valoración de color mediante una paleta de colores en una escala de 1 a 40, donde 40 es una tonalidad más oscura. La cerveza control tuvo una valoración de 19 y la de brócoli de 18. En este análisis sensorial se tomó como referencia la cerveza control, y todos sus atributos se evaluaron con una puntuación de 1 a 10.

	CERVEZA CONTROL	CERVEZA BRÓCOLI
PERSISTENCIA ESPUMA	9	9
MALTA-GALLETA	7	2
GRANO DE CEREAL	7	2
TOSTADO	4	1
CARAMELO	5	1
FRUTOS SECOS(NUEZ-PIÑON)	3	1
ALMENDRA AMARGA	3	1
LÚPULO	5	2

FLORAL	5	7
AFRUTADO	2	5
HIERBAL-VEGETAL	2	10
VEGETAL-COCINADO (DMS)	2	10
LEVADURA	4	1
TIERRA-CUERO	2	9
ALCOHÓLICO	4	6
DULCE	7	5
ÁCIDO	6	5
AMARGO	7	3
ASTRINGENTE	4	3
CALOR EN BOCA	2	2
PICANTE-CARBONATADA	3	2
CUERPO	6	4
POSGUSTO	6	4

Tabla 6: Resultados del análisis sensorial

Con respecto a los componentes expuestos, los panelistas evaluaron en la cerveza sin brócoli la presencia del lúpulo y la malta, en cambio la cerveza, en la cual se añadió brócoli, posee una presencia importante del mismo. En la cerveza con brócoli se identificó un notorio sabor a brócoli lo que se pudo percibir en aspectos sensoriales como herbal-vegetal, vegetal cocinado y tierra-cuero.

5. Conclusión

La caracterización físico-química de cerveza con brócoli y la cerveza control ha mostrado ligeras diferencias en parámetros como color, amargor y acidez, sin embargo, estos cambios no han llevado consigo una clasificación diferente en cuanto al tipo de cerveza obtenida.

Sin embargo, el contenido en fenoles de la cerveza elaborada con brócoli ha disminuido con respecto a la cerveza control, aunque esto no se ha correlacionado con la actividad antioxidante, ya que la aplicación de brócoli incrementa tanto en la fase hidrosoluble como liposoluble, lo que indica que otros muchos compuestos son responsables de esta cualidad y que se encuentran presentes por el uso del brócoli.

Por último, el análisis sensorial muestra claras diferencias en el sabor de las cervezas fermentadas con brócoli, ya que la presencia del brócoli modifica los atributos sensoriales percibidos por el panel de catadores.

6. Bibliografía

- Aires, V., Delmas, D. (2015). *Common pathways in health benefit properties of RSV in cardiovascular diseases, cancers and degenerative pathologies*. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 16: 219-244.
- Alvarez-Jubete, L., Valverde, J., Kehoe, K., Reilly, K., Rai, D. K., & Barry-Ryan, C. (2014). Development of a novel functional soup rich in bioactive sulforaphane using broccoli (*Brassica oleracea* L. ssp. *italica*) florets and byproducts. *Food and Bioprocess Technology*, 7: 1310–1321.
- AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis Chemist*. EUA.
- Ares, A. M., Nozal, M. J., Bernal, J. (2013). Extraction, chemical characterization and biological activity determination of broccoli health promoting compounds. *Journal of Chromatography*, 1313, 78–95.
- Arnao, M.B., Cano, A., Acosta, M. (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chem*, 73, 239-244.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agroindustrial by-product: antioxidant activity, occurrence and potential uses. *Food Chem*, 99: 191 – 203.
- Barnes, S. (1995). Effect of genistein on in vitro and in vivo models of cancer. . *The Journal of Nutritio*, 125: 777S-783S.
- Bekhit, A. E. D., Lingming, K., Mason, S. L., Zhou, J. H., & Sedcole, J. R. (2013). Upgrading the utilization of brassica wastes: physicochemical properties and sensory evaluation of fermented brassica stalks. *International Food Research Journal*, 20: 1961–1969.
- Bolaños, H. (2001). *Introducción a la Olericultura*. San José (Costa Rica): La EUNED.
- Bones, A. M., & Rossiter, J. T. (2006). The enzymatic and chemically induced decomposition of glucosinolates. *Phytochemistry*, 67: 1053–1067.
- Brien, S. E., Ronksley, P. E., Turner, B. J., Mukamal, K. J. & Ghali, W. A. (2011). Effect of alcohol consumption on biological markers associated with risk of coronary heart disease: Systematic review and meta-analysis of interventional studies. *British Medical Journal*.
- Brown, A. F., Yousef G. G., Jeffry, E. H. (2002). *Glucosinolate profilei in broccoli: Variation in levels and implications in breeding for cancer chermoprotection*. American Society for Horticultural Science.: 127(5): 807-813.
- Callemien, D., Collin, S. (2010). Structure, Organoleptic Properties, Quantification Methods, and Stability of Phenolic Compounds in Beer-A Review. *Food Reviews Internation*, 26:1-84.
- Campas-Baypoli, O. N., López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D. I., Bueno-Solano, C. (2011). Contenido de sulforafano (1-isotiocianato-4-(metilsulfinil)-butano). *Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, y Programa de Doctorado en Ciencias en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Sonora*.
- Campas-Baypoli, O. N., Sánchez-Machado, D. I., Bueno-Solano, C., Núñez-Gastélum, J. A., Reyes-Moreno, C., López-Cervantes, J. (2009). Biochemical composition and

- physicochemical properties of broccoli flours. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60: 163–173.
- Cao, G., Russell, R.M., Lischner, N., Prior, R.L. (1998). Serum antioxidant capacity is increased by consumption of strawberries, spinach, red wine or vitamin C in elderly women. *The Journal of Nutrition*, 128: 2383-2390.
- Capuano, E., Dekker, M., Verkerk, R., Oliviero, T. (2017). ¿Alimentos como productos farmacéuticos? El caso de los glucosinolatos. *Current Pharmaceutical Design*, 23: 2697 - 272.
- Craig, W. J. (1996). Phytochemicals: guardians of our health. *J. Am. Diet. Assoc.*, 97:199-204.
- Cronquist, A. L. (1981). *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Day, G. L., Shore, R. E., Blot, W. J., McLaughlin, J. K., Austin, D. J., Greenberg, R. S. (1994). Dietary factors and second primary cancers: a follow-up of patients with oral and pharyngeal cancer. *Nutrition and Cancer*, 21: 223 – 23.
- Dinkova-Kostova, A. T., Kostov, R. V. (2012). *Glucosinolates and isothiocyanates in health and disease*. Trends in Molecular Medicine: Elsevier.
- Domínguez-Perles, R., Martínez-Ballesta, M. C., Riquelme, F., Carvajal, F., García-Viguera, C., Moreno, D. A. (2011). New varieties of broccoli for optimal bioactive components under salt stress. *Journal of Food Science and Agriculture*. , 91,1638 – 1647.
- Española, R. A. (2014). Cerveza. *Diccionario de la lengua española*. Madrid, Madrid, España: 23.a ed.
- Fahey, J. K., Haristoy, X., Dolan, P. M., TKensler, T. W, Scholtus, I., Stephenson, K. K., Talalay, P., Lozniewski, A. (2002). Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular and antibiotic resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents stomach-induced benzo. *Cancer Prevention Research*, 4(3): 384-95.
- FAO. (10 de Marzo de 2016). *Anuario de Agricultura*. Obtenido de Faostat-Agriculture: <http://www.fao.org>
- Farnham M., Stephenson K., Fahey J. W. (2005). Glucopharanin level in broccoli seed is largely determined by genotype. *HortScience*, 40 (1): 50-53.
- Femenia, Bestard, Sanjuan, Rosselló, Mulet. (2000). Effect of rehydration temperature on the cell wall components of broccoli (*Brassica oleracea* L. Var. *Italica*) plant tissues. *Journal of Food Engineering* , 46:157-163.
- Fernandez Lopez, J., Viuda Matos, M. (2017). Apuntes de la asignatura Industrias Agrarias. Universidad Miguel Hernández de Elche.
- Ferrán-Lamich, J. (2002). *Cebada variedades cerveceras y cerveza*. Barcelona: Aedos.
- Fine, A. M. (2000). *Oligomeric proanthocyanidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications*. . Scottsdale (USA): Altern. Med. Rev. International Clinical Research Center.

- Gaofeng Yuan, Bo Sun, Jing Yuan, Qiaomei Wang. (2010). Effect of 1-methylcyclopropene on shelf life, visual quality, antioxidant enzymes and health-promoting compounds in broccoli flowers. *El sevier*.
- González-San Jose, M.L., Muñiz, P., Valls, V. (2001). *Actividad antioxidante de cerveza: estudio in vitro*. Centro de Información Cerveza y Salud.
- Gorinstein, S., Vargas, O. J. M., Jaramillo, N. O., Salas, I. A., Ayala, A. L. M., Arancibia Avila, P., Toledo, F., Katrich, E., Trakhtenberg, S. (2007). The total polyphenols and the antioxidant potentials of some selected cereals and pseudocereals. *European Food Research and Technology*, 225: 321–328.
- Gray, A. (1982). Taxonomy and evolution of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Society for Economic Botany*, 36, 397–410.
- Hasperu , J.H., Chaves, A.R., Mart nez, G.A. (2011). End of day harvest delays postharvest senescence of broccoli florets. *Postharvest Biol. Technol*, 59, 64–70.
- Herman, C., Adlercreutz, H., Goldin, B.R., Gorbach, S.L., H ckerstedt, K.A.V., Watanabe S. (1995). Soybean phytoestrogen intake and cancer risk. *The Journal of Nutrition*, 125: 757S-770S.
- Hertog, M.G.L., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., Bucina, R., Fidanza, F. (1995). Flavonoid intake in long-term risk of coronary heart disease and cancer in the Seven Countries Study. *Arch. Intern. Med.*, 155: 381-386.
- Hoche, S., Hussein, M.A., Becker, T. (2014). Critical process parameter of alcoholic yeast fermentation: speed of sound and density in the temperature range 5–30  C. *Int. J. Food Sci. Technol*, 49: 2441–2448.
- Houhg, S. J. (2001). *Biotechnolog a de la cerveza y de la malta*. Zaragoza: Acribia.
- Hughes, G. (2014). *Home brew beer*. Barcelona: Omega.
- Hughes, P. (2003). *Cerveza: Calidad, higiene y caracter sticas nutricionales*. Zaragoza: Acribia.
- Jackson, M. (1994). *El libro de la cerveza*. Barcelona: Blume.
- Jeffery, E., Araya, M. (2009). Physiological effects of broccoli consumption. *Phytochem*, 8: 283-298.
- K hkk nen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Heinonen M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 3954-3962.
- Keck, A. S., Finley, J. W. (2004). Cruciferous vegetables: mechanisms of protection against cancer from products of hydrolysis of glucosinolates and selenium. *Integrate Cancer Therapies*, 3, 5 – 12.
- Kristina Rado evi , Vi nja Gaurina Sr ek, Marina Cvjetko Bubalo, Suzana Rimac Brn i , Krisztina Tak cs, Ivana Radoj i  Redovnikovi . (2017). *Evaluation of glucosinolates, antioxidant and antiproliferative activity of broccoli and kale extracts*. Elsevier.
- Latt , Appel, Lampen. (2011). Health benefits and possible risks of broccoli - An overview. *Food and chemical toxicology*, 49(12):3287-309.

- MAPAMA. (2016). Anuario de Estadística anuales agrarias.
- MAPAMA. (2016). *Informe de consumo de alimentación en España*. Obtenido de http://www.mapama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucionalimentaria/informe_del_consumo_de_alimentos_en_espana_2016_webv_f_tcm30-419505.pdf
- MAPAMA. (2016). Real Decreto 678/2016, de 16 de diciembre. *BOE*.
- MAPAMA. (Modificado 2012). Código Alimentario Español. Decreto 2484/1967. *BOE nº16485*.
- Maroto, J. V., Pomares, F., Bauxiali C. (2007). *El Cultivo de la coliflor y el brócoli*. . Valencia: Fundación Ruralcaja Valencia. Ediciones: Mundi-Prensa.
- Mazza, G. A. (2000). *Aspectos bioquímicos y de procesados*. Zaragoza: Acribia.
- Meltzer, H. M., Malterud, K. E. (1997). Can dietary flavonoids influence the development of coronary heart disease? *Scan J. Nutr.*, 41: 50-57.
- Milligan, S., Kalita, J., Pocock, V., Heyerick, A., De Cooman, L., Rong, H., De Keukeleire D. (2002). Oestrogenic activity of the hop phyto-oestrogen, 8-prenylnaringenin. *Reproduction*, 123: 235-42.
- Nardini M., Burgess N., Breckenridge K., Atkinson J. (2006). Differential developmental trajectories for egocentric, environmental and intrinsic frames of reference in spatial memory. *Cognition*, 101: 153-172.
- Nestor Segundo, A. C. (2011). *Los alimentos funcionales. Una oportunidad para mejorar tu salud*. Madrid: Antonio Madrid Vicente.
- Neveu, V. P.-J. (2010). *Comprehensive database on polyphenol contents in foods*. Oxford: Database Oxford. Obtenido de Database Oxford.
- Oliviero, T., Fogliano, V. (2016). Food design strategies to increase vegetable intake: The case of vegetable enriched pasta. *Trends in Food Science & Technology*, 51, 58–64.
- Palermo, M., Pellegrin, N., Fogliano, V. (2014). The effect of cooking on the phytochemical content of vegetables. *J. Sci. Comida Agric.*, 94: 1057–1070.
- Radojčić Redovniković, I., Repajić, K., Delonga, Fabek, N., Toth, J., Vorkapić Furač. (2006). The enzymatically and chemically induced decomposition of glucosinolates. *Phytochemistry*, 67: 1053 – 1067.
- Rodríguez, A. (2003). Determinación de parámetros físico-químicos para la caracterización de cervezas tipo Lager. Elaborada por Compañía Cervecera Kunstmann. *TFG*. UMH.
- Roy, Juneja, Isobe, Tsushida. (2009). Steam processed broccoli (Brassica oleracea) has higher antioxidant activity in chemical and cellular assay systems. *Food Chemistry*, 114 (1): 263-269.
- Roy, M. K., Juneja, L. R., Isobe, S., Tsushida, T. (2009). Steam processed broccoli (Brassica oleracea) has increased antioxidant activity in chemical and cell assay systems. *Food Chem*, 114: 263–269.
- Schäfer, M., Bierwirth, E., Ehrlich, A., Jäkel, E., Werner, F., Wendisch, M. (2017). Directional, horizontal inhomogeneities of cloud optical thickness fields retrieved from ground-

- based and airbornespectral imaging. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 17: 2359-2372.
- Siqueira, P. B., Bolini, H. M. A., Macedo, G. A. (2011). Polyphenols and antioxidant properties in forced and naturally aged Brazilian Beer. *Journal Brewing and Distilling*, 2: 45-50.
- SOLTIR. (22 de Abril de 2018). *Precios medios de brocoli*. Obtenido de <http://www.soltir.com>
- Sónia S. Ferreira, Cláudia P. Passos, Susana M. Cardoso, Dulcinea F. Wessel, Manuel A. Coimbra. (2018). *Microwave assisted dehydration of broccoli by-products and simultaneous extraction of bioactive compounds*. Elsevier.
- Tintó García-Moreno, A., Sánchez Lomares, F., Vidal Tavoada, J. (2004). *La Cerveza Artesana: Cómo hacer cerveza en casa*. Sabadell: Ceveart.
- Velioglu, Y. S., G. Mazza, G., Gao L., Oomah B. D. (1998). Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4113-4117.
- Verhoeven, D. T. H., Goldbohm, R. A., Van Poppel, G., Verhagen, H., Van den Brandt, P. A. (1996). Epidemiological studies on Brassica vegetables and the risk of cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 5: 733 – 748.
- Verkerk, R., Schreiner, M., Krumbein, A., Ciska, E., Holst, B., Rowland, I., Dekker, M. (2009). Glucosinolates in Brassica vegetables: the influence of the food supply chain on the intake, bioavailability and human health. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2: 45-50.
- Wageningen, N. (9 de Mayo de 2018). *Cauliflower and broccoli*. Obtenido de Record from Protabase. Grubben, G. J. H., Denton, O.A. Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l’Afrique tropicale: <http://database.prota.org/search.htm>
- Watt, B. K., Merrill, A. L. (1975). *Composition of Foods*. Washinton: Agricultural Handbook. USDA.
- Weng, J. R., Tsai, C. T., Kulp, S. K., Chen., C. S. (2008). Indole-3-carbinol as chemopreventive and anticancer agent. *Cancer Lett.*
- Weng, J. R., Tsai, S. K., Kulp, Chen, C. S. (2008). Indole-3-carbinol as chemopreventive and anti-cancer agent. *Cancer Letf*, 262: 153-163.
- Wolfgang, K. (2006). *Tecnología para cervecedores y malteros*. Berlín: Berlín.
- Wu, Q. J., Yang, J., Wang, J., Han, L. H., Xiang, Y. B. (2013). Consumption of cruciferous vegetables and risk of gastric cancer: a meta-analysis of epidemiological studies. *Cancer Science*, 104: 1067–1073.
- Yuan, G. F., Wang, X. P., Guo, R. F., Wang, Q. M. (2010). Effect of salt stress on phenolic compounds, glucosinolates, myrosinase and antioxidant activity in radish sprouts. *Food Chem.*, 121:1014-1019. Obtenido de 121: 1014-1019
- Zhao, Baik, Choi, Kim. (2014). Pretreatments for the Efficient Extraction of Bioactive Compounds from Plant-Based Biomaterials. *Critical reviews in food science and nutrition*, 54(10): 1283-97.

Zhao, X. , Chang, A.Y., Toh-E, A., Arvan, P. (2007). A role for Lte1p (a low temperature essential protein involved in mitosis) in proprotein processing in the yeast secretory pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 282(3): 1670-8.

