



Organización de las Naciones Unidas  
para la Alimentación y la Agricultura



Marco Institucional:

- Esta publicación se presenta en el marco del Programa de Cooperación Técnica de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) en apoyo al fortalecimiento del Plan Nacional para la Reducción de Pérdidas y Desperdicio de Alimentos (PDA) creado por Ley Nacional 27.454 en Argentina. El Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación es el “organismo responsable” designado para dar cumplimiento a la meta 12.3 de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS).
- La FAO ha generado un acuerdo con el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) bajo el enfoque de circularidad para llevar adelante diversos estudios y ensayos para su factibilidad en el marco regulatorio nacional denominado este presente trabajo como “Recomendaciones para la inclusión del bagazo cervecero seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)”.

• El equipo responsable:

la Red de Seguridad Alimentaria (RSA) perteneciente al Consejo Nacional de Investigaciones científicas y Técnicas (CONICET) conformado por: Dra Álvarez Lucia, Dra Barberi, Dra Carla Lorena, Lic Bucci Paula, Dra Chulze Sofía, Ing Ducos Martin, Dra Fabani María Paula, Dra Fernández Jorge Gastón, Lic Fornés Damián, Dra Gende Liesel, Lic Gioja María José, Dr Libkind Diego, Dra Orjuela Juliana, Dra Patrignani Mariela, Lic Pueyrredón Silvina, Dra Rodríguez Rosa, Dra Santos M. Victoria, Dra Yerkovich Nadia y Dra Zaritzky Noemí

• Equipo Revisor:

MAGYP: Natalia Basso y Gustavo Barbagallo.

FAO Argentina: Elizabeth Kleiman y Ornella Calvete.

FAO RLC: Sara Granados.



Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervezero Seco  
en el Código Alimentario Argentino (CAA)

ISSN 2618-2785



**RSA-CONICET**  
Red de Seguridad Alimentaria del CONICET

**INFORME FINAL:**

**RECOMENDACIONES PARA LA  
INCLUSIÓN DEL BAGAZO SECO EN EL  
CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO  
(CAA)**

Fecha 30/04/2021

**GRUPO AD HOC “Bagazo cervezero Seco”**

Red de Seguridad Alimentaria  
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas



Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco  
en el Código Alimentario Argentino (CAA)

## **DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS PARA LA INCORPORACIÓN DEL BAGAZO CERVECERO SECO EN EL CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO (CAA).**

### **1. DESCRIPCIÓN DE LA SOLICITUD**

Inclusión del Bagazo Cervecerero en Polvo al Código Alimentario Argentino. Alternativa productiva en el marco del trabajo de reducción de desperdicio de alimentos, solución ambiental y de proceso para más de 1.000 micro cervecerías de nuestro país.

El 17 de julio de 2019, en la CONAL VIRTUAL 130, los representantes de la Comisión acuerdan con la importancia de que el Código Alimentario Argentino (C.A.A.) aprehenda al (...) “bagazo cervecerero - subproducto de la elaboración de la cerveza – para ser utilizado como ingrediente en la elaboración de distintos productos como por ejemplo, los de panadería” (...). (Acta 130)

En cumplimiento al Acta 130, la STA-CONAL/MAGyP -en conjunto con SENASA e INAL elaboró un primer borrador de propuesta de incorporación al C.A.A. referido a la definición de Bagazo cervecerero "SECO", con los parámetros fisicoquímicos y criterios microbiológicos que se encontraron en el expediente. En la Reunión Ordinaria 131 de la CONAL –octubre 2019-, los representantes entendieron lo siguiente: “... que la información aportada en relación a los parámetros para caracterizar al producto deberá ser complementada...”; por ello, se le solicitó al peticionante mayor información para definir los parámetros que identifiquen la higiene del proceso y conservación del producto identificado. Al día de la fecha, se está a la espera de dicha información.

#### **1.1. REQUERIMIENTO**

Desde el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca se consulta a la RSA/CONICET si es posible contar con información, antecedentes, casos estudiados y una propuesta que permita determinar los parámetros físico-químicos (humedad, cenizas, proteínas, fibra completa, lípidos, hidratos de carbono y la actividad acuosa) y microbiológicos del bagazo cervecerero seco de producción nacional, como así también identificar la higiene del proceso y parámetros de conservación del mismo a efectos de su utilización como alimento.



Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco  
en el Código Alimentario Argentino (CAA)

2. CONFORMACIÓN DEL GRUPO AD HOC

| Apellido  | Nombre       | Institución                               | Profesión  | Especialidad  |
|-----------|--------------|---|--|---|
| Álvarez   | Lucia        | IPATEC<br>(CONICET-UNCo)                  | Dra. en Biología   | Microbiología de los Alimentos  |
| Barberis  | Carla Lorena | IMICO-CONICET                             | Microbióloga- Doctora en Ciencias Biológicas                       | Micotoxicología   |
| Bucci     | Paula        | CIDCA (UNLP<br>CONICET CIC)               | Licenciada en Biotecnología  | Medio ambiente  |
| Chulze    | Sofía        | IMICO-CONICET                             | Dra. en Ciencias Biológicas  | Micología-Mico toxicología  |
| Ducos     | Martin       | IPATEC<br>(CONICET-UNCo)                  | Ing. Industrial  | Procesos Cerveceros.<br>Equipos cerveceros y Alimenticios                     |
| Fabani    | María Paula  | Facultad de Ingeniería-UNSJ               | Dra. en Ciencias Qcas/Ingeniera en Alimentos                       | Alimentos   |
| Fernández | Jorge Gastón | Universidad Nacional de San Luis          | Docente/Investigador-Dr. en Biología                               | Microbiología Industrial  |
| Fornés    | Damián       | INTI                                      | Licenciado en Tecnología de Alimentos                              | Asistencia técnica e Investigación y Desarrollo en el procesamiento de granos |
| Gende     | Liesel       | IIPROSAM<br>(CONICET_FCEyN-UNMDP-CIC-PBA) | Lic. en Química/ Dra. En Farmacia y Bioquímica- área Microbiología | Química y Microbiología de los alimentos                                      |
| Gioja     | María José   | -   | Licenciada en Economía   | Gestión de Económica y Gubernamental  |

## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

|            |             |  |   |   |
|------------|-------------|--|---|---|
| Libkind    | Diego       | IPATEC<br>(CONICET-UNCo)                             | Docente/Investigador-Dr.<br>en Bioquímica   | Microbiología,<br>biotecnología y<br>Tecnología<br>cervecera            |
| Orjuela    | Juliana     | CIDCA (UNLP<br>CONICET CIC)                          | Dra. de la Facultad de<br>Ciencias Exactas, área<br>química UNLP                    | Alimentos y reutilización<br>de residuos de la<br>industria alimentaria |
| Patrignani | Mariela     | CIDCA (CONICET-<br>CCT LA PLATA)                     | Lic. en Ciencia y Tecnología<br>de Alimentos/Dra. en<br>Ciencias Exactas            | Desarrollo de alimentos<br>saludables                                   |
| Pueyrredón | Silvina     | Facultad de Ingeniería<br>y Ciencias Agrarias<br>UCA | Licenciada en Tecnología de los<br>Alimentos. Facultad de Ciencias<br>Agrarias. UCA | Gestión y Control de la<br>Calidad en Alimentos                         |
| Rodríguez  | Rosa        | CONICET-UNSJ   | Ingeniero Químico   | Cinética-Termodinámica  |
| Santos     | M. Victoria | IPATEC<br>(CONICET-UNCo)                             | Investigador - Ingeniera<br>Química   | Alimentos y Tratamiento de<br>Efluentes                                 |
| Yerkovich  | Nadia       | IMICO-CONICET  | Dra. en Ciencias Biológicas   | Micotoxicología   |
| Zaritzky   | Noemí       | CIDCA (UNLP<br>CONICET CIC)                          | Ing. Química / Doctora en<br>Ciencias Químicas                                      | Ingeniería y Tecnología de<br>Alimentos                                 |

### Agradecimientos:

**Este informe fue realizado gracias a la cooperación técnica y financiamiento de la Representación en la Argentina de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), en apoyo al Plan Nacional de Reducción de Pérdidas y Desperdicio de Alimentos, en el marco de una estrategia más amplia de economía circular.**

Se agradece la colaboración fundamental de **Gabriela Mónaco**, Licenciada en Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Universidad Católica Argentina. Profesora en la carrera de Ingeniería en Alimentos de la UCA de las materias: Química de los Alimentos; Química orgánica; Química general; Industrias Cárnicas y a la **Lic. Mariana Rivara**. Jefe de Departamento de Fisicoquímica. Dirección Técnica de Servicios Analíticos. Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI) por su invaluable participación y dedicación.



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

### **3. TAREAS A DESARROLLAR**

#### ***PARTE I: Recomendaciones para la inclusión del Bagazo Cervecero seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)***

##### **3.1. Búsqueda Bibliográfica:**

Búsqueda bibliográfica en repositorios, Organismos Públicos y Privados internacionales de legislación, publicaciones científicas y documentos con datos validados donde se definan rangos y límites para parámetros fisicoquímicos en bagazo o productos farináceos similares.

##### **3.2. Relevamiento de las características del Bagazo en Argentina**

Se propone hacer un muestreo abarcando los principales polos cerveceros del país considerando la variabilidad de diferentes materias primas y procesos de separación del bagazo del mosto en la elaboración de cerveza, tanto para la artesanal como industrial. El objetivo de este relevamiento es poder definir rangos fisicoquímicos que no solo permitan un adecuado uso del bagazo como alimento sino que contemplen la variabilidad de recetas y materias primas (maltas de cebadas y otros cereales utilizados como adjuntos cerveceros) que posee el conjunto de más de 4500 productores de cerveza artesanal (incluidos los cerveceros caseros) y el proceso productivo industrial. El muestreo además será realizado considerando los polos cerveceros a nivel nacional aprovechando la red de Institutos del CONICET en el país, se trabajará con Cervecerías de La Plata, Córdoba, Mar del Plata, Bariloche, San Juan y una de las dos principales empresas de la Industria Cervecera de Argentina.

##### **3.3. Definición de los parámetros sugeridos de Parámetros Físico químicos y límites microbiológicos.**

En base a la información obtenida en los ítems anteriores (búsqueda bibliográfica, relevamientos de muestras de bagazo y estudio de estabilidad) se definirán todos los parámetros sugeridos de incorporación al CAA. Además considerando las capacidades de los Laboratorios Nacionales, Provinciales y del sector científico se van a definir las metodologías propuestas (Ver Anexo I).



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

### ***PARTE II: Buenas Prácticas de Manipulación y Almacenamiento del Bagazo Húmedo y su estabilización”***

#### **3.4. Estudio de estabilidad Organoléptica y Microbiológica del Bagazo Cervecerero**

Se propone hacer un estudio para definir los tiempos máximos de almacenamiento y condiciones de manipulación del bagazo húmedo para su posterior secado. Las condiciones de higiene y manipulación del bagazo cervecero previo a su secado son fundamentales para considerar su destino como alimento, por lo que se propone generar un estudio que simule las condiciones reales en las cervecerías, la degradación y deterioro sensorial y contaminación microbiológica para generar recomendaciones de manejo del bagazo húmedo.

#### **3.5. Experiencia de Secado en Baja Escala: Cinética de Deshidratación de Bagazo en Capa Fina:**

Se realizará una estudio de secado emulando las condiciones equivalentes a las que podrían aplicarse en hornos de establecimientos de elaboración de panificados y/o hogareños y se realizará una cinética de deshidratación de bagazo en capa fina para recomendar tiempos y temperaturas para este proceso.



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

### 4. Resultados y Conclusiones

#### Introducción

Es importante destacar que el presente trabajo se realizó no solo en un contexto de pandemia y las restricciones que de esta devinieron sino que además el inicio de las tareas contenidas en el mismo coincidió con el aumento de las medidas más severas por el incremento exponencial de contagios en el mes de Marzo de 2021 (“Segunda Ola”) que implicaron restricciones en el uso de los Laboratorios por imposición de aforo y/o priorización a las tareas de investigación respecto a los servicios a terceros (como los requeridos para este trabajo), a la movilidad que restringió las tareas de toma de muestras en las cervecerías, la disponibilidad de los bagazos provenientes de estilos de cervezas específicos por las limitaciones en la venta lo que generó suspender la producción en muchas cervecerías y la realización de tareas solo por la metodología de teletrabajo.

Este contexto generó demoras en la realización de la Parte II respecto a lo planificado con anterioridad en la Propuesta Inicial que fue realizada considerando un contexto de reducción de contagios en Noviembre de 2020. Por estas razones, con el objetivo principal de poder avanzar con el trámite de aprobación del bagazo cervecero seco que es una demanda muy importante del sector que podría generar valor, reducción de costos a los elaboradores y avanzar con un importante número de proyectos productivos que están detenidos en espera de la inclusión de este subproducto en el Código Alimentarios Argentino (CAA) se tomó la decisión de entregar un informe preliminar con un muestreo representativo (n=1) respetando el tiempo de entrega informado oportunamente (sin incurrir en postergaciones de la fecha de entrega) y luego un informe complementario con las determinaciones microbiológicas complementarias (n=3) debido a las restricciones mencionadas cuando las mismas sean menos restrictivas. **Cabe destacar que estas determinaciones no impactan en las recomendaciones de este grupo sobre los “Límites de Composición Química” y “Límites Microbiológicos” (Parte I)** sino en las recomendaciones de “Buenas Prácticas de Manipulación y Almacenamiento del Bagazo Húmedo y su estabilización” solamente. Los límites mencionados (del presente Informe) cubren las informaciones técnicas y bibliográficas requeridas por la Comisión Nacional del Alimentos (CONAL) para avanzar sobre las gestiones necesarias para la intrusión del bagazo en el Código Alimentarios Argentino (CAA). Dejando para una segunda etapa solo las determinaciones complementarias comprendidas en la Parte de “Buenas Prácticas de Manipulación y Almacenamiento del Bagazo Húmedo previo al Secado”

## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

### Parte I:

### Informe de Límites de Composición Química y Microbiológicos

#### 4.1 Búsqueda Bibliografía:

##### **Composición Química**

El Bagazo de Cerveza (BSG por sus siglas en inglés: Brewers' Spent Grain) es básicamente un material lignocelulósico, donde los principales componentes son la fibra (proveniente de la hemicelulosa y celulosa), proteína y lignina. La fibra constituye aproximadamente la mitad de la composición de BSG en peso seco, mientras que las proteínas pueden constituir hasta un 30%. Este alto contenido de fibra y proteína hace que el BSG sea una materia prima sumamente interesante para la elaboración de alimentos. El BSG contiene cáscara de salvado, residuos de embrión de la variedad maltera y de los adjuntos empleados. Respecto a su composición química (porcentaje en base seca), se muestra un resumen en la Tabla 1 según diversas fuentes consultadas. **La variabilidad de composición observada en los datos de la Tabla 1 se debe a numerosos factores como variedad de cereal, época de cosecha de dicho cereal, tipo de malteado, régimen de macerado, las recetas de materias primas utilizadas según cada estilo de cerveza elaborada, el nivel de color o tostado de las maltas de cebada y de los adjuntos utilizados, el tipo de adjuntos, la molienda de los cereales, el método de extracción, la tecnología de los equipos de separación de sólidos y mosto y los procedimientos operativos para realizar dicha separación (Lynch y col., 2016, Steiner y col., 2015).**

Tabla 1.

| compuesto                     | Referencias          |                     |                      |                   |                         |
|-------------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|-------------------|-------------------------|
|                               | Kanauchi y col. 2001 | Santos y col., 2003 | Carvalho y col. 2004 | Silva y col. 2004 | Mussatto y Roberto 2006 |
| Hemicelulosa (Arabinosilanos) | 21.8                 | n.d.                | 29.6                 | 41.9              | 28.4                    |
| Cellulosa                     | 25.4                 | n.d.                | 21.9                 | 25.3              | 16.8                    |
| Almidón                       | n.d.                 | n.d.                | n.d.                 | n.d.              | 1                       |
| Proteína                      | 24                   | 31                  | 24.6                 | n.d.              | 15.2                    |
| Lignina                       | 11.9                 | 16                  | 21.7                 | 16.9              | 27.8                    |
| Lípidos                       | 10.6                 | 3.0-6.0             | n.d.                 | n.d.              | n.d.                    |
| Cenizas                       | 2.4                  | 4                   | 1.2                  | 4.6               | 4.6                     |
| Compuestos Fenólicos          | n.d.                 | 1.7-2.0             | n.d.                 | n.d.              | n.d.                    |

## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

**Tabla 1 (Continuación)**

### Referencias

| compuesto                     | Celus y col. 2006 | Xiros y col. 2008 | Jay y col. 2008 | Robertson y col 2010 | Waters y col. 2012 | Meneses y col. 2013 |
|-------------------------------|-------------------|-------------------|-----------------|----------------------|--------------------|---------------------|
| Hemicelulosa (Arabinosilanos) | 22.5              | 40                | n.d.            | 22-29                | 22.2               | 19.2                |
| Cellulosa                     | 0.3               | 12                | 31-33           | n.d.                 | 26                 | 21.7                |
| Almidon                       | 2.7               | 10-12             | 2-8             |                      |                    |                     |
| Proteína                      | 26.7              | 14.2              | 15-17           | 20-24                | 22.1               | 24.7                |
| Lignina                       | n.d.              | 11.5              | 20-22           | 13-17                | n.d.               | 19.4                |
| Lípidos                       | 13                | 6-8               | n.d.            |                      |                    |                     |
| Cenizas                       | 3.3               | 3.3               | n.d.            | n.d.                 | 1.1                | 4.2                 |
| Compuestos Fenólicos          | 2                 | 1.0-1.5           | 0.7-0.9         |                      |                    |                     |

\*Valores reportados en gramos / 100 gramos de material seco (% p/p); n.d., no declarado.

El bagazo de cerveza está compuesto de 15-26% p/p de proteínas y alrededor de un 50-70% p/p de fibras, que incluyen celulosa (15,5-25% p/p), hemicelulosa (28-35% p/p) y lignina (aproximadamente el 28% p/p). También puede contener lípidos (entre 3,9 y 18% p/p, de los cuales el 67% son triglicéridos), cenizas (2,5-4,5% p/p), vitaminas, aminoácidos y compuestos fenólicos. Entre los componentes minerales más abundantes se encuentran el calcio, fósforo y selenio. También contiene biotina, colina, ácido fólico, niacina, ácido pantoténico, riboflavina, tiamina y vitamina B6. Entre los aminoácidos están presentes la leucina, valina, alanina, serina, glicina, tirosina, lisina, prolina, treonina, arginina, cistina, histidina, isoleucina, metionina, fenilalanina, triptófano, glutámico y ácido aspártico (Lynch y col, 2016).

### **Beneficios Nutricionales**

La fibra, actúa como prebiótico, es fermentada por la microflora colónica que incluye a los géneros *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, generando ácidos grasos de cadena corta que cumplen la función de proteger al huésped contra patógenos, inducen la respuesta inmune, incrementa la contracción muscular, disminuyen la síntesis de colesterol y protegen el colon contra el desarrollo de cáncer. También se han encontrado arabinosilanos, que es el principal polisacárido no amiláceo presente en las paredes celulares de los cereales. Se destacan dentro de la fibra dietética, proporcionando beneficios para la salud, los siguientes efectos funcionales:

- Su efecto prebiótico: En este sentido, se ha mostrado que la proliferación de determinadas bacterias mediante la fermentación de hidratos de carbono no digeribles puede inhibir la colonización del intestino por patógenos. Los arabinosilanos son fermentables por la microbiota intestinal. Esta

## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

sintetiza ácidos grasos de cadena corta que pueden actuar directa o indirectamente (mediante la modificación del pH) sobre las células intestinales y pueden participar en el control de varios procesos como la proliferación mucosal, la inflamación, la carcinogénesis colo-rectal, la absorción de minerales y la eliminación de compuestos nitrogenados (Lagüénz Pérez, 2018).

- Prevención del cáncer de colon: Los efectos prebióticos están muy relacionados con su acción protectora frente al cáncer de colon. Se ha visto que reducen la producción bacteriana de  $\beta$  glucuronidasa y de amonio en las heces, con lo cual disminuyen los compuestos tóxicos en el colon ejerciendo un papel protector frente a las neoplasias colónicas (Lagüénz Pérez, 2018).
- Su capacidad antioxidante: se encuentra relacionada con el contenido total de fenoles unidos covalentemente a su estructura, como el ácido ferúlico (Lagüénz Pérez, 2018).
- Su función inmunitaria, ayudando a fortalecer el sistema inmunológico: aumentando la actividad de los glóbulos blancos y células Natural Killers (NK) (Lagüénz Pérez, 2018).
- Efecto sobre el metabolismo lipídico y de la glucosa: son capaces de reducir los niveles plasmáticos de triglicéridos y de colesterol (Esteban Torrente, Sandra. 2019; Lagüénz Pérez, 2018).

Por otro lado, se han hallado  $\beta$ -glucanos, compuestos formados por polisacáridos no amiláceos y glucosa que tendrían un efecto hipocolesterolemiante (disminución del colesterol en sangre). Los compuestos fenólicos que contiene, tales como ácido hidroxicinámico se han informado como anticancerígenos y antiapoptótico de células del sistema inmune. Con respecto a las proteínas, el 30% de los aminoácidos que contiene son aminoácidos esenciales, siendo el contenido de Lisina del 14.3% (aminoácido que no se encuentre en este porcentaje en otros alimentos). La fracción lipídica está formada principalmente por triacilglicéridos, pero también se encuentran en menor cantidad fitoesteroles y ácidos grasos libres como ácido palmítico, ácido oleico, ácido linoléico y ácido esteárico.

Por lo tanto, este elevado contenido de fibras y proteínas más los beneficios que aporta a la salud, la incorporación de BSG en la elaboración de productos alimenticios resultará en la indudable mejora de su perfil nutricional.

### **Materias Primas. Requerimientos Normativos**

Se denomina bagazo de cervecero *exclusivamente* al subproducto generado en la elaboración de cerveza según lo establecido en los Artículos: 1080 al 1107 - Bebidas Fermentada, Capítulo XIII del Código Alimentario Argentino (CAA) por lo tanto todas las exigencias y límites definidos para el proceso de elaboración de cerveza deben incluirse o referenciarse a este subproducto como así también las de sus materias primas de acuerdo al Capítulo IX Artículos: 643 al 766 - Alimentos Farináceos - Cereales, Harinas y Derivados y/o cualquier otra normativa vigente nacional aplicable. También se recomienda la inclusión de los límites en pesticidas: Maximum Residue Limits (MRLs),



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

Codex Extraneous Maximum Residue Limits (EMRLs) del Codex Alimentarius o la normativa vigente nacional y lo mismo para Micotoxinas (Codex Alimentarius: Código de Prácticas para prevenir y reducir la Contaminación de los cereales por Micotoxinas)

### **Importancia del análisis de Micotoxinas y Pesticidas en el bagazo cervecero.**

El relevamiento de micotoxinas y pesticidas fue excluido del presente trabajo siendo parte de la propuesta de trabajo inicial del Grupo de Especialistas. Sin embargo consideramos importante avanzar en estudios relacionados con esta temática por los siguientes motivos: Debido a su alto contenido de almidón y proteínas de almacenamiento, la cebada representa una fuente atractiva de nutrientes para insectos y microorganismos. La vulnerabilidad del grano al ataque de patógenos se espera que aumente durante la germinación, cuando los aminoácidos, carbohidratos fermentables, bases nitrogenadas y otros productos de degradación de polímeros de reserva se acumulan en el endospermo amiláceo (Fincher y Stone, 1993). En consecuencia, varias plagas y enfermedades pueden atacar estos cultivos de cereales, y por lo tanto un buen control de malezas es esencial. Adicionalmente, la cebada con humedad superior al 14% puede ser atacada por hongos durante el almacenamiento, especialmente por especies *Aspergillus* y *Penicillium*. La mayoría de estos microorganismos producen metabolitos secundarios es, por lo tanto, importante que la cebada de malta se almacene en condiciones que previenen el crecimiento de hongos. Por estas razones, los pesticidas son ampliamente utilizado en diferentes combinaciones en muchas etapas de cultivo y también durante almacenamiento poscosecha (Navarro y col., 2007)

Además, el bagazo de las cervecerías puede estar compuesto por diferentes materias primas; cebada (*Hordey vulgare* L), trigo (*Triticum aetivum* L.) maíz (*Zea mays* L), las cuales pueden estar contaminados con especies fúngicas toxicogénicas de los géneros *Aspergillus* y *Fusarium* y con micotoxinas. La contaminación a nivel precosecha y/o durante el almacenamiento puede aumentarse si las condiciones de almacenamiento no son adecuadas en relación con la actividad de agua y temperatura. Por lo tanto, es necesario un proceso de secado inmediatamente una vez adquirido el producto desde las cervecerías.

Deoxinivalenol (DON) es una de las micotoxinas más frecuentemente detectada en trigo y cebada mientras que las aflatoxinas y fumonisinas son detectadas en maíz. En Argentina se ha detectado contaminación natural en trigo con fumonisinas y deoxinivalenol, los niveles de fumonisinas en trigo pan variaron entre 0,16 a 680,44 ppb, deoxinivalenol entre 50 a 28650 ppb. (Cendoya et al., 2014). Los niveles de deoxinivalenol en trigo varían según la campaña agrícola y de la incidencia y severidad de la fusariosis de la espiga de trigo, durante la campaña 2012/13 se detectaron niveles entre 0,4 y 8,5 ppm (Palazzini et al, 2015) En maíz



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

se detectó contaminación natural con fumonisinas en niveles que varían entre 1,773 a 9.093 ppb para maíz recién cosechado y en almacenamiento fue de 2,525 a 11,528 ppb (Garrido et al., 2012). La cebada puede estar contaminada con deoxinivalenol y nivalenol debido a la infección precosecha de especies de *Fusarium* tales como *Fusarium graminearum* y *Fusarium poae* (Nogueira et al, 2018, Chulze et al., 2019). Los niveles detectados también varían con el cultivar, la zona de cultivo y las distintas campañas agrícolas. Los niveles detectados 12 ppm de DON y 7.71 ppm de nivalenol.

Son limitados los datos de bagazo de cervecería en relación a la contaminación con micotoxinas en Argentina. Algunos datos de sub-productos de la industria cervecera se detallan durante el periodo 2010-2011 se recolectaron 16 muestras de residuo de cervecería de la localidad de Villa General Belgrano (31°59'S, 64°34'W), Córdoba. El 31,25% de las mismas (5 muestras) presentaron contaminación con aflatoxinas B1(AFB1), con niveles entre 2,5 y 50,35 ppb. El valor medio fue de 26,4 ppb. Los niveles mínimos y máximos detectados corresponden a muestras recolectadas durante noviembre y diciembre de 2010. (Asurmendi et al 2012). Otro estudio detectó aflatoxinas en granos de cervecería en niveles 19-44 ug/kg y fumonisinas 104-145 ug/kg (Gonzalez Pereyra et al., 2011)



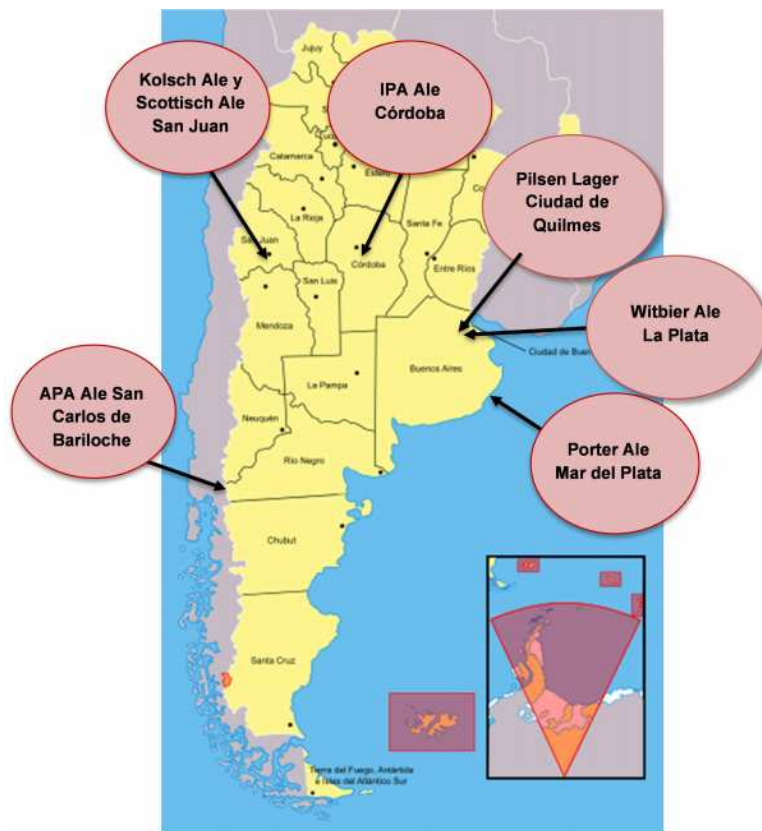
## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

### 4.2 Relevamiento de las características del Bagazo en Argentina

Dada la variabilidad de la composición química del bagazo que se muestra en la bibliografía (Tabla 1) y con el objetivo de poder verificarlo abarcando los principales polos cerveceros del país se realizó el siguiente relevamiento. Se seleccionaron estilos que contenían una amplitud de cereales provenientes de cervecerías artesanales e industrial de diferentes puntos del país que a su vez fueron obtenidos mediante procesos de separación de bagazo y mosto con distintos niveles tecnológicos y volumen productivo. El objetivo de este relevamiento es poder confirmar lo reportado en la bibliografía y sugerir rango de parámetros fisicoquímicos que permitan un uso adecuado del bagazo como alimento contemplando la variabilidad de recetas y materias primas (maltas de cebadas y otros cereales utilizados como adjuntos cerveceros). El muestreo se realizó en Cervecerías de La Plata, Córdoba, Mar del Plata, San Carlos de Bariloche y San Juan (una de ella se aplicó secado solar que es una alternativa viable para la zona Andina de nuestro país) más dos muestras provenientes de una de las principales plantas de elaboración industrial de cerveza del país.

Debido al contexto de pandemia que restringe la capacidad analíticas de los Laboratorios se propuso una estrategia de muestreo selectivo, puntual y muy específico (no aleatorio) para abarcar la amplitud de composición química mencionadas anteriormente. Coordinando con las cervecerías el día de muestreo de acuerdo al Plan de Producción y así poder tomar el bagazo del estilo que cumpla con el muestro definido. De esta manera es posible reducir a  $n=8$  (por duplicado) el muestreo sin perder significativamente la capacidad de análisis de la variabilidad de los subproductos elaborados en Argentina. También es pertinente destacar que en la limitaciones presupuestarias que impone la condición económica actual, la realización del muestreo propuesto inicial en el trámite realizado en la Comisión Nacional del Alimentos (CONAL) de  $n=30$  generaría un costo adicional al Presupuesto actual de \$220.000 (aproximadamente \$10.000 por cada una de las 22 muestras adicional) más los costos de envío y gastos administrativos lo que representa más de un 50% de aumento respecto al presupuesto por este grupo. En base a estos comentarios en el seno del Grupo de Trabajo consideramos pertinente la reducción del muestreo a  $n=8$  realizado en forma selectiva para cumplir lo que solicitado.

## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)



La selección de las cervecerías también fue realizada con el criterio de abarcar las diferencias tecnología disponible en sector industrial y artesanal. Como se mencionó el equipo de separación del mosto y el bagazo cumple un rol muy importante que muchas veces está relacionado con la capacidad productiva de la planta porque las plantas de mayor envergadura poseen normalmente tecnologías más eficientes.

**Todos los emprendimientos artesanales seleccionados poseen procesos productivos consolidados, con procedimientos de elaboración y controles de calidad implementados y reproducibles en el marco de su nivel tecnológico.** Entre el listado de las cervecerías seleccionadas hay volúmenes de Batch de elaboración de 2.500-3.000 litros y 30.000-450.000 litros de producción por mes (escala grande en segmento artesanal) hasta 500 litros de batch entre 10.000-20.000 litros mensuales. Equipos construidos bajo diseños propios y equipos importados, con equipos altamente automatizados como totalmente manuales.

Para el caso de la industria también se seleccionaron los dos procesos disponibles: Filtro Lauter (Cuba Filtro) y Filtro Prensa (solo utilizados en la industria, en el sector artesanales todos son Cuba Filtro) por lo que más allá de disponer de una cerveza con alto contenido de adjuntos que no es habitual en las cervecerías artesanales (40% de maíz) también se pudo cubrir un proceso que tampoco se utiliza en ese segmento lo que permite una amplitud de muestreo muy amplio.

## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

**Tabla 1.-** Composición de los bagazos cerveceros analizados en las 8 muestras de productores industriales y artesanales de Argentina. Todos los valores están expresados en base seca cada 100gr de bagazo seco.

| Proceso<br>Estilo<br>Tipo     | Materias Primas  | Materia<br>grasa<br>(g/100 g) | Cenizas<br>(g/100 g) | Proteínas<br>(g/100 g) | Fibra<br>dietaria<br>(g/100 g) | Carbohidratos<br>(g/100 g) | Valor calórico<br>(Kcal/100 g) |
|-------------------------------|--|-------------------------------|----------------------|------------------------|--------------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| Artesanal<br>Porter<br>ALE    | 64% Pale ale, 10% Melanoidina, 14% caramelo 120, 7% chocolate, 2% Special X+ 3 % Black | 4,59                          | 3,62                 | 20,88                  | 56,51                          | 14,40                      | 178,5                          |
| Industrial<br>Pilsen<br>Lager | 60% Pilsen + 40 % maíz   | 5,71                          | 2,59                 | 21,87                  | 57,42                          | 12,41                      | 178,5                          |
| Industrial<br>Pilsen<br>Lager | 60 % Pilsen + 40 % maíz*   | 6,20                          | 3,10                 | 26,26                  | 61,71                          | 2,73                       | 163,5                          |
| Artesanal<br>APA<br>ALE       | 90% Pilsen + 5% Caramelo 20 + 5% Munich  | 4,91                          | 3,31                 | 17,91                  | 47,10                          | 26,77                      | 189                            |
| Artesanal<br>IPA<br>ALE       | 71% Pilsen+ 22% Trigo malteado + 7% Caramel Munich                                     | 5,84                          | 3,22                 | 4,12                   | 68,41                          | 18,41                      | 142                            |
| Artesanal<br>Witbier<br>ALE   | 13 % Pilsen + 82 % Caramelo + 5% Trigo malteado  | 3,53                          | 3,48                 | 4,32                   | 55,13                          | 33,54                      | 163                            |
| Artesanal<br>Kolsch<br>ALE    | 86.5% Pilsen + 3.8% Caramelo 20 + 5.8% Trigo   | 4,16                          | 2,76                 | 15,62                  | 37,84                          | 39,62                      | 239                            |
| Artesanal<br>Scottish<br>ALE  | 88.5% Pilsen + 7.1% Caramelo 60 + 3.6% Caramelo 120 + 0.9% Chocolate                   | 3,50                          | 2,65                 | 16,85                  | 43,03                          | 33,97                      | 221,5                          |

\* Filtro Prensa. Nota: En todos los casos se utilizó filtro Lauter (Cuba Filtro) para la separación del bagazo exceptuando un caso indicado con "\*\*".

## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

**Tabla 2.-** Valores medios, desviación estándar, coeficiente de variación (CV) y valores extremos (mínimos y máximos) de macrocomponentes y valor calórico en las muestras analizadas (n = 8) y realizadas por duplicado.

| Variable                    | n | Media  | Desviación Estándar | Mínimo | Máximo | CV    |
|-----------------------------|---|--------|---------------------|--------|--------|-------|
| Materia grasa (g/100 g)     | 8 | 4,81   | 1,04                | 3,5    | 6,2    | 21,74 |
| Cenizas (g/100 g)           | 8 | 3,09   | 0,39                | 2,59   | 3,62   | 12,53 |
| Proteínas (g/100 g)         | 8 | 15,98  | 7,98                | 4,12   | 26,26  | 49,93 |
| Fibra dietaria (g/100 g)    | 8 | 53,39  | 10,09               | 37,84  | 68,41  | 18,9  |
| Carbohidratos (g/100 g)     | 8 | 22,73  | 12,76               | 2,73   | 39,62  | 56,12 |
| Valor calórico (Kcal/100 g) | 8 | 184,38 | 31,94               | 142    | 239    | 17,32 |

*\*Medias de resumen calculadas utilizando el programa InfoStat versión 2020, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.*

*El estadístico media se refiere a la media aritmética.*

*Desviación estándar corresponde a la raíz cuadrada de la varianza muestral calculada como la suma de los cuadrados de los desvíos con respecto a la media muestral, dividida por (n-1).*

*El coeficiente de variación es el cociente entre la desviación estándar y la media muestral, expresado en porcentaje.*

### Conclusiones:

Los bagazos cerveceros analizados respondían a las siguientes características:

La materia grasa (determinada mediante el método de Soxhlet) no superó el 6,2% p/p.

El contenido de ceniza a 525 °C se encontraba entre el 2,59 y el 3,62 % p/p, valor dentro del rango encontrado en la literatura.

El contenido de proteínas (Nitrógeno por 6,25 - Método de Kjeldahl) estuvo entre el 4,12 y el 26,26 %, siendo este uno de los valores con mayor variabilidad dentro de las muestras analizadas (CV=49,93%) y en línea con lo mostrado por la bibliografía. Cabe destacar que se encuentra y confirma una relación entre el color de la cerveza que generó el bagazo y el contenido de proteína (cervezas oscuras o rojas presentan bagazos con mayor contenido de proteína) debido a la formación de melanoidina durante el proceso de malteado (Patrignani y Gonzalez-Forte, 2021). Las diferencias en el contenido de proteína también podrían deberse a la composición de sus materias primas (proporción de trigo y cantidad de malta tostada).



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

El contenido de fibra dietaria no fue inferior al 37,84 % lo que demuestra las excelentes características nutricionales del bagazo como aporte de fibra en alimentos.

La variabilidad en el contenido de carbohidratos (entre 2,73% y 39,62%) se debió principalmente a la eficiencia del proceso de filtrado y el nivel tecnológico del mismo. El menor valor de carbohidratos se registra en el Filtro prensa proveniente de la industria, que corresponde al proceso más eficiente de separación de sólidos y extracción de azúcares. Los valores más altos de carbohidratos se obtuvieron de bagazos provenientes de cervecerías artesanales las cuales utilizan en todos los casos Filtros Lauter (Cuba Filtro).

En todos los casos los resultados son consistentes con los encontrados en las referencias bibliográficas (ver sección anterior).

### **Parámetros Físicoquímicos que describen el Bagazo Cervecero para su inclusión en el Código Alimentario Argentino (CAA):**

El contenido de humedad y presencia de azúcares fermentables en el bagazo cervecero húmedo (70-85% b.h.) son factores importantes que generan una rápida descomposición debido a la proliferación de microorganismos (Mussatto y col. 2006). Es por ello que se requiere estabilizar este producto mediante la eliminación de agua hasta valores que eviten o minimicen su contaminación o deterioro. Dado que los microorganismos requieren agua disponible para su crecimiento en alimentos se utiliza el concepto de actividad acuosa para determinar los requerimientos de condiciones de crecimiento microbiano. La actividad acuosa ( $a_w$ ) se define como el cociente de la presión de vapor de agua de una sustancia respecto a la presión de vapor de agua pura a la misma temperatura (IFT-FDA, Reporte 2001). Agua pura presenta un  $a_w=1$  y un alimento completamente deshidratado  $a_w=0$ , por lo tanto la humedad relativa ( $HR= a_w \times 100$ ) en equilibrio con el producto está en una escala de 0 to 100% y es una medida de cuan ligada está el agua a la matriz alimenticia y su disponibilidad para producir reacciones químicas y bioquímicas que intervienen en el desarrollo de microorganismos. Para el grano de cebada según la FAO a una temperatura de 25 °C el contenido de humedad en b.h. y su  $a_w$  es la siguiente

## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

| Aw   | Contenido de humedad en cebada<br>% (base húmeda) |
|------|---|
| 0,30 | 8,5   |
| 0,40 | 9,7   |
| 0,50 | 10,8  |
| 0,60 | 12,1  |
| 0,70 | 13,5  |
| 0,80 | 15,8  |
| 0,90 | 19,5  |
| 1    | 26,8  |

Según datos científicos publicados no se reporta crecimiento microbiano por debajo de un valor de  $aw=0.6$ , y valores mínimos para el desarrollo de *Bacillus cereus* corresponden a  $aw=0.93$ , *Staphylococcus aureus* (aeróbica)  $aw=0.86$ , *Saccharomyces cerevisiae* y *Staphylococcus aureus* (anaeróbica)  $aw=0.9$  (Barbosa-Canovas y col., 2007).

Dado que cada matriz o alimento presenta una curva o isoterma de sorción de agua ( $aw$  vs. contenido de humedad) característica a una temperatura ambiental constante, los valores límites de humedad máxima permitida para el bagazo cervecero seco requieren de medidas experimentales ad hoc de isotermas de sorción de agua a temperaturas de almacenamiento o ambientales representativas de cada zona del país.

En el Código Alimentario Argentino existen especificaciones respecto al contenido de humedad de harinas de trigo siendo el máximo permitido 15.0% según Artículo 661. En el Codex Alimentarius se indica para harinas la posibilidad de valores menores al 15,5% según el destino de estos productos relacionados con la duración, transporte y almacenamiento de dichos productos, condiciones asociadas a la potencial generación de contaminación debido a micotoxinas (Codex Alimentarius Commission, FAO, 1981). Se recomienda profundizar en este aspecto para establecer valores de  $aw$  y contenido de humedad de BSG seco que definan su valor límite para asegurar su estabilidad microbiológica según las condiciones climáticas regionales de la Argentina (distintas temperaturas y humedades relativas). En el artículo científico publicado en 2016 por Lynch y col. Los autores establecen valores de humedad final para el BSG de 10% (b.h.).



Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco  
en el Código Alimentario Argentino (CAA)

**Por lo expuesto anteriormente y en base a datos para harinas de trigo en el CAA se recomienda un valor de humedad ( b.h.) menor al 15% (b.h.).**

Considerando lo analizado en la bibliografía en cuanto a composición química de bagazo y lo relevado en las muestras representativas de las condiciones de elaboración y materias primas del bagazo en Argentina se propone la siguiente tabla descriptiva del bagazo cervecero seco. Cabe destacar que como se mencionó anteriormente hay muchos factores que determinan la composición química por lo que la siguiente tabla tiene el objetivo de definir rangos que describen en forma muy amplia las condiciones de elaboración y diversidad de materias primas pero en ningún caso se pueden considerar taxativas:

**Tabla 3.-**

| Variable                 | Rango (Mínimo – Máximo) |
|--------------------------|-------------------------|
| Humedad (%)              | menor a 15              |
| Materia grasa (g/100 g)  | 3-13                    |
| Cenizas (g/100 g)        | 1,1-4,6                 |
| Proteínas (g/100 g)      | 4-31                    |
| Fibra dietaria (g/100 g) | Mayor a 35              |
| Carbohidratos (g/100 g)  | 1-40                    |



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

### 4.3 Definición de Parámetros Microbiológicos

En el CAA se encuentran los límites microbiológicos para harina de trigo, los cuales se tomaron como referencia para establecer los límites microbiológicos del bagazo seco por ser el alimento más relacionado al bagazo seco que se incluye en el CAA. Los aerobios mesófilos, hongos y levaduras y coliformes son microorganismos indicadores. El recuento de estos microorganismos refleja la calidad sanitaria de los productos analizados, indicando además de las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma en la que fueron manipulados durante su elaboración. *Bacillus cereus* es un microorganismo patógeno.

Los aerobios mesófilos incluyen a todos los microorganismos capaces de desarrollarse en presencia de oxígeno a una temperatura comprendida entre 20°C y 45°C con una temperatura óptima entre 30°C y 40°C. El recuento de microorganismos aerobios mesófilos estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos. Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera que un recuento elevado no significa presencia de flora patógena. Sin embargo, salvo en alimentos obtenidos por fermentación, no son recomendables recuentos elevados, ya que esto puede significar una excesiva contaminación de la materia prima (en el caso del bagazo seco, posterior al secado), una deficiente manipulación durante el proceso de elaboración, la posibilidad de que existan patógenos, pues estos son mesófilos, y/o la inminente alteración del producto (Análisis Microbiológicos de los Alimentos, Metodología Analítica Oficial, Microorganismos Indicadores, Volumen 3, ReNaLoa, ANMAT).

Los hongos son microorganismos aerobios estrictos, eucarióticos, característicamente miceliares, y heterótrofos con nutrición por absorción, se desarrollan en un rango de pH de 2 a 9, temperaturas entre 10 a 35°C y pueden crecer en condiciones de actividad de agua (aw) relativamente bajas (<0,85), aunque las levaduras generalmente requieren una mayor actividad de agua. La importancia de la presencia de mohos y levaduras en los alimentos está determinada por la capacidad de producir diferentes grados de deterioro y descomposición de los mismos. Además los hongos producen metabolitos tóxicos conocidos como micotoxinas, compuestos estables que no se destruyen durante el procesamiento de alimentos, por lo que son responsables de intoxicación con



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

consecuencias graves (Análisis Microbiológicos de los Alimentos, Metodología Analítica Oficial, Microorganismos Indicadores, Volumen 3, ReNaLoa, ANMAT).

Las bacterias coliformes son particularmente útiles como componentes de criterios microbiológicos para indicar contaminación post proceso térmico. La presencia de bacterias coliformes en los alimentos no significa necesariamente que hubo una contaminación fecal o que hay patógenos entéricos presentes. Algunos coliformes (*E. coli*) son comunes en las heces del hombre y otros animales, pero otros (*Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Erwinia*) comúnmente se encuentran en el suelo, agua y semillas. Estos microorganismos se eliminan fácilmente por tratamiento térmico, por lo cual su presencia en alimentos sometidos al calor sugiere una contaminación posterior al tratamiento térmico o que éste ha sido deficiente. Esto debería generar la determinación del punto del proceso donde se produjo la contaminación. Si se obtiene un recuento elevado en alimentos que han sufrido un proceso térmico, debe considerarse que existieron fallas (ausencia o deficiencia) en la refrigeración post-cocción. El uso del recuento de coliformes como indicador requiere un conocimiento amplio del proceso que el alimento ha sufrido (producción, procesamiento, distribución, etc.) y del efecto que él ha tenido en las bacterias coliformes (Guía de Interpretación de Resultados Microbiológicos de Alimentos, INAL, ANMAT).

En el Codex Alimentarius (FAO) y en el Compendium of Microbiological Criteria for Food (September 2018 (Gobierno de Australia)) no se establecen límites microbiológicos para harinas. Solo en la International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) se establece la búsqueda de *Salmonella* spp. para harinas secas (ICMSF. Microorganisms in Foods 8. Use of Data for Assessing Process Control and Product Acceptance. University of Toronto Press).

En cuanto a *Salmonella* spp., su temperatura óptima de crecimiento se encuentra entre 35°C y 43°C y su crecimiento se encuentra inhibido a temperaturas mayores a 60°C. Los alimentos ricos en grasas o bajos en humedad pueden aumentar la resistencia al calor de *Salmonella* (Compendium of Microbiological Criteria for Food, [10.3389/fmicb.2019.00323](#), [10.1371/journal.pone.0233638](#)). Teniendo en cuenta que el bagazo es un producto con alta humedad (75%) y que se recomienda un tratamiento térmico superior a 100°C hasta valores de humedad bh menores a 15%, se sugiere no incluir a *Salmonella* spp. ni a ninguna bacteria mesófila termosensible dentro de los microorganismos



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

a analizar, excepto los microorganismos indicadores como control de higiene y proceso (aerobios mesófilos totales, mohos y levaduras y coliformes totales) y a *B. cereus* que es un microorganismo mesófilo pero esporulado.

*Bacillus cereus* es un microorganismo patógeno esporoformador. Las condiciones óptimas para su crecimiento son de 30°C a 40°C, con un rango de crecimiento entre 4°C y 55°C. El pH óptimo para el desarrollo es entre 6,0 y 7,0, con un mínimo de 5,0 y un máximo de 8,8. La actividad acuosa (aw) mínima para su desarrollo es 0,93. La capacidad de esporular es una característica importante, porque estas estructuras confieren a la bacteria resistencia a condiciones adversas, como altas temperaturas, de esta manera pueden seguir viables a pesar de que las células vegetativas hayan sido destruidas. Luego, si las condiciones son las apropiadas, la espora germina y el microorganismo puede desarrollarse. Para la germinación de las esporas, algunas cepas necesitan activación por calor (shock térmico), una opción es por calentamiento a 80°C durante 10 minutos. Es resistente a la penicilina y más resistente que otros microorganismos esporulados al tratamiento con ácido peracético, el cual se usa como alternativa al peróxido de hidrógeno en el tratamiento de los envases para envasado aséptico de alimentos. Es considerado un patógeno de riesgo moderado directo, de diseminación limitada, categoría 8 de la clasificación de la ICMSF. Es una bacteria ubicua, encontrándose en suelo, polvo, ambiente, de fácil propagación a vegetales. También se ha encontrado en otros tipos de alimentos debido a contaminación cruzada. No se transmite de persona a persona, pero sí puede multiplicarse en el alimento. Se sabe que gran parte de los alimentos e ingredientes están contaminados con esta bacteria, pero no alcanzan la dosis infectiva, la cual es de aproximadamente 10<sup>5</sup> UFC/g. Se considera que un alimento que contenga más de 10<sup>4</sup> UFC/g de *B. cereus* podría no ser seguro para su consumo. *Bacillus cereus* causa dos tipos de intoxicaciones, según la toxina involucrada: síndrome emético y síndrome diarreico. Según la cepa, producen una u otra toxina, pero hay algunas que tienen la capacidad de sintetizar las dos (Análisis Microbiológicos de los Alimentos, Metodología Analítica Oficial, Microorganismos Patógenos, Volumen 1, ReNaLoa, ANMAT). Cabe señalar que la toxina emética que se genera bajo condiciones aeróbicas estando activa en un rango de pH 2-11 es termoresistente y requiere de un proceso térmico de 90 minutos a una temperatura de 121 °C para alcanzar su completa inactivación (Sanchez y col., 2016, McKillip, 2000).

## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

### Conclusión y Recomendaciones Finales

**Por lo mencionado anteriormente se recomienda aplicar al bagazo húmedo un proceso de secado utilizando temperaturas superiores a 100° C hasta un valor final de humedad menor al 15% b.h., sin sobrepasar un tiempo de almacenamiento de bagazo húmedo de 3 horas.**

Se sugiere ampliar el estudio microbiológico sobre muestras de bagazo húmedo y seco para confirmar estas recomendaciones que debido a las restricciones por la pandemia no fue posible finalizar en los tiempos solicitados para el presente Informe. Estos ensayos continuarán a posteriori a la entrega actual y se remitirán como Informe Complementario.

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, y los datos recogidos para una muestra (n=1) se sugieren los siguientes límites microbiológicos para bagazo seco:

**Tabla 8.-**

| <b>Parámetro</b>                                     | <b>Criterio de aceptación</b>                        | <b>Metodología <sup>(1)</sup></b>   |
|--|--|---|
| Recuento de aerobios mesófilos (UFC/g)               | n=5, c=2,<br>m=10 <sup>5</sup> , M= 10 <sup>6</sup>  | ISO 4833: 2003<br>BAM-FDA: 2001, capítulo 3<br>ICMSF                            |
| Recuento de hongos y levaduras (UFC/g)               | n=5, c=2,<br>m=3.10 <sup>3</sup> , M=10 <sup>4</sup> | ISO 21527-2:2008<br>BAM-FDA: 2001, capítulo 18<br>APHA: 2001                    |
| Recuento de coliformes (UFC/g)                       | n=5, c=2,<br>m=10 <sup>2</sup> , M=10 <sup>3</sup>   | ISO 4832:2006<br>ICMSF (método 4)<br>BAM-FDA: 2001 (capítulo 4<br>método I. G.) |
| Recuento de presuntos <i>Bacillus cereus</i> (UFC/g) | n=5, c=1,<br>m=10 <sup>3</sup> , M=10 <sup>4</sup>   | ISO 7932:2004   |



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

### **Parte II:**

### **“Buenas Prácticas de Manipulación y Almacenamiento del Bagazo Húmedo y su estabilización”**

#### **Introducción**

Esta sección tiene como objetivo generar información técnica, experiencias prácticas y recomendaciones para la manipulación y almacenamiento del bagazo húmedo contemplado los procedimientos más habituales de secado a baja escala en hornos convectivos (panaderos u hogareño) para disponibilizar un procedimiento sencillo de estabilización de bagazo que pueda ser aplicado en forma extendida en una cantidad muy importante de establecimientos que puedan utilizar internamente el bagazo y sus propiedades nutricionales pero también una referencia para equipos de secado de mayor volumen. Partiendo de la base que TODO proceso de almacenamiento, manipulación y secado DEBE asegurar los Límites de Calidad Microbiológica y de Humedad mencionados en la Parte I o lo que se defina en el Código Alimentario Argentino (CAA), estas experiencias y recomendaciones son una Guía Práctica que entendemos serán de gran utilizada para el sector cervecero, pero no necesariamente aplicables a todas las condiciones de procesamiento de bagazo en Argentina.

Como se mencionó en la Parte I se realizó un estudio de Microbiología de almacenamiento del Bagazo húmedo por duplicado en una cervecería de Mar de Planta, teniendo en cuenta las limitaciones en los Laboratorios pero debido a los resultados (alta velocidad de contaminación) detectada consideramos que debe repetirse al menos dos veces más estas experiencias para poder verificar estos resultados y eventualmente estudiar la posibilidad de extender el tiempo de almacenamiento húmedo que como se demuestra a continuación son muy limitados.



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

### **4.4 Estudio de estabilidad Organoléptica y Microbiológica del Bagazo Cervecerero.**

#### ***Descripción del Ensayo realizado***

Dado que el bagazo cervecero es un subproducto que contiene polisacáridos, proteínas y presenta un valor de actividad acuosa elevado debido a su alto porcentaje de humedad, esto lo convierte en un sustrato susceptible para el crecimiento de microorganismos generándose una rápida descomposición del producto (Valverde, 1994; Robertson y col., 2010). Las alternativas de utilización del bagazo cervecero como insumo en la formulación de otros alimentos requieren que se alcance su estabilización una vez finalizado el proceso de extracción de almidones y azúcares (Robertson y col., 2010). Mediante procesos de secado o deshidratación del bagazo se logra preservar el producto, reducir su volumen y facilitar su almacenamiento y transporte (Santos y col., 2003; Aboltins y Palabinskis, 2015). Algunos trabajos reportan temperaturas de secado de bagazo húmedo en hornos a temperaturas debajo de los 60°C (Mussatto 2006, Lynch y col., 2016), sin embargo, para aplicaciones en alimentos como cookies y snacks se han aplicado temperaturas entre los 80-150°C (Stojceska y Ainsworth, 2008; Kissel y col., 1979). Las temperaturas de secado en hornos por encima de los 60°C han sido aplicadas en grupos de investigación con éxito en la Argentina logrando la estabilidad microbiológica y buena aceptabilidad de productos finales como snacks, previa su molienda para incorporación a la formulación del alimento (datos aún no publicados). En las cervecerías existe una alta variabilidad en las condiciones bajo las cuales se manipula el bagazo, y los tiempos que transcurren desde que se genera el bagazo húmedo hasta que puede ser procesado para su estabilización a través de un procesamiento térmico pueden ser prolongados. Estos factores sumados a la rápida descomposición que sufre este subproducto dada su composición pueden generar que sea rechazable desde el punto de vista organoléptico. En virtud de cumplir con recomendaciones de manipulación y/o condiciones finales de humedad del bagazo se procedió en la cervecería a la toma de una muestra de bagazo registrando la siguiente información:

- 1) Tipo de cervecería ARTESANAL o INDUSTRIAL
- 2) Tipo de malta utilizada y de adjuntos para identificar la composición de la muestra.
- 3) Elementos utilizados por el personal para retirar el bagazo del Lauter: Pala plástica o pala metálica, retiro manual con o sin guantes, cofia, barbijo, etc.
- 4) Recipiente donde se acopia el bagazo para luego ser utilizado para alimentos: recipiente de plástico/metálico con o sin bolsa plástica, con o sin tapa.
- 5) Temperatura ambiente del recinto donde se elabora la cerveza y se genera el residuo bagazo para determinar condiciones donde se almacena hasta su post-procesamiento térmico o secado.

Se retiró una muestra de aproximadamente 2 kg para realizar los experimentos que se detallan a continuación y se realizó un ensayo donde el bagazo húmedo se mantuvo durante un tiempo



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

determinado sin un proceso térmico para su deshidratación a temperatura ambiente.

En virtud de conocer cuáles son los tiempos máximos permitidos para que el bagazo húmedo pueda ser almacenado o guardado en la cervecería o lugar de acopio (en condiciones higiénicas) hasta que comienza el proceso de secado ya sea en la misma planta o en otra fábrica alejada o no de la cervecería, se procedió con el siguiente esquema de muestreo y análisis:

a) Se retiró de bagazo húmedo a tiempo 0, es decir, inmediatamente luego que finalizó el filtrado en Lauter o prensa. Se llevó al laboratorio para la detección y/o cuantificación de microorganismos (ver TABLA 1. del CAA Artículo 661 bis para harina de trigo) a tiempo 0, y fue secado inmediatamente en estufa a 90°C hasta que el bagazo llegó a un 10-15 % b. h. y se realizó nuevamente medición de microorganismos y comparación con los mismo límites microbiológicos mencionados anteriormente. Se verificó si organolépticamente es aceptable antes y después del secado. Características evaluadas: rancio, quemado, y aroma desagradable.

b) Se retiró el bagazo húmedo a tiempo 0, se dejó en reposo durante 3 horas SIN NINGÚN TRATAMIENTO. Cuantificación de microorganismos (ver TABLA 1. del CAA Artículo 661 bis para harina de trigo) a tiempo = 3 horas. Se secó en estufa a 90°C hasta que el bagazo llegue a un 10-15 % b. h. y se realizó nuevamente medición de microorganismos y comparación con los mismo límites microbiológicos mencionaos anteriormente. Se verificó si organolépticamente es aceptable antes y después del secado. Características evaluadas: rancio, quemado, y aroma desagradable.

.c) Se retiró de bagazo húmedo a tiempo 0, se dejó en reposo durante 6 horas SIN NINGÚN TRATAMIENTO. Cuantificación de microorganismos (ver TABLA 1. del CAA Artículo 661 bis para harina de trigo) a tiempo = 6 horas en estufa a 90 °C hasta que el bagazo llegue a un 10-15% b. h. y se realizó nuevamente medición de microorganismos y comparación con los mismo límites microbiológicos mencionaos anteriormente. Se verificó si organolépticamente es aceptable antes y después del secado. Características evaluadas: rancio, quemado, y aroma desagradable.

d) Se retiró el bagazo húmedo a tiempo 0, dejarlo en reposo durante 24 horas SIN NINGÚN TRATAMIENTO. Recuento de microorganismos (ver TABLA 1. del CAA Artículo 661 bis para harina de trigo) a tiempo 24 horas en estufa a 90 °C hasta que el bagazo llegue a un 10-15% b. h. y se realizó nuevamente medición de microorganismos y comparación con los mismo límites microbiológicos mencionaos anteriormente. Se verificó si organolépticamente es aceptable antes y después del secado. Características evaluadas: rancio, quemado, y aroma desagradable.

En todos los casos el efecto del tiempo de exposición y condiciones de manipulación del bagazo húmedo sin un rápido tratamiento térmico para lograr su deshidratación puede generar deterioro y



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

que el producto sea rechazable desde el punto de vista organoléptico (aún si microbiológicamente cumpla con los parámetros luego del secado), ergo el esquema anteriormente expuesto incluye la verificación por atributos de olor y aspecto general antes y después de la etapa de secado.

### Resultados de los análisis microbiológicos del estudio de estabilidad para el bagazo

Datos sobre la toma de muestra:

- 1) Tipo de cervecería: *ARTESANAL*
- 2) Tipo de malta utilizada y de adjuntos para identificar la composición de la muestra: *PILSEN SIN ADJUNTOS*
- 3) Elementos utilizados por el personal para retirar el bagazo del Lauter: Pala plástica o pala metálica, retiro manual con o sin guantes, cofia, barbijo, etc: *PALA PLÁSTICA, RETIRO MANUAL, SIN GUANTES, SIN COFIA, CON BARBIJO.*
- 4) Recipiente donde se acopia el bagazo para luego ser utilizado para alimentos: *RECIPIENTE DE PLÁSTICO SIN TAPA.*
- 5) Temperatura ambiente del recinto donde se elabora la cerveza y se genera el residuo bagazo para determinar condiciones donde se almacena hasta su post-procesamiento térmico o secado:  $20 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$

Verificación de los caracteres organolépticos:

Tabla 4.-

| Tiempo (h) | Bagazo húmedo             | Bagazo seco               |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0          | Aceptable                 | Aceptable                 |
| 3          | Aceptable                 | Aceptable                 |
| 6          | Leve aroma desagradable   | Leve aroma desagradable   |
| 24         | Fuerte aroma desagradable | Fuerte aroma desagradable |

## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

Teniendo en cuenta el fuerte aroma desagradable observado en la muestra a partir del tiempo 6 horas, no se realizaron los ensayos microbiológicos para las muestras (húmeda y seca) a tiempo 24 horas.

### **Método de secado de Bagazo de Cerveza para Análisis Microbiológicos:**

Se utilizó bagazo de cerveza (BSG) artesanal proporcionado por un productor local de la ciudad de Mar del Plata, Buenos Aires, proveniente de cerveza rubia (100% Pilsen).

Para el secado del BSG, el mismo fue colocado en bandejas de aluminio de 30 cm de largo por 20 cm de ancho por 4 cm de profundidad, las cuales se llenaron de manera uniforme cubriendo toda la base de cada bandeja y hasta formar una capa fina de 1 cm de altura. Las bandejas se colocaron una junto a la otra teniendo 2 bandejas por cada parrilla dentro del horno a 90°C y se dejaron hasta peso constante (tiempo 5 horas).

Análisis microbiológicos comparativos entre bagazo húmedo y seco

**Tabla 5.-**

| <b>Análisis</b>            | <b>Bagazo húmedo</b> | <b>Bagazo seco</b> |
|----------------------------|----------------------|--------------------|
| <b>Tiempo = 0 horas</b>    | <b>UFC/ g</b>        | <b>UFC/ g</b>      |
| AEROBIOS MESOFILOS TOTALES | <b>31000</b>         | <b>30</b>          |
| COLIFORMES TOTALES         | <b>&lt; 10</b>       | <b>&lt; 10</b>     |
| BACILLUS CEREUS            | <b>30</b>            | <b>&lt; 10</b>     |
| MOHOS                      | <b>&lt; 10</b>       | <b>&lt; 10</b>     |
| LEVADURAS                  | <b>&lt; 10</b>       | <b>&lt; 10</b>     |

Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco  
 en el Código Alimentario Argentino (CAA)

**Tabla 6.-**

| <b>Análisis</b>            | <b>Bagazo húmedo</b> | <b>Bagazo seco</b> |
|----------------------------|----------------------|--------------------|
| <b>Tiempo = 3 horas</b>    | <b>UFC/ g</b>        | <b>UFC/ g</b>      |
| AEROBIOS MESOFILOS TOTALES | <b>30000</b>         | <b>680</b>         |
| COLIFORMES TOTALES         | <b>&lt; 10</b>       | <b>&lt; 10</b>     |
| BACILLUS CEREUS            | <b>10</b>            | <b>30</b>          |
| MOHOS                      | <b>10</b>            | <b>10</b>          |
| LEVADURAS                  | <b>10</b>            | <b>&lt; 10</b>     |

**Tabla 7.-**

| <b>Análisis</b>            | <b>Bagazo húmedo</b> | <b>Bagazo seco</b> |
|----------------------------|----------------------|--------------------|
| <b>Tiempo = 6 horas</b>    | <b>UFC/ g</b>        | <b>UFC/ g</b>      |
| AEROBIOS MESOFILOS TOTALES | <b>20000</b>         | <b>70</b>          |
| COLIFORMES TOTALES         | <b>&lt; 10</b>       | <b>&lt; 10</b>     |
| BACILLUS CEREUS            | <b>40</b>            | <b>20</b>          |
| MOHOS                      | <b>&lt; 10</b>       | <b>&lt; 10</b>     |
| LEVADURAS                  | <b>&lt; 10</b>       | <b>&lt; 10</b>     |



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervezero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

### Conclusión

**De acuerdo al ensayo de estabilidad microbiológica detallado anteriormente se sugiere que el tiempo de almacenamiento de bagazo húmedo no sea superior a 3 horas, hasta realizar el secado o estabilización del mismo (menor a 15% de humedad BH). En las condiciones que se realizó este ensayo preliminar, tiempos superiores generan una condición organoléptica y microbiológica que podría generar un producto no apto para el consumo humano aun después de aplicar un tratamiento térmico y de deshidratación.**

Estudios microbiológicos preliminares realizados con bagazo húmedo superando un tiempo de almacenamiento de 6 horas mostraron la existencia de contaminación microbiana que al aplicar un tratamiento térmico y de deshidratación a 90 °C resultaron insuficientes para su reducción a valores aceptables. Se propone realizar estudios de mayor envergadura para conocer la estabilidad microbiológica a distintos tiempos de almacenamiento de bagazo húmedo mayor a 3 horas.



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervezero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

### **4.5 Experiencia de Secado en Baja Escala: Cinética de Deshidratación de Bagazo en Capa Fina:**

En virtud de conocer los tiempos mínimos de secado para obtener un producto estable y con un contenido de humedad menor al 15% (base húmeda) utilizando **condiciones equivalentes a las que podrían aplicarse en hornos de establecimientos de elaboración de panificados y/o hogareños** se realizó la cinética de deshidratación de bagazo en capa fina.

Se utilizó bagazo de cerveza (BSG) artesanal proporcionado por un productor local de la ciudad de Bariloche, Rio Negro proveniente de cerveza 93,5% Pale Ale y 6,5% Caramelo 30.

Se midió el contenido de humedad inicial de bagazo por diferencia de peso siguiendo las indicaciones de la norma AOAC 2010. Luego de pesar muestras que contenían entre 1-4 g se secaron en estufa con convección (102 +/- 1°C) y mediante el uso de una balanza analítica (Sartorius) se realizaba el pesaje de muestra hasta alcanzar peso constante; finalizando el experimento cuando se lograba menos de 0.001 g de variación entre dos pesadas consecutivas.

El bagazo de cerveza presentaba un contenido de humedad inicial de 75,7% (base húmeda (b.h.) (desviación estándar DE=1.27).

Para el secado del BSG, el mismo fue colocado en bandejas de aluminio de 15 cm de largo por 12 cm de ancho por 4 cm de profundidad, las cuales se llenaron de manera uniforme cubriendo toda la base de cada bandeja y hasta formar una capa fina de 1 cm de altura. Seguidamente se registró la masa de bagazo dispuesto en cada bandeja; esta masa corresponde al valor inicial que utilizamos para el seguimiento del secado (por pérdida de agua). Las bandejas se colocaron una junto a la otra teniendo 6 bandejas por cada parrilla dentro de una estufa seteada a 102 ± 1 °C. El contenido de humedad del BSG fue determinado mediante el método gravimétrico en diferentes intervalos de tiempo, tomando como tiempo inicial el momento en que se ingresó las bandejas a la estufa, hasta un tiempo final de 360 minutos.

## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)



**Figura 1.** BGS dentro de la estufa en bandejas. Registro de temperatura del proceso mediante datalogger. Bandejas conteniendo bagazo con 1cm de espesor. Bandeja con termocupla tipo T.

Se prepararon bandejas para el registro de la pérdida de masa para los diferentes tiempos de secado. Las muestras fueron pesadas en una balanza digital con un valor máximo de 100 g y un error de 0,001 g. Adicionalmente se registró la historia térmica en la estufa y en el bagazo durante el proceso de secado. Se utilizaron termocuplas tipo T (Cobre-Constantán) conectadas a un adquisidor TESTO (TESTO, Alemania), en el caso del bagazo se ubicó una termocupla en el fondo de la bandeja como se indica en la Fig. 1 c), esta ubicación se corresponde con el punto del alimento que presenta mayor contenido de humedad durante todo el proceso (por encima presenta un centímetro de espesor de bagazo).

Se presenta a continuación las cinéticas de deshidratación de bagazo, Fig. 2 Contenido de agua en base húmeda, Fig. 3 Contenido de humedad base seca, ambos en función del tiempo de proceso.

Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cerveceo Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

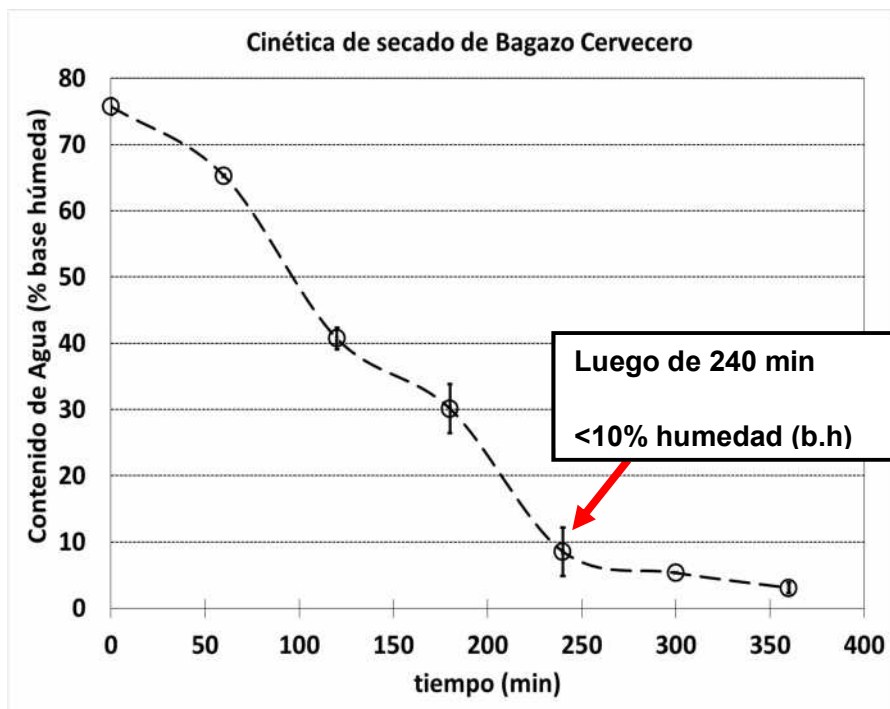


Fig. 2 Cinética de secado de bagazo cervceero humedad expresada en base húmeda.

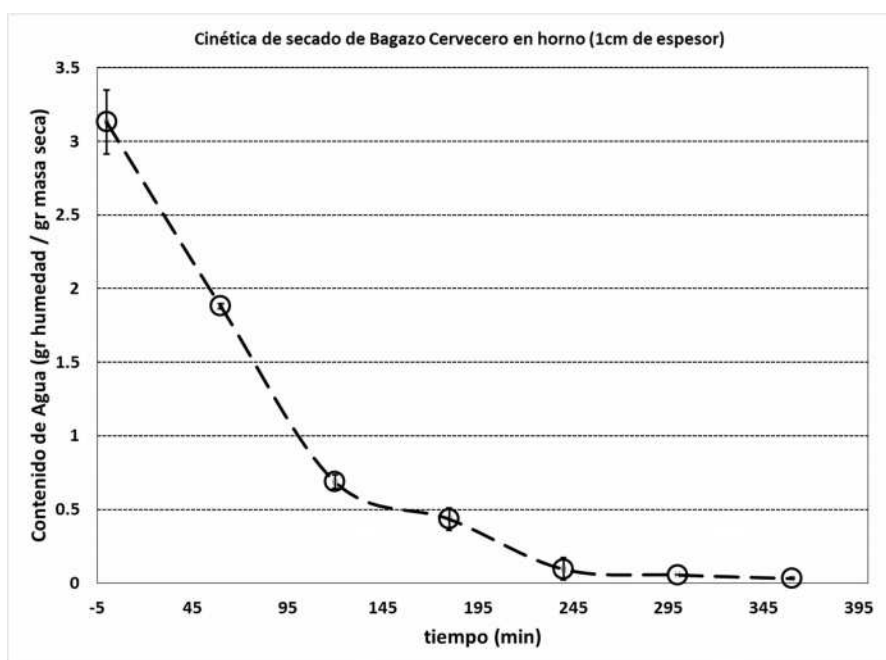


Fig. 3 Cinética de secado de bagazo cervceero humedad expresada en base seca.

## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

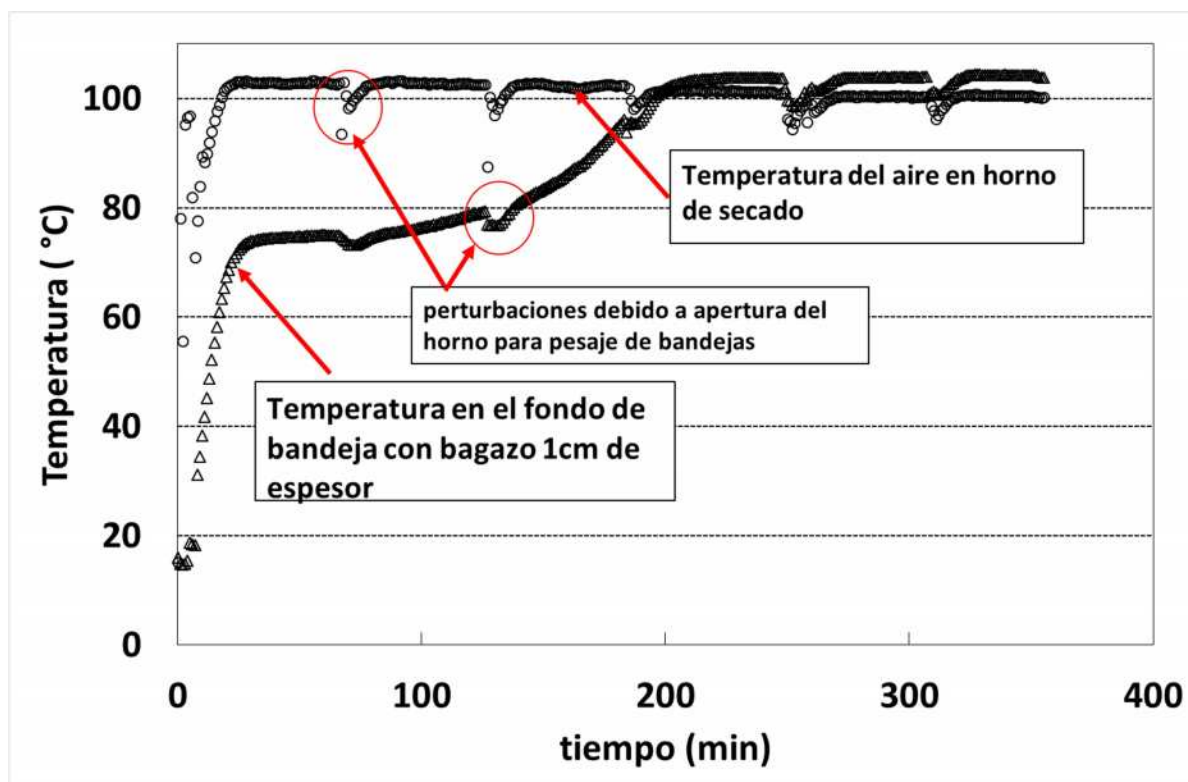


Fig. 4 Historia térmica del bagazo cervecero en la bandeja y del aire en la estufa de secado durante el proceso.

Se puede observar en la Fig. 4 que a partir de los 200 minutos la temperatura del bagazo no presenta variaciones significativas, es decir la parte inferior de la capa de bagazo (el punto más frío) alcanzó la temperatura del aire de secado y se corresponde con un valor de humedad del bagazo (b.h.) menor al 20%. El perfil de temperaturas a partir de ese tiempo es uniforme dentro de la capa de bagazo.

En base a la Fig. 3 se puede observar una zona inicial de velocidad constante de pérdida de humedad que indica que el agua migra de manera constante hacia la superficie del bagazo en la bandeja manteniendo la zona de interfase saturada de agua. La zona de velocidad decreciente comienza cuando se supera el valor crítico de humedad (alrededor del 0,6 b.s.) por debajo del cual existe un control interno de la transferencia de agua en la capa de bagazo. La velocidad de secado a partir de esta etapa depende de la capacidad de difusión del vapor de agua dentro de la capa de bagazo y de las condiciones en la interfase sólido-aire de la estufa.

A modo de comparación datos publicados por Stojceska et al. (2008) muestran que se alcanzan valores de humedad entre 5-7% (b.h.) luego de un tiempo de proceso de 4 horas en un horno con placas rotativo (marca Teknitronic, Inglaterra) utilizando una temperatura de 150 °C, la composición del bagazo seco fue de 20,30% proteína, 53,39% fibra, 8,32% lípidos and 10,76% carbohidratos.



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

**En conclusión, para procesos en baja escala donde se aplica un secado en bandeja se recomienda colocar 1 cm de bagazo húmedo de altura y aplicar un proceso de deshidratación en horno convectivo durante al menos 3 horas a 102°C o superior para lograr un contenido de humedad menor al 15 % en b.h.**



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Aivars Aboltins, Janis Palabinskis, (2015). Research In Brewer's Spent Grain Drying Process. Engineering For Rural Development, Jelgava, 20.-22.05.
- Barbosa-Canovas, G.; Fontana, A.; Schmidt, S.; Labuza, T.P. (2007). «Appendix D: Minimum Water Activity Limits for Growth of Microorganisms». *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications*. FT Blackwell Press. pp. Appendix D. ISBN 9780470376454. doi:10.1002/9780470376454.app4
- Brewers' spent grain – A new potential ingredient for functional foods. Anca Fărcaș, Maria Tofană, Sonia Socaci\*, Elena Mudura, Stăncuța Scrob, Liana Salanță, Vlad Mureșan. Faculty of Food Science and Technology, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, 3-5 Mănăștur. June 2014
- Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health (2016) Institute of Brewing and Distilling. Kieran M. Lynch, Eric J. Steffen and Elke K. Arendt\*
- Carvalho, F., Esteves, M., Parajó, J., Pereira, H., and Girio, F. (2004) Production of oligosaccharides by autohydrolysis of brewery's spent grain, *Bioresour. Technol.* 91, 93–100.
- Celus, I., Brijs, K., and Delcour, J. A. (2006) The effects of malting and mashing on barley protein extractability, *J. Cereal Sci.* 44, 203–211.
- Compendium of Microbiological Criteria for Food, Gobierno de Australia, Septiembre 2018.
- Composition and Nutrient Value Proposition of Brewers Spent Grain. Sana Ikram, LianYan Huang, Huijuan Zhang, Jing Wang, and Meng Yin. *Journal of Food Science*. Vol 82, Nr. 10, 2017.
- Esteban Torrente Sandra (2019). Aprovechamiento de los subproductos generados en la industria cervecera. <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/SANDRA%20ESTEBAN%20TORRENTE.pdf>.
- Fereidoun, Meghan den Bakker, Jye-Yin Liao, Alison S. Payton, Alexandra N. Futral and Francisco Diez-Gonzalez. *Salmonella* and Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Serogroups O45, O121, O145 in Wheat Flour: Effects of Long-Term Storage and Thermal Treatments. *Frontiers in Microbiology*. 2019. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00323>
- Fereidoun, Meghan den Bakker, Jye-Yin Liao, Alison S. Payton, Alexandra N. Futral and Francisco Diez-Gonzalez. *Salmonella* and Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Serogroups O45, O121, O145 in Wheat Flour: Effects of Long-Term Storage and Thermal Treatments. *Frontiers in Microbiology*. 2019. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00323>
- <http://www.fao.org/3/t1838e/T1838E0u.htm#Drying%20principles%20and%20general%20considerations>
- [http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B152-1985%252FCXS\\_152s.pdf](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B152-1985%252FCXS_152s.pdf)
- <https://www.fda.gov/files/food/published/Evaluation-and-Definition-of-Potentially-Hazardous-Foods.pdf>



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

- James A. Robertson, Kerry J.A. l'Anson, Janneke Treimo , Craig B. Faulds , Tim F. Brocklehurst , Vincent G.H. Eijssink , Keith W. Waldron. Profiling brewers' spent grain for composition and microbial ecology at the site of production. *LWT - Food Science and Technology* 43 (2010) 890–896
- Jay, A. J., Parker, M. L., Faulks, R., Husband, F., Wilde, P., Smith, A. C., Faulds, C. B., and Waldron, K. W. (2008) A systematic microdissection of brewers' spent grain, *J. Cereal Sci.* 47, 357–364.
- Kanauchi, O., Mitsuyama, K., and Araki, Y. (2001) Development of a functional germinated barley foodstuff from brewer's spent grain for the treatment of ulcerative colitis, *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 59, 59–62.
- Kissell, L., Prentice, N., and Lindsay, R. (1979) Protein and fiber enrichment of cookie flour with brewer's spent grain, *Cereal Chem.* 56, 261–266.
- Kyeongmin Lee, Masaki Shoda, Kiyoshi Kawai, Shigenobu Koseki. Relationship between glass transition temperature, and desiccation and heat tolerance in *Salmonella enterica*. *Plos One*. 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233638>.
- Kyeongmin Lee, Masaki Shoda, Kiyoshi Kawai, Shigenobu Koseki. Relationship between glass transition temperature, and desiccation and heat tolerance in *Salmonella enterica*. *Plos One*. 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233638>.
- Lagüénz Pérez, Sara (2018). Planta de obtención de arabinosilanos a partir de bagazo de cerveza para la formulación de alimentos funcionales. Valladolid, España.
- Lynch, K. M., Steffen, E. J. & Arendt, E. K. Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. *J. Inst. Brew.* 122, 553–568 (2016).
- McCarthy, A. L., O'Callaghan, Y. C., Connolly, A., Piggott, C. O., FitzGerald, R. J., and O'Brien, N. M. (2012) Phenolic extracts of brewers' spent grain (BSG) as functional ingredients—Assessment of their DNA protective effect against oxidant-induced DNA single strand breaks in U937 cells, *Food Chemistry* . 134, 641–646.
- McKillip JL. Prevalence and expression of enterotoxins in *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp., a literature review. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2000 May;77 (4):393-9. doi: 10.1023/a:1002706906154. PMID: 10959569.
- Meneses, N. G., Martins, S., Teixeira, J. A., and Mussatto, S. I. (2013) Influence of extraction solvents on the recovery of antioxidant phenolic compounds from brewer's spent grains, *Sep. Purif. Technol.* 108, 152–158.
- Mussatto, S. I., and Roberto, I. C. (2006) Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewer's spent grain, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 81, 268–274.
- Patrignani, M., & González-Forte, L. D. S. (2021). Characterisation of melanoidins derived from Brewers' spent grain: new insights into their structure and antioxidant activity. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(1), 384-391.



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

- Robertson, J. A., l'Anson, K. J. A., Treimo, J., Faulds, C. B., Brocklehurst, T. F., Eijsink, V. G., and Waldron, K. W. (2010). Profiling brewers' spent grain for composition and microbial ecology at the site of production, *LWT Food Sci. Technol.* 43, 890–896.
- Sánchez J, Correa M, Castañeda-Sandoval LM. *Bacillus cereus* un patógeno importante en el control microbiológico de los alimentos. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública* 34(2): 230-242. DOI: 10.17533/udea.rfnsp.v34n2a12
- Sánchez J, Correa M, Castañeda-Sandoval LM. *Bacillus cereus* un patógeno importante en el control
- Santos M., Jimenez J.J., Bartolome´ B., Gomez-Cordove´s C., del Nozal, M.J., Variability of brewers' spent grain within a brewery. *Food Chemistry* 80, 2003, pp. 17-21.
- Silva, J. P., Sousa, S., Rodrigues, J., Antunes, H., Porter, J. J., Gonçalves, I., and Ferreira-Dias, S. (2004) Adsorption of acid orange 7 dye in aqueous solutions by spent brewery grains, *Sep. Purif. Technol.* 40, 309–315.
- Steiner, J., Procopio, S., and Becker, T. (2015) Brewer's spent grain: Source of value-added polysaccharides for the food industry in reference to the health claims, *Eur. Food Res. Technol.* 241, 303–315
- Stojceska, V., Ainsworth, P., Plunkett, A., and İbanođlu, S. (2008). The recycling of brewer's processing by-product into ready-to-eat snacks using extrusion technology, *J. Cereal Sci.* 47, 469–479.
- Valverde, P. (1994). Barley spent grain and its future. *Cerveza y Malta*, 122, 7–26.
- Waters, D. M., Jacob, F., Titze, J., Arendt, E. K., and Zannini, E. (2012) Fibre, protein and mineral fortification of wheat bread through milled and fermented brewer's spent grain enrichment, *Eur. Food Res. Technol.* 235, 767–778.
- Xiros, C., Topakas, E., Katapodis, P., and Christakopoulos, P. (2008) Hydrolysis and fermentation of brewer's spent grain by *Neurospora crassa*, *Bioresour. Technol.* 99, 5427–5435.



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervezero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

### **Anexo I: Descripción de los métodos para determinaciones fisicoquímicas y microbiológicas**

#### • **Actividad acuosa ( $a_w$ ):**

La actividad acuosa ( $a_w$ ) de las muestras de bagazo de cerveza será determinada con un equipo Aqualab serie 3 (Decagon Device, Pullman, Washington, USA), previamente calibrado con soluciones salinas saturadas con actividades acuosas en el rango de interés.

#### • **Humedad:**

El contenido de humedad del bagazo de cerveza (BGS) se medirá mediante secado en estufa a  $105 \pm 1^\circ\text{C}$  hasta alcanzar peso constante. Todas las determinaciones se realizarán por triplicado. El porcentaje de humedad ( **$H(\%)$** ) se calculará mediante la ecuación (1):

$$H(\%) = \left[ \frac{(P_l - P_s)}{P_l} \right] * 100 \quad \text{Ec. 1}$$

Donde,  $P_l$  es el peso inicial del BGS secado (g) y  $P_s$  es el peso BGS seco final (g).

#### • **Determinación del contenido de Nitrógeno total:**

El contenido de proteína total de las diferentes muestras de BGS se determinará según el método de Kjeldahl (AOAC, 2010). Este método cuantifica el nitrógeno total que proviene principalmente de las proteínas y usando un factor de conversión se puede determinar el contenido total en la muestra analizada.

#### **Etapas del método:**

**Digestión:** Pesar 1 g de muestra (BGS) molida y homogeneizada y colocar en un tubo de digestión, agregar 5 de mezcla catalizadora (sulfato de sodio y sulfato de cobre (10:1)) y 15 ml de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) concentrado. Iniciar la digestión con un calentamiento suave elevando la temperatura ( $^\circ\text{C}$ ) cada 15 minutos. La digestión se llevará a cabo a una temperatura de  $400^\circ\text{C}$  durante un tiempo de 30 a 45 minutos. Posteriormente se deja enfriar la muestra a temperatura ambiente.



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

**Destilación:** en esta etapa del proceso se procederá a neutralizar cada muestra adicionando 25 ml de agua destilada a cada tubo y posteriormente destilar en un *Destilador Büchi 11-350*, se utilizara NaOH 32 % (p/v) en exceso para neutralizar el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y garantizar que el medio fuera altamente alcalino.

El amoniaco (NH<sub>3</sub>) se recogerá en ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 4% p/v), usando indicador de mortimer (16 mg Rojo de metilo y 83 mg verde de Bromocresol en 100 ml de etanol) solución rojizo claro. La destilación se realizará hasta que la solución vire al verde azul y se titulará con HCl 0.1 N previamente valorado hasta que el color vire a rojizo claro inicial. Para el blanco se procederá de la misma manera pero sin adicionar muestra. Se calculará el porcentaje (%) de proteína a partir de las siguientes ecuaciones (Ec. 2 y 3):

$$\% \text{Nitrogeno total} = \frac{(Vm - Vb) * N * 0,014}{W m} * 100 \quad \text{(Ec. 2)}$$

Dónde:

*Vm*= volumen de ácido consumido en la valoración de la muestra (ml),

*Vb*= volumen de ácido consumido para valorar el blanco (ml);

0,014 es el peso de un meq de Nitrógeno,

*W*= la masa de la muestra (g).

Para la determinación de proteína se requiere un factor empírico definido, el cual se basa en la suposición de que la proteína promedio, contiene cerca del 16 % de N por unidad de peso, para proteínas individuales varía entre el 12 y 19 % . Se utilizará 6.25 como factor empírico (F).

$$\% \text{ Proteína total} = \% N \text{ total} * F \quad \text{(Ec. 3)}$$

### **Determinación del contenido lipídico:**

El contenido lipídico de las diferentes muestras de bagazo de cerveza se determinará mediante el método de Soxhlet (AOAC, 2010); las muestras serán previamente molidas y secadas en estufa (90 °C). Se utilizará como solvente éter de petróleo (pe: 40 – 60 °C).



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

### ***Determinación del contenido de cenizas:***

El contenido de cenizas se determinará mediante la calcinación del bagazo de cerveza previamente molido y seco en mufla a 550 °C hasta cenizas blancas (AOAC, 2010). El porcentaje de ceniza se calculará por diferencia de peso inicial y final.

### ***Determinación del contenido de fibra dietaria total:***

La fibra dietaria de la muestra en estudio se determinará utilizando el equipo Velp Científica CSF6, el cual combina métodos gravimétricos con enzimáticos.

En primer lugar se pesará 1 g. de muestra en base seca (W1) por duplicado, luego se incorporará a las mismas 50 mL de buffer fosfato a pH 6,5. Posteriormente se añadirá 50 µL de la enzima  $\alpha$ -amilasa a una temperatura de 100°C durante un tiempo de 30 minutos. Las soluciones se dejarán enfriar a temperatura ambiente. Una vez que las muestras estén tibias se ajustará el pH a  $7,5 \pm 0.2$ . Inmediatamente se agregará una solución de 100 µL de proteasa a 60°C a cada una de las muestras durante nuevamente un tiempo de 30 minutos. Las soluciones se dejarán enfriar a temperatura ambiente. Se ajustará el pH de las muestras entre 4.0 y 4.6.

Posteriormente se agregará 200µL de la enzima amiloglucosidasa y se la dejará actuar durante un tiempo de 30 minutos a una temperatura de 60°C. Luego de dejar enfriar las soluciones con las respectivas muestras a temperatura ambiente, se adicionarán 280 mL de etanol al 96% v/v, y se dejará sedimentar durante un tiempo de 60 minutos.

Las muestras resultantes serán filtradas en un equipo Velp Científica CSF6 utilizando crisoles (con celite incorporado y secado a 100 °C overnight). Los residuos serán lavados con etanol 96% (3 lavados), 78% (3 lavados) y por último con acetona (2 lavados). Cada lavado se realizará durante 15 min con agitación a temperatura ambiente. Las muestras lavadas, se dejarán secar a 105°C overnight y posteriormente se dejarán enfriar en desecador y se pesarán (W2). Una de las muestras se utilizará para determinar proteína cruda por el método de Kjeldahl (AOAC, 2000) descripto anteriormente, mientras que la restante se utilizará para determinar cenizas por calcinación.



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

### ***Cálculos utilizados para determinar fibra dietaria***

$$\% \text{ FDT} = [\text{RMUESTRA} - \text{PMUESTRA} - \text{AMUESTRA} - \text{B}] / \text{PM} \times 100$$

#### **Donde:**

FDT = Fibra dietética total

R = Peso residuo promedio (g) = Peso muestra inicial (W1) – peso residuo postdigestiones (W2)

P = Peso proteína promedio en el residuo postdigestiones (g)

A = Peso cenizas promedio en el residuo postdigestiones (g)

B = Corrección por el blanco de residuo, de proteína y cenizas (g)

PM = Peso muestra inicial promedio (g)

### ***Determinación del contenido de carbohidratos***

El contenido de carbohidratos se determinará considerando la diferencia entre 100 y la suma de los porcentajes de agua, proteínas, lípidos totales, cenizas y fibra total.



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

### **ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

Se determinará el recuento de Aerobios Mesófilos Totales, Mohos y Levaduras y Coliformes como microorganismos indicadores y de presuntos *Bacillus cereus* como microorganismo patógeno.

#### **Microorganismos indicadores:**

La evaluación de la inocuidad microbiológica de los alimentos mediante la utilización de organismos indicadores es muy frecuente. El análisis microbiológico de alimentos para la búsqueda de estos microorganismos suele utilizar técnicas sencillas y accesibles que permiten evaluar:

- Excesiva contaminación de la materia prima.
- Deficiente manipulación durante el proceso de elaboración.
- La posibilidad de que existan patógenos.
- La inmediata alteración del producto.

La metodología utilizada será la metodología analítica oficial aprobada por ANMAT. Microorganismos

#### **Aerobios Mesófilos:**

En este grupo se incluyen todos los microorganismos, capaces de desarrollar en presencia de oxígeno a una temperatura comprendida entre 20°C y 45°C con una óptima entre 30°C y 40°C.

Refleja la calidad sanitaria de los productos analizados, indicando además de las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma como fueron manipulados durante su elaboración.

El recuento de Microorganismos Aerobios Mesófilos se llevará a cabo de acuerdo a lo establecido por el CAA para harina de trigo: ISO 4833:2003.

#### **Mohos y Levaduras:**

La importancia de la presencia de mohos y levaduras en los alimentos está determinada por la capacidad de producir diferentes grados de deterioro y descomposición de los mismos. Además los hongos producen metabolitos tóxicos conocidos como micotoxinas, compuestos estables que no se destruyen durante el procesamiento de alimentos, por lo que son responsables de intoxicación con consecuencias graves (cáncer, mutagénesis) en los órganos afectados. También están asociados a reacciones alérgicas e infecciones sobretudo en la población inmunocomprometida, en ancianos y niños.

El recuento de Mohos y Levaduras se llevará a cabo de acuerdo a lo establecido por el CAA para harina de trigo: ISO 21527-2:2008.

#### **Coliformes:**



## Recomendaciones para la Inclusión del Bagazo Cervecerero Seco en el Código Alimentario Argentino (CAA)

La presencia de bacterias coliformes en los alimentos no significa necesariamente que hubo una contaminación fecal o que hay patógenos entéricos presentes. Las bacterias coliformes son particularmente útiles como componentes de criterios microbiológicos para indicar contaminación post proceso térmico. Estos organismos se eliminan fácilmente por este tipo de tratamiento, por lo cual su presencia en alimentos sometidos al calor sugiere una contaminación posterior al tratamiento térmico o que éste ha sido deficiente. Esto debería generar la determinación del punto del proceso donde se produjo la contaminación. Si se obtiene un recuento elevado en alimentos que han sufrido un proceso térmico, debe considerarse que existieron fallas (ausencia o deficiencia) en la refrigeración post-cocción.

El recuento de Coliformes se llevará a cabo de acuerdo a lo establecido por el CAA para harina de trigo: ISO 4832:2006.

### **Microorganismos patógenos:**

Se realizará el recuento de presuntos *Bacillus cereus*, microorganismo patógeno productor de esporas y toxinas.

*Bacillus cereus* causa dos tipos de intoxicaciones, según la toxina involucrada: síndrome emético y síndrome diarreico. Según la cepa, producen una u otra toxina, pero hay algunas que tienen la capacidad de sintetizar las dos. El tipo de enfermedad predominante varía por regiones geográficas según la distribución de las cepas de *Bacillus cereus* y la dieta típica de cada zona.

El término “presunto” se utiliza con el fin de reconocer el hecho que la fase de confirmación no permite la distinción entre *B. cereus* y otras especies de *Bacillus* estrechamente relacionadas pero aisladas con menor frecuencia, tales como *B. anthracis*, *B. thuringiensis*, *B. weihenstephanensis*, *B. mycoides*.

NOTA: las cepas aisladas deben ser enviadas al Centro de Referencia Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas A.N.L.I.S “Dr. Carlos G. Malbrán”, para una mayor tipificación.

Actualmente, el C.A.A. exige su búsqueda en polvos o mezclas para preparar postres para helar (Art. 818 bis), en polvo para preparar helados, preparado básico para helados y similares (Art. 1079 bis), en harinas de trigo (Art. 661 bis), en comidas preparadas listas para el consumo (Art. 156 tris) y en viandas a domicilio (Art. 151).

El recuento de presuntos *Bacillus cereus* se llevará a cabo de acuerdo a lo establecido por el CAA para harina de trigo: ISO 7932:2004.