

Alberto Cendón Fernández

**ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DE LAS CERVEZAS
ARTESANALES DE “*LES CLANDESTINES DE
MONTFERRI*”: ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO,
MICROBIOLÓGICO Y SENSORIAL**

TRABAJO FINAL DE MÁSTER

Dirigido por María Jesús Torija Martínez

Máster en BEBIDAS FERMENTADAS

Facultat d'Enologia



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

**Tarragona
Septiembre de 2018**

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1. ANTECEDENTES	3
2.2. ESTADO DEL ARTE	4
3. OBJETIVOS	12
3.1. OBJETIVO GENERAL	12
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
4. METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO	13
4.1. PLAN DE TRABAJO	13
4.2. MUESTRAS A ANALIZAR	13
4.3. MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS	15
4.4. MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS.....	17
4.5. MÉTODOS SENSORIALES	21
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
6. CONCLUSIONES	30
7. BIBLIOGRAFÍA	31
8. ANEXOS	I

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no es solo fruto del esfuerzo personal, sino que necesita de la ayuda de muchas personas, tanto en lo profesional como en lo personal. Con estas líneas quisiera mostrar mi agradecimiento a todas ellas.

En primer lugar, me gustaría agradecer a mis padres, el apoyo incondicional y la confianza depositada en mí durante todos estos años, que me ha servido para seguir cumpliendo mis objetivos tanto personales como profesionales. Gracias, sin vosotros nada hubiera sido posible.

Agradecer a mi pareja el estar siempre ahí cuando la necesito, aconsejándome y dándome ánimos, ayudándome cuando lo necesitaba y soportándome todos estos meses de trabajo.

También a mi familia, y a *os meus*, los amigos que completan mi familia, los que siempre están ahí aunque las circunstancias no se lo permitan. Gracias por aguantarme y animarme siempre.

A todos mis compañeros del Máster y del trabajo, algunos de ellos amigos, con los que he compartido mis ilusiones, trabajo y esfuerzo, que consiguieron darme el afecto necesario para disfrutar del día a día mientras completaba esta etapa de mi vida.

Por último, dar las gracias a mi tutora de proyecto Maria Jesús, por todo lo aprendido de ella, tanto en el laboratorio como en clase, y por darme la oportunidad de realizar este proyecto.

Finalizo estos agradecimientos con la frase de un importante científico, químico y microbiólogo:

«En la naturaleza, el papel de lo infinitamente pequeño es infinitamente grande»

Louis Pasteur

1. RESUMEN

Castellano

Actualmente, en España está surgiendo un vertiginoso crecimiento de microcervecías, provocando la aparición de una gran multitud de marcas de cervezas artesanas, siendo Cataluña la comunidad que cuenta con más microfábricas en su territorio. Este concepto de cerveza entendida como un producto local, con identidad y de calidad ha impulsado una industria propia. Es por ello que la calidad de la cerveza que producen y sus características organolépticas se han convertido en una de las preocupaciones principales de las microcervecías.

En este trabajo se ha hecho un estudio de estabilidad de distintas cervezas elaborada en la microcervecía "*Les Clandestines de Montferri*", localidad de Tarragona. Para ello se han hecho dos tipos de estudio; por un lado se han realizado análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales de diferentes tipos de cervezas después de tres, seis y doce meses tras su almacenamiento para así comprobar su estado y calidad, y por otro lado, se han analizado cervezas elaboradas durante mi estancia en prácticas, durante el tiempo cero, uno y dos meses, analizando así su evolución físico-química, microbiológica y sensorial.

English

Currently, a rapid growth of microbreweries is emerging in Spain, causing the emergence of a large number of brands of craft beers, with Catalonia being the community with the most micro-factories in its territory. This concept of beer, understood as a local product, with identity and quality, has boosted its own industry. That is why the quality of the beer they produce and their organoleptic characteristics have become one of the main concerns of microbreweries.

In this work a stability study of different beers elaborated in the microbrewery "Les Clandestines de Montferri", Tarragona, has been carried out. For this, two types of study have been done; On the one hand, physicochemical, microbiological and sensorial analyzes of different types of beers have been carried out after three, six and twelve months after storage in order to check their status and quality, and on the other hand, beers elaborated during my stay in practices, during time zero, one and two months, thus analyzing their physicochemical, microbiological and sensorial evolutions.

2. INTRODUCCIÓN

La cerveza es un producto delicado y perecedero, y en la mayoría de los casos la encontramos en su mejor estado justo después de su elaboración, es decir, al salir de la cervecería. Por tanto significa que desde su salida, aumentan las probabilidades de que disminuya su calidad, siendo así más difícil conservarla durante su transporte y distribución. Por consiguiente, todos aquellos responsables en producir, distribuir y servir esta cerveza artesanal comparten la importancia de la realización de una buena praxis en cuanto a la conservación de esta, para mantener la cerveza en las condiciones más óptimas para su consumo.

Según la *Brewers Association*, la estabilidad de la cerveza se divide en tres categorías: la estabilidad física, afectando principalmente en la claridad, la estabilidad microbiológica, afectada por la descomposición o contaminación y la estabilidad sensorial, afectada por el sabor y el aroma. El cervecero puede conservar con mayor facilidad las dos primeras, pero pueden surgir problemas a lo largo del tiempo de traslado, distribución y servido que pueden afectar a cualquiera de ellas.

Para las estabilidades físico-químicas y microbiológicas se han realizado diversos análisis en el laboratorio y para la estabilidad sensorial se ha hecho un estudio de cata para determinar la opinión del sector no experimentado en cerveza y para comprobar la calidad de la cerveza artesanal de "*Les Clandestines de Montferri*" con el transcurso del tiempo.

2.1. ANTECEDENTES

"*Les Clandestines de Montferri*" es una microcervecería situada en la localidad de Montferri (Tarragona), en la cual se elabora cerveza siguiendo un proceso artesano y natural. A principios de 2017, esta cervecería renovó el equipo de cocción y la ubicación de elaboración, con el fin de aumentar la calidad y el volumen de producto. En la actualidad en cada lote se elaboran alrededor de 900 litros de cerveza, realizando una cocción a la semana, alcanza una producción media de 500 hectolitros anuales. Estas elaboraciones se dividen en 7 estilos de cervezas, formados por: *Pale Ale*, *Blonde Ale*, *Stout*, *Spice Ale*, *Belgian Ale*, *American Ipa*, y *Weissbier*.

Durante la estancia de prácticas, y con ayuda del tutor y maestro cervecero, se decidió realizar un estudio de la estabilidad físico-química, microbiológica y sensorial de la cerveza terminada para poder controlar mejor la calidad de sus productos con los medios técnicos disponibles tanto en la empresa como en los laboratorios de la universidad.

2.2. ESTADO DEL ARTE

La calidad de la cerveza se mide a través de un conjunto de características sensoriales, incluyendo en estas, la apariencia, el sabor, el aroma y el cuerpo. Estos indicadores de la cerveza crean un perfil sensorial específico a su marca, siendo así lo que los consumidores de esta cerveza artesanal esperan. Es importante por tanto, mantener esta calidad para ser fiel a la marca. Hay que tener en cuenta la manera en que se puede deteriorar la calidad con el tiempo, y el perfil sensorial deseado por los consumidores.

El sabor de la cerveza no es estático, se encuentra en un constante cambio. El deterioro comienza cuando se empaqueta la cerveza. Las cervezas más fuertes, como las IPA y las Imperial Stout, se diseñaron específicamente para durar más tiempo. Por ello, se debe tomar en consideración el estilo de la cerveza a la hora de analizar su estabilidad.

La composición de una cerveza (carbonatación, alcohol, lúpulo), la exposición al oxígeno y la temperatura pueden afectar la estabilidad del sabor. Esto es cierto desde la elaboración hasta el embotellado y su consumo. Los consumidores se están volviendo cada vez más educados respecto a los elementos que constituyen las notas de sabor adecuadas y la frescura de la cerveza. Pero es el cervecero quien debe dictar la vida útil, basada en una correcta comprensión de las condiciones en las que se encontraran sus cervezas en el comercio o lugar de guarda hasta su consumo.

Hay que tener en cuenta que la cerveza recoge una serie de características: el gusto, incluyendo sabor y aroma, la apariencia, incluyendo color, claridad, efervescencia y espuma (su apariencia y densidad, la elevación y la liberación de las burbujas de gas), y por último la estabilidad y claridad (ausencia de turbidez causada por mecanismos físicos o contaminación microbiana).

Los cerveceros, distribuidores y el personal de servicio deben todos tener un conocimiento previo de estas características. A excepción del envejecimiento natural de la cerveza, muchas de estas propiedades se encuentran principalmente bajo el control del cervecero pero, pueden verse afectados negativamente por una mala práctica en cualquier punto entre su salida de la cervecería y su consumo.

La estabilidad de la cerveza generalmente puede dividirse en tres categorías, analizadas en este trabajo. La estabilidad físico-química, la estabilidad microbiológica y la estabilidad sensorial.

Estabilidad físico-química: principalmente basadas en la turbidez, la oxidación, el color, el pH, la temperatura, el amargor y la densidad.

Con el paso del tiempo, la cerveza filtrada puede mostrar precipitados ligeros o geles coloidales conforme las proteínas y otros compuestos se coagulan. Las cervezas sin filtrar o con un alto contenido de lúpulo podrían ser naturalmente turbias. Esto suele estar acompañado de sabores oxidados y notas rancias. Los consumidores pueden ver a la **turbidez** como un problema de calidad en los estilos de cerveza tradicionalmente claros.

En cuanto a la **oxidación** el nivel correcto de gas carbónico en la cerveza es importante para mantener unas condiciones anaeróbicas, reduciendo posibles contaminaciones y previniendo la oxidación, ya que puede alterar las sensaciones táctiles, la volatilidad/liberación de los componentes de sabor y la percepción visual (1).

Para el **color** encontramos distintas clasificaciones, desde convencional ámbar hasta negro pasando por los marrones rojizos (2). Son varios los compuestos responsables del color en las cervezas: melanoidinas, productos de caramelización y pirólisis, polifenoles oxidados, riboflavina, carotenoides, antocianinas, clorofilas y sus productos de oxidación así como también catalizadores de la oxidación como son los iones metálicos. De ellos, la fuente primaria de color son las melanoidinas. Generadas por reacciones de pardeamiento no enzimático (reacciones de *Maillard*) durante el tratamiento térmico del malteado, la cocción, etc.

El color de las cervezas se evalúa de acuerdo a dos escalas: la *SRM (Standard Reference Method)* utilizada principalmente en Estados Unidos y la *EBC (European Brewing Convention)*

en el resto del mundo. Ambas se basan en medidas espectrofotométricas, midiendo la absorbancia de la muestra de cerveza a 430 nm (frente a un blanco que contiene agua destilada). Las dos escalas (*Figura 1*) difieren fundamentalmente en la longitud del paso de luz: la *SRM* utilizada un paso de luz de 12,7 mm mientras que en la *EBC* se emplea un paso de luz de 1 cm (*Lovibond, 2008*).

SRM/Lovibond	Example	Beer color	EBC
2	Pale lager		4
3	German Pilsener		6
4	Pilsner Urquell		8
6			12
8	Weissbier		16
10	Bass pale ale		20
13			26
17	Dark lager		33
20			39
24			47
29	Porter		57
35	Stout		69
40			79
70	Imperial stout		138

Figura 1. Escalas SRM y EBC.

Hemos de tener en cuenta también el **amargor**, ya que es uno de los cuatro sabores básicos y una característica deseable en toda cerveza. Su intensidad y calidad varía dependiendo el estilo de cerveza. El amargor en la cerveza nace como resultado de la solución de los iso- α -ácidos de los lúpulos en el mosto durante la cocción. Además de los iso- α -ácidos se pueden medir también varios productos de oxidación de los β -ácidos (lupulonas). Estas lupulonas se encuentran junto con los α -ácidos en las glándulas lupulínicas de los conos de lúpulo y, aunque tienen una importancia secundaria en la industria cervecera, influyen en el sabor de la cerveza, particularmente cuando se degradan. Los productos de degradación de las lupulonas tienden a aumentar el amargor, mientras que la degradación de los iso- α -ácidos actúa en la dirección opuesta, dando lugar a una pérdida del amargor medido, esto no afecta a la exactitud del método ya que los productos de degradación de estos ácidos no son muy amargos.

Otro de los parámetros es la **temperatura** de almacenamiento que esta afecta a la degradación de los iso- α -ácidos en productos tri- y tetra-cíclicos cuyo umbral de amargor se encuentra en un rango de 1,7 a 25,6 mg/L. En los *trans*-iso- α -ácidos aumenta rápidamente cuando la temperatura es de 40°C, decrece a 25°C y no existen cambios en un almacenamiento

de 0°C. Por otro lado, en los *cis*-iso- α -ácidos no cambia, pero puede decrecer a temperaturas de almacenamiento elevadas (40°C o más). Por tanto la relación *cis/trans* varía entre cervezas durante su almacenamiento (Caballero et al., 2012).

También se ha de valorar el **pH**, aunque el pH de la cerveza una vez terminada es estable (4,2 a 4,7) y no debería de cambiar, se pueden producir algunas variaciones si se ha producido alguna contaminación microbiana, es por tanto un indicador de esta.

Una disminución del pH en botella se puede producir por fermentaciones o transformaciones aerobias y anaerobias de algunos compuestos aun presentes en la cerveza por parte de bacterias y levaduras contaminantes, dando lugar a diversos ácidos como el propiónico, el láctico, el acético y el pirúvico. (García, 2013; Huxler, 2011). Estos subproductos tienen una gran influencia en el sabor, olor y otras características de la cerveza (Cortez, 2001).

Otra de las cosas que se ha de tener en cuenta es la **densidad**, esta indica la cantidad de azúcares en solución. El “grado Plato” es la densidad específica expresada como el peso de extracto en 100 g de solución, a la temperatura de 17’5°C (García, 2013; Huxler, 2011). La densidad final de la cerveza depende directamente de las materias primas, y de la maceración de las mismas, ya que de estas se extraen los componentes esenciales del mosto que luego se fermentan. Asimismo, la densidad final también depende de una adecuada fermentación (Pyle, R. y Thomas, D.A., 2000).

Estabilidad Microbiológica: principalmente condicionada por la contaminación microbiológica causada por levaduras silvestres, mohos y una amplia variedad de especies bacterianas silvestres que pueden ocasionar sabores indeseables (aroma y gusto), agriando la cerveza, causando un exceso de efervescencia en la cerveza, borbotones (erupción violenta de la cerveza hacia fuera de las botellas), grave turbidez y geles/partículas (biopelículas) en la cerveza.

La cerveza provee una buena fuente de nutrientes para muchos organismos (afortunadamente no patógenos, pero aun así indeseables). En realidad son pocos los microorganismos patógenos que pueden desarrollarse en el medio ácido y reductor que es una cerveza. No obstante, ciertas bacterias y hongos suelen producir alteraciones del sabor y del aspecto que pueden convertirla en imbebible. La mayoría de las alteraciones proviene de la presencia de especies Gram-positivas y negativas, capaces de crecer bajo tales condiciones inhóspitas y

estropear la cerveza. Dentro de las bacterias Gram-positivas, las bacterias ácido lácticas, son consideradas perjudiciales para la industria cervecera y son la causa de la mayoría de los incidentes de la descomposición bacteriana. Son *Lactobacillus sp.* y *Pediococcus sp.*, los cuales causan el llamado *off-flavor* (defecto del aroma y el sabor), así como turbidez y pérdida del cuerpo. Por el contrario, sólo unas pocas bacterias Gram-negativas causan el deterioro de la cerveza, generalmente pertenecientes al género *acetobacter sp.*, ocasionan el avinagramiento o picado acético. Estas alteraciones suelen ser producidas por una higienización insuficiente asociada a las etapas de elaboración, pero también al momento del embotellado. Estas bacterias se encuentran en la *Tabla 1*.

Tabla 1. Bacterias que deterioran la cerveza. (Weiss et al., 2002).

Bacterias Gram- positivas	
<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Pediococcus ssp.</i>
<i>L. brevis</i>	<i>P. damnosus</i>
<i>L. brevisimilis</i>	<i>P. pentosaceus</i>
<i>L. buchneri</i>	<i>P. inopinatus</i>
<i>L. casei</i>	
<i>L. coryneformis</i>	Micrococcus ssp.
<i>L. curvatus</i>	<i>M. kristinae</i>
<i>L. lindneri</i>	
<i>L. malefermentans</i>	
<i>L. parabuchneri</i>	
<i>L. plantarum</i>	
Bacterias Gram- negativas	
<i>Pectinatus ssp.</i>	<i>Megasphaera ssp.</i>
<i>P. cerevisiphilus</i>	<i>M. cerevisiae</i>
<i>P. frisingensis</i>	
<i>Selenomonas ssp.</i>	<i>Zymomonas ssp.</i>
<i>S. lactificex</i>	<i>Z. mobilis</i>
<i>Zymophilus ssp.</i>	
<i>Z. raffinovorans</i>	

Los responsables típicos del deterioro microbiano en la elaboración de cerveza son: *Lactobacillus plantarum*, y *Bacillus subtilis*, que puede causar turbidez y modificar el sabor de la cerveza (Deák y Beuchat, 1996). Además, también otros microorganismos deterioran la cerveza inevitablemente, a través de la formación de productos secundarios desagradables. Estos son en particular: *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus lindneri*, *Lactobacillus frigidus* y *Pediococcus damnosus*. Estos microorganismos son anaerobios, pero también pueden vivir facultativamente de forma aerotolerante.

También las levaduras pueden causar daños en la cerveza al dar lugar a problemas de fermentaciones o posfermentaciones. Las levaduras deteriorantes para la cerveza son células de levadura que aún se encuentran en la cerveza después de la filtración y levaduras *Saccharomyces* extrañas, que no deberían estar ahí y pueden causar sedimento, turbidez, compuestos alterantes y defectos de sabor, como muestra la *Figura 2*.

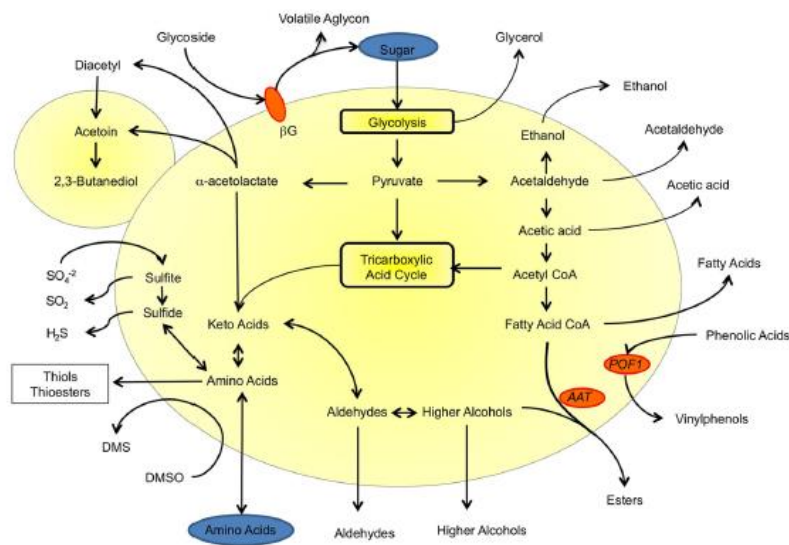


Figura 2. Actividades metabólicas de Saccharomyces que influyen en la calidad de la cerveza (Bokulich, N. A., Bamforth, C. W.)

Ciertamente, también existe el problema de la contaminación cruzada para las cervecerías que producen cervezas de fermentación espontánea, fermentación ácida o fermentación con levadura silvestres.

Las metodologías usadas en este trabajo para la detección y caracterización de los diferentes microorganismos alterantes en las cervezas son las siguientes:

- **Siembra en diferentes medios en placa**, uno genérico (*YPD*), y dos medios selectivos, uno para bacterias (*YPD* + Natamicina) y otro para bacterias (*YPD* + Cloranfenicol).
- **Microscopía óptica**, para observar su movilidad y forma.
- **La prueba de la Catalasa**, siendo esta una enzima que descompone al peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua, para así determinar el grupo de bacteria que hay, si es catalasa positiva o bien negativa. Excluyendo al género *Streptococcus*, *Clostridium* y algunos otros, la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas tienen catalasa (12).

- **La tinción de Gram**, una técnica que permite hacer diferenciaciones taxonómicas separando en dos grandes grupos de bacterias (Gram (+) y Gram (-)), según se comporten ante esta tinción. El fundamento radica en la diferente estructura de la pared celular de ambos grupos.
- Herramientas complementarias a las técnicas, como son la **PCR (Polymerase Chain Reaction) y la electroforesis**. La PCR sirve para amplificar un fragmento de ADN, su utilidad es que tras la amplificación resulta mucho más fácil identificar con una muy alta probabilidad microorganismos. Se fundamenta en la propiedad natural de los ADN polimerasas para replicar hebras de ADN, para lo cual se emplean ciclos de altas y bajas temperaturas alternadas para separar las hebras de ADN recién formadas entre sí tras cada fase de replicación y, a continuación, dejar que las hebras de ADN vuelvan a unirse para poder duplicarlas nuevamente. Para la comprobación de la PCR se utiliza la técnica de la electroforesis, que se emplea para separar moléculas basándose en propiedades como el tamaño, la forma o el punto isoeléctrico. Las bandas en diferentes carriles que se encuentran a la misma altura contienen moléculas que han atravesado el gel a la misma velocidad. Existen marcadores especiales que contienen una mezcla de moléculas de tamaño conocido. Si se hace una electroforesis de una mezcla desconocida y se agrega un carril con un determinado marcador, las bandas observadas en el marcador pueden ser comparadas con las obtenidas en la mezcla desconocida para determinar su tamaño o punto isoeléctrico y reconocer la especie de microorganismos.

Estabilidad sensorial: el sabor de la cerveza es un equilibrio extremadamente complejo de más de mil compuestos distintos. Muchos están presentes a niveles debajo o justo en el umbral sensorial (el punto en el que podemos detectarlos). Sin embargo, por medio de complejas reacciones durante el envejecimiento, ciertos compuestos presentes que imparten algunos sabores a la cerveza pueden cambiar químicamente, nuevas notas de sabor pueden ser generadas, causando numerosos defectos en el sabor o sabores indeseables en la cerveza. Los principales defectos y los compuestos químicos asociados a ellos se encuentran en el *Anexo I*.

El análisis sensorial se divide en tres fases: la fase visual, en la que principalmente podemos observar el color, la espuma y la transparencia de la cerveza, la fase olfativa, donde se puede apreciar la fuerza y la intensidad de su aroma, y por último, la fase gustativa, compuesta por sensaciones producidas por sabores característicos (13).

Investigaciones desde la década de los setenta, respecto a la estabilidad y el envejecimiento de la cerveza, condujeron a generar un perfil general para el “envejecimiento típico” de la cerveza (atribuido a *Dalgliesh, 1977*). La *Figura 3* muestra los principales cambios que suceden en la cerveza conforme envejece. No todas las cervezas envejecen de la misma manera, pero este es un perfil general que sirve como un punto de partida para comprender el momento en que la cerveza ya no sería apta para su consumo.

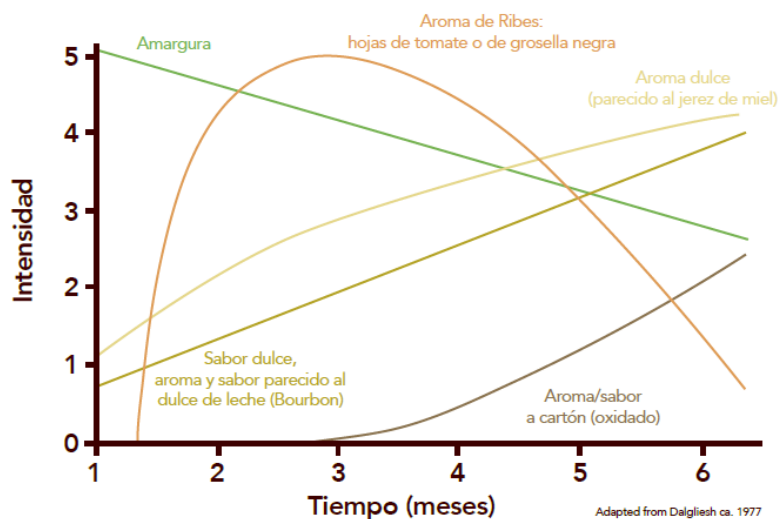


Figura 3. Esquema del envejecimiento/cambios en el sabor de la cerveza (*Dalgliesh, 1977*).

El esquema en general muestra la manera en que envejece la cerveza, los detalles son genéricos y la temporalidad debe considerarse únicamente como guía. Distintas cervezas envejecen de formas distintas y esto depende de la composición, almacenaje y manejo de las mismas.

Temperaturas más elevadas incrementan el índice de muchas reacciones químicas, incluso reacciones de oxidación que podrían involucrar directamente al oxígeno u otros oxidantes, como los iones minerales. Se pueden esperar cambios rápidos en el sabor en caso de no mantener temperaturas consistentemente bajas. A menos temperatura, la cerveza se mantendrá fresca por más tiempo.

Tres factores que generalmente ayudan a fijar la frescura de la cerveza son: niveles bajos de oxígeno, temperaturas bajas y plazos de rotación rápidos desde la cervecería hasta el vaso.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

El objetivo principal de este proyecto es el estudio de la estabilidad físico-química, microbiológica y sensorial a lo largo del tiempo de cervezas artesanales de diferentes estilos proporcionadas por la cervecería "*Les Clandestines de Montferr*".

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para poder cumplir con el objetivo general, se han fijado una serie de objetivos específicos para la realización del proyecto:

- Estudio de diferentes parámetros físico-químicos de las diferentes cervezas a analizar: turbidez, temperatura, CO₂ total, CO₂ disuelto, densidad, pH, color y amargor.
- Análisis microbiológico de las diferentes cervezas mediante técnicas clásicas (crecimiento en placa, microscopio) así como mediante técnicas moleculares de identificación de levaduras (análisis de restricción del ADN ribosomal).
- Análisis sensorial de las cervezas mediante una cata.
- Análisis de los datos obtenidos para extraer conclusiones.

4. METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO

4.1. PLAN DE TRABAJO

Para cada muestra de cerveza a analizar se realizan los diferentes análisis físico-químicos, microbiológicos y sensoriales, que se encuentran explicados en los apartados siguientes. El esquema del plan de trabajo seguido durante el proyecto se encuentra en la *Figura 4*.

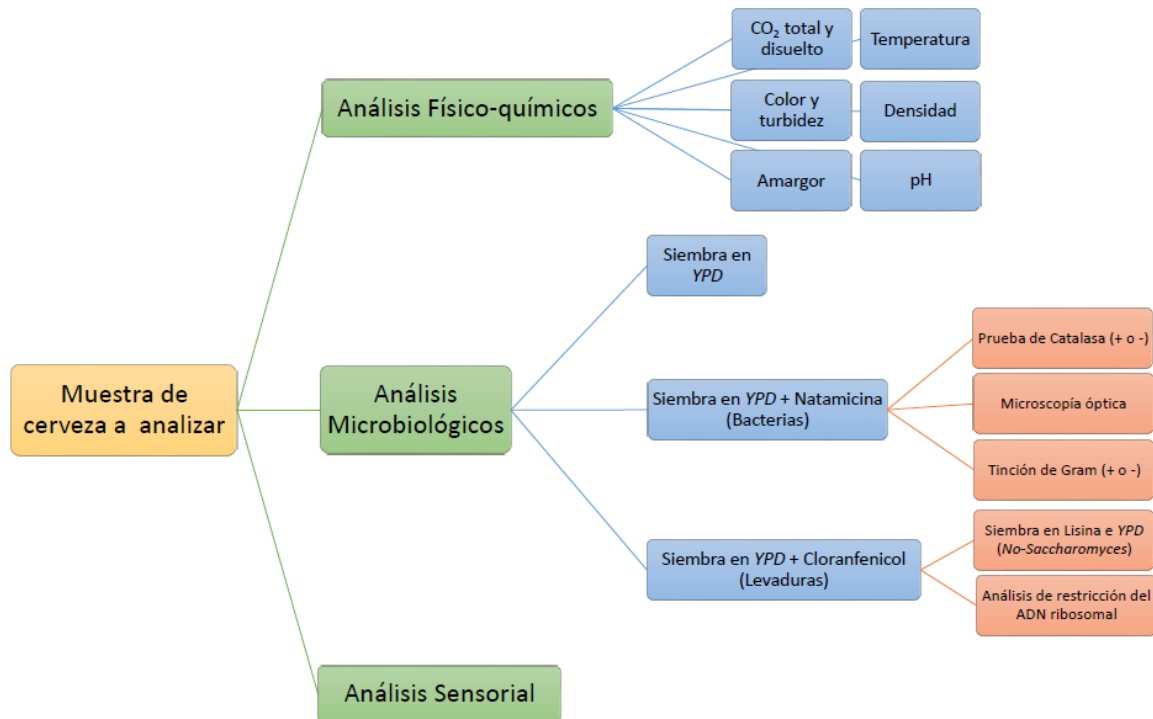


Figura 4. Plan de trabajo.

4.2. MUESTRAS A ANALIZAR

Durante la realización de este proyecto, se han llevado a cabo dos pruebas. En la primera, se han analizado tres cervezas de diferentes estilos, de cada uno de estos estilos se han analizado tres cervezas, de diferentes lotes, para comprobar su estabilidad tras haber pasado un año, seis meses y tres meses en la fecha de su apertura para analizar, y de cada una de estas tres cervezas se han analizado dos botellas del mismo lote. En total se han analizado 18 muestras, las cervezas de partida y sus características iniciales tras su producción se muestran en la *Tabla 2*.

Tabla 2. Muestras a analizar en el primer experimento.

	Muestra	Cerveza	Estilo	Alcohol	EBU	Lote	Levadura	Densidad (g/L)	pH
1 AÑO	1	4 Maltes	Pale Ale	4,50%	22	4M0117	2º Gen.	1010,0	4,28
	2								
	7	Rossa	Golden Ale	4,50%	17	RO0117	1º Gen.	1010,0	4,16
	8								
	13	Negra	Stout	5,00%	35	NE0117	5º Gen.	1013,0	4,20
14									
6 MESES	3	4 Maltes	Pale Ale	4,50%	22	4M0517	1º Gen.	1007,0	4,21
	4								
	9	Rossa	Golden Ale	4,50%	17	RO0517	2º Gen.	1013,0	4,13
	10								
	15	Negra	Stout	5,00%	35	NE0317	3º Gen.	1010,0	4,30
	16								
3 MESES	5	4 Maltes	Pale Ale	4,50%	22	4M0118	2º Gen.	1008,5	4,23
	6								
	11	Rossa	Golden Ale	4,50%	17	RO0118	3º Gen.	1008,0	4,15
	12								
	17	Negra	Stout	5,00%	35	NE0118	2º Gen.	1012,5	4,20
	18								

En la segunda prueba, se han analizado cuatro cervezas de diferentes estilos, de cada uno de estos estilos se han analizado tres cervezas, de los mismos lotes, para comprobar su estabilidad tras ser producidas en las prácticas, tras haber pasado uno y dos meses de su elaboración. En total se han analizado 12 muestras, las cervezas de partida y sus características se muestran en la *Tabla 3*.

Tabla 3. Muestras a analizar en el segundo experimento.

Tiempo	Muestra	Cerveza	Estilo	Alcohol	EBU	Lote	Levadura	Densidad (g/L)	pH
MES 0	19	Farigola	Spice Ale	4,50%	22	FA0218	1º Gen.	1010,0	4,53
MES 1	20								
MES 2	21								
MES 0	22	4 Maltes	Pale Ale	4,50%	22	4M0218	2º Gen.	1009,2	4,45
MES 1	23								
MES 2	24								
MES 0	25	Espelta	Weissbier	4,50%	15	ES0118	1º Gen.	1008,0	4,14
MES 1	26								
MES 2	27								
MES 0	28	Gaiánada 1921	IPA	7,50%	45	GA330218	4º Gen.	1008,5	4,60
MES 1	29								
MES 2	30								

En total se han analizado 30 muestras de diferentes cervezas a las cuales se les han realizado los análisis físico-químicos, microbiológicos y sensoriales que se mencionan a continuación.

4.3. MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS

El primero de los análisis realizados a las muestras de cerveza en este estudio es el físico-químico. En primer lugar, se realiza la medida del dióxido de carbono total y disuelto, ya que para el resto de parámetros a medir será necesario la descarbonatación de la cerveza mediante la aplicación de vacío en un matraz kitasato provocando la salida del gas carbónico, para evitar cualquier posible interferencia en las medidas realizadas de los diferentes parámetros a analizar. Además de esto, para la medida del dióxido de carbono total y disuelto no será necesario la apertura de la botella, ya que el aparato de medición del CO₂ en botella es no invasivo.

Para realizar la medida del CO₂ total y disuelto se coloca la botella cerrada en el aparato de medición de CO₂, situando el cuello de la botella a la altura por la que será atravesado el láser para realizar la medida. Este aparato permite una medida rápida y sin perder la muestra. Tiene un rango de medición de 0-10 Vol./0-20 g/L CO₂, una precisión de +/- 0,025 Vol./0,05 g/L, una reproducibilidad de +/- 0,01 Vol./0,02 g/L y un tiempo de medición de 1 minuto.

Para el resto de parámetros a medir se abren las botellas de cerveza y se descarbonatan antes de la toma de medidas, se toman tres medidas para cada muestra, a las cuales se les hace la media y la desviación estándar que finalmente se muestran en las tablas de resultados de los anexos.

Para la medida del pH y la temperatura se utiliza un pH-metro BASIC 20+ CRISON donde a una pequeña cantidad de muestra a analizar en un matraz se le introducen el electrodo y la sonda de temperatura (Pt 1000) y se espera hasta que se estabilizan los valores en pantalla. La resolución para el pH es de 0,01 y para la temperatura de 0,1 °C, el error en la medida (\pm un dígito) es de 0,01 de pH y \leq 0,2 °C y una reproducibilidad (\pm un dígito) de \pm 0,01 de pH y de \pm 0,1 °C.

Mediante un densímetro digital portátil METTLER TOLEDO DENSITO 30PX se realiza la toma de medidas de la densidad, el propio densímetro coge mediante su manejo manual la muestra de cerveza a analizar y muestra en pantalla la densidad y la temperatura medida. El rango de medida va de 0 a 2 g/cm³ y de 0 a 40°C, tiene una resolución de 0,0001 g/cm³ y de \pm 0,1°C y una precisión de \pm 0,001 g/cm³.

Las medidas de color y amargor se realizan mediante el uso de un espectrofotómetro de UV-Vis GENESYS 10S, con una exactitud de longitud de onda de ± 1 nm, un intervalo de longitud de onda de 190 a 1100 nm y una reproducibilidad de longitud de onda de $\pm 0,5$ nm.

El método utilizado para la medida del amargor fue el propuesto por el equipo de *A. B. Moltke* y *M. Meilgaard*, que desarrolló una ecuación por regresión lineal para el amargor percibido en función de las medidas espectrofotométricas realizadas por él. En los 10 años siguientes, el *European Brewing Congress (EBC)* y la *American Society of Brewing Chemists (ASBC)* trabajaron sobre este método para desarrollar finalmente, en 1968, la ecuación que aún hoy se sigue utilizando para la determinación del amargor:

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

En la que Abs_{275nm} es la absorbancia del extracto a 275 nm. El coeficiente 50 (redondeado del valor correcto 51,2) relaciona la pendiente de la correlación y la relación de disolvente utilizado.

El procedimiento es el siguiente, se enfría la cerveza descarbonatada hasta 10°C y se coge con una pipeta 10 mL, se pasan a un tubo de centrifuga de 50 mL y se añade 1 gota de octanol y 1 mL de HCl (3N). La adición de HCl asegura la protonación de los compuestos ácidos lo que aumenta su hidrofobicidad y favorece su extracción al disolvente orgánico. Seguidamente se añaden 20 mL de isooctano y se agita vigorosamente. Se deja reposar la mezcla y se espera a que se separen las dos fases. Si no hay una buena separación de fases (formación de emulsiones), se centrifuga la mezcla. Con una pipeta, se coge un volumen suficiente de la fase superior (orgánica, menos densa) para llenar una cubeta de 10 mm de paso (vigilando que no queden burbujas de aire en el interior de la cubeta). Se determina su absorbancia a 275 nm, longitud de onda a la cual se absorben varias especies que dan amargor a la cerveza, midiendo como 0 de absorbancia (blanco) la solución de isooctano (20 ml) con 1 gota de octanol.

Para el color, el método utilizado tiene el siguiente procedimiento, primero se observa si la cerveza muestra turbidez, si tiene, se elimina de la cerveza descarbonatada, ya que podría dar lugar a resultados erróneos, mediante un filtro estéril de un solo uso de 0,45 micras. Las muestras se miden en una cubeta de 10 mm de paso (llena y sin burbujas) y se analiza la absorbancia a 430 nm en el espectrofotómetro. Si la medida de absorbancia es superior a 0,8 se diluye la muestra (con agua destilada) hasta obtener un valor de absorbancia entre 0,1 y

0,8. El valor de *EBC* de la muestra se obtiene por la fórmula donde *f* corresponde al factor de dilución:

$$EBC = f \times A_{430nm} \times 25$$

La absorbancia *SRM* se multiplica por 10 para obtener el valor *SRM* (algunas veces se expresa como grados *Lovibond*, °L), mientras que la absorbancia *EBC*, usada en este caso, se multiplica por 25 para obtener el valor *EBC*. Ya que ambos métodos se mide a 430 nm, es posible hacer una conversión a valores simplemente teniendo en cuenta las diferencias de paso de luz. Así, en la práctica, el color *EBC* es aproximadamente 1,97 veces el color *SRM*.

4.4. MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS

Para la realización de los análisis microbiológicos, se comenzó con un recuento de microorganismos viables para poder determinar el número de células viables por mL, se realizaron diluciones decimales seriadas y se sembraron las diluciones adecuadas en un medio sólido. El principio se basa es que cada célula viable produce una colonia en el medio de cultivo (medidas en unidades formadoras de colonia (UFC/mL)). Generalmente las diluciones que se han de sembrar son aquéllas en las que la recuperación de colonias en placa es de entre 30 y 300. El esquema de cómo se realizaron las diluciones se encuentra representado en la *Figura 5*.

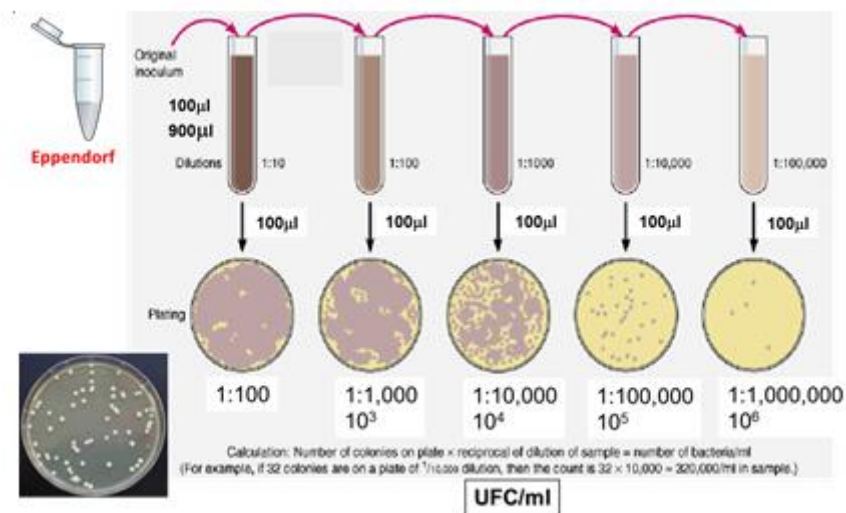


Figura 5. Esquema de diluciones seriadas.

Cada vez que se realizan las diluciones se agita vigorosamente para diluir las células y el proceso se repite cuantas veces sea necesario. A continuación, las muestras diluidas se siembran directamente en la superficie de la placa de agar, extendiéndolas con ayuda de un asa de *Digrafsky* de cristal estéril o perlas de vidrio estériles. La suspensión se absorbe en el agar, dejando las células microbianas sobre la superficie. Las placas se incuban hasta la aparición de las colonias y finalmente se cuentan. El número de unidades formadoras de colonia o UFC/mL de la muestra original será:

$$\text{Número de UFC/mL} = \text{Número de colonias} \times \text{factor de dilución}$$

Los medios de cultivo utilizados fueron tanto genéricos, donde crecen todos los microorganismos presentes en la muestra, para poder comprobar en un primer momento el tipo de microbiota total presente en las muestras de cerveza, como selectivos, donde se selecciona algún tipo de microorganismo, inhibiendo el crecimiento del resto mediante la adición de un antibiótico, un antifúngico etc., así se podrá diferenciar la microbiota de las muestras de cerveza, y dependiendo de si son levaduras o bacterias se procederá a realizar diferentes métodos microbiológicos para poder llegar concluir de qué tipo de microorganismos se trata y de que parte del proceso ha podido proceder la contaminación.

Medios genéricos utilizados:

- Medio *YEPD* (*Yeast Extracte Peptone Dextrose*): compuesto de 2% (p/v) de Glucosa, 2% (p/v) de Peptona, 1% (p/v) de Extracto de levadura y 2% (p/v) g de Agar.

Medios selectivos utilizados:

- Medio *YPD* + Cloranfenicol (100 mg/L): medio selectivo para levaduras.
- Medio *YPD* + Natamicina (100 mg/L): medio selectivo para bacterias.

Una vez realizadas las siembras en placa y su correspondiente conteo, se observa si lo que han crecido son bacterias o levaduras, según su aparición o no en los medios selectivos mencionados, y para cada placa de cada muestra se seleccionaron y se aislaron en otra placa algunas colonias (10-20) de microorganismos, mediante el uso de palillos esterilizados y siempre trabajando cerca de la llama, a las que se les aplicará unos métodos u otros, dependiendo de si son bacterias o levaduras, que se explican a continuación.

Si la muestra de cerveza ha dado positivo en crecimiento de bacterias, lo primero que se hace es una observación a microscopio óptico (MOTIC), para ello se realiza una preparación en fresco, usada normalmente para la observación de la movilidad de los microorganismos, esta consiste en suspender una gota, tomada directamente de la muestra, sobre un portaobjetos y cubriéndola, sin formar burbujas de aire, con un portaobjetos, observando al microscopio el contraste de fases.

Tras esto, se utilizan dos métodos para conocer algunas características de las bacterias encontradas y así poder aproximarse más a la especie y subespecie.

- Prueba de la catalasa: el procedimiento es el siguiente, se coloca la muestra en un portaobjetos y se le añaden 2-3 gotas de solución de peróxido de hidrógeno, si se generan burbujas será catalasa (+), por el contrario, si no sucede nada será catalasa (-).
- Tinción de Gram: el procedimiento es el siguiente, extensión de la muestra, fijación en el portaobjetos, Cristal violeta (1-2 minutos), tirar el exceso de colorante, añadir Lugol (1 minuto), decolorar con etanol (20 segundos), esto arrastrará al colorante solo en las Gram (-) mientras que las Gram (+) continuarán azules, se lava con agua, añadir Safranina (colorante de contraste para poder observarlas, 1 minuto), lavar con agua, secar, y finalmente, observar al microscopio.

Además de estos procedimientos, para poder saber si las bacterias son acéticas o no, ya que suele ser un tipo de contaminación típica en cervecería, se sembraron en placa en un medio selectivo utilizando el mismo procedimiento que para las primeras siembras. En este caso, el medio utilizado es:

- Medio *GYC (Glucose Yeast Carbonate)*: medio selectivo para bacterias acéticas, compuesto por 5% (p/v) de Glucosa, 1% (p/v) de Extracto de levadura, 2% (p/v) de Carbonato cálcico, 1,5% (p/v) de Agar bacteriológico y 100 mg de Natamicina.

Si la muestra de cerveza ha dado positivo en crecimiento de levaduras, lo primero que se hace es una siembra en placa en un medio selectivo utilizando el mismo procedimiento que en las primeras siembras, sembrando a la vez en un medio YPD y en un medio Lisina, para ver en cuál de los dos medios crecen mejor las colonias de levaduras, si crecen mejor en el medio Lisina nos indicará que las levaduras son *No-Saccharomyces*. La composición del medio utilizado es el siguiente:

- Medio Agar Lisina: medio selectivo para *No-Saccharomyces*, compuesto por 1,175% (p/v) de *Yeast carbon base*, 0,25% (p/v) de Lisina.HCl y 2% (p/v) de Agar bacteriológico.

Tras esta siembra se realiza un análisis de restricción del ADN ribosomal, empezando por la realización de una *PCR* a partir de colonia, previa incubación a 95°C durante 10 minutos para romper las células y, poder así, facilitar la amplificación por *PCR*. Por tanto, la identificación de las diferentes especies de levaduras se realizó siguiendo el protocolo descrito por *Esteve-Zarzoso et al.*, 1999. El procedimiento para la amplificación de la zona 5,8s del *rDNA* mediante la reacción en cadena de la polimerasa es el siguiente, se prepara la muestra 50 µL en total, 5 µL de tampón *Taq* 10x, 3 µL de Sol. MgCl₂ (50 mM), oligonucleótidos: 1 µL de *ITS1* (conc. final 10 pM) y 1 µL de *ITS4* (conc. final 10 pM), 4 µL de *dNTPs* (*Boehringer Mannheim*) de una mezcla que contiene los 4 (*dATP*, *dCTP*, *dTTP* y *dGTP*) a una concentración de 10 mM, 2 µL de ADN directo de colonia y 1 µL de *Taq* polimerasa, finalmente se añade agua Milli-Q esteril hasta el volumen final deseado, finalmente los tubos se introducen en el termociclador. Por tanto, todo el proceso de la *PCR* está automatizado mediante el termociclador, que permite calentar y enfriar los tubos de reacción para controlar la temperatura necesaria para cada etapa de la reacción. Las etapas y temperaturas aplicadas se encuentran en la *Figura 6*.

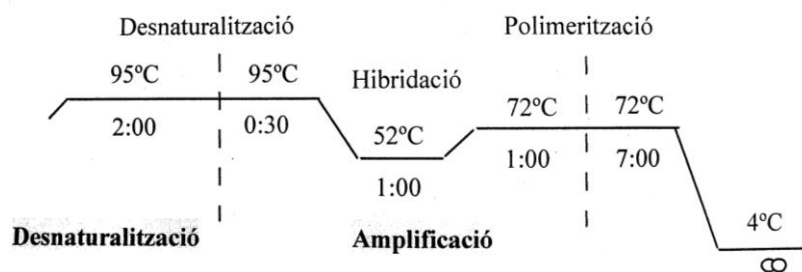


Figura 6. Etapas, temperaturas y tiempos en un termociclador.

Tras la *PCR* se realiza la comprobación del amplificado utilizando el método de la electroforesis. En el procedimiento utilizado se realiza una electroforesis horizontal en un gel al 1,2% (p/v) de agarosa *multipurpose* en tampón de migración 1xTBE. En este gel, se cargan 10 µL de ADN amplificado previamente por *PCR* al cual se le añaden 2 µL de colorante azul de bromofenol (diluido ½) y se utilizan 5 µL del *DNA Ladder* de 100 pb como marcador de peso molecular. Este gel se somete a un voltaje de entre 80-90V durante una hora, teniendo en cuenta que la dirección de migración de las muestras es del electrodo negativo al positivo. Importante a la hora de realizar este procedimiento tener cuidado con la acrilamida, que en contraste con la poliacrilamida, es una neurotoxina y debe ser manipulada con precaución, y el

bromuro de etidio que tiene un poderoso efecto mutágeno y, posiblemente puede ser cancerígeno o teratógeno, por ello se deben de cumplir todas las normas y procedimientos de manipulación de estos compuestos en el laboratorio.

4.5. MÉTODOS SENSORIALES

El análisis sensorial es importante, ya que de esta forma se podrá conocer cómo se encuentra la cerveza, es decir su estado y calidad después de un tiempo. Esta calidad será valorada a través de las opiniones de personas sin experiencia previa ni conocimientos en cerveza.

En el análisis sensorial se ha utilizado la metodología cualitativa como forma subjetiva de respuesta de los participantes, y metodología cuantitativa, en concreto, una investigación analítica, pasando así los resultados obtenidos a gráficos que plasmen las respuestas evaluadas de la muestra (14).

La elección de la población se debe al alcance cercano de los individuos, en concreto una muestra de 10 participantes.

- **Criterios de inclusión:** Individuos sin conocimientos previos de la materia, consumidores de cerveza y sin establecer una edad como criterio excluyente.
- **Criterios de exclusión:** Individuos de mi propio máster ya que tienen adquiridos los conocimientos y saldría de esta manera un resultado alterado.

El método utilizado ha sido a través de una cata, reuniendo así el grupo de personas, con las diferentes cervezas, sin ver el nombre de estas ni saber la fecha de elaboración, y a través de preguntas, previamente escritas en una ficha de cata, y escalas (como por ejemplo para el color), redactar las distintas opiniones de cada uno de ellos.

Este análisis sensorial está basado en distintos lotes y estilos de cervezas (*4 Maltas, Rossa, Negra, Farigola, Espelta y Gaianada 1921*) durante distintos periodos de tiempo.

Para las preguntas de la cata se han extraído del "*Manual de degustación y evolución de la cerveza*" recogidas de la ficha de catas. De las preguntas se han realizado las siguientes:

A. Inspección visual

- ¿De qué color es la cerveza? Con una escala visual valorando el color de la cerveza en EBC.
- ¿Es transparente o presenta turbidez? Valorando la transparencia o no basada en la opinión de los individuos.
- ¿Cómo es la espuma? Basado en la persistencia de esta.

B. Olfacción

- ¿Qué es lo primero que ha oído? En el primer olor causante de esto, para ello se ha ayudado de una tabla como método básico para encaminar al individuo del olor percibido. Los grupos percibidos se agruparan en: panificación, vegetal, fermento y otros. Estos irán del 1 al 6 dependiendo la intensidad.

C. Cata en boca

- Aromas en boca percibidos, siguiendo también una guía como la anterior.
- Gustos en boca, intentando buscar de esta forma los cuatro sabores básicos, amargor, (que este también puede manifestar sequedad) dulzor, salado y ácido. Irá dirigido con un ++, + o - dependiendo el valor de intensidad que se le de cada uno de estos sabores.

Córrpora: siendo las sensaciones de tacto dentro de la boca, valorando el cuerpo, la astringencia, la efervescencia y el calor (alcohol). Se valora en ++, + o - dependiendo la intensidad.

Tras esto se han realizado unas breves cuestiones sobre persistencia, retorno, equilibrio, complejidad y apreciaciones generales y personales, basándose esta última en los gustos y opiniones propias de cada catador.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como ya se ha mencionado en apartados anteriores se han realizado dos experimentos; en el primer experimento se han analizado diferentes tipos de cervezas después de tres, seis y doce meses tras su almacenamiento para así comprobar su estado y calidad; y en el segundo experimento se han analizado cervezas elaboradas durante mi estancia en prácticas, durante el tiempo cero, uno y dos meses, analizando así su evolución físico-química, microbiológica y sensorial. Los resultados obtenidos en los diferentes análisis se encuentran en los *Anexos 2, 3 y 4* con sus medias y desviaciones estándar.

Resultados de los Análisis Físico-químicos

Los resultados obtenidos de CO₂ total y disuelto en la cerveza han variado mucho entre unas botellas y otras, ya que la embotelladora utilizada en la microcervecería no tiene un control del CO₂ que ingresa en cada una, y además, se pierde parte del CO₂ que la embotelladora aporta ya que las botellas se sacan manualmente de la embotelladora para chapar las cervezas también manualmente, por lo que este parámetro medido no es comparable entre botellas, pero junto con otros nos valdrá para sacar conclusiones de si había o no condiciones aerobias o anaerobias que permitieran el crecimiento de algún microorganismo no deseado en las cervezas.

Primer experimento

En este primer experimento, los parámetros medidos no son comparables entre cervezas ya que las cervezas antiguas de las que se disponía eran de lotes diferentes, lo que sí nos permite observar la evolución de sus parámetros comparándolos con los que tenía en el momento de su embotellado.

Por lo general, todas las cervezas han mostrado una disminución de pH y de densidad con el tiempo, lo que era de esperar en un primer momento, ya que las pocas levaduras que pudieran quedar en las botellas acabarían de fermentar los escasos nutrientes disminuyendo la densidad, y además, las levaduras y otros microorganismos que pudieran estar también ayudarían a la disminución del pH, mediante la producción de diversos ácidos.

En cuanto, al amargor y al color, cabría esperar una disminución del amargor con el tiempo y con el aumento de la temperatura y un aumento en la escala *EBC* del color a tonalidades más oscuras por la posible turbidez y precipitados a lo largo del tiempo. Realmente los datos obtenidos de amargor medido en *EBU* han variado mucho de unos lotes a otros con respecto al valor inicial, esto puede ser debido a las diferentes elaboraciones que se hayan hecho con diferentes lúpulos o mezclas de los mismos, modificando la cantidad de α -ácidos finales, o a errores humanos a la hora de realizar las medidas. El color, en general, sí que ha dado valores coherentes con el color correspondiente al estilo de la cerveza, aunque en este caso han ido a colores de valores más bajos de la escala *EBC*, siendo así tonos más claros que originalmente.

Segundo experimento

En este segundo experimento, los parámetros sí que son comparables, ya que las cervezas del mismo estilo pertenecen al mismo lote y han sido elaboradas durante las prácticas, por lo que se han podido medir estos parámetros en el momento de recién embotelladas y tras haber transcurrido uno y dos meses de su elaboración.

En este análisis de los resultados se ha podido observar que todos los parámetros analizados (*EBC*, *EBU*, pH, Densidad) disminuían con el tiempo para las cuatro cervezas analizadas de diferentes estilos y con diferentes recetas de elaboración. Los resultados obtenidos se encuentran en el *Anexo 2* y se encuentran representados en la siguiente *Figura 7*, para poder observar visualmente la tendencia decreciente los parámetros.

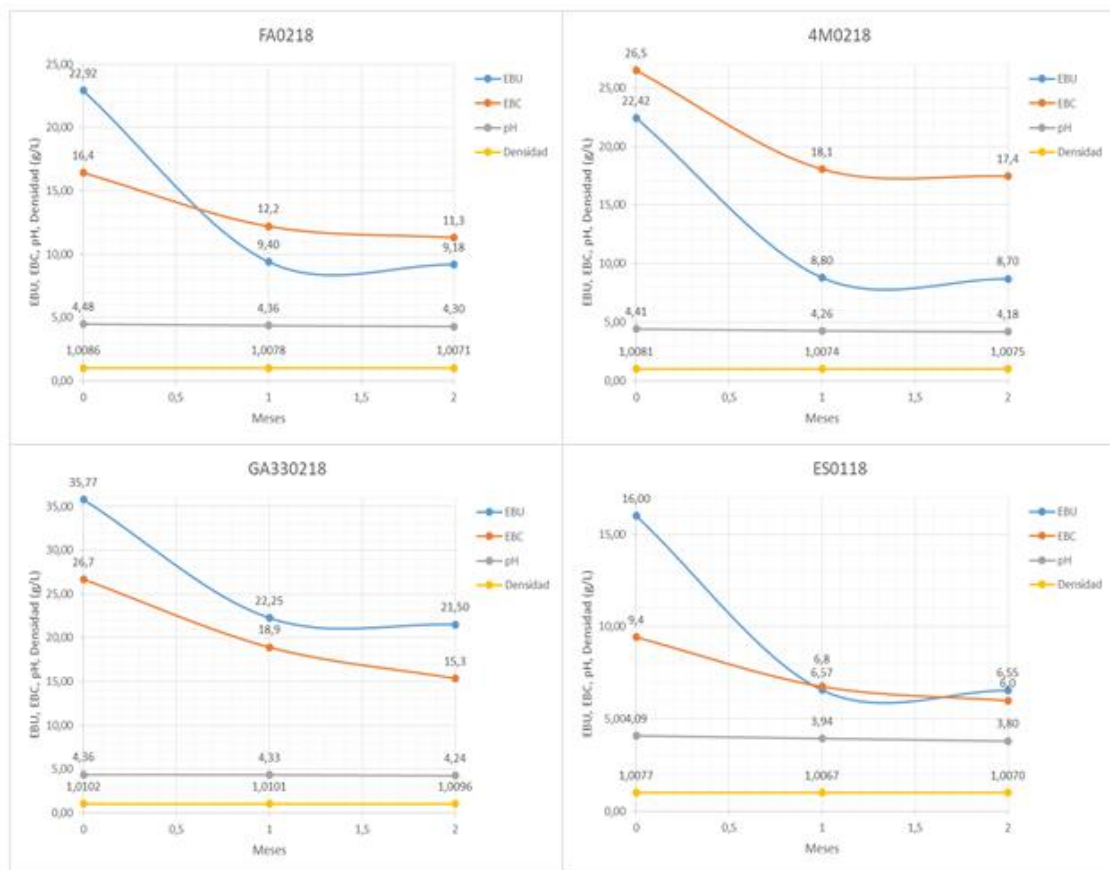


Figura 7. Representación de los resultados obtenidos de EBU, EBC, pH y densidad de las cervezas FA0218, 4M0218, GA330218 y ES0118.

Resultados de los Análisis Microbiológicos

Primer experimento

Los resultados del recuento de células viables por mililitro en placas con diferentes medios de cultivo se encuentran en el *Anexo 3*. En el caso de la cerveza *4Maltes*, ha mostrado un alto crecimiento de levaduras, excepto en la cerveza elaborada hacía 3 meses; mostró también muy poco crecimiento en bacterias, siendo el mayor número de colonias 70 alcanzado en la elaborada hacía 1 año. La cerveza *Rossa*, por el contrario, mostro el mayor crecimiento de levaduras en placa en la elaborada hacía 6 meses y un crecimiento bacteriano prácticamente nulo. La *Negre* fue la que mostró mayor crecimiento total y de levaduras de todas, especialmente en la elaborada hacía 6 meses, al igual que el anterior mostro un crecimiento bacteriano prácticamente nulo.

El resto de resultados, correspondientes con las distintas pruebas realizadas se muestran en el *Anexo 3*. Para aquellas muestras de cerveza que mostraron crecimiento bacteriano, se sembraron en medio *GYC* para ver si eran bacterias acéticas, solo una de las muestras de la 4M0117, de la 4M0517 y de la RO0117 dieron un crecimiento abundante en este medio. Además, se realizaron las pruebas de la catalasa y la tinción de Gram para aquellas muestras que también mostraron crecimiento de bacterias. Las tres cervezas que mostraron crecimiento en *GYC* dieron positivo en la prueba de la catalasa y mostraron ser Gram (-), lo que todo lleva a indicar que eran bacterias acéticas, tolerantes a la acidez del medio, aerobias estrictas y que transforman el etanol en ácido acético. Estas bacterias pueden haberse introducido en el momento del embotellado, etapa crítica en el proceso, donde la cerveza entra en contacto con el ambiente y puede llegar a oxigenarse. Para aquellas muestras de cerveza que mostraron crecimiento de levaduras, se sembraron en medio Agar Lisina para saber si eran *No-Saccharomyces*, algunas muestras presentaron un leve crecimiento en este medio, nada concluyente, por ello se sometieron a un análisis de restricción del ADN ribosomal, cuyo resultado se muestra en el *Anexo 2*, junto con las muestras analizadas recogidas en una tabla para cada electroforesis. En la primera electroforesis reveló que las muestras correspondientes a GA330218, que se encontraban en los pocillos 3, 4 y 5, corrían en el gel hasta más o menos la altura de los 850 pb, cerca de los 880 correspondientes a la especie *Saccharomyces cerevisiae* y a los 800 de *Torulaspota delbrueckii*, concluyendo que se trataban de *Saccharomyces cerevisiae*, inoculadas a la cerveza inicial y que habían permanecido aun en la botella. El resto de muestras analizadas con este método, corrieron el gel por completo, por ello se repitieron en una segunda *PCR* y electroforesis, que tampoco permitió sacar conclusiones bajo estos métodos, ya que no se visualizaban bien, por culpa o del revelado o de una mala praxis a la hora de preparar el gel y el cargado de muestras.

Segundo experimento

Los resultados del recuento de células viables por mililitro en placas con diferentes medios de cultivo se encuentran en el *Anexo 2*. En este caso, todas las cervezas analizadas mostraron una gran cantidad de crecimiento en placa de microorganismos totales, incluso en algunos casos tantos que fueron imposibles de contar, mayoritariamente levaduras, mostrando un decrecimiento de estas a lo largo de los meses analizados. Las que mostraron contaminación bacteriana fueron la FA0218, cuya contaminación se mantuvo con los análisis en los meses posteriores, y la GA330218 que mostro contaminación bacteriana en un primer análisis pero fue desapareciendo con los meses hasta llegar a ser nulo en el segundo mes.

El resto de resultados, correspondientes con las distintas pruebas realizadas se muestran en el *Anexo 2*. Para aquellas muestras de cerveza que mostraron crecimiento bacteriano, se sembraron en medio *GYC*, siendo la FA0218 la que mostro un total crecimiento en este medio, seguida de la 4M0218 que mostro un alto crecimiento en este medio, el resto de muestras mostraron poco crecimiento. Al igual que en el primer experimento, las que mostraron crecimiento en *GYC* resultaron ser catalasas positivas y Gram (-), por tanto bacterias acéticas. En cambio, las bacterias de la GA330218, resultaron ser catalasas positivas y Gram (+), posiblemente bacterias lácticas, anaerobias facultativas, típicas en contaminaciones a cervezas. Para aquellas muestras de cerveza que mostraron crecimiento de levaduras, se sembraron en medio Agar Lisina, algunas muestras presentaron un leve crecimiento en este medio y la GA330218 mostro un crecimiento elevado, lo que indicaría que posiblemente sean levaduras *No-Saccharomyces*. Las levaduras de estas colonias se someten, junto con las del primer experimento a un análisis de restricción del ADN ribosomal, que se muestra en el *Anexo 2*, en la tercera electroforesis realizada, donde se cargaron 19 muestras (recogidas en la tabla del mismo anexo) pertenecientes a ambos experimentos, en esta última prueba sí que se mostraron las bandas correspondientes a las 11 primeras muestras, que confirmaron al igual que en la primera electroforesis que las bandas se encontraban en la zona correspondiente a *Saccharomyces cerevisiae*.

Resultados de los Análisis Sensoriales

Primer experimento:

4M0117

Según la media de los resultados la cerveza de hacía un año huele claramente a malta, el lúpulo no se nota y puede que haya algunas notas de fermento, es dulce y bastante ácida, los catadores han encontrado defectos de sabor a viejo, a cerrado, a armario, a polvo, a madera, etc., han coincidido de que es bebible pero no repetirían, no les gusta como apreciación personal y han detectado que era la más antigua de primeras. La de hacía seis meses, en general, siguen notando solo la malta como sabor y olor, igualmente dulce pero menos ácida que la anterior, la notaron áspera, con sabor a madera, igualmente la beben pero no repetirían y definitivamente no les gusta. Por último, la de hacía tres meses, mejor que las anteriores, con un olor muy dulce como a miel, de sabor igualmente dulce, han encontrado en ella caramelos de café, la han encontrado bebible y les gusta.

RO0117

La más antigua, la de un año, ya olía mal, se identificaba sencillamente oliéndola, olores de madera podrida, humedad, papel mojado, etc., dijeron que era imbebible y muy ácida, muy astringente y áspera, sabe muy mal, no la volverían a probar, dijeron que no era bebible y no les gustaba. La de seis meses huele mejor, a jazmín, flores, etc., un poco amarga y un poco ácida, un amargor bastante secante, como apreciaciones personales mencionaron que era una cerveza suave, típica comercial, que era bebible y que sí que repetirían. Por último, la de tres meses, mostro *gushing* en botella, encontraron olores y sabores a fruta ácida como la naranja y el limón, un poco de amargor y un poco ácida, bebible y repetible.

NE0117

La de hacía un año, huele ya muy ácida, volvemos a los olores de viejo y cerrado, gustos a café pero mal y se nota mucho, es ácida y bastante amarga, astringente y áspera, como impresión general no es bebible y no repetirían. La de seis meses mostro *gushing* tras abrirla, olores iguales que la anterior, gustos a tostado, café solo, dulce, etc., es bebible pero no gusta. La de tres meses, casi ni huele, les ha olido mejor la de seis meses, sigue con los mismos olores, incluso algo de olor a chocolate, un poco ácida y casi nada amarga, sigue siendo bebible pero no gusta.

Segundo experimento:

GA330218

En general tanto la cerveza actual como la de uno y dos meses del mismo lote han coincidido en las descripciones. Olores a fruta, uva, melocotón, les gusta, se nota el gas, un amargor al final, un poco ácida al final, es muy bebible y gusta mucho.

FA0218

En general tanto la cerveza actual como la de uno y dos meses del mismo lote han coincidido en las descripciones. En este caso, el olor y sabor a tomillo enmascara todo lo demás de la cerveza, es dulce, es bebible y a la mayoría de los catadores gusta y repetiría pero a los otros no.

ES0118

En general tanto la cerveza actual como la de uno y dos meses del mismo lote han coincidido en las descripciones. Huelen a cereales, pero no distinguen que cereal es, gustos flojos, a trigo,

cereal, pan, barrita energética, maíz, etc., es dulce, bebible, pero la ven floja como cerveza de trigo y no repetirían.

ES0118

En general tanto la cerveza actual como la de uno y dos meses del mismo lote han coincidido en las descripciones. Es muy dulzona, huele a bizcocho y vainilla, gusto a caramelo de limón, es bebible y gusta en general, por lo que sí que repetirían.

El resto de resultados obtenidos en el análisis sensorial se encuentran en el *Anexo 4*.

6. CONCLUSIONES

Cuando está fresca y es servida de manera adecuada, la cerveza artesanal de calidad tiene el sabor que el cervecero pretendía y esperaba: limpia y llena de sabor con la correcta huella característica para su estilo. Como se ha mencionado en este trabajo, la cerveza es susceptible a diversos factores que alteran sus características e incluso a contaminaciones que pueden llegar a hacerla imbebible, lo que la convierte en un producto perecedero que puede sufrir un amplio rango de cambios si es tratada de manera inadecuada al salir de la cervecería.

Los resultados de los parámetros físico-químicos analizados han demostrado que a lo largo del tiempo empeoran, como el pH y la densidad que pueden llegar a disminuir, junto con el amargor y el color en algunos casos, generando sabores y olores indeseados, precipitados y turbideces, debidas a un mal manejo de las cervezas en su distribución, que empeoran la imagen final de la cerveza. Junto con estos, los análisis microbiológicos demostraron que en una cerveza artesanal terminada se puede encontrar una gran cantidad de levaduras e incluso bacterias, debidas a contaminaciones y un mal control a la hora de su elaboración, que pueden provocar cambios de los parámetros anteriores y provocar defectos sensoriales percibidos finalmente por el consumidor. Por último, la realización de una cata de las cervezas analizadas confirma el efecto que todo el conjunto de parámetros tiene en el producto final, y que determinará una vez probada la cerveza, si el consumidor final la volverá a adquirir o se decidirá a probar otra marca cerveza.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. *Brewers association, Guía de buenas prácticas de producción, distribución y comercialización para la cerveza artesanal de calidad. Disponible en: www.brewesassociation.org*
2. *Manual Cerveceros II. Martin Boan, Diego Collini y Carolina Pérez.*
3. *Lovibond, J.W., Lovibond Beer Colour Database, 2008.*
4. *Caballero, I., Porrás, M., Iso- α -ácidos, bitterness and loss of beer quality duri storage. Trends in Food Sciente and Technology, 2012.*
5. *García, L. A., Biotecnología de la producción de Cerveza. Universidad de Oviedo, 2013.*
6. *Huxley, S., La Cerveza, poesía líquida. Un manual para cervesiáfilos, ed. Trea., 2011.*
7. *Cortez, P., Manual del Proceso Cervecera. Cervecea Valdivia S.A. Valdivia Chile, 2001.*
8. *Pylar, R. y Thomas, D. A., Malted Cereals: their production and use. In. Kulp, K. y Ponte, C.J., Handbook of cereal science and technology, editores, 2da ed. Marcel Dekker Inc. NY, 2000.*
9. *Weiss, A., Schönberger, C., Mitter, W., Biendl, M., Back, W., Krottenthaler, M., Journal of the Institute of Brewing, 2002.*
10. *Deák, T., Beuchat, L.R., Handbook of food spoilage yeasts. Boca Raton, USA, 1996.*
11. *Nicholas A. Bokulich,a,b Charles W. Bamfortha, The Microbiology of Malting and Brewing, MMBR, Junio 2012.*
12. *BACTERIOLOGIA CLINICA TAXONOMIA BASICA, disponible en: http://www.qualitat.cc/sitebuildercontent/sitebuilderfiles/Taxonomia_basica.pdf*

13. Francisco Garrido, *ANÁLISIS SENSORIAL DE LA CERVEZA*, Asociación Madrileña de Sumilleres. Disponible en: <http://www.ams-sumilleresmadrid.com/wp-content/uploads/2014/05/An%C3%A1lisis-sensorial-de-la-cerveza.pdf>
14. Sinnaps, gestor de proyectos. *Características del método cuantitativo*, 2018. Disponible en: <https://www.sinnaps.com/blog-gestion-proyectos/metodo-cuantitativo>
15. Albert Barrachina Robert, *Manual de degustación y evaluación de la cerveza: una guía para circular eficazmente en el mundo de la cerveza*, Noviembre 2013.
16. *Handbook of brewing*, edited by Fergus G. Priest, Graham G. Stewart, 2006.
17. Wolfgang Kunze, *Tecnología para Cerveceros y Malteros*, primera edición, 2006.
18. Boris de Mesones, *Manual Práctico del Cerveceros*, disponible en internet.
19. Nimubona, D., *Estimación de la estabilidad y valor sensorial de la cerveza lager mediante el control de los iso- α -ácidos*, tesis doctoral, Universidad de Valladolid, Palencia. España, 2011.
20. Priest F.G., *Gram-positive brewery bacteria*. In: Priest F.G. y Cambell I. (ed). *Brewering Microbiology*. Elsevier, London, 1987.
21. Christensen, J., Ladefoged, A. M., Norgaard, L. *Rapid Determination of Bitterness in Beer Using Fluorescence Spectroscopy and Chemometrics*. J. Inst. Bew, 2005.
22. Dalgliesh, C.E., *Flavour stability*, *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*, 1977.

8. ANEXOS

ANEXO I

Nombre común del componente de sabor indeseable	Descriptor del sabor o impacto sensorial	Tipo de sistema afectado (de empaque, almacenaje o servido)
Acetaldehído - algunas notas también se cubren en la Tabla 1.	Manzanas verdes, manzanas magulladas, parecido al pasto y la pintura de látex.	Cervezas en barricas o cavas. Bacterias potenciales en barriles/botellas. Las infecciones bacterianas pueden propagarse a lo largo del sistema de cerveza de barril.
Ácidos - o notas agrias/ácidas. Cubre ácidos acético y láctico (algunas veces estos se cubren por separado, pero ya que ambos tipos de ácido se encuentran en las situaciones de contaminación, se presentan bajo un encabezado).	Acido acético: agrio, vinagre notado aromáticamente, así como en el sabor.	Principalmente en sistemas de cerveza de barril (y barrica).
Acido butírico	Notas rancias, nauseabundas (vómito).	Rara vez es un problema pero algunas veces se observan contaminaciones microbianas malas en cervezas acondicionadas en barriles y barricas. Tal vez es un problema actual en cava mal manejadas.
Diacetilo	Mantequilla, palomitas con mantequilla, caramelo de leche. Sensación en la boca aceitosa o sedosa (viscosa, redonda o resbalosa en el paladar).	Botellas, latas, barriles, barricas y sistemas de extracción. Los organismos (<i>Pediococcus</i> y <i>Lactobacillus</i> especialmente) que descomponen la cerveza en los grifos sucios son un gran culpable.
DMS - sulfuro de dimetilo	Maíz cocido, verduras, jugo de tomate, ostras, aire de mar.	Puede ser aceptable a niveles bajos en ciertos estilos, pero suele ser un asunto de contaminación.
Metilbutano Tiol (potente nota sulfurosa) Ver también la Tabla 1.	Aroma a zorrillo, quemada o golpeado por la luz.	Cerveza embotellada (incluso puede ocurrir en el vaso de la cerveza servida en un día muy soleado).
Fenólico , orto-cloro-fenol cloro o clorofenoles	Medicinal, nota de dentista o "curita", cloro, notas fenólicas, parecido a hospital o desinfectante.	Cerveza servida en vasos. Componentes fenólicos del cloro o la cerveza forman rápidamente clorofenoles, que tienen un umbral de detección de sabor muy bajo.
Oxidación (aldehídos rancios): un complejo conjunto de componentes en general conduce al "carácter oxidado". Ver también la Tabla 1 (Sabores de Envejecimiento) y Sabores de cerveza vieja (deteriorada) parecidos al pan en la Tabla 1.	A papel, cartón y una sequedad particular como masticar papel o cartón mojado. No debe ser confundida con notas rancias o parecidas al pan, que también se desarrollan por medio del calor y el oxígeno. O frutales (ver acetaldehído), frutos secos y parecido al jerez.	Todas las formas de cerveza empaquetada en caso de no ser manejadas correctamente, con una reacción de envejecimiento natural. Depende del tiempo, temperatura y exposición al aire.
Jabonosa (alcalina, sabosa, grasosa)	Jabonosa (alcalina, sabosa, grasosa).	La tubería en los sistemas de extracción del barril.
Azufre	Azufre, huevos podridos, huevos duros, solución permanente para el cabello.	Posiblemente surja de levadura en mal estado. Las levaduras lager producen más azufre que las levaduras ale.

ANEXO II

Muestra	Cerveza	Lote	Tiempo	CO ₂ total (bar)	CO ₂ disuelto (g/L)	Abs (275 nm)		EBU	Abs (430 nm)		EBC	pH		Temperatura (°C)		Densidad (g/L)		Temperatura (°C)	
						Media	Desv. Est.		Media	Desv. Est.		Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.
						Primer experimento													
1	4Maltes	4M0117	1 AÑO	2,76	3,96	0,455	5,77E-04	22,77	0,114	6,06E-02	19,3	4,47	3,21E-02	18,6	1,00E-01	1005,8	5,77E-02	18,9	0,00E+00
2				5,02	5,96	0,530	7,23E-03	26,48	0,149	4,36E-03	37,3	4,17	2,08E-02	23,2	5,77E-02	1005,4	5,77E-02	23,1	5,77E-02
3		4M0517	6 MESES	2,93	4,22	0,111	1,00E-03	5,55	0,557	9,50E-03	13,9	4,05	8,14E-02	21,5	3,21E-01	1006,1	1,00E-01	22,0	1,00E-01
4				3,35	4,84	0,423	5,51E-03	21,13	0,580	3,06E-03	14,5	4,07	6,08E-02	22,5	1,15E-01	1005,8	5,77E-02	23,0	5,77E-02
5		4M0118	3 MESES	2,64	3,79	0,141	1,30E-02	7,05	0,585	3,06E-03	14,6	3,95	5,13E-02	20,3	1,53E-01	1008,6	1,00E-01	21,3	5,77E-02
6				2,92	4,21	0,262	1,53E-03	13,08	0,644	4,73E-03	16,1	4,02	2,65E-02	23,2	3,51E-01	1009,0	5,77E-02	22,1	2,08E-01
7	Rossa	RO0117	1 AÑO	4,51	6,56	0,388	2,65E-03	19,40	0,820	4,16E-03	20,5	4,67	5,77E-03	18,7	1,53E-01	1008,9	5,77E-02	18,9	5,77E-02
8				2,88	4,18	0,407	3,51E-03	20,33	0,753	3,46E-03	18,8	4,37	5,77E-03	22,0	5,77E-02	1008,3	1,00E-01	22,1	2,08E-01
9		RO0517	6 MESES	4,02	5,86	0,154	5,77E-04	7,72	0,266	6,56E-03	6,7	3,96	1,00E-02	21,5	0,00E+00	1001,0	5,77E-02	21,9	5,77E-02
10				2,62	3,81	0,509	3,46E-03	25,45	0,464	4,04E-03	11,6	3,99	2,89E-02	22,3	2,08E-01	1000,8	5,77E-02	23,1	1,00E-01
11		RO0118	3 MESES	2,64	3,84	0,126	1,53E-03	6,32	0,461	3,06E-03	11,5	3,86	4,93E-02	20,8	1,53E-01	1008,2	5,77E-02	21,6	5,77E-02
12				2,92	4,23	0,261	6,08E-03	13,05	0,529	7,81E-03	13,2	3,85	5,77E-03	24,5	1,53E-01	1008,5	1,53E-01	21,0	3,61E-01
13	Negre	NE0117	1 AÑO	5,98	7,31	0,349	4,16E-03	17,43	0,499	2,26E-02	62,4	4,10	4,04E-02	19,2	5,77E-02	1008,7	1,15E-01	19,2	5,77E-02
14				7,19	8,35	0,394	5,69E-03	19,72	0,445	4,93E-03	111,3	3,79	2,08E-02	22,6	1,73E-01	1008,5	1,00E-01	22,5	5,77E-02
15		NE0317	6 MESES	6,28	7,94	0,162	0,00E+00	8,10	0,442	3,32E-02	110,4	3,90	4,04E-02	21,7	5,77E-02	1003,3	1,00E-01	22,1	4,35E-15
16				6,27	7,69	0,468	1,30E-02	23,40	0,474	3,21E-03	118,4	3,94	1,73E-02	22,6	2,08E-01	1003,2	5,77E-02	23,3	0,00E+00
17		NE0118	3 MESES	2,86	4,14	0,185	2,08E-03	9,23	0,362	2,95E-02	90,5	3,94	4,36E-02	22,3	5,77E-02	1015,0	5,77E-02	22,6	5,77E-02
18				2,67	3,86	0,354	3,79E-03	17,72	0,345	5,51E-03	86,2	3,96	5,77E-03	22,7	5,77E-02	1015,6	1,53E-01	21,5	1,53E-01

	Muestra	Cerveza	Lote	Tiempo	CO ₂ total (bar)	CO ₂ disuelto (g/L)	Abs (275 nm)		EBU	Abs (430 nm)		EBC	pH		Temperatura (°C)		Densidad (g/L)		Temperatura (°C)			
							Media	Desv. Est.		Media	Desv. Est.		Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.	Media	Desv. Est.
Segundo experimento	19	Farigola	FA0218	0 MESES	2,72	3,76	0,458	1,53E-03	22,92	0,657	2,32E-02	16,4	4,48	0,00E+00	15,6	1,00E-01	1008,6	1,00E-01	16,3	5,77E-02		
	20			1 MES	2,67	3,63	0,188	3,00E-03	9,40	0,488	6,08E-03	12,2	4,36	3,00E-02	20,5	1,53E-01	1007,8	5,77E-02	20,9	5,77E-02		
	21			2 MESES	2,52	3,53	0,184	4,16E-03	9,18	0,452	3,61E-03	11,3	4,30	4,73E-02	23,4	1,15E-01	1007,1	1,53E-01	22,8	5,77E-02		
	22	4Maltes	4M0218	0 MESES	2,68	4,06	0,448	4,93E-03	22,42	1,059	1,00E-03	26,5	4,41	1,53E-02	17,9	5,77E-02	1008,1	5,77E-02	18,0	5,77E-02		
	23			1 MES	2,61	3,86	0,176	4,58E-03	8,80	0,722	4,36E-03	18,1	4,26	1,53E-02	20,9	1,15E-01	1007,4	5,77E-02	21,4	5,77E-02		
	24			2 MESES	2,44	3,54	0,174	2,65E-03	8,70	0,698	2,52E-03	17,4	4,18	2,08E-02	21,9	1,53E-01	1007,5	1,00E-01	20,7	4,16E-01		
	25	Espelta	ES0118	0 MESES	2,88	4,17	0,320	4,36E-03	16,00	0,377	1,01E-02	9,4	4,09	2,52E-02	16,5	1,53E-01	1007,7	5,77E-02	17,1	0,00E+00		
	26			1 MES	2,66	3,83	0,131	1,15E-03	6,57	0,270	6,24E-03	6,8	3,94	5,86E-02	21,4	5,77E-02	1006,7	5,77E-02	21,7	0,00E+00		
	27			2 MESES	2,6	3,78	0,131	2,65E-03	6,55	0,240	2,08E-03	6,0	3,80	5,29E-02	21,7	1,53E-01	1007,0	1,53E-01	20,6	4,36E-01		
	28	Gaiánada 1921	GA330218	0 MESES	2,47	3,59	0,715	2,08E-03	35,77	0,107	4,04E-03	26,7	4,36	4,73E-02	16,0	2,08E-01	1010,2	1,53E-01	16,3	5,77E-02		
	29			1 MES	2,46	3,56	0,445	4,58E-03	22,25	0,756	3,62E-02	18,9	4,33	5,77E-03	21,5	1,00E-01	1010,1	1,00E-01	21,9	5,77E-02		
	30			2 MESES	2,23	3,32	0,430	4,58E-03	21,50	0,613	5,13E-03	15,3	4,24	1,00E-02	23,1	1,00E-01	1009,6	1,15E-01	22,1	6,11E-01		

ANEXO III

	Muestra	Cerveza	Lote	Tiempo	YPD (UFC/mL)	YPD + Natamicina (UFC/mL)	YPD + Cloranfenicol (UFC/mL)
Primer experimento	1	4Maltes	4M0117	1 AÑO	1260	70	370
	2				9740	0	8280
	3		4M0517	6 MESES	4830	10	2980
	4				840	0	800
	5		4M0118	3 MESES	0	0	30
	6				30	0	230
	7	Rossa	RO0117	1 AÑO	30	10	0
	8				0	0	0
	9		RO0517	6 MESES	6850	0	7530
	10				4590	0	4280
	11		RO0118	3 MESES	30	0	0
	12				80	0	280
	13	Negre	NE0117	1 AÑO	810	0	290
	14				140	0	210
	15		NE0317	6 MESES	21720	0	22920
	16				15630	0	14980
	17		NE0118	3 MESES	300	20	330
	18				10	0	0

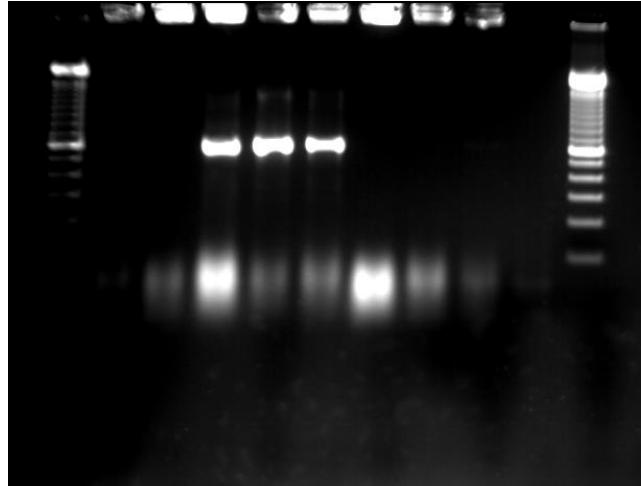
	Muestra	Cerveza	Lote	Tiempo	Aisladas	Agar Lisina (%)	GYC (%)	Catalasa	Tinción Gram
Primer experimento	1	4Maltes	4M0117	1 AÑO	18	16,67%	66,67%	+	-
	2				18	11,11%	0,00%	x	x
	3		4M0517	6 MESES	16	37,50%	81,25%	+	-
	4				16	25,00%	0,00%	x	x
	5		4M0118	3 MESES	14	7,14%	0,00%	x	x
	6				14	14,29%	0,00%	x	x
	7	Rossa	RO0117	1 AÑO	18	0,00%	88,89%	+	-
	8				18	0,00%	0,00%	x	x
	9		RO0517	6 MESES	16	37,50%	0,00%	x	x
	10				16	6,25%	0,00%	x	x
	11		RO0118	3 MESES	14	0,00%	0,00%	x	x
	12				14	7,14%	0,00%	x	x
	13	Negre	NE0117	1 AÑO	18	22,22%	0,00%	x	x
	14				18	16,67%	0,00%	x	x
	15		NE0317	6 MESES	16	6,25%	0,00%	x	x
	16				16	18,75%	0,00%	x	x
	17		NE0118	3 MESES	14	7,14%	7,14%	+	-
	18				14	0,00%	0,00%	x	x

	Muestra	Cerveza	Lote	Tiempo	YPD (UFC/mL)	YPD + Natamicina (UFC/mL)	YPD + Cloranfenicol (UFC/mL)
Segundo experimento	19	Farigola	FA0218	0 MESES	7800	Incontable	10520
	20			1 MES	1400	610	600
	21			2 MESES	1060	340	240
	22	4Maltes	4M0218	0 MESES	28320	110	22080
	23			1 MES	2040	90	1590
	24			2 MESES	1580	20	780
	25	Espelta	ES0118	0 MESES	7080	0	6120
	26			1 MES	2470	0	650
	27			2 MESES	1260	0	320
	28	Gaiánada 1921	GA330218	0 MESES	Incontable	3240	7020
	29			1 MES	12360	10	6240
	30			2 MESES	6890	0	3890

	Muestra	Cerveza	Lote	Tiempo	Aisladas	Agar Lisina (%)	GYC (%)	Catalasa	Tinción Gram
Segundo experimento	19	Farigola	FA0218	0 MESES	18	11,11%	100,00%	+	-
	20			1 MES	16	22,22%	12,50%	+	-
	21			2 MESES	14	16,67%	28,57%	+	-
	22	4Maltes	4M0218	0 MESES	18	5,56%	83,33%	+	-
	23			1 MES	16	6,25%	6,25%	+	-
	24			2 MESES	14	14,29%	21,43%	+	-
	25	Espelta	ES0118	0 MESES	18	0,00%	0,00%	x	x
	26			1 MES	16	0,00%	0,00%	x	x
	27			2 MESES	14	0,00%	0,00%	x	x
	28	Gaiánada 1921	GA330218	0 MESES	18	88,89%	5,56%	+	+
	29			1 MES	16	75,00%	5,56%	+	-
	30			2 MESES	14	0,00%	0,00%	x	x

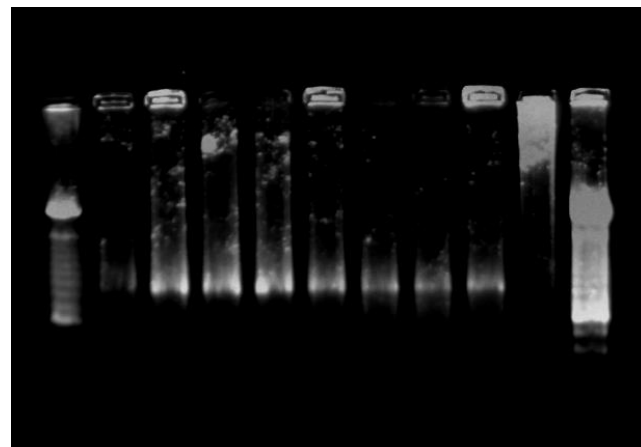
1º ELECTROFORESIS

Muestras analizadas por PCR y electroforesis	
1. GA330218	5. GA330218
2. GA330218	6. ES0118
3. GA330218	7. FA0218
4. GA330218	8. 4M0218



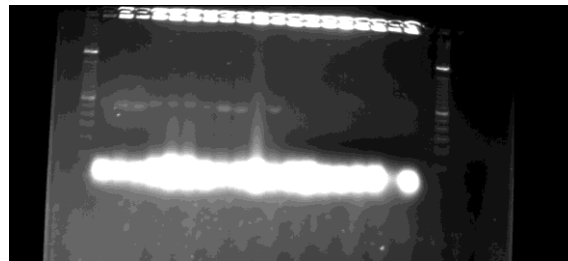
2º ELECTROFORESIS

Muestras analizadas por PCR y electroforesis	
1. GA330218	5. NE0117
2. GA330218	6. ES0118
3. 4M0117	7. FA0218
4. 4M0117	8. 4M0218



3º ELECTROFORESIS

Muestras analizadas por PCR y electroforesis				
1. ES0118	5. 4M0517	9. RO0118	13. NE0317	17. RO0118
2. FA0218	6. RO0517	10. NE0118	14. 4M0117	18. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
3. GA330218	7. NE0317	11. 4M0517	15. NE0117	19. <i>Saccharomyces diastaticus</i>
4. 4M0218	8. 4M0118	12. RO0517	16. 4M0118	



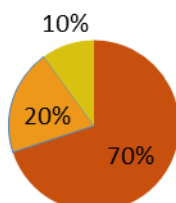
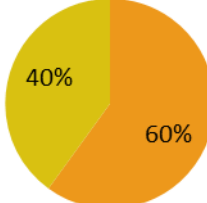
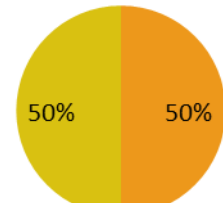
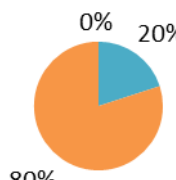
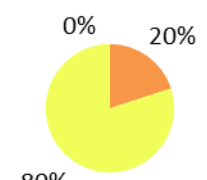
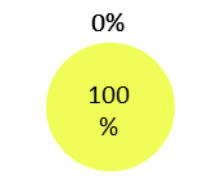
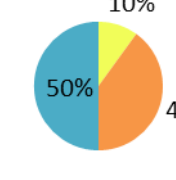
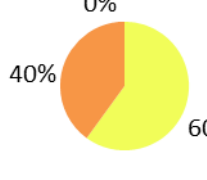
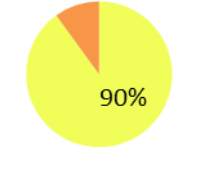
ESPECIES	FRAGMENTOS ITS
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	880
<i>Candida zemplinina</i>	475
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	750
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	400
<i>Torulaspota delbrueckii</i>	800

ANEXO IV

PRIMER EXPERIMENTO

4 MALTES

A. INSPECCIÓN VISUAL

	4M0117 (1 AÑO)	4M0517 (6 MESES)	4M0118 (3 MESES)
¿De qué color es la cerveza?	<p>■ 26 EBC ■ 20 EBC ■ 16 EBC</p> 	<p>■ 20 EBC ■ 16 ECB</p> 	<p>■ 20 EBC ■ 16 EBC</p> 
¿Es transparente o presenta turbidez?	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p> 	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p> 	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p> 
¿Cómo es la espuma? (Persistencia)	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p> 	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p> 	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p> 

B. OLFACCIÓN Y C1. AROMAS EN BOCA

Intensidad de 1-6 siendo 1 menos intenso y 6 más intenso.

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0117 (1 AÑO)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	5	5	4	5	4	4	5	5	5	5
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	2	2	3	4	1	1	1	2	1	2
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0517 (6 MESES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	5	5	4	5	5	5	4	4	5	5
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	2	1	1	2	2	1	1	1	2	2
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	1	1	3	3	2	1	1	1	2	1
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0118 (3 MESES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	6	6	5	6	6	5	5	6	6	6
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	3	2	2	2	3	3	2	1	1	3
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

C. CATA EN BOCA

C.2 Gusto en boca.

Sensación de más a menos

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0117 (1 AÑO)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
Seco	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Dulce	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0517 (6 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	+	++	+	+	+	++	++	+	+	+
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	+	+	+	+	+	+	++	++	+	+

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0118 (3 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	++	+	++	+	+	++	++	++	++	+
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+

C.3 CÓRPORA

Sensación de más a menos

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0117 (1 AÑO)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Efervescencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0517 (6 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
Efervescencia	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0118 (3 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+
Efervescencia	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ROSSA

A. INSPECCIÓN VISUAL

	RO0117 (1 AÑO)	RO0517 (6 MESES)	RO0118 (3 MESES)
¿De qué color es la cerveza?	<p>■ 8 EBC ■ 6 EBC ■ 12 EBC</p>	<p>■ 6 EBC ■ 8 ECB</p>	<p>■ 6 EBC ■ 8 EBC</p>
¿Es transparente o presenta turbidez?	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p>	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p>	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p>
¿Cómo es la espuma? (Persistencia)	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p>	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p>	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p>

B. OLFACCIÓN Y C1. AROMAS EN BOCA

Intensidad de 1-6 siendo 1 menos intenso y 6 más intenso.

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA RO0117 (1 AÑO)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	5	5	4	5	6	6	5	4	4	5

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA RO0517 (6 MESES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	4	5	5	4	3	3	3	4	4	5
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	2	1	2	2	3	2	2	1	1	1
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA RO0118 (3 MESES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	6	6	5	5	5	6	4	5	5	6
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	2	2	1	3	1	2	2	2	1	1
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

C. CATA EN BOCA

C.2 Gusto en boca.

Sensación de más a menos

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA RO0117 (1 AÑO)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA RO0517 (6 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	+	+	+	-	++	+	-	++	-	+
Seco	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+
Dulce	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA RO0118 (3 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-
Seco	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Dulce	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

C.3 CÓRPORA

Sensación de más a menos

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA RO0117 (1 AÑO)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	++	+	+	++	++	+	++	++	++	+
Efervescencia	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA RO0517 (6 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-
Efervescencia	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA RO0118 (3 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Efervescencia	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

NEGRE

A. INSPECCIÓN VISUAL

	NE0117 (1 AÑO)	NE0317 (6 MESES)	NE0118 (3 MESES)
¿De qué color es la cerveza?	<p>■ 39 EBC ■ 47 EBC ■ 57 EBC</p>	<p>■ 57 EBC ■ 47 EBC</p>	<p>■ 33 EBC ■ 39 EBC ■ 47 EBC</p>
¿Es transparente o presenta turbidez?	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p>	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p>	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p>
¿Cómo es la espuma? (Persistencia)	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p>	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p>	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p>

B. OLFACCIÓN Y C1. AROMAS EN BOCA

Intensidad de 1-6 siendo 1 menos intenso y 6 más intenso.

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA NE0117 (1 AÑO)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	2	2	3	3	3	2	2	1	1	2
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	5	6	4	5	5	6	6	6	4	5

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA NE0317 (6 MESES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	3	4	3	3	2	2	2	3	3	2
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	4	4	5	3	5	5	4	2	3	3

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA NE0118 (3 MESES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	5	5	6	6	4	4	5	5	6	6
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	1	1	2	1	1	1	2	1	2	1
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	3	3	2	3	1	1	2	3	3	1

C. CATA EN BOCA

C.2 Gusto en boca.

Sensación de más a menos

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA RO0117 (1 AÑO)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	+	++	+	+	++	++	+	++	++	++
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA RO0517 (6 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA RO0118 (3 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-

C.3 CÓRPORA

Sensación de más a menos

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA NE0117 (1 AÑO)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+
Efervescencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA NE0317 (6 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
Efervescencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA NE0118(3 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia										
Efervescencia										
Calor										

SEGUNDO EXPERIMENTO

FARIGOLA:

LOTE: FA0218	0 MESES	1 MES	2 MESES
¿De qué color es la cerveza?	<p>■ 12 EBC ■ 16 ECB</p>	<p>■ 12 EBC ■ 16 ECB</p>	<p>■ 12 EBC ■ 16 ECB</p>
¿Es transparente o presenta turbidez?	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p>	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p>	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p>
¿Cómo es la espuma? (Persistencia)	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p>	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p>	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p>

B. OLFACCIÓN Y C1. AROMAS EN BOCA

Intensidad de 1-6 siendo 1 menos intenso y 6 más intenso.

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA FA0218 (0 MESES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	5	5	6	6	6	6	5	6	6	6
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	1	2	1	2	2	1	2	1	2	1
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA FA0218 (1 MES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	1	2	1	1	1	2	1	3	1	1
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	5	5	5	6	6	6	6	6	5	6
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	2	1	1	3	1	1	1	1	2	1
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA FA0218 (2 MESES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	1	1	2	2	1	2	1	1	2	1
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	6	6	5	6	5	6	6	6	5	5
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	1	1	1	1	2	2	2	1	2	1
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1

C. CATA EN BOCA

C.2 Gusto en boca.

Sensación de más a menos

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA FA0218 (0 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA FA0218 (1 MES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA FA0218 (2 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
Seco	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-
Dulce	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salado	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
Ácido	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

C.3 CÓRPORA

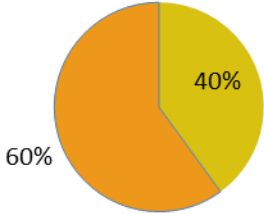
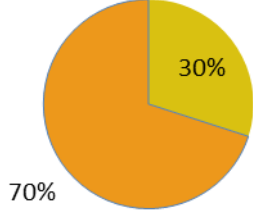
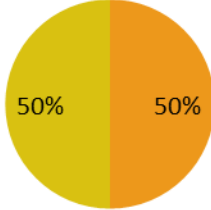
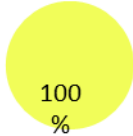
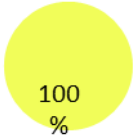
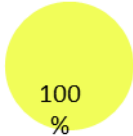
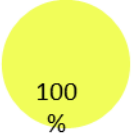
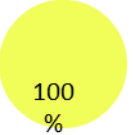

Sensación de más a menos

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA FA0218 (0 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Efervescencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA FA0218 (1 MES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Efervescencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA FA0218 (2 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Efervescencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

4 MALTES:

LOTE:4M0218	0 MESES	1 MES	2 MESES
¿De qué color es la cerveza?	<p>■ 16 EBC ■ 20 EBC</p> 	<p>■ 16 EBC ■ 20 EBC</p> 	<p>■ 20 EBC ■ 16 EBC</p> 
¿Es transparente o presenta turbidez?	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p> 	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p> 	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p> 
¿Cómo es la espuma? (Persistencia)	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p> 	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p> 	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p> 

B. OLFACCIÓN Y C1. AROMAS EN BOCA

Intensidad de 1-6 siendo 1 menos intenso y 6 más intenso.

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0218 (0 MESES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	4	4	5	6	6	5	6	6	6	6
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	1	2	1	1	1	1	1	2	1	1
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	2	1	1	2	2	1	1	1	1	3
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0218 (1 MES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	4	4	5	5	6	5	6	4	5	6
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	1	2	1	1	1	1	1	2	1	1
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	1	2	1	1	1	1	1	2	1	1
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	2	1	1	2	2	1	1	1	1	3

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0218 (2 MESES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	4	4	5	4	3	5	6	5	4	6
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	1	2	1	1	1	1	1	2	1	1
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	1	2	1	1	1	1	1	2	1	1
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	2	1	1	2	2	1	1	1	1	3

C. CATA EN BOCA

C.2 Gusto en boca.

Sensación de más a menos

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0218 (0 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	+	++	++	+	+	++	++	++	++	+
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0218 (1 MES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0218 (2 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-

C.3 CÓRPORA

Sensación de más a menos

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0218 (0 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Efervescencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0218 (1 MES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Efervescencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA 4M0218 (2 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Efervescencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ESPELTA:

LOTE: ES0118	0 MESES	1 MES	2 MESES
¿De qué color es la cerveza?	<p>■ 4 EBC ■ 6 EBC ■ 8 EBC</p>	<p>■ 4 EBC ■ 6 EBC ■ 8 EBC</p>	<p>■ 4 EBC ■ 6 EBC ■ 8 EBC</p>
¿Es transparente o presenta turbidez?	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p>	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p>	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p>
¿Cómo es la espuma? (Persistencia)	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p>	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p>	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p>

B. OLFACCIÓN Y C1. AROMAS EN BOCA

Intensidad de 1-6 siendo 1 menos intenso y 6 más intenso.

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA ES0118 (0 MESES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	6	5	5	6	6	6	6	5	6	6
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	3	2	2	1	1	1	1	2	1	3
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA ES0118 (1 MES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	5	5	5	5	4	4	6	5	5	6
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	1	1	2	1	1	1	1	2	1	2
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA ES0118 (2 MESES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	4	5	5	3	5	6	4	5	4	3
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	1	2	1	1	1	1	1	2	1	1
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

C. CATA EN BOCA

C.2 Gusto en boca.

Sensación de más a menos

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA ES0118 (0 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA ES0118 (1 MES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA ES0118 (2 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

C.3 CÓRPORA

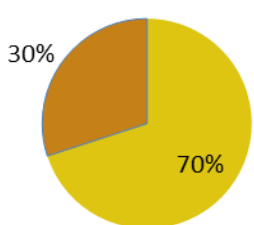
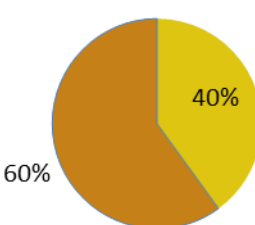
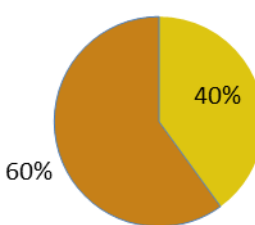
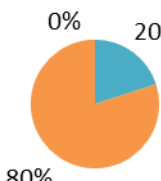
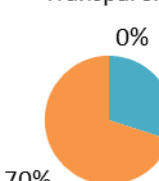
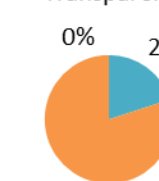
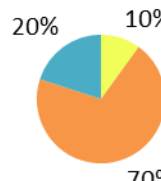
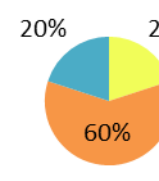
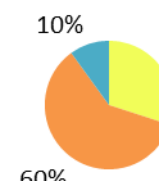
Sensación de más a menos

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA ES0118 (0 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Efervescencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA ES0118 (1 MES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Efervescencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA ES0118 (2 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Efervescencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

GAIANADA 1921

LOTE: GA330218	0 MESES	1 MES	2 MESES
¿De qué color es la cerveza?	<p>■ 16 EBC ■ 20 EBC</p> 	<p>■ 16 EBC ■ 20 EBC</p> 	<p>■ 16 EBC ■ 20 EBC</p> 
¿Es transparente o presenta turbidez?	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p> 	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p> 	<p>■ Turbia ■ Un poco turbia ■ Transparente</p> 
¿Cómo es la espuma? (Persistencia)	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p> 	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p> 	<p>■ Persistente ■ Poco persistente ■ Nada persistente</p> 

B. OLFACCIÓN Y C1. AROMAS EN BOCA

Intensidad de 1-6 siendo 1 menos intenso y 6 más intenso.

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA GA330218 (0 MESES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	2	3	3	4	6	5	5	4	5	6
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	3	4	5	5	6	4	6	6	5	4
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	1	2	1	1	1	1	1	2	1	1

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA GA330218 (1 MES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	2	3	3	2	4	5	5	4	3	5
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	3	4	4	5	6	4	6	5	5	4
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	1	2	1	1	1	1	1	2	1	1

Olor de:	Detallar	PARTICIPANTE DE MUESTRA GA330218 (2 MESES)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Panificación	<i>Harina, Pan fresco, Pasta de pizza, tostados, etc</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Vegetal	<i>Sabia, Hierba cortada, Hoja, Flor</i>	2	4	3	4	6	5	3	4	5	4
Fermento	<i>Agua de mar, Fruta, Disolvente, Mantequilla</i>	3	4	4	5	6	4	5	6	3	4
Otros	<i>Humo, Tierra, Quemado, etc.</i>	1	2	1	1	1	1	1	2	1	1

C. CATA EN BOCA

C.2 Gusto en boca.

Sensación de más a menos

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA GA330218 (0 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA GA330218 (1 MES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA GA330218 (2 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amargo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Seco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulce	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+
Salado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-

C.3 CÓRPORA

Sensación de más a menos

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA GA330218 (0 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-
Efervescencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA GA330218 (1 MES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-
Efervescencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sensación	PARTICIPANTE DE MUESTRA GA330218 (2 MESES)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Astringencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Efervescencia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-