

Sergi Anguela Vives

**OPTIMITZACIÓ DEL PROTOCOL DE *REPITCHING* EN
UNA CERVESERIA ARTESANA**

TREBALL FINAL DE MÀSTER

Dirigit per M^a Jesús Torija Martínez

**Màster en BEGUDES FERMENTADES
Facultat d'Enologia**



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Tarragona

01/09/2021

ÍNDEX

RESUM.....	1
ABSTRACT.....	2
1. Introducció	3
2. Objectius	8
3. Metodologia i pla de treball.....	9
3.1. Reactius, equipament i mostres.....	9
3.2. Disseny experimental.....	10
4. Resultats i discussions.....	16
4.1. Seguiment de les fermentacions.....	16
4.2. Rendiment de les fermentacions	19
4.3. Temps de fermentació	20
4.4. Estudi econòmic	22
5. Conclusions	24
6. Perspectives de futur	25
BIBLIOGRAFIA.....	26
ANNEXES	27

RESUM

La fermentació és l'etapa més important del procés d'elaboració d'una cervesa. Entre tots els factors que poden afectar el rendiment de la fermentació, l'estat fisiològic del llevat i la seva taxa d'inoculació són essencials. L'opció més senzilla per inocular llevat consisteix en utilitzar preparacions comercials de llevat, tant sec com líquid. Tot i això, una de les tècniques més interessants per millorar-ne el rendiment és la reutilització del llevat entre diferents fermentacions, coneguda com a *repitching*. Aquesta consisteix en aprofitar el llevat resultant d'una fermentació per inocular-lo en un altre tanc. El llevat reutilitzat ja es troba actiu i prové d'un medi semblant al que s'inocularà, de manera que no necessitarà tant de temps per adaptar-se a aquest nou medi, iniciarà la fermentació abans i aquesta tardarà menys temps en acabar. Tot i això, s'han de tenir en compte les condicions fisiològiques del llevat a reutilitzar, com la viabilitat i la capacitat atenuant, ja que aquestes tindran un impacte clau en el desenvolupament de la fermentació. Per tant, cal establir un protocol de *repitching* consistent que permeti reutilitzar el llevat durant el màxim de generacions possibles sense comprometre la qualitat final del producte.

En aquest estudi s'ha optimitzat la tècnica de *repitching* de la cerveseria artesana *DouGall's* i s'han estudiat els paràmetres físico-químics de les fermentacions amb llevat reutilitzat. A més a més, s'ha fet un estudi del rendiment de la fermentació i el rendiment econòmic, comparant les dades obtingudes en les fermentacions amb *repitching* amb les de les fermentacions amb llevat sec. Els resultats mostren que l'optimització de la tècnica ha resultat en una disminució significativa dels temps de fermentació sense que la qualitat del producte final s'hagi vist malmesa i, consegüentment, una millora del rendiment econòmic de la cerveseria.

Paraules clau: Llevat, *slurry*, *repitching*, viabilitat, atenuació.

ABSTRACT

Fermentation is the most important stage in the process of brewing. Among the factors that can affect the yield of fermentation, the physiological state of yeast and its inoculation rate are essential. The easiest option to inoculate yeast is to use commercial yeast preparations (dry or liquid). However, one of the most interesting techniques to improve performance is the reuse of yeast in different fermentations, known as repitching. This involves taking advantage of the resulting yeast from a fermentation and inoculate it in another tank. Reused yeast is already active and comes from a medium similar to the one that will be inoculated, so it will not take so long for it to adapt to this new medium, it will start fermentation before, and it will take less time to complete it. However, the physiological conditions of the yeast, such as viability and attenuating capacity, must be considered, as these will have a key impact on the development of fermentation. Therefore, a consistent repitching protocol must be established to allow the yeast to be reused for as many generations as possible without compromising the final product quality.

In this study, the repitching technique of the craft brewery *DouGall's* has been optimized and the physical-chemical parameters of reused yeast fermenting have been studied. In addition, a study of the performance of fermentation and economic performance has been carried out, comparing the data obtained in fermenting with repitching with that of dry yeast fermentation. The results show that the optimisation of the technique has resulted in a significant reduction in fermentation time without harming the quality of the final product and, consequently, an improvement in the economic performance of the brewery.

Key words: Yeast, slurry, repitching, viability, attenuation.

1. Introducció

En el procés d'elaboració d'una cervesa hi ha molts factors que intervenen en la qualitat del producte final, sent la matèria prima i el procés d'elaboració del most per part del mestre cerveser, dos dels punts més importants. Tot i això, qui realment elabora la cervesa és el llevat. El mestre cerveser és el que s'encarrega de preparar el medi que ha de tenir les condicions òptimes pel correcte desenvolupament del llevat. Així doncs, és essencial conèixer la soca de llevat que s'utilitza en cada fermentació per saber quins són els seus requeriments i poder tenir un millor control sobre aquesta. La fermentació és l'essència de l'elaboració d'una cervesa, ja que aquesta implica la conversió dels carbohidrats fermentables del most en etanol, CO₂ i l'aparició de diversos aromes i sabors. Alhora, la fermentació es tracta d'un dels passos que més temps consumeix en el procés global d'elaboració d'una cervesa. Per aquest motiu, un objectiu interessant de la ciència i tecnologia cervesera és reduir el temps de fermentació a la vegada que s'obté un producte final d'una mateixa qualitat. D'aquesta manera s'estalviaria molt de temps, es podria augmentar la productivitat volumètrica i, conseqüentment, hi hauria més beneficis econòmics per la cerveseria (Verbelen *et al.*, 2009). Una de les formes d'estalvi i millora del rendiment d'una cerveseria és el reaprofitament del llevat, el qual serà el tema d'estudi del present treball.

- **Factors que afecten al rendiment de la fermentació**

El rendiment de la fermentació es veu afectat per diversos factors externs al llevat. Per una banda hi ha les condicions del most, com la seva densitat original, l'oxigenació i el contingut en nutrients. Una alta densitat original del most suposa una elevada pressió osmòtica i hidrostàtica; a més a més d'una concentració d'alcohol final més elevada. Aquests factors afectaran al rendiment del llevat, veient-se reduït el nombre de generacions de llevat que es poden utilitzar com més elevada sigui la densitat inicial dels mostos (Kordialik-Bogacka and Diowksz, 2013). Pel que fa a l'oxigenació del most, aquesta és essencial pel creixement dels llevats, ja que aquests utilitzen l'oxigen per formar els esterols i àcids grassos insaturats, components essencials per la funcionalitat de la membrana plasmàtica (Boulton and Quain, 2001). Per tant, una bona oxigenació del most és molt important per la síntesis de membranes plasmàtiques durant la fase de creixement del llevat. Un creixement inadequat pot causar un rendiment insuficient de biomassa per poder reutilitzar el llevat en futures generacions, a més a més d'una disminució de la viabilitat, un augment de l'edat del llevat i un augment de compostos aromàtics no desitjats, com l'acetaldehid o el diacetil (Verbelen *et al.*, 2009). Finalment, l'altre factor del most que pot afectar al rendiment de la fermentació és el seu contingut de nutrients. Ens hem d'assegurar que el most tingui un contingut adequat d'aminoàcids, ja que el llevat els necessita pel correcte desenvolupament cel·lular i per la fermentació. A més a més, molts enzims necessiten certs minerals com a co-factors, per tal de treballar amb major eficiència. Un dels més importants és el zinc, co-factor de l'enzim alcohol deshidrogenasa, el qual s'encarrega de la producció d'alcohol. Per altra banda, el fòsfor també és un element molt important pel llevat, ja que aquest és un component essencial del DNA i dels fosfolípids de les membranes cel·lulars. Per tant, s'ha d'assegurar la presència del contingut idoni de fòsfor per evitar problemes de fermentació i/o fermentacions incompletes, resultants de problemes en la replicació del DNA i

duplicació cel·lular. Hi ha diferents productes disponibles que contenen nutrients pels llevats i aporten una font equilibrada de nitrogen, minerals i vitamines.

Per altra banda, els altres factors més importants que afectaran al rendiment de la fermentació són la taxa d'inoculació del llevat, el seu estat fisiològic i la temperatura. Respecte a la inoculació del llevat, aquesta es pot fer utilitzant preparacions comercials de llevat sec o llevat líquid; o bé reutilitzant el llevat resultant d'una altra fermentació, el que es coneix com a *repitching*.

- **Repitching: Fonaments, tècniques i factors a tenir en compte**

El *repitching* és una tècnica que consisteix en reaprofitar el llevat restant d'una fermentació per fermentar un nou most. Aquesta tècnica permet un estalvi en els costos de llevat a la cerveseria i, alhora, una millora en el rendiment de les fermentacions, sempre i quan el llevat es trobi en un correcte estat fisiològic. Hi ha dues tècniques de *repitching*, el *top-cropping* i el *bottom-cropping*. La primera consisteix en recol·lectar el llevat del *krausen*, és a dir, de l'espuma que es forma a la part superior del fermentador durant el punt àlgid de la fermentació, on s'hi troba el llevat en el seu punt màxim de viabilitat i vitalitat. Aquesta tècnica permet obtenir una mostra lliure de trub i amb un llevat menys estressat, tot i que és menys automatitzable i només es pot fer en cerveses d'alta fermentació.

Per altra banda, el *bottom-cropping* consisteix en transvasar la pasta de llevat (*slurry*) que queda al fons d'un tanc al acabar una fermentació, cap a un altre tanc. Aquest mètode és viable en la majoria de fermentadors i es poden aconseguir cultius altament domesticats i coneguts, pel que és el més comú en cerveseries artesanes. Tot i això, la pressió a la zona inferior del tanc i els continus canvis de condicions al que es sotmet el llevat, provoquen que aquest vagi perdent la viabilitat. Per tant, és imprescindible tenir un bon control de la viabilitat i vitalitat del llevat. Per la correcta recol·lecció del llevat en el *bottom-cropping* cal conèixer quina és la seva disposició al tanc. Quan acaba la fermentació, el llevat flocula i precipita al fons del tanc. Una vegada allí, és recomanable no deixar passar més de dos dies per aprofitar el llevat, ja que la viabilitat pot disminuir dràsticament. Tal i com es pot observar a la Figura 1, al con del fermentador hi ha diferents estrats que formen el *slurry*, els quals es poden diferenciar pel tipus de llevat present en cadascun d'aquests (White and Zainasheff, 2010). La fracció inferior està formada per les cèl·lules més floculants, les quals tenen poca capacitat d'atenuació i arriben abans a l'estat de senescència. Aquesta fracció destaca per ser d'un color més fosc que les altres i tenir una densitat superior, més pastosa. La part superior està composta pels llevats menys floculants i, a vegades, poden ser excessivament atenuants. Finalment, la fracció més desitjable per reutilitzar-ne el llevat és la central, ja que en aquesta s'hi troben els llevats amb una floculació adequada, una bona atenuació i una edat cel·lular relativament curta. Aquesta fracció té una consistència més cremosa i un color més clar que la fracció inferior, tret que ens pot ajudar a detectar en quin punt podem començar reaprofitar el llevat.

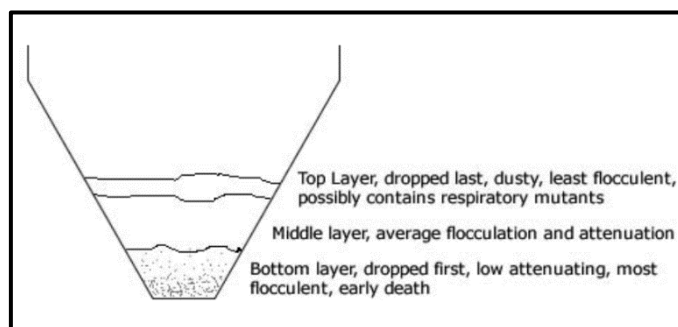


Figura 1. Esquema de la disposició del llevat al fons d'un tanc de fermentació cilíndric (White and Zainasheff, 2010).

Quan es tracta de reaprofitar llevat, un dels punts més importants a tenir en compte és la quantitat de llevat necessària per dur a terme la fermentació. Si s'inocula massa quantitat de llevat (*overpitching*) o una quantitat insuficient (*underpitching*), la salut de la fermentació es pot veure compromesa. Un *overpitching* pot suposar una falta de nutrients disponibles per la replicació del llevat, de manera que es redueixi el temps de la fase lag i iniciï abans la fase exponencial de fermentació. Això proporcionarà una fermentació ràpida i una millor eficiència degut al poc creixement cel·lular, ja que no es consumeixen tants sucres per la formació de biomassa (Smart, 2008). Tot i això, aquesta condició provocarà que cada cèl·lula individual no es trobi en un estat tant saludable al final de la fermentació i hi hagin variacions en els aromes del producte final degut a la secreció de compostos per part del llevat com, per exemple, èsters (Boulton and Quain, 2001). Pel que respecta a una situació de *underpitching*, aquesta normalment s'intenta solucionar amb un lleuger augment de la temperatura, una major aireació del most i/o amb l'addició de nutrients per obtenir un elevat creixement cel·lular. Tot i això, aquest procés pot deixar les cèl·lules en un estat inferior a l'òptim pel que queda de fermentació i per a futures fermentacions (White and Zainasheff, 2010). Per tant, al seleccionar una taxa d'inoculació òptima, s'ha de posar en balança la velocitat de la fermentació i la pèrdua de l'eficiència degut a la proporció de sucres utilitzats per la formació de biomassa.

Un altre factor a considerar és l'edat de les cèl·lules del llevat. Les cèl·lules joves necessiten complir certs requeriments per acabar la fase Lag, iniciar la fase exponencial i la fermentació. Un d'ells és aconseguir una mida considerable, pel que aquestes han d'assimilar nutrients i convertir-los en biomassa, fet que consumeix més temps (Powell, Quain and Smart, 2003). Per altra banda, la inoculació amb llevats més vells pot afectar negativament les qualitats organolèptiques de la cervesa final, augmentant els nivells d'alcohols de fusel, diacetil i acetat (Layfield and Sheppard, 2015). Això és degut a que les cèl·lules de llevat velles pateixen un augment de la seva mida, alteracions de la forma i l'aparença de la superfície cel·lular, un declivi del metabolisme i una modificació de l'expressió gènica o de la síntesis proteica que resulten en l'alliberament d'aquests compostos aromàtics no desitjats (Powell, Quain and Smart, 2003).

Durant la fermentació, els llevats es veuen sotmesos a diferents canvis, com la concentració d'oxigen, el potencial osmòtic, una reducció del pH, canvis de temperatura, un augment de la concentració d'alcohol i una disminució de nutrients (carboni i nitrogen). A més a més, quan es fa un *repitching*, el llevat de la fermentació d'origen es troba en fase estacionària, en un medi anaeròbic i amb absència de nutrients. Al mesclar-se amb el nou most, passa a un canvi sobtat cap a un medi ric en nutrients i aerobi, ja que aquest most està airejat, al qual el llevat s'hi ha d'adaptar ràpidament per tal de poder dur a terme una fermentació en bones condicions. És per això que aquest té una fase lag molt curta, on esgota ràpidament l'oxigen disponible i crea un medi anaerobi, seguit d'una fase de creixement exponencial ràpida. Tots aquests esdeveniments semblen ser positius, ja que interessa que el llevat reutilitzat comenci la fermentació el més ràpid possible. Tot i això, al mateix temps, la suma de tots aquests canvis suposen situacions d'estrès pel llevat que afectaran a la seva fisiologia i fermentació en un futur, observant-se una pèrdua de viabilitat i vitalitat a mesura que avança en generacions (Kalayu, 2019). Per aquest motiu, quan en una cerveseria s'acostuma a practicar *repitching*, és molt important tenir establert un mètode per poder fer un seguiment de l'estat fisiològic i la viabilitat del llevat i, així, saber si aquest es pot seguir reutilitzant. Per conèixer l'estat fisiològic del llevat es poden fer

observacions de les cicatrius de gemmació que aquests tenen a la seva paret cel·lular. Cada vegada que una cèl·lula es divideix, resta una marca a la paret cel·lular que és visible al microscopi, de manera que la quantitat de cicatrius ens dóna informació directa de l'estat fisiològic del llevat. Una altra forma per conèixer aquest estat es basa en el contingut de biomarcadors, és a dir, components intracel·lulars com el glicogen, trehalosa, esterols, àcids grassos insaturats, DNA i proteïnases. La concentració d'aquests components intracel·lulars al most indicará l'estat fisiològic del llevat, ja que com més velles siguin les cèl·lules, més concentració d'aquests components hi haurà. Tot i això, aquests anàlisis no són senzills de realitzar i, encara menys, en una cerveseria artesana on no hi ha tant pressupost ni equipament disponible. Per aquest motiu, una tècnica més senzilla, assequible i, alhora, la més utilitzada en cerveseries artesanes per conèixer la viabilitat cel·lular, es tracta de fer un recompte cel·lular al microscopi utilitzant un hemocitòmetre, juntament amb una tinció de la mostra. Concretament, s'utilitza el colorant blau de metilè, el qual permet discernir la viabilitat dels llevats. Els llevats viables tenen activitat reductora que els permet transformar el blau de metilè en el seu derivat incolor. Per tant, si s'afegeix blau de metilè en una mostra amb llevat, els llevats viables hauran pogut consumir el colorant del seu interior i es veuran incolors al microscopi, mentre que els llevats no viables s'observaran de color blau, ja que hauran estat incapaços de consumir el colorant.

Al parlar de la reutilització de llevat, s'han de tenir en compte quines implicacions pot tenir aquesta en paràmetres com l'atenuació real, el temps de fermentació, la floculació i l'aparició de diacetil. Segons diferents estudis, l'atenuació observada en les fermentacions d'una mateixa cervesa per part de llevats de diferents generacions no té diferències significatives (Powell, Quain and Smart, 2003; Smart, 2008; Kordialik-Bogacka and Diowks, 2013). Això vol dir que les diferents generacions de llevat tenen la mateixa capacitat d'utilitzar els sucres fermentables, tot i que si que hi haurà diferències en la rapidesa del consum d'aquests sucres. Hi ha diferents estudis que coincideixen en el fet de que durant les primeres generacions de llevat reutilitzat, s'observa un augment significatiu en la rapidesa de la fermentació (Powell, Quain and Smart, 2003; E. Kordialik-Bogacka and Diowks, 2013; Kucharczyk *et al.*, 2020). Tot i això, arriba un punt en que futures generacions de llevat ja no implicaran major rapidesa de fermentació (E. Kordialik-Bogacka and Diowks, 2013).

La floculació és aquell procés en el qual les cèl·lules de llevat formen flòculs de milers de cèl·lules, gràcies a la formació de ponts de calci entre les superfícies dels llevats, que acaben sedimentant al fons del tanc. La floculació depèn principalment de la soca de llevat, dels nutrients del medi, de la fase de creixement, de la temperatura, del pH, del contingut en alcohol i del contingut d'oxigen en el most inicial. Pel que respecta als factors que hi poden afectar, la capacitat floculant d'una mateixa soca de llevat pot variar en funció de la generació de llevat, principalment degut a la velocitat de fermentació i a la mida de les cèl·lules. Les generacions avançades tindran una taxa de fermentació superior, pel que acabaran de fermentar abans i, conseqüentment, flocularan abans. Per altra banda, com més jove sigui el llevat, més petita serà la mida de les seves cèl·lules, tindrà menys superfície cel·lular i, per tant, més lent serà el seu procés de floculació (Powell, Quain and Smart, 2003).

- **Fermentacions i *repitching* a la cerveseria *DouGall's***

El nombre de vegades que es fa *repitching* en sèrie d'una mateixa població de llevat depèn de la soca de llevat, la qualitat del llevat, la densitat original del most i de la política d'empresa (E. Kordialik-Bogacka and Diowks, 2013). En cerveseries industrials es pot arribar a reutilitzar un llevat entre 7 i 9 vegades per fermentacions de mostos d'una densitat original similar. Tot i això, en alguns casos de llevats *lager*, s'ha arribat a reutilitzar el llevat fins a 20 vegades (Powell, Quain and Smart, 2003). Tot i això, en la cerveseria *DouGall's* s'estableix un límit a les 5 generacions, ja que al tractar-se d'una cerveseria artesana, no es tenen tants recursos com per assegurar la correcta estabilitat del llevat. D'aquesta manera, s'evitaria propagar possibles contaminacions que hi puguin haver en el *slurry*.

En la cerveseria *DouGall's* només es fa *repitching* de fermentacions amb la soca de llevat *Saccharomyces cerevisiae SafAle™ US-05*. Aquest llevat és el que s'utilitza més sovint en aquesta cerveseria. Les altres soques de llevat tipus *lager* i tipus *ale* s'utilitzen per receptes de les quals no se'n fan lots tan sovint. Per tant, el temps que passa entre aquests lots és massa gran com per aconseguir mantenir el llevat viable en el fermentador per utilitzar-lo pel següent lot. Per altra banda, no sempre es reutilitza el llevat US-05 fins la cinquena generació. D'entre les cerveses que s'elaboren a *DouGall's*, les que tenen una graduació alcohòlica superior al 7% (v/v) i aquelles que tenen una coloració superior a 30 EBC, aproximadament, no s'aprofiten per reutilitzar llevat. En el primer cas, es deu a que la graduació pot suposar un estrès massa elevat pel llevat i comprometre'n la seva capacitat fermentativa. En canvi, en el segon cas es tracta simplement d'una qüestió d'afectació al color final de la cervesa.

La soca de llevat *SafAle™ US-05*, amb la qual es fan els *repitchings*, es tracta d'un llevat de tipus *ale* americà que produeix cerveses equilibrades, netes i amb poc diacetil. A més a més, es manté bastant bé en suspensió i té una capacitat de floculació intermèdia.

2. Objectius

L'objectiu principal del present treball és optimitzar la tècnica de *repitching* de la cerveseria *DouGall's* i estudiar-ne el seu rendiment, amb la finalitat de reduir el temps de fermentació i millorar-ne el rendiment. Per tal d'assolir aquest objectiu, s'han plantejat els següents objectius específics:

- Estudiar els paràmetres físico-químics de totes les fermentacions de la cerveseria *DouGall's* durant la campanya 2021, tenint en compte si s'ha utilitzat llevat sec o llevat reutilitzat i la seva respectiva generació.
- Estudiar el rendiment de les fermentacions, valorant el temps de fermentació i l'atenuació real.
- Estudiar el rendiment econòmic de les fermentacions en funció de la freqüència de reutilització de llevat, comparant les dades anteriors a aquest treball i els valors actuals.

3. Metodologia i pla de treball

3.1. Reactius, equipament i mostres

Per aquest estudi s'ha utilitzat la soca industrial de llevat sec *Saccharomyces cerevisiae SafAle™ US-05*, obtinguda de la casa comercial *Fermentis by Lesaffre* (Valladolid, Espanya). Per l'esterilització de les aixetes a l'hora d'agafar mostres, s'ha utilitzat etanol al 70% subministrat per Sopura Química S.A. (Tàrraga, Espanya). Les mostres s'han diluït utilitzant aigua desionitzada subministrada per Laborquímia (Polanco, Espanya). El colorant blau de metilè utilitzat per l'estudi de la viabilitat del llevat i els patrons de pH (pH=4 i pH=7) s'han obtingut de Panreac Applichem (Castellar del Vallès, Espanya). Per la neteja i sanejament del circuit pel transvasament del *slurry* s'ha utilitzat Alcamix, una preparació bàsica d'hidròxid de sodi, i Sopuroxid15, una preparació àcida d'àcid peracètic, àcid acètic i peròxid d'hidrogen. Aquests productes s'han obtingut de Sopura Química S.A. (Bèlgica). Per esbandir els circuits de mangueres per on passava la mostra al fer el transvasament, s'ha utilitzat aigua de xarxa esterilitzada amb una làmpada UV.

La balança de precisió electrònica 5162 per pesar la quantitat de mostra necessària i el microscopi òptic els ha subministrat Nahita Blue (Alacant, Espanya). Per realitzar les dilucions de les mostres s'han utilitzat micropipetes (100-1000µL) de Digipette i pipetes aforades (0,1-10mL) d'ENDO Glassware, subministrades per Tecnylab (València, Espanya). Per mesurar el pH de les mostres s'ha utilitzat un potenciòmetre digital, subministrat per Labprocess (Badalona, Espanya). Per la filtració de les mostres s'han utilitzat filtres de paper de 125mm de diàmetre, subministrats per Filter-LAB (Barcelona, Espanya). Per la mesura de la densitat de les mostres s'ha utilitzat el densímetre digital Anton Paar DMA 35 (Graz, Àustria). Tots els comptatges cel·lulars s'han realitzat amb una càmera de Neubauer de Blau brand (Wartheim, Alemanya). Pel transvasament del *slurry*, s'han utilitzat mangueres alimentàries de DN 40, adaptadors de tipus T i CO₂. Pel càlcul de la quantitat de *slurry* a transvasar i la seva densitat s'ha utilitzat el caudalímetre SITRANS FC330, subministrat per Siemens S.A. (Rubí, Espanya).

En aquest estudi s'ha fet el seguiment i la comparació de fermentacions de les línies de cervesa 942 (*American Pale Ale*) i IPA 4 (*India Pale Ale*); tant aquelles en les que s'ha utilitzat llevat sec, com aquelles en les que s'hi ha fet *repitching*. Aquestes són les cerveses en les que s'ha utilitzat *repitching* més sovint, permetent així que se'n pugui fer un estudi i comparació significativa sobre les dades de les seves fermentacions. Tot i això, també s'han estudiat la resta d'elaboracions en les que s'ha reutilitzat llevat per tal de tenir dades globals dels temps de fermentació i del cost total en llevat. La Taula 1 i la Taula 2 mostren tots els lots d'aquestes dues línies de cervesa que s'han elaborat durant la campanya del 2021. L'Annex 1 i l'Annex 2 mostren en més detall el seguiment de cadascuna de les fermentacions dels lots que apareixen en aquestes taules.

Taula 1. Lots de cervesa 942 (*American Pale Ale*) elaborats entre gener i agost de 2021. Es mostra la quantitat de llevat utilitzada en cada cas, el tipus de llevat i la seva respectiva generació.

942 (<i>American Pale Ale</i>)				
DATA D'ELABORACIÓ	LOT	QUANTITAT LLEVAT (kg)		GENERACIÓ LLEVAT
		SEC US-05	REPITCHING	
4/1/2021	21001/002	2	-	-
16/3/2021	21024/025	2	-	-
24/3/2021	21030/031	1,5	-	-
15/4/2021	21040/041	2	-	-
19/5/2021	21057/058	-	35	1
1/6/2021	21064/65	-	30	3
17/6/2021	21075/76	-	40	1
28/6/2021	21080/81	-	60	1
6/7/2021	21086/87	2	-	-
14/7/2021	21091/92	-	35	3

Taula 2. Lots de cervesa IPA 4 (*India Pale Ale*) elaborats entre gener i agost de 2021. Es mostra la quantitat de llevat utilitzada en cada cas, el tipus de llevat i la seva respectiva generació.

IPA 4 (<i>India Pale Ale</i>)				
DATA	LOT	QUANTITAT LLEVAT (kg)		GENERACIÓ LLEVAT
		SEC US-05	REPITCHING	
4/2/2021	21013/14	-	40	1
4/3/2021	21022/23	2	-	-
22/3/2021	21028/29	2	-	-
7/4/2021	21035/36	2	-	-
13/4/2021	21038/39	2	-	-
21/4/2021	21043/44	2	-	-
6/5/2021	21053/54	2	-	-
24/5/2021	21059/60	-	36	2
8/6/2021	21070/71	2	-	-
14/6/2021	21072/73	-	50	1
20/6/2021	21078/79	2	-	-
8/7/2021	21088/89	2	-	-
20/7/2021	21096/97	-	50	4

En aquestes taules s'indica en quins lots s'ha utilitzat llevat sec i en quins s'ha reutilitzat llevat, especificant-ne la quantitat i la seva generació. Les quantitats de llevat reutilitzat varien en funció de la concentració cel·lular al *slurry* de la cervesa d'origen i la seva viabilitat. Més endavant s'explicarà en detall els càlculs realitzats per determinar la quantitat de llevat necessària per inocular les cerveses.

3.2. Disseny experimental

La part pràctica d'aquest treball ha consistit en diferents parts. Per una banda, l'establiment d'un protocol de presa de mostres de llevat a reutilitzar, el seu anàlisi i els càlculs per conèixer la quantitat necessària de llevat per la següent fermentació. Per altra banda, s'ha realitzat un seguiment de la fermentació de tots els lots de cervesa i del seu respectiu producte final. Durant la fermentació s'han anat analitzant paràmetres físico-químics, com el pH, la densitat i l'atenuació. També s'han realitzat anàlisis microbiològics, principalment comptatges cel·lulars, estudiant la viabilitat del llevat, i cultius cel·lulars per avaluar possibles contaminacions.

Finalment, s'han realitzat proves organolèptiques per avaluar l'efecte del tipus de fermentació en la desaparició del diacetil al final de la fermentació.

- **Protocol per determinar la quantitat de llevat a reutilitzar**

Per tal de conèixer la quantitat de llevat a reutilitzar i la seva viabilitat i vitalitat, primerament s'extreien mostres del *slurry* de llevat del tanc d'origen, és a dir, des d'on es vol obtenir el llevat per fer el *repitching*. Per tal de poder reutilitzar el llevat d'una fermentació a una altra a través de la tècnica de *bottom-cropping*, és imprescindible que la fermentació del tanc d'origen hagi finalitzat. A més a més, per aconseguir una concentració de llevat elevada al con del fermentador, és interessant baixar la temperatura del tanc a uns 16°C. Aquests dos factors propiciaran que el llevat floculi i precipiti al fons del fermentador, de manera que hi haurà més concentració de llevat. Una vegada fet això, es procedeix a esterilitzar les aixetes del fermentador amb alcohol i foc. A continuació, es fa una purga per l'aixeta de baix de tot el llevat mort que pugui restar al con. Tal i com s'ha comentat en la introducció, les fases de llevat mort i viable es poden diferenciar pel seu color i per la seva cremositat. El llevat mort té un color més fosc i es distingeix per formar una pasta més densa i seca; és a dir, pastosa. Per altra banda, el llevat viu té un color més clar i és més cremós. Una vegada s'observa llevat viu, es para de purgar i s'extreu una mostra de l'aixeta del baix i una altra de l'aixeta del mig del con del fermentador (Figura 2). Anteriorment, només es mesurava la concentració de llevat de la part del fons del con, fet que sobre-estimava la quantitat total de llevat, ja que com més amunt del con, menys llevat hi ha. Com que entre l'aixeta del fons i la del mig dels cons hi ha un volum de 80 litres i, pel *repitching* s'acostumaven a utilitzar entre 50 i 70 litres, es va modificar el protocol, passant a calcular la concentració mitjana de llevat entre l'aixeta del fons i la del mig del con del fermentador d'origen. A partir d'aquesta, es podria calcular amb més precisió la quantitat de *slurry* necessària a transvasar d'un fermentador a l'altre, ja que la mitjana de la concentració donaria un valor més aproximat a la concentració real en el conjunt del con. Així doncs, tots els càlculs per aquest estudi s'han realitzat d'aquesta manera.

A continuació, es porten les mostres a analitzar al laboratori. Primer se'n mesura el pH utilitzant el potenciòmetre, prèviament calibrat amb les solucions patró de pH=4 i pH=7. Tal i com s'ha vist en la bibliografia, aquest valor ens pot donar un indicatiu de la vitalitat que tindrà el llevat (Layfield and Sheppard, 2015). Si aquest es troba entre 4,2 i 4,5, el llevat tindrà una bona vitalitat i, segurament, una bona viabilitat. A continuació, es fan comptatges cel·lulars amb el microscopi, la càmera de Neubauer i blau de metilè per conèixer la concentració i la viabilitat d'aquest llevat. Per preparar la mostra, s'ha de tenir en compte que en aquesta hi ha una concentració molt alta de llevat, de manera que no seria possible observar-lo correctament al microscopi. A més a més, en la mostra, i juntament amb el llevat, hi ha una quantitat considerable de CO₂, pel que la densitat d'aquesta és inferior a 1,000 g/cm³. Per tant, cal diluir la mostra i, per fer les dilucions, no es pot considerar el volum, sinó que s'ha de fer per pes. Així doncs, amb l'ajuda de la balança electrònica de precisió i les micropipetes, es fan dilucions seriades 1:10 fins aconseguir una dilució que permeti observar correctament les cèl·lules al microscopi. Finalment es fa una dilució 1:2 al afegir el colorant blau de metilè, s'espera entre 3 i 5 minuts per la correcta tinció de la mostra i, una vegada arribat a aquest punt, ja es pot carregar la mostra a la càmera de Neubauer i començar el comptatge cel·lular. Normalment, a la mostra de l'aixeta de baix del con del fermentador s'hi fa una dilució 1:2000, mentre que a la mostra de l'aixeta del mig s'hi acostuma

a fer una dilució 1:200, ja que en aquesta última, la concentració de llevat sempre és inferior. La Figura 2 mostra tot aquest procés.

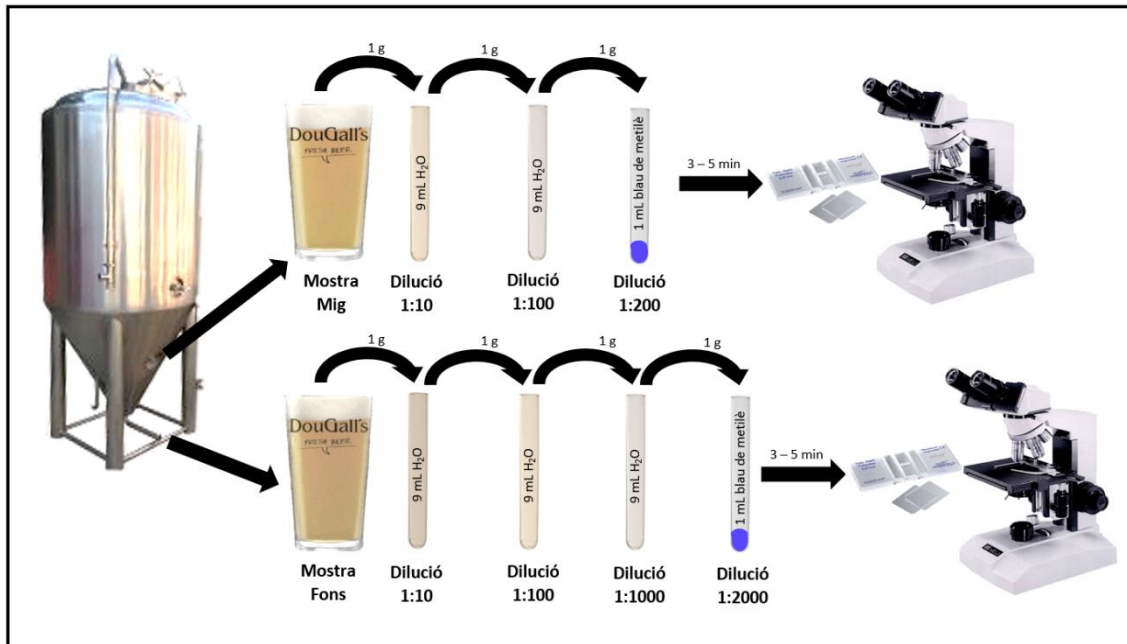


Figura 2. Preparació de la mostra per a fer el comptatge cel·lular i l'estudi de la viabilitat.

Pel comptatge cel·lular, es carrega la càmera de Neubauer amb la mostra tenyida a l'espai que queda entre el cobreobjectes i els compartiments laterals de la càmera, els quals queden lleugerament més elevats que la zona central on hi ha les quadrícules. Aquesta diferència d'alçada és de 0,1 mm, de manera que coneixent aquesta alçada i la superfície que ocupa la quadrícula, es pot determinar el volum que ocupa cada zona de la quadrícula. Una vegada sabem aquest volum, en funció de la quantitat de quadrícules comptades, el volum que ocupen, la quantitat de cèl·lules comptades i la dilució de la mostra, podem calcular quina concentració de cèl·lules tenim a la mostra utilitzant la següent equació:

$$\text{N}^{\circ} \text{ cèl·lules / mL} = \frac{\text{n}^{\circ} \text{ cèl·lules} \times \text{dilució}}{\text{n}^{\circ} \text{ quadres} \times \text{volum}}$$

De cadascuna de les mostres analitzades, es compten 6 combinacions de quadres diferents, cadascuna de les quals comprèn el comptatge dels llevats que hi ha en 5 quadres diferents de la quadrícula central de la càmera. La càmera de Neubauer consta de dues zones de càrrega de la mostra, de manera que es fa el comptatge de 3 combinacions de quadres en cadascuna d'elles. D'aquesta manera es poden obtenir dades estadísticament més significatives. La Figura 3 mostra quin ordre es segueix per fer el comptatge d'una de les zones de càrrega de la càmera de Neubauer.

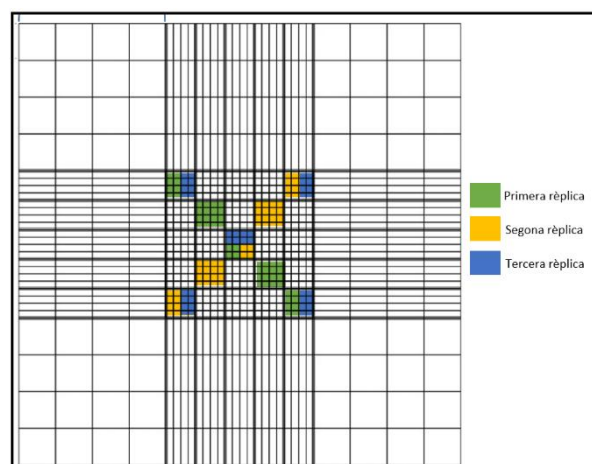


Figura 3. Mètode de comptatge d'una de les quadrícules de la càmera de Neubauer.

En el comptatge es tenen en compte les cèl·lules viables (sense tenyir) i les cèl·lules mortes (tenyides amb blau de metilè. Una vegada comptades les cèl·lules, es fa la mitjana dels valors de totes les rèpliques i, a partir d'aquesta, es calcula la concentració de llevats viables i totals (viables i no viables) que hi ha a la mostra, segons la següent equació:

$$N^{\circ} \text{ cèl·lules / mL} = 5 \times 10^4 \text{ mL}^{-1} \times n^{\circ} \text{ de cèl·lules} \times \text{dilució}$$

A continuació es calcula la viabilitat fent un percentatge entre les cèl·lules viables i les cèl·lules totals que hi ha en aquella mostra. Finalment es calcula la mitjana dels valors de la concentració cel·lular i la viabilitat de les mostres de les aixetes del fons i del mig del con del fermentador d'origen.

Per aconseguir un bon *repitching* es necessiten viabilitats superiors al 85% i una concentració de llevat en el most final d'un milió de cèl·lules per mil·lilitre per cada grau plató del most a fermentar. Per saber la concentració cel·lular necessària en el most final (C_F), es fa el següent càlcul:

$$C_F \left(\frac{\text{cèl} \cdot \text{lules}}{\text{L}} \right) = 1 \times 10^6 \frac{\text{cèl} \cdot \text{lules}}{\text{mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} \times \text{Grau Plato}$$

A continuació, coneixent aquest valor i el volum de most que s'haurà de fermentar (V_F), podem calcular la quantitat de cèl·lules necessàries per inocular (M), de la següent manera:

$$M \text{ (cèl} \cdot \text{lules)} = C_F \left(\frac{\text{cèl} \cdot \text{lules}}{\text{L}} \right) \times V_F \text{ (L)}$$

Aquesta quantitat de cèl·lules, serà la mateixa que s'haurà de transvasar. Per tant, coneixent aquest valor i la concentració cel·lular mitjana que tenim al *slurry* del con del fermentador d'origen (C_0), es pot calcular el volum de *slurry* a transvasar (V_0), de la següent manera:

$$V_0 \text{ (L)} = \left(\frac{M \text{ (cèl} \cdot \text{lules)}}{C_0 \left(\frac{\text{cèl} \cdot \text{lules}}{\text{L}} \right)} \right)$$

Una vegada sabem el volum de *slurry* que hem de transvasar, ja podem passar a preparar tot el material i el circuit per dur a terme el *bottom-cropping*.

- **Optimització del protocol de *repitching***

S'ha establert un protocol que es segueix de la mateixa manera cada vegada que es vol reutilitzar llevat. D'aquesta forma, es minimitza al màxim possible la variabilitat en els resultats que pugui deure's a la manipulació del llevat. Primerament, es realitza un protocol de neteja i sanitització fent servir el sistema CIP (Cleaning In Place), en el qual es fan passar productes químics per tot el circuit que s'utilitzarà (mangueres, aixetes i caudalímetre). Aquest protocol consisteix en recircular un producte bàsic (Alcamix) durant 30 minuts per netejar les possibles restes orgàniques que hi puguin haver. Seguidament, s'esbandeix el circuit amb aigua esterilitzada per filtres UV i, a continuació, es fa re-circular una solució àcida (Sopuroxid15) durant 20 minuts per sanititzar el circuit. La Figura 4 mostra el circuit utilitzat. Aquest consta d'una manguera que va

connectada amb una T des del tanc d'origen fins al caudalímetre, on s'hi afegeix una mirilla per poder veure l'estat del *slurry* que es transvasa. Des de l'altra sortida del caudalímetre hi ha connectada una altra manguera que va connectada al tanc receptor a través d'una altra T.

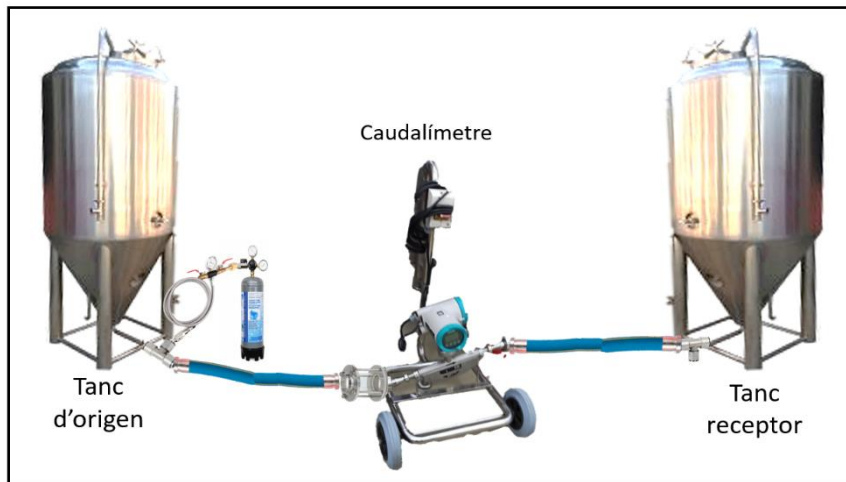


Figura 4. Esquema del circuit utilitzat pel transvasament del llevat.

A continuació es connecta una bombona de CO₂ a la T del tanc d'origen, amb la qual s'afegeix pressió al circuit. Després s'obre la T connectada al tanc receptor, de manera que amb l'ajuda de la pressió de CO₂, es purguen les restes de líquid del circuit. A més a més, el CO₂ ajudarà a evitar possibles oxidacions i a establir un diferencial de pressió que permeti dur a terme el transvasament, ja que en cap cas s'utilitza una bomba per evitar malmetre el llevat. Una vegada fet això i, poca estona abans de transvasar el most al fermentador, es passa a obrir l'aixeta inferior del tanc d'origen, de manera que comença a passar la pasta de llevat que es vol reutilitzar a través del caudalímetre. Aquest aparell va comptant els kg, la densitat i el volum de *slurry* que està passant, de manera que es pot controlar de forma molt exacta el pes i/o volum de llevat que s'està transvasant. Normalment, els primers dos litres de llevat que passen pel circuit es descarten per la T connectada al tanc receptor i, així, s'intenta evitar el possible transvasament de les soques més floculants que es troben al fons de tot del tanc d'origen. Una vegada fet això, es tanca la T, s'obre l'entrada del tanc receptor i es segueix transvasant llevat fins haver passat la quantitat desitjada de llevat. Finalment, es tanquen les aixetes inferiors dels dos tancs i s'agafa una mostra de l'última pasta de llevat que ha passat al tanc receptor per fer-ne un comptatge cel·lular i avaluar la concentració i viabilitat del llevat que hi ha als últims litres de *slurry* que ha entrat al tanc receptor. D'aquesta manera es podrà fer una nova mitjana entre aquestes dades i les de la primera fracció transvasada del *slurry*, obtenint la concentració mitjana real que s'ha transvasat d'un fermentador a l'altre.

Un cop ja hem fet el transvasament del llevat, ja es pot començar a omplir el fermentador amb el most a fermentar. Aquest most s'aireja en funció de la seva densitat inicial, tal i com s'ha mencionat anteriorment. Finalment, una vegada s'ha omplert el fermentador amb el most i, al cap d'una hora d'haver omplert el fermentador, es fa un últim comptatge cel·lular per comprovar que hi hagi una concentració de llevat òptima per iniciar la fermentació.

- **Seguiment de la fermentació i del producte final**

Durant les fermentacions s'ha anat fent un seguiment periòdic de les propietats fisicoquímiques del most (pH i densitat) i de les condicions del fermentador (temperatura i pressió). D'aquesta manera es podrà estudiar l'evolució que ha tingut cada fermentació. A més a més, amb els valors de la densitat final i la densitat original del most, es podrà calcular l'atenuació de cada fermentació, de manera que es podrà fer un estudi del rendiment de la fermentació.

Per altra banda, també s'han anat fent anàlisis microbiològics per avaluar la concentració de llevat i la seva viabilitat. Aquests, però, només s'han fet durant els primers 4 dies de fermentació degut a la impossibilitat de realitzar tants anàlisis en combinació amb altres tasques en la cerveseria. Tot i això, les dades de la població de llevat dels primers dies de la fermentació són les més significatives, ja que aquestes mostren quina ha estat l'adaptació del llevat al most i se'n pot observar molt bé la fase lag i la fase exponencial del llevat.

Finalment, una vegada acabades les fermentacions s'han fet proves organolèptiques qualitatives de la quantitat de diacetil present en el producte final per tal de comparar la capacitat de consum del diacetil en funció de la generació de llevat. Per aquest anàlisi, s'ha agafat mostra de la cervesa directament del fermentador, s'ha filtrat amb els filtres de cel·lulosa de 0,40 µm de porus i s'ha escalfat durant mig minut al microones. La mostra es filtra per evitar tenir llevat una vegada s'escalfa, ja que aquest es podria estressar i generar diacetil, fet que podria suposar un fals positiu. Una vegada escalfada la mostra, aquesta es deix temperar i, a continuació, s'avalua la presència de diacetil en nas.

4. Resultats i discussions

4.1. Seguiment de les fermentacions

El seguiment de les fermentacions ha mostrat diferències entre aquelles fermentacions en les que s'ha inoculat llevat sec i aquelles en les que s'ha reutilitzat llevat. Tot i haver estudiat fermentacions de moltes cerveses diferents, en aquest primer punt s'han comparat aquelles de les quals se'n tenen dades tant amb llevat sec com amb llevat reutilitzat. D'aquesta manera es podran extreure resultats i conclusions més significatives. Així doncs, les cerveses que s'han estudiat són les que s'elaboren més sovint a la cerveseria. Es tracten de la 942, una *American Pale Ale*; i la IPA 4, una *India Pale Ale*. La Figura 5 mostra gràficament els resultats del seguiment de les fermentacions de tots els lots de la cervesa 942. Cal remarcar que en una cerveseria sempre s'ha de tenir molt ben controlat el calendari d'elaboracions, sobretot quan s'ha de reutilitzar el llevat d'una fermentació per una altra. En aquests casos, s'ha de tenir disponible un fermentador amb una cervesa acabada de fermentar i a una temperatura d'uns 16°C o inferior per poder obtenir la quantitat i concentració de llevat desitjada al fons del tanc. Per tant, al fer una elaboració en la que es vol reutilitzar llevat, el mestre cerveser s'ha d'adaptar als fermentadors que tenen llevat disponible en aquell moment. És per això que en aquest treball no es tenen resultats de l'evolució de les fermentacions de totes les diferents generacions de llevat per una mateixa cervesa. En el cas de la cervesa 942, s'han pogut obtenir dades de fermentacions amb llevat sec i amb llevat reutilitzat de primera i tercera generació.

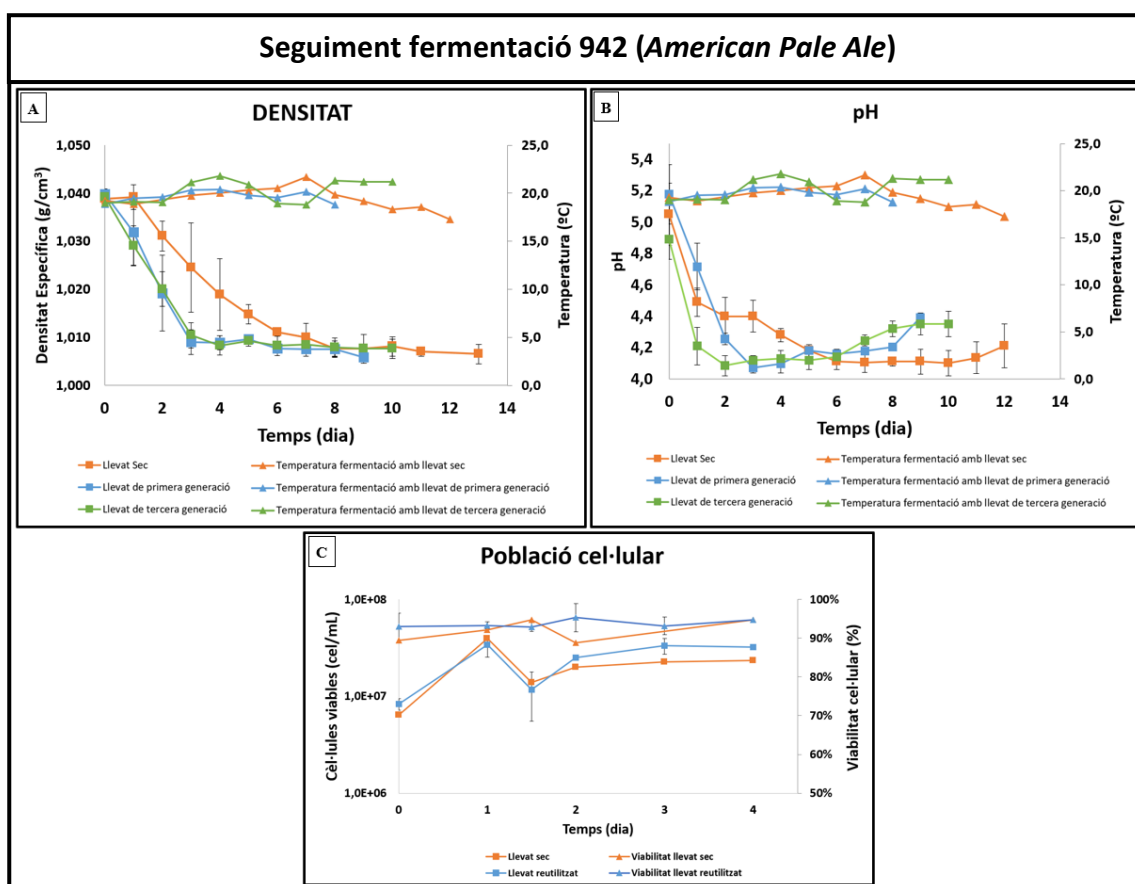


Figura 5. Seguiment de les fermentacions de la cervesa 942 (*American Pale Ale*). Es mostra el seguiment de la densitat (A), el pH (B), la població cel·lular i la seva respectiva viabilitat (C) durant la fermentació. Es representen les mitjanes aritmètiques dels valors de totes les fermentacions estudiades, juntament amb la seva respectiva desviació estàndard.

En la figura 5A es pot observar clarament com en les fermentacions dutes a terme amb llevat reutilitzat, hi ha una baixada de la densitat més ràpida que en aquelles fermentacions on s'hi ha inoculat llevat sec. Això coincideix amb la bibliografia (Powell, Quain and Smart, 2003; E. Kordialik-Bogacka and Diowksz, 2013; Kucharczyk *et al.*, 2020), indicant que aquest llevat reutilitzat s'adapta de forma més ràpida al medi i, per tant, comença la fermentació abans que el llevat sec. A més a més, també s'observa una pendent lleugerament superior en les fermentacions amb llevat reutilitzat. Aquest fet era esperat, ja que aquest llevat ja estava actiu i, per tant, estava més preparat per dur a terme la fermentació. Per altra banda, en aquest cas no s'observen diferències significatives en l'evolució de la densitat entre el llevat reutilitzat de primera generació i el de tercera generació. La figura 5B mostra l'evolució del pH durant la fermentació. En aquest cas, també es pot observar una baixada inicial de pH més ràpida en les fermentacions amb *repitching* en comparació amb les fermentacions amb llevat sec inoculat. Altrament, també s'observa com l'estabilització del pH i el lleuger augment d'aquest en les últimes hores de la fermentació ocorren abans en les fermentacions amb llevat reutilitzat. En aquest cas, el gràfic sembla indicar que la baixada inicial de pH té lloc abans en les fermentacions amb llevat de tercera generació que en el llevat de primera generació. Tot i això, s'ha de tenir en compte que el valor mitjà del pH inicial en els mostos fermentats amb llevat de tercera generació, és inferior al pH inicial dels mostos fermentats amb llevat de primera generació. Per tant, aquest és el principal factor que provoca aquesta petita diferència entre aquestes dues fermentacions. Finalment, la figura 5C mostra la població cel·lular durant els primers dies de fermentació i la seva respectiva viabilitat. En aquest aspecte, es poden observar una cinètica de població pràcticament idèntica i concentracions de llevat molt similars entre les fermentacions amb llevat reutilitzat i llevat sec. El primer dia hi ha un augment molt dràstic de la concentració de llevat en ambdós casos i, a continuació, es pot observar una disminució. Aquesta es deu a que en aquest punt és quan s'afegeix el segon most al fermentador. La cervesa 942 és la que es ven més de la cerveseria, de manera que sempre se'n fan lots grans, és a dir, de 5000 litres. Com que la cuina és de 2500 litres, per omplir un fermentador de 5000 litres s'han de fer dues coccions. Aquest és el motiu pel qual la concentració de llevat disminueix entre el primer i el segon dia de fermentació. A partir d'aquest punt, la població de llevat segueix augmentant els pròxims dies, observant-se un augment de la concentració lleugerament superior en les fermentacions amb *repitching*. Pel que respecta a la viabilitat, en ambdós casos, aquesta sempre es troba entre un 90 i un 95%, observant-se una lleugera tendència en augment a mesura que passa el temps. Un possible motiu pot deure's a que el llevat mort que hi hagi en suspensió acabi floculant i precipitant al fons del fermentador.

Per altra banda, també s'han estudiat les fermentacions de tots els lots de la cervesa IPA 4 (*India Pale Ale*). La Figura 6 mostra els resultats. En el cas d'aquesta cervesa, s'han pogut obtenir dades de fermentacions amb llevat sec i amb llevat reutilitzat de primera segona i quarta generació. Tot i això, en el cas de les fermentacions amb llevat reutilitzat, només es tenen dades d'una sola fermentació per cadascuna de les generacions. Per tant, no es poden fer comparacions significatives entre diferents generacions de llevat reutilitzat per falta de població d'estudi. Per aquest motiu, per l'estudi d'aquesta cervesa s'ha fet una comparació més general, entre llevat sec i llevat reutilitzat, sense tenir en compte les generacions de llevat.

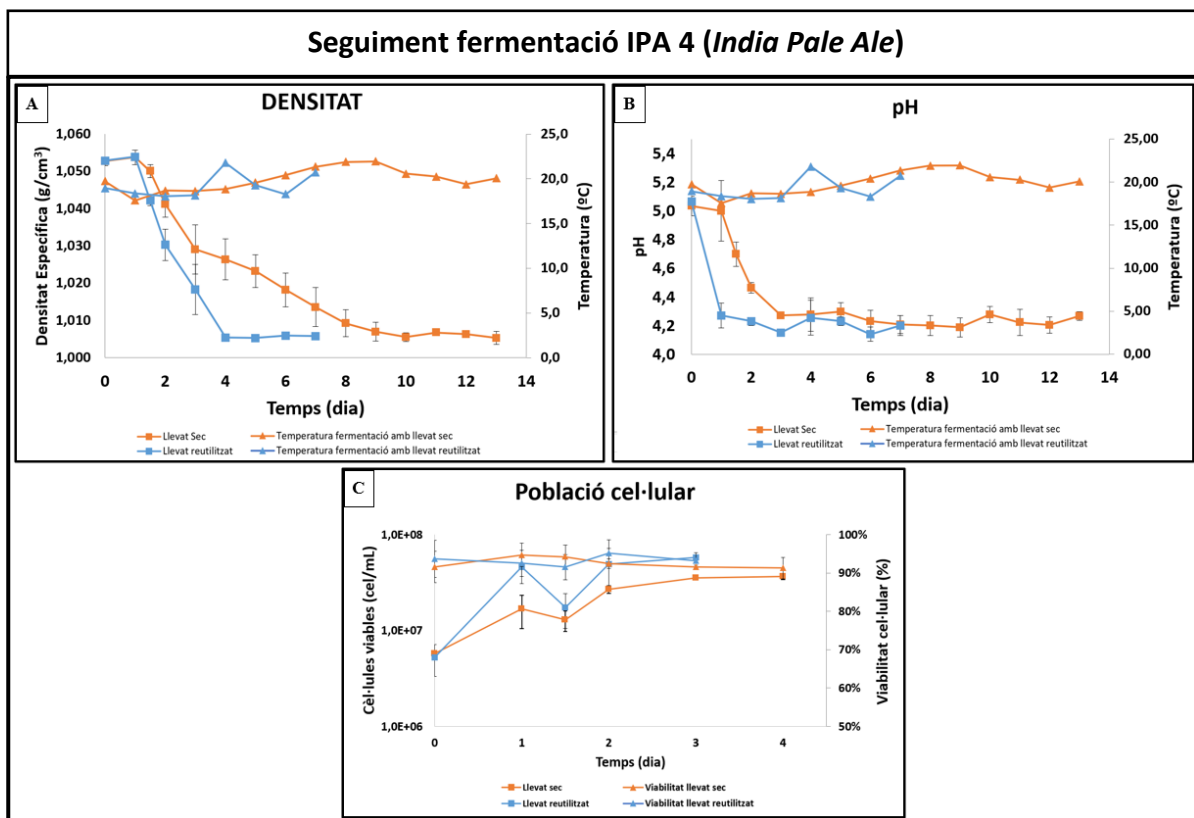


Figura 6. Seguiment de les fermentacions de la cervesa IPA 4 (*India Pale Ale*). Es mostra el seguiment de la densitat (A), el pH (B), la població cel·lular i la seva respectiva viabilitat (C) durant la fermentació. Es representen les mitjanes aritmètiques dels valors de totes les fermentacions estudiades, juntament amb la seva respectiva desviació estàndard.

Tal i com ja s'ha vist amb la 942, en la Figura 6A s'observa una baixada de densitat més ràpida en les fermentacions amb *repitching* que en les fermentacions on s'ha inoculat llevat sec. El temps de fermentació és considerablement inferior en la fermentació amb *repitching* que en la fermentació amb llevat sec. Més endavant es mostrarà una comparativa d'aquests temps de fermentació. Pel que fa a la Figura 6B, en aquesta també s'observa una baixada de pH inicial i una posterior estabilització més ràpida en el cas de la fermentació amb *repitching*, en comparació amb la fermentació amb llevat sec. Finalment, la Figura 6C és la que difereix més de les vistes per la cervesa 942. En el cas de la IPA 4, si que es veuen diferències significatives en la concentració cel·lular de llevat. El primer dia de fermentació, el llevat reutilitzat s'arriba a multiplicar fins a quatre vegades més que el llevat sec inoculat. A més a més, els següents dies, les fermentacions amb *repitching* tenen gairebé el doble de concentració de llevat que les fermentacions amb llevat sec. En aquest cas també s'observa una disminució de la concentració cel·lular entre el primer i el segon dia pel mateix motiu comentat anteriorment. La IPA 4, juntament amb la 942, és la cervesa que més es ven, pel que sempre es fan lots de 5000 litres amb doble cocció. Per tant, al afegir el segon most al fermentador, la població cel·lular es disminueix a gairebé la meitat. Finalment, en aquest cas no es poden observar diferències significatives respecte a la viabilitat durant els primers dies de fermentació. Tant el llevat sec com el llevat reutilitzat presenten viabilitats d'entre el 90 i el 95%.

4.2. Rendiment de les fermentacions

Una vegada acabades les fermentacions, es fa un estudi del rendiment d'aquestes. És a dir, s'estudia l'atenuació que hi ha hagut durant la fermentació. Per calcular l'atenuació real han calgut les densitats inicials i finals del most i s'han utilitzat les següent fórmules:

$$\text{Atenuació Real} = \left(\frac{\text{Gravetat Original (}^{\circ}\text{P)} - \text{Extracte Real}}{\text{Gravetat Original (}^{\circ}\text{P)}} \right) \times 100$$

$$\text{Extracte Real} = 0,1808 \times \text{Gravetat Original (}^{\circ}\text{P)} + 0,8192 \times \text{Gravetat Final (}^{\circ}\text{P)}$$

La Taula 3 mostra els resultats d'aquests càlculs. En la taula es mostren els valors dels rendiments de les fermentacions amb llevat sec i amb llevat reutilitzat. A l'Annex 3 es mostra una taula similar amb els rendiments de les fermentacions obtinguts per les diferents generacions de llevat reutilitzat. Tot i això, aquí no es mostren perquè, en general, faltarien més mostres de cadascuna de les generacions de llevat reutilitzat per poder considerar que es tenen dades significatives.

Taula 3. Rendiment de les fermentacions. Es mostren les densitats inicials i finals dels mostos elaborats durant la campanya del 2021 de les cerveses 942 (*American Pale Ale*) i IPA 4 (*India Pale Ale*), i l'atenuació real de totes aquestes fermentacions. Els valors que apareixen a la taula són la mitjana aritmètica de les dades de totes les fermentacions d'aquestes cerveses i la seva respectiva desviació estàndard.

RENDIMENT DE LES FERMENTACIONS				
Cervesa	Tipus de llevat	Densitat inicial (Graus Plato)	Densitat final (Graus Plato)	Atenuació (%)
942	Llevat sec	9,93 ± 0,12	1,76 ± 0,20	82,34 ± 1,79
	Llevat de <i>repitching</i>	9,93 ± 0,14	2,01 ± 0,35	79,83 ± 3,28
IPA 4	Llevat sec	13,16 ± 0,20	1,41 ± 0,36	89,24 ± 2,75
	Llevat de <i>repitching</i>	13,19 ± 0,08	1,49 ± 0,21	88,72 ± 1,54

En aquest cas, es poden observar diferències entre l'atenuació real de les dues cerveses. L'atenuació de la IPA 4 és superior a la de la 942. Això és principalment degut al tipus de malt utilitzat, el seu extracte i al rendiment del macerat. El tipus de malt i macerat de la 942 provoca que hi hagi més sucres no fermentables al most i, per tant, una densitat final més alta. A més a més, la densitat inicial és clarament més alta en la IPA 4 que en la 942, pel que és normal que l'atenuació sigui més gran. Tot i això, si que hi ha una petita diferència entre l'atenuació real entre les fermentacions amb llevat sec i les fermentacions amb llevat reutilitzat. Sembla ser que aquestes últimes tenen menys capacitat d'atenuació, ja que en les dues cerveses s'observen valors d'atenuació real inferiors en les fermentacions amb llevat reutilitzat. Tot i això, les diferències no són significatives. Per tant, els resultats coincideixen amb l'esmentat per la bibliografia (Powell, Quain and Smart, 2003; Smart, 2008; E. Kordialik-Bogacka and Diowksz, 2013), indicant que en les primeres generacions de llevat reutilitzat no s'observen diferències significatives en l'atenuació.

- **Desaparició del diacetil**

Durant l'estudi es van anar avaluant mostres de les cerveses acabades de fermentar per observar si hi havia diferències en la desaparició del diacetil en funció del tipus de llevat utilitzat. Es va anar veient que en tots els casos el diacetil sempre tardava el mateix en desaparèixer; aproximadament un dia a partir de la fi de la fermentació. S'ha decidit descartar aquesta part de l'estudi degut a la poca variabilitat dels resultats i al fet de que per realitzar un correcte anàlisi organolèptic seria adient tenir més avaluadors i un panell de cata més elaborat, la qual cosa no s'ha pogut fer per poca disponibilitat de temps a la fàbrica. Per tant, es van deixar de recopilar dades sobre la desaparició del diacetil. Tot i això, es pot concloure que en el cas d'aquest estudi no s'han vist diferències significatives en la desaparició del diacetil segurament perquè s'estava treballant amb generacions de llevat relativament joves. Segons la bibliografia, si s'utilitzen generacions de llevat més velles o hi ha una oxigenació insuficient del most, la desaparició del diacetil pot veure's afectada i allargar-se uns dies més (Verbelen *et al.*, 2009; Layfield and Sheppard, 2015). Tot i això, aquest no ha estat el cas del present estudi.

4.3. Temps de fermentació

Un altre dels factors interessants que s'han pogut observar en els gràfics dels seguiments de les fermentacions, és la diferència significativa del temps de fermentació entre les fermentacions amb llevat sec i les fermentacions en les que s'hi ha fet *repitching*. En general, les fermentacions en les que s'ha fet *repitching*, acaben de forma significativament més ràpida. Per aquest motiu, s'ha fet un estudi comparatiu per conèixer la diferència en el temps de fermentació. En aquest cas, la comparativa s'ha fet de totes aquelles cerveses elaborades durant la campanya del 2021 i de les quals se n'han fet elaboracions tant utilitzant llevat sec com llevat reutilitzat (942, IPA 4, Happy Otter i IPA 9). Hi ha casos de cerveses que només s'han elaborat utilitzant llevat sec (Raquera, Leyenda, Organic, etc) i d'altres que només s'han elaborat reutilitzant llevat (DIPA, Fishman. Hazy IPA). En aquests casos, no seria adequat fer-ne aquest estudi, ja que per a que la comparació sigui significativa s'han de valorar els diferents temps amb les mateixes condicions del most inicial, una atenuació semblant, etc. La Taula 4 mostra els resultats obtinguts.

Taula 4. Temps de fermentació de les cerveses 942 (*American Pale Ale*), IPA 4 (*India Pale Ale*), Happy Otter (*American Pale Ale*) i IPA 9 (*India Pale Ale*) durant la campanya de 2021. La taula mostra les diferències del temps de fermentació entre les cerveses en les que s'ha utilitzat llevat sec i en les que s'ha fet *repitching*. A més a més, es mostra el percentatge que suposa el temps de fermentació amb *repitching* respecte el temps de fermentació amb llevat sec. Els valors són la mitjana aritmètica de les dades de totes les fermentacions d'aquestes cerveses i la seva respectiva desviació estàndard.

CERVESA	TEMPS FERMENTACIÓ (DIES)			TEMPS FERMENTACIÓ + DRY-HOPPING (DIES)		
	Llevat sec	Repitching	%	Llevat sec	Repitching	%
942	10,0 ± 1,4	5,6 ± 1,1	56,00	15,4 ± 1,8	11,4 ± 1,7	74,03
IPA 4	11,2 ± 1,4	8,0 ± 0,0	71,29	15,9 ± 1,9	12,3 ± 0,6	77,69
HAPPY OTTER	6,33 ± 0,6	10,0 ± 2,8	157,89	10,0 ± 1,0	12,5 ± 2,1	125,00
IPA 9	12,7 ± 2,3	8,5 ± 0,7	67,11	17,0 ± 1,7	13,5 ± 0,7	79,41
TOTAL	10,1 ± 0,7	8,0 ± 1,2	79,81	14,6 ± 0,4	12,4 ± 0,8	85,34

En totes les cerveses que s'han estudiat s'hi fa *dry-hop* una vegada ha acabat la fermentació o quan queden pocs punts de densitat per acabar-la. Una vegada fet el *dry-hop*, es deix el llúpol

macerant en la cervesa a una temperatura d'entre 16 i 18°C durant un total de 5 dies. Una vegada passat aquest temps, s'aplica fred al fermentador, punt en que la cervesa ja estarà llesta per centrifugar i, posteriorment, envasar. Hi ha bastants casos de fermentacions en que una vegada s'ha aplicat fred a la cervesa, aquesta es manté al fermentador a baixa temperatura els dies que faci falta fins que quedi poc *stock* de la cervesa en qüestió i s'hagi d'envasar. Per aquest motiu, en la taula només es mostren els temps que tarden les cerveses en fermentar i en acabar els dies de *dry-hopping*, ja que són les dades significatives per considerar la fi de l'elaboració de la cervesa.

En general s'observa una major rapidesa en les fermentacions amb *repitching*, fet que resulta en un major rendiment des del punt de vista de l'eficiència de temps. La mitjana de tots els temps de fermentació indica que les fermentacions en les que s'utilitza *repitching* arriben a ser fins a un 79,81% més ràpides que aquelles en les que s'utilitza llevat sec. Si es va més al detall, la cervesa en la que es guanya més eficiència és la 942, en la que les fermentacions amb *repitching* tarden gairebé la meitat del temps (56,00%) que les fermentacions amb llevat sec. Per altra banda es pot observar com en la cervesa Happy Otter, les fermentacions amb *repitching* han estat considerablement més lentes que les fermentacions amb llevat sec, tardant un 157,89% del temps de la fermentació amb llevat sec. Un dels motius que poden justificar aquest fet és que la viabilitat del llevat que es va utilitzar per fer el *repitching* d'aquestes fermentacions era inferior al 90%. A més a més, en una de les dues fermentacions estudiades d'aquesta cervesa, hi va haver una parada de la fermentació el quart dia, indicatiu de que el llevat no es trobava en bones condicions.

Observant aquests resultats, és interessant intentar aprofundir una mica més en la reducció del temps de fermentació per estudiar fins quin punt la reutilització de llevat pot ser beneficiosa per l'empresa. En una cerveseria el temps és primordial, sent l'acceleració de processos un dels passos més interessants i, a la llarga, un dels factors que aportarà més benefici econòmic a la cerveseria. Com més ràpid tingui lloc una fermentació sense comprometre la qualitat del producte, més ràpid es podrà buidar el fermentador i, com a conseqüència, es podran elaborar més lots. Per aquest motiu, s'ha fet un estudi comparatiu sobre la quantitat de lots que es podrien elaborar al llarg d'un any en funció del ritme d'elaboracions. La Figura 7 mostra els resultats. A l'Annex 4 es mostren les dades de les fermentacions recopilades durant tot l'any, a partir de les quals s'ha fet aquesta comparativa.

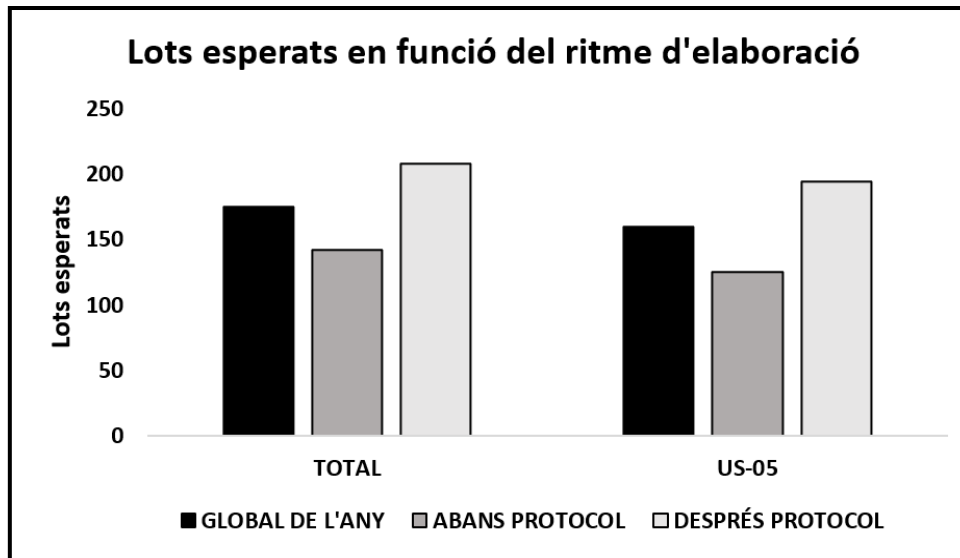


Figura 7. Lots esperats al llarg d'un any en funció del ritme d'elaboracions. El gràfic compara la quantitat de lots que es podrien fer en un any si es segueix el ritme d'elaboracions d'abans de l'optimització del protocol de *repitching*, si es segueix el ritme de després d'aquesta optimització i l'estimació dels lots que s'elaboraran durant la campanya del 2021. Per calcular els valors s'ha considerat que hi hauria la mateixa quantitat de fermentadors.

En aquest gràfic s'observen les diferències entre la quantitat de lots que es podrien fer en un any si es segueix el ritme d'elaboracions d'abans de l'optimització del protocol de *repitching*, si es segueix el ritme de després d'aquesta optimització i l'estimació dels lots que s'elaboraran durant la campanya del 2021. Es considera que s'utilitzen la mateixa quantitat de fermentadors i la mateixa proporció de receptes, de manera que les diferències es deuen únicament a l'augment de la velocitat de fermentació, fet que permet elaborar més lots al llarg de l'any. En el cas de seguir el ritme d'elaboracions permès a partir de l'optimització del protocol de *repitching* durant tot un any, es podrien arribar a elaborar un total de 208 lots, mentre que amb el ritme anterior a aquesta optimització, se n'elaborarien uns 142. Això suposa que amb el nou ritme es podria aconseguir un 146% d'elaboració de cervesa, en comparació amb el ritme anterior. Si ens fixem més concretament en el cas del llevat tipus *ale* US-05, podem observar una diferència encara major. Aquest llevat és el que s'utilitza més en la cerveseria i, alhora, fins a dia d'avui, és l'únic amb el qual s'ha fet *repitching* enguany. Per aquest motiu, és interessant veure quina seria l'evolució de tots aquells lots de cervesa fermentada amb aquesta soca de llevat. En aquest cas, amb el ritme d'elaboració de lots amb US-05 abans d'implementar el nou protocol, s'elaborarien 125 lots anuals amb US-05, mentre que amb el nou ritme d'elaboració, se'n passarien a elaborar 194. Això suposa que amb el nou ritme, s'elaboraria un 155% de lots, en comparació amb el ritme anterior, sent aquest un factor significatiu i una millora molt notable del rendiment de la fàbrica.

4.4. Estudi econòmic

Finalment, un altre dels factors a tenir en compte en la reutilització de llevat és l'estalvi econòmic que aquest acaba suposant a la llarga per la cerveseria. Al reutilitzar el llevat, el mestre cerveser s'estalvia haver d'adquirir tanta quantitat de llevat comercial. En aquest cas s'ha estudiat quin cost en llevat per lot de cervesa hi hauria en funció de la freqüència de reutilització de llevat. S'han comparat les freqüències de reutilització d'abans i després d'optimitzar el

protocol i la freqüència de reutilització de llevat del llarg de tota aquesta campanya 2021. La Figura 8 mostra els resultats. A més a més, a l'Annex 4 es mostren les dades recopilades de tot l'any, de manera que es pot veure d'on s'han obtingut els valors que apareixen al següent gràfic.

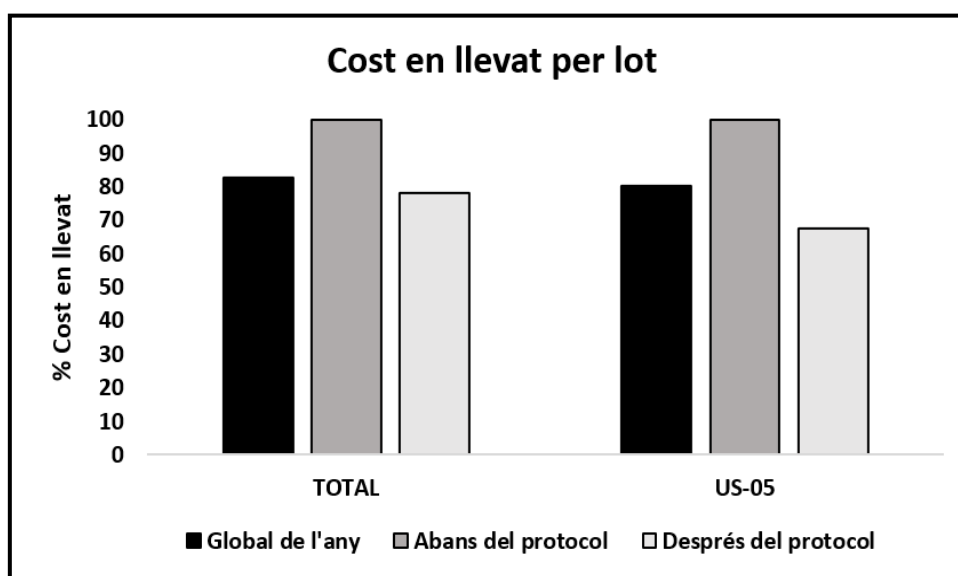


Figura 8. Cost en llevat per cada lot de cervesa en funció de la freqüència de reutilització de llevat. El gràfic compara el cost en llevat per lot que hi hauria en funció de si es segueix el ritme de reutilització de llevat d'abans de l'optimització del protocol, si es segueix el ritme de després d'aquesta optimització i l'estimació del cost per lot de llevat que hi haurà durant la campanya del 2021. Les dades estan representades en percentatge prenent com al 100% el cost de llevat per lot que hi hauria amb la freqüència de *repitching* d'abans de l'optimització del protocol.

De la mateixa manera que en l'apartat anterior, per una banda aquí també s'ha fet l'estudi sobre el cost en el total de llevat, tenint en compte tots els lots que s'han elaborat. Per l'altra, s'han estudiat per separat aquells lots en els que només s'utilitza la soca de llevat US-05, ja que aquest és el llevat més utilitzat a la fàbrica i, alhora, és l'únic llevat amb el qual s'ha fet *repitching* durant aquest any. En ambdós casos es poden observar diferències significatives. Pel que respecta a les dades del total de les fermentacions, el cost de llevat per lot tenint en compte la freqüència de *repitching* de després de l'optimització del protocol, suposa un 78,19% del cost en llevat per lot que hi havia amb la freqüència de *repitching* anterior a aquesta optimització. Per altra banda, en el cas de les fermentacions amb US-05, el cost en llevat per lot amb la nova freqüència de *repitching* suposa fins a un 67,40% del cost en llevat per lot de la freqüència antiga. Aquests valors demostren que el fet de reutilitzar llevat pot suposar un estalvi econòmic considerable per la cerveseria. A més a més, si a això se li suma la superior rapidesa de la fermentació i, per tant, una millor eficiència; es pot concloure que la reutilització de llevat pot ser clau per tenir més beneficis al llarg de l'any.

5. Conclusions

Els resultats d'aquest treball indiquen que l'optimització de la tècnica de *repitching* ha millorat el rendiment general de les fermentacions de la cerveseria. Per una banda, s'han pogut veure diferències significatives en el consum de sucres per part del llevat, indicant que els llevats de generacions més avançades consumeixen de forma més ràpida els sucres. Respecte la població cel·lular durant els primers dies de fermentació, s'han vist diferències significatives entre el llevat sec i el llevat reutilitzat, en el cas de la IPA 4. La població de llevat reutilitzat s'ha multiplicat de forma més ràpida que la de llevat sec durant els primers dies, indicant que ha tingut una fase lag més curta i, per tant, ha començat abans la fase exponencial. Tot i això, en el cas de la 942 no s'han observat diferències significatives. En cap dels dos casos s'han observat diferències significatives respecte la viabilitat del llevat, indicant que durant les primeres generacions del llevat, la viabilitat es manté constant.

Per altra banda, no s'han observat diferències significatives en l'atenuació real i la desaparició de diacetil de la cervesa final entre les fermentacions amb llevat sec i les fermentacions amb llevat reutilitzat, coincidint amb la bibliografia.

Pel que fa al temps de fermentació, el llevat reutilitzat ha tardat de mitjana un 80% del temps que tarda el llevat sec en acabar la fermentació, aproximadament. Aquest factor pot influir en la capacitat productiva de la planta, podent-se arribar a elaborar a llarg d'un any un 146% de la cervesa que s'elaborava abans de l'optimització del protocol. A més a més, el fet de reutilitzar llevat per subseqüents fermentacions també suposa un estalvi directe en tant que no s'ha d'adquirir tanta quantitat de llevat comercial al llarg de l'any. S'ha vist que l'optimització de la tècnica de *repitching* podria suposar una reducció en el cost de llevat anual del 22%, en comparació amb la freqüència de *repitching* anterior a aquest treball.

Durant l'estudi s'ha pogut comprovar que, en general, el llevat no s'ha vist afectat fisiològicament al ser reutilitzat fins a quatre vegades. A més a més, s'ha aconseguit mantenir la qualitat del producte final. Per tant, es podria optimitzar encara més la tècnica de *repitching*, mirant de reutilitzar el llevat durant més generacions.

6. Perspectives de futur

Com que la condició fisiològica del llevat i, consegüentment, la qualitat de la cervesa, depenen de molts factors (soca de llevat, condicions del most, protocol de manipulació del llevat, etc) és difícil establir un nombre de reutilitzacions de llevat en general per totes les cerveseries. Per tant, cada cerveseria ha de considerar quin hauria de ser el límit de fermentacions en les quals s'hi pugui fer *repitching* d'un mateix cultiu de llevat, en funció de les seves capacitats i limitacions. Pel que s'ha pogut veure en aquest estudi, en el cas de la cerveseria DouGall's es podria arribar a treballar amb generacions més avançades de llevat, tot i que caldria tenir un control microbiològic més exhaustiu. A més a més, també es podria aprofundir més en el seguiment del llevat, posant èmfasis en l'estudi de la capacitat floculant de cadascuna de les generacions de llevat.

Per una banda, un dels punts crítics de la reutilització de llevat és que és una possible font de contaminació. Com més vegades es reutilitzi un mateix llevat, més probabilitats hi ha de que hi hagi altres microorganismes contaminants al *slurry* d'on prové el llevat. A la cerveseria es fan controls microbiològics al envasar la cervesa. Es sembren plaques amb medi de cultiu general (Agar Nutritiu), medi de cultiu selectiu per llevats salvatges i medi de cultiu selectiu per bacteris anaerobis. D'aquesta manera es pot saber si hi ha alguna contaminació al producte final. Tot i això, seria interessant millorar la traçabilitat d'aquestes possibles contaminacions microbiològiques i cultivar plaques amb mostra del llevat a reutilitzar. D'aquesta manera, en el cas de que apareguin lots de cervesa contaminats, es podria estudiar si hi ha una relació entre aquests i les generacions més avançades de llevat reutilitzat.

Al llarg de la seva vida, els llevats poden experimentar mutacions que alterin el seu perfil de fermentació, tant negativament com positivament. Aquest fet pot aportar variabilitat entre diferents fermentacions quan es reutilitza llevat. Per exemple, un dels últims llevats que s'han reutilitzat en cerveses que apareixen en aquest treball va tenir un rendiment de fermentació molt elevat. En general, les cerveses en les que es va reutilitzar van acabar de fermentar en menys de 6 dies i, a més a més, tenien un perfil organolèptic significativament superior a altres lots, sent les cerveses finals molt més aromàtiques i fresques. De fet, és el llevat que s'ha reutilitzat més vegades al llarg d'aquest temps, arribant a 6 generacions. En aquest cas, o altres casos similars que es puguin donar, seria ideal aïllar la soca de llevat en concret i propagar-la, de manera que es pugui tenir una soca de la pròpia cerveseria amb molt bones capacitats fermentatives i un perfil aromàtic final desitjat. Aquesta seria una futura línia d'estudi interessant.

Finalment, una altra possible línia d'estudi aniria més encaminada a l'economia de l'empresa. Es podria fer un estudi més ambiciós, intentant esbrinar fins quin percentatge en el global de l'empresa està influïnt el fet de reaprofitar el llevat. D'aquesta manera es podria acabar de valorar l'interès que té la implementació d'un nou protocol o la potenciació del *repitching* a la cerveseria.

BIBLIOGRAFIA

- Boulton, C. and Quain, D. (2001) *Brewing Yeast and Fermentation*. Blackwell Science.
- Kalayu, G. (2019) 'Serial re-pitching: its effect on yeast physiology, fermentation performance, and product quality', *Annals of Microbiology*. *Annals of Microbiology*, 69(8), pp. 787–796.
- Kordialik-Bogacka and Diowksz, A. (2013) 'Physiological State of Reused Brewing Yeast', *Czech J. Food Sci*, 31(3), pp. 264–269.
- Kordialik-Bogacka, E. and Diowksz, A. (2013) 'Physiological state of reused brewing yeast', *Czech Journal of Food Sciences*, 31(3), pp. 264–269.
- Kucharczyk, K. *et al.* (2020) 'The effect of yeast generations on fermentation, maturation and volatile compounds of beer', *Czech Journal of Food Sciences*. Czech Academy of Agricultural Sciences, 38 (2020)(No. 3), pp. 144–150.
- Layfield, J. B. and Sheppard, J. D. (2015) 'What Brewers Should Know About Viability, Vitality, and Overall Brewing Fitness: A Mini-Review', *Technical Quarterly*, 52(3), pp. 132–140.
- Powell, C. D., Quain, D. E. and Smart, K. A. (2003) 'The impact of brewing yeast cell age on fermentation performance, attenuation and flocculation', *FEMS Yeast Research*. Elsevier, 3(2), pp. 149–157.
- Smart, K. A. (2008) *Brewing Yeast Fermentation Performance*. Blackwell Science.
- Verbelen, P. J. *et al.* (2009) 'Stability of high cell density brewery fermentations during serial repitching', *Biotechnology Letters*, 31(11), pp. 1729–1737.
- White, C. and Zainasheff, J. (2010) *Yeast: The practical guide to beer fermentation, Igarss 2014*.

ANNEXES

Annex 1. Seguiment de les fermentacions dels lots de 942 (*American Pale Ale*) estudiats en aquest treball.

942 (AMERICAN PALE ALE)							
FERMENTACIÓ AMB LLEVAT SEC US-05							
Lot 21001 i 21002 (4/1/2021)							
DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT
4/1/2021	0	2500L	1,038		17,5		
5/1/2021	1	2500L	1,041		16,9		
6/1/2021	2						
7/1/2021	3		1,018		19,9		
8/1/2021	4		1,0109		20,6		
9/1/2021	5						
10/1/2021	6						
11/1/2021	7	Fred (15ºC)					
12/1/2021	8		1,0065		14,7		
13/1/2021	9				14,5		
14/1/2021	10	DH			14,5		
15/1/2021	11				14		
16/1/2021	12						
17/1/2021	13						
18/1/2021	14				13,2		
19/1/2021	15	frío					
Lot 21024 i 21025 (16/03/2021)							
DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT
16/3/2021	0	2500 L	1,0393				
17/3/2021	1	2500 L	1,0393		19,8		
18/3/2021	2						
19/3/2021	3						
20/3/2021	4						
21/3/2021	5						
22/3/2021	6	SUELTA	1,0113	4,22	19,8		
23/3/2021	7						
24/3/2021	8		1,0075		20,8		
25/3/2021	9	DH	1,007		20,8		
26/3/2021	10						
27/3/2021	11						
28/3/2021	12						
29/3/2021	13	FRÍO	1,0065		16		
Lot 21030 i 21031 (24/03/2021)							
DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT
24/3/2021	0	2500 L	1,0393		19,9		
25/3/2021	1	2500 L	1,0399		18,6		
26/3/2021	2						
27/3/2021	3						
28/3/2021	4						
29/3/2021	5						
30/3/2021	6		1,0102		20,7		
31/3/2021	7		1,0085		21		
1/4/2021	8						
2/4/2021	9						
3/4/2021	10						
4/4/2021	11	DH	1,007				
5/4/2021	12				16,6		
6/4/2021	13				16,6		
7/4/2021	14				16,3		
8/4/2021	15	FRÍO			16		

DENSITAT INICIAL (P)
9,84
DENSITAT FINAL (P)
1,67
EXTRACTE REAL
3,22
ATENUACIÓ
67,27

DENSITAT INICIAL (P)
9,79
DENSITAT FINAL (P)
1,67
EXTRACTE REAL
3,21
ATENUACIÓ
67,20

DENSITAT INICIAL (P)
9,87
DENSITAT FINAL (P)
1,80
EXTRACTE REAL
3,33
ATENUACIÓ
66,24

Lot 21040 i 21041 (15/04/2021)							
DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT
15/4/2021	0	2500 L	1,0385		19,6		
16/4/2021	1	2500 L	1,041		19,5		
17/4/2021	2						
18/4/2021	3						
19/4/2021	4		1,0202	4,25	19,6		
20/4/2021	5		1,0148	4,18	20,3		
21/4/2021	6		1,0119	4,11	21		
22/4/2021	7		1,0081	4,06	21,7		
23/4/2021	8		1,0066	4,09	21,7		
24/4/2021	9						
25/4/2021	10						
26/4/2021	11	FRÍO A 16	1,0061	4,13	21,2		
27/4/2021	12	DH			16,3		
28/4/2021	13				16,3		
29/4/2021	14				16		
30/4/2021	15				15,9		
1/5/2021	16						
Lot 21086 i 21087 (06/07/2021)							
DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT
6/7/2021	0	2500 L	1,0388	5,05	20		
7/7/2021	1		1,0347	4,49	19,6	3,92E+07	98,49%
7/7/2021	1	2500 L	1,0424	5,18		1,38E+07	90,79%
8/7/2021	2		1,0311	4,4	19,6	2,00E+07	93,90%
9/7/2021	3		1,0256	4,31	19,8	2,27E+07	96,12%
10/7/2021	4						
11/7/2021	5						
12/7/2021	6		1,0133	4,15	22,3		
13/7/2021	7		1,01	4,13	22,2		
14/7/2021	8		1,0084	4,11	22,2		
15/7/2021	9		1,0081	4,1	22,1		
16/7/2021	10		1,0081	4,14	20,4		
17/7/2021	11			4,21	18,9		
18/7/2021	12						
19/7/2021	13	DH			16,1		
20/7/2021	14		1,0083	4,22	16,1		
21/7/2021	15				15,9		
22/7/2021	16						
23/7/2021	17						
24/7/2021	18						
25/7/2021	19	FRÍO					

FERMENTACIÓ AMB REPITCHING (1a Generació)

Lot 21057 i 21058 (19/05/2021)

DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT	
19/5/2021	0	2500 L	1,0395	5,06	18,5	1,10E+07	89,43%	DENSITAT INICIAL (P)
20/5/2021	1		1,0361	4,57	18,8	2,58E+07	92,14%	9,90
2n most	1,5	2500 L	1,04	5,25	20,5	1,07E+07	94,69%	DENSITAT FINAL (P)
21/5/2021	2		1,0236	4,28	23,3	2,37E+07	88,76%	1,88
22/5/2021	3							EXTRACTE REAL
								3,40
23/5/2021	4		1,0101	4,14	19	1,97E+07	94,71%	ATENUACIÓ
								65,66
24/5/2021	5		1,0096	4,18	19,3			
25/5/2021	6		1,0077	4,16	19			
26/5/2021	7	REPITCH DIPA	1,0073	4,18	18,9			
27/5/2021	8	DH	1,0075	4,19	18,8			
28/5/2021	9				18,7			
29/5/2021	10				18,8			
30/5/2021	11							
31/5/2021	12				18,8			
1/6/2021	13	FRÍO			19			

Lot 21075 i 21076 (17/06/2021)

DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT	
17/6/2021	0	2500 L	1,039	4,98	20,1	4,08E+06	91,42%	DENSITAT INICIAL (P)
18/6/2021	1	2500 L	1,0238	5,12	20,2	4,02E+07	94,14%	9,72
19/6/2021	2		1,0101		20,2			DENSITAT FINAL (P)
20/6/2021	3		1,0072		20,3			1,49
21/6/2021	4	DH	1,0073	4,03	20,5			EXTRACTE REAL
22/6/2021	5				20,3			3,05
23/6/2021	6				20,1			ATENUACIÓ
24/6/2021	7		1,0062	4,17	19,9			68,61
25/6/2021	8		1,0058		19,8			
26/6/2021	9	FRÍO	1,0058	4,39	2,1			

Lot 21080 i 21081 (28/06/2021)

DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT	
28/6/2021	0	2500 L	1,0411	5,49	18			DENSITAT INICIAL (P)
28/6/2021	0,5	PITCH	1,0406	5,03	19,5			10,07
29/6/2021	1		1,0358	4,46		1,72E+07	91,49%	DENSITAT FINAL (P)
29/6/2021	1,5	2500 L	1,0398	5,44	19,9	2,13E+07	89,50%	2,36
30/6/2021	2		1,0239	4,23	19	2,85E+07	96,61%	EXTRACTE REAL
1/7/2021	3		1,0108	4,07	21,4	3,76E+07	94,71%	3,83
2/7/2021	4		1,0093	4,12	21,7	4,45E+07	94,68%	ATENUACIÓ
3/7/2021	5							61,98
4/7/2021	6							
5/7/2021	7	FRÍO A 16,5ºC	1,0092	4,18	21,7			
6/7/2021	8	DH	1,0092	4,22	17,8			
7/7/2021	9				17,5			
8/7/2021	10				17,7			
9/7/2021	11				17,8			
10/7/2021	12							
11/7/2021	13	FRÍO						

FERMENTACIÓ AMB REPITCHING (3a Generació)

Lot 21064 i 21065 (01/06/2021)

DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT	
1/6/2021	0	2500 L	1,0383	4,98		6,82E+06	97,43%	DENSITAT INICIAL (P)
2/6/2021	1		1,032	4,4	19	3,70E+07	95,36%	9,81
2/6/2021	1	2500 L	1,0404	5,15		7,33E+06	93,61%	DENSITAT FINAL (P)
3/6/2021	2	SUELTA	1,0226	4,13	19	3,45E+07	97,18%	1,95
4/6/2021	3		1,0123	4,1	21,5	2,90E+07	91,48%	EXTRACTE REAL
5/6/2021	4		1,0083	4,13	21,8			3,44
6/6/2021	5							ATENUACIÓ
7/6/2021	6	DH	1,0078	4,15	21,5			64,87
8/6/2021	7		1,0079	4,27	21,3			
9/6/2021	8		1,0079	4,32	21,3			
10/6/2021	9		1,0076	4,35	21,2			
11/6/2021	10		1,0076	4,35	21,2			
12/6/2021	11	FRÍO						

Lot 21091 i 21092 (14/07/2021)

DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT	
14/5/2021	0	2500 L	1,0402	4,80	19	1,14E+07	93,44	DENSITAT INICIAL (P)
15/5/2021	1		1,0262	4,02	19,2	4,33E+07	92,52	9,97
15/5/2021	1,5	2500 L	1,0399					DENSITAT FINAL (P)
16/5/2021	2	SUELTA	1,0175	4,04	19,1	1,33E+07	98,52	2,23
17/5/2021	3		1,0086	4,14	20,8			EXTRACTE REAL
18/5/2021	4							3,71
19/5/2021	5		1,0092	4,12	20,9			ATENUACIÓ
20/5/2021	6	DH	1,0087	4,13	16,3			62,84
21/5/2021	7		1,009	4,22	16,3			
22/5/2021	8							
23/5/2021	9							
24/5/2021	10							
25/5/2021	11	FRÍO						

Annex 2. Seguiment de les fermentacions dels lots de IPA 4 (India Pale Ale) estudiats en aquest treball.

IPA 4 (INDIA PALE ALE)

Lot 21022 i 21023 (4/3/2021)

DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT
4/3/2021	0	2500L	1,0505	5	18,7		
5/3/2021	1	2500L	1,054		18,9		
6/3/2021	2						
7/3/2021	3						
8/3/2021	4		1,0254		18,6		
9/3/2021	5		1,024	4,28	18,8		
10/3/2021	6		1,0208		19,2		
11/3/2021	7		1,0183	4,22	19,8		
12/3/2021	8						
13/3/2021	9						
14/3/2021	10						
15/3/2021	11		1,0064	4,18	21,4		
16/3/2021	12	DH			17		
17/3/2021	13						
18/3/2021	14						
19/3/2021	15						
20/3/2021	16						
21/3/2021	17	frío					

DENSITAT INICIAL (P)
12,86
DENSITAT FINAL (P)
1,65
EXTRACTE REAL
3,77
ATENUACIÓ
70,70

Lot 21028 i 21029 (22/03/2021)

DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT
22/3/2021	0	2500L	1,0534		19,8		
23/3/2021	1	2500L	1,0533				
24/3/2021	2		1,0414		18,8		
25/3/2021	3				18,6		
26/3/2021	4						
27/3/2021	5						
28/3/2021	6						
29/3/2021	7						
30/3/2021	8		1,0129		20,5		
31/3/2021	9		1,011		21,4		
1/4/2021	10	DH					
2/4/2021	11						
3/4/2021	12						
4/4/2021	13						
5/4/2021	14		1,0044		20,7		
6/4/2021	15				20,7		
7/4/2021	16	frío			20,2		

DENSITAT INICIAL (P)
13,12
DENSITAT FINAL (P)
1,13
EXTRACTE REAL
3,40
ATENUACIÓ
74,11

Lot 21035 i 21036 (07/04/2021)

DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT
7/4/2021	0	2500 L	1,0544		19,3		
8/4/2021	1	2500 L	1,0538				
9/4/2021	2		1,0393		18,9		
10/4/2021	3						
11/4/2021	4						
12/4/2021	5		1,0158		20,9		
13/4/2021	6		1,01		20,9		
14/4/2021	7		1,0057	4,27	22,1		
15/4/2021	8		1,0043	4,3	22,1		
16/4/2021	9	frío	1,0039		21,9		

DENSITAT INICIAL (P)
13,29
DENSITAT FINAL (P)
1,01
EXTRACTE REAL
3,32
ATENUACIÓ
74,99

Lot 21038 i 21039 (13/04/2021)							
DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT
13/4/2021	0	2500 L	1,0534				
14/4/2021	1	2500 L	1,0521	4,63	13,7		
15/4/2021	2		1,044	4,49	18,7		
16/4/2021	3				18,5		
17/4/2021	4						
18/4/2021	5						
19/4/2021	6		1,0145	4,19	21,3		
20/4/2021	7		1,0075	4,13	22,1		
21/4/2021	8		1,0065	4,1	22,4		
22/4/2021	9		1,0051	4,09	22,2		
23/4/2021	10		1,0047	4,24	21,9		
24/4/2021	11						
25/4/2021	12						
26/4/2021	13		1,0035	4,3	21,3		
27/4/2021	14	FRÍO			21,1		

DENSITAT INICIAL (P)
12,98
DENSITAT FINAL (P)
0,90
EXTRACTE REAL
3,18
ATENUACIÓ
75,49

Lot 21043 i 21044 (21/04/2021)							
DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT
21/4/2021	0	2500 L	1,0517				
22/4/2021	1		1,0476	4,64	18,6		
22/4/2021	1,5	2500 L	1,0584	5,02			
23/4/2021	2		1,0418	4,48	18,6		
24/4/2021	3						
25/4/2021	4						
26/4/2021	5		1,0239	4,3	19,4		
27/4/2021	6		1,019	4,28	20,7		
28/4/2021	7		1,0144	4,24	21		
29/4/2021	8		1,0099	4,2	21		
30/4/2021	9		1,0071	4,18	21,1		
1/5/2021	10						
2/5/2021	11						
3/5/2021	12		1,006	4,24	20,7		
4/5/2021	13	DH	1,0061	4,24	16,4		
5/5/2021	14				16,4		
6/5/2021	15				16,5		
7/5/2021	16				16,5		
8/5/2021	17	FRÍO			16,5		

DENSITAT INICIAL (P)
13,51
DENSITAT FINAL (P)
1,57
EXTRACTE REAL
3,83
ATENUACIÓ
71,67

Lot 21053 i 21054 (06/05/2021)							
DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT
6/5/2021	0	2500 L	1,0527	5,15	19,5		
7/5/2021	1		1,0516	4,82	17,2	2,32 x 10 ⁷	95,47%
7/5/2021	1,5	2500 L	1,0526	5,12			
8/5/2021	2		1,0443		18,4		
9/5/2021	3						
10/5/2021	4	SUELTA	1,032	4,4	18,3		
11/5/2021	5		1,0274	4,38	19,2		
12/5/2021	6		1,0235	4,34	20,1		
13/5/2021	7		1,0188	4,29	21		
14/5/2021	8		1,0125		22		
15/5/2021	9						
16/5/2021	10						
17/5/2021	11		1,0057	4,22	21,8		
18/5/2021	12		1,0056	4,23	21,4		
19/5/2021	13	DH			21		
20/5/2021	14				20,6		
21/5/2021	15				20,4		
22/5/2021	16						
23/5/2021	17						
24/5/2021	18	FRÍO			19,4		

DENSITAT INICIAL (P)
12,95
DENSITAT FINAL (P)
1,44
EXTRACTE REAL
3,62
ATENUACIÓ
72,07

Lot 21070 i 21071 (08/06/2021)							
DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT
8/6/2021	0	2500 L	1,0523	5,01	19,3		
9/6/2021	1		1,051	4,69	18,6	1,23E+07	96,85%
9/6/2021	1,5	2500 L	1,0543	5,1		1,07E+07	96,40%
10/6/2021	2		1,043	4,42	18,7	2,50E+07	93,28%
11/6/2021	3	SUELTA	1,0337	4,27	18,7	3,43E+07	91,96%
12/6/2021	4						
13/6/2021	5						
14/6/2021	6		1,0183	4,15	20		
15/6/2021	7	DH	1,0129	4,15	21,9		
16/6/2021	8		1,0069	4,24	23,4		
17/6/2021	9		1,0054	4,26	23,5		
18/6/2021	10		1,0051	4,34	23,6		
19/6/2021	11						
20/6/2021	12	FRÍO					

DENSITAT INICIAL (P)
13,11
DENSITAT FINAL (P)
1,31
EXTRACTE REAL
3,54
ATENUACIÓ
72,98

Lot 21078 i 21079 (20/06/2021)							
DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT
20/6/2021	0	2500 L	1,0528	5,03	20,2		
21/6/2021	1	2500 L	1,0538				
22/6/2021	2		1,0344		18,7		
23/6/2021	3	SUELTA	1,0244		18,8		
24/6/2021	4		1,0193	4,17	20,1		
25/6/2021	5						
26/6/2021	6						
27/6/2021	7						
28/6/2021	8		1,0067	4,22	22,5		
29/6/2021	9		1,0068	4,24	22		
30/6/2021	10	DH	1,0068	4,25	16,2		
1/7/2021	11		1,0073	4,35	16,4		
2/7/2021	12				16,4		
3/7/2021	13						
4/7/2021	14						
5/7/2021	15	FRÍO			16,3		

DENSITAT INICIAL (P)
13,11
DENSITAT FINAL (P)
1,88
EXTRACTE REAL
4,00
ATENUACIÓ
69,46

Lot 21088 i 21089 (08/07/2021)							
DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT
8/7/2021	0	2500 L	1,0537	4,98	21,4	5,63E+06	88,66%
9/7/2021	1		1,0502	4,64	18,5	2,13E+07	92,61%
9/7/2021	1,5	2500 L	1,0518	5,13		1,51E+07	92,07%
10/7/2021	2						
11/7/2021	3						
12/7/2021	4		1,0289	4,26	18,4		
13/7/2021	5		1,0252	4,23	19,6		
14/7/2021	6		1,0212	4,19	20,7		
15/7/2021	7		1,0176	4,15	21,6		
16/7/2021	8	DH 5KG MOSAIC	1,0141	4,15	21,4		
17/7/2021	9		1,0095	4,17	21,6		
18/7/2021	10						
19/7/2021	11		1,0077	4,14	21,5		
20/7/2021	12	DH	1,0073	4,14	21,4		
21/7/2021	13		1,0073	4,26	21,6		
22/7/2021	14						
23/7/2021	15						
24/7/2021	16						
25/7/2021	17	FRÍO					

DENSITAT INICIAL (P)
12,98
DENSITAT FINAL (P)
1,88
EXTRACTE REAL
3,98
ATENUACIÓ
69,34

FERMENTACIÓ AMB REPITCHING (1a Generació)

Lot 21013 i 21014 (04/02/2021)

DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT	
4/2/2021	0	2500L	1,0533		18,2			DENSITAT INICIAL (P)
5/2/2021	1		1,043					13,19
5/2/2021	1,5	2500L	1,054		18,3			DENSITAT FINAL (P)
6/2/2021	2							1,37
7/2/2021	3							EXTRACTE REAL
8/2/2021	4							3,60
9/2/2021	5		1,0053		18,5			ATENUACIÓ
10/2/2021	6							72,71
11/2/2021	7							
12/2/2021	8	DH						
13/2/2021	9							
14/2/2021	10							
15/2/2021	11							
16/2/2021	12							
17/2/2021	13	FRÍO			17,5			

Lot 21072 i 21073 (14/06/2021)

DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT	
14/6/2021	0	2500 L	1,0536		19,7	3,40E+06	92,39%	DENSITAT INICIAL (P)
15/6/2021	1		1,0412	4,18	18,3	3,15E+07	90,78%	13,21
15/6/2021	1,5	2500 L	1,0539	5,34	18,3	1,00E+07	95,24%	DENSITAT FINAL (P)
16/6/2021	2		1,0333	4,25	17,9	2,34E+07	94,55%	1,75
17/6/2021	3	suelta	1,0231	4,17	18,1			EXTRACTE REAL
18/6/2021	4		1,0051	4,34	23,6			3,92
19/6/2021	5							ATENUACIÓ
20/6/2021	6		1,0071					70,34
21/6/2021	7		1,0068	4,25	21,6			
22/6/2021	8	DH			21,5			
23/6/2021	9				21,5			
24/6/2021	10				21,4			
25/6/2021	11							
26/6/2021	12	FRÍO						

FERMENTACIÓ AMB REPITCHING (2a Generació)

Lot 21059 i 21060 (24/05/2021)

DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT	
24/5/2021	0	2500 L	1,0532	5,06		5,05E+06	99,02%	DENSITAT INICIAL (P)
25/5/2021	1		1,0409	4,28	18,3	6,17E+07	96,41%	13,04
25/5/2021	1,5	2500 L	1,0528	5,49	19	1,87E+07	89,90%	DENSITAT FINAL (P)
26/5/2021	2		1,0273	4,21	18,2	6,81E+07	98,84%	1,29
27/5/2021	3	SUELTA	1,0136	4,13	18,2			EXTRACTE REAL
28/5/2021	4		1,0057	4,17	20			3,51
29/5/2021	5		1,005	4,23	20,1			ATENUACIÓ
30/5/2021	6							73,09
31/5/2021	7	FRÍO 16,5ºC			19,9			
1/6/2021	8	DH			15,7			
2/6/2021	9				15,8			
3/6/2021	10				15,9			
4/6/2021	11				16			
5/6/2021	12	FRÍO			16			

FERMENTACIÓ AMB REPITCHING (4a Generació)

Lot 21096 i 21097 (20/07/2021)

DATA	DIES	OPERACIONS	DENSITAT	pH	Tª	VIVES	VIABILITAT	
20/7/2021	0	2500 L	1,0514	5,07		7,20E+06	89,67%	DENSITAT INICIAL (P)
21/7/2021	1		1,0439	4,35	18,5	4,50E+07	90,36%	13,08
21/7/2021	1,5	2500 L	1,055	5,16		2,35E+07	89,40%	DENSITAT FINAL (P)
22/7/2021	2					5,58E+07	92,04%	1,57
23/7/2021	3							EXTRACTE REAL
24/7/2021	4							3,75
25/7/2021	5							ATENUACIÓ
26/7/2021	6		1,0062	4,14	18,3			71,36
27/7/2021	7	FRÍO A 16°C						
28/7/2021	8		1,0061	4,15	16,2			
29/7/2021	9				16,3			
30/7/2021	10	DH			16,5			
31/7/2021	11							
1/8/2021	12							
2/8/2021	13				16,6			
3/8/2021	14				16,3			
4/8/2021	15	FRÍO			16,4			

Annex 3. Rendiment de les fermentacions. Es mostren les densitats inicials i finals dels mostos elaborats durant la campanya del 2021 de les cerveses 942 (*American Pale Ale*) i IPA 4 (*India Pale Ale*), i l'atenuació real de totes aquestes fermentacions. Els valors que apareixen a la taula són la mitjana aritmètica de les dades de totes les fermentacions d'aquestes cerveses i la seva respectiva desviació estàndard.

RENDIMENT DE LES FERMETACIONS				
Cervesa	Tipus de llevat	Densitat inicial (Graus Plato)	Densitat final (Graus Plato)	Atenuació Real (%)
942	Llevat sec	9,93 ± 0,12	1,76 ± 0,20	66,65 ± 1,47
	Primera Generació	9,90 ± 0,17	1,91 ± 0,43	65,42 ± 3,32
	Segona Generació	-	-	-
	Tercera Generació	9,92 ± 0,12	2,13 ± 0,25	63,86 ± 1,43
	Quarta Generació	-	-	-
IPA 4	Llevat sec	13,10 ± 0,20	1,42 ± 0,36	72,31 ± 2,75
	Primera Generació	13,20 ± 0,02	1,56 ± 0,27	71,53 ± 0,23
	Segona Generació	13,04	1,29	73,09
	Tercera Generació	-	-	-
	Quarta Generació	13,08	1,57	71,36

Annex 4. Taula resum del nombre de lots, la quantitat de llevat sec utilitzat i el cost de llevat per lot (€ i %). En la taula es diferencien els valors tenint en compte el global de la campanya 2021 (01 de gener fins 01 d'agost), l'etapa de la campanya 2021 que havia transcorregut abans d'aquest estudi (01 de gener fins 19 d'abril) i l'etapa Posterior a l'inici d'aquest estudi (19 d'abril fins 01 d'agost). D'aquesta manera es pot veure la quantitat de llevat Utilitzat i el cost per lot que suposa en funció del ritme de *repitching* de cadascuna d'aquestes etapes.

NOMBRE DE LOTS					
GLOBAL DE L'ANY (01/GEN - 01/AGO)		ABANS PROTOCOL (01/GEN - 19/ABR)		DESPRÉS PROTOCOL (19/ABR - 01/AGO)	
LOTS TOTALS		LOTS TOTALS		LOTS TOTALS	
LOTS SENSE REPITCHING	64	LOTS SENSE REPITCHING	35	LOTS SENSE REPITCHING	31
LOTS AMB REPITCHING	37	LOTS AMB REPITCHING	6	LOTS AMB REPITCHING	29
LOTS AMB US-05	92	LOTS AMB US-05	36	LOTS AMB US-05	56
LOTS SENSE REPITCHING	57	LOTS SENSE REPITCHING	30	LOTS SENSE REPITCHING	27
LOTS AMB REPITCHING	35	LOTS AMB REPITCHING	6	LOTS AMB REPITCHING	29
LOTS AMB SAFLAGER S-189	4	LOTS AMB SAFLAGER S-189	0	LOTS AMB SAFLAGER S-189	4
LOTS AMB DIAMOND	2	LOTS AMB DIAMOND	2	LOTS AMB DIAMOND	0
LOTS AMB VERDANT	2	LOTS AMB VERDANT	0	LOTS AMB VERDANT	2
LOTS AMB WLP0001	1	LOTS AMB WLP0001	1	LOTS AMB WLP0001	1
QUANTITATS DE LLEVAT UTILITZADES					
GLOBAL DE L'ANY		ABANS PROTOCOL		DESPRÉS PROTOCOL	
Llevat		Llevat		Llevat	
Pes (kg)		Pes (kg)		Pes (kg)	
LLEVAT SEC	77	LLEVAT SEC	35	LLEVAT SEC	43
US-05	63,5	US-05	31	US-05	32,5
DIAMOND	3,5	DIAMOND	3,5	DIAMOND	0
SAFLAGER S-189	8	SAFLAGER S-189	3	SAFLAGER S-189	8
VERDANT	2	VERDANT	0	VERDANT	2
LLEVAT LÍQUID	6	LLEVAT LÍQUID	6	LLEVAT LÍQUID	0
WLP0001	6	WLP0001	6	WLP0001	0
COST EN LLEVAT PER LOT (%)					
GLOBAL DE L'ANY		ABANS PROTOCOL		DESPRÉS PROTOCOL	
TOTAL	82,64 %	TOTAL	100,00 %	TOTAL	78,19 %
US-05	80,15 %	US-05	100,00 %	US-05	67,40 %