

Ariadna Garreta Guijarro

**UTILITZACIÓ DE BARRIQUES EN UNA CERVESERIA
ARTESANA PER L'ELABORACIÓ DE CERVESES ÀCIDES.**

TREBALL FINAL DE MÀSTER

Dirigit per Dra Gemma Beltran Casellas i Roger Plata i Cots

Màster en BEGUDES FERMENTADES

Facultat d'Enologia



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Tarragona

Setembre 2019

ÍNDIX

1.	RESUM	2
2.	INTRODUCCIÓ	3
2.	OBJECTIUS	5
3.	MATERIALS I MÈTODES	6
3.1.	Mostres a analitzar.....	6
3.2.	Anàlisi.....	7
3.2.1.	Anàlisi Físico-químics	7
3.2.2.	Anàlisi microbiològics.....	10
3.2.3.	Anàlisi sensorials	12
4.	RESULTATS I DISCUSIÓ.....	16
4.1.	Anàlisi dels resultats físico-químics de les cerveses Sour Ale de Gerds.....	16
4.2.	Anàlisi dels resultats del tast sensorial triangle.....	17
4.3.	Anàlisi de la part unilateral del tast sensorial de comparació per parelles.....	19
4.4.	Anàlisi de la part bilateral del tast sensorial de comparació per parelles.....	23
4.5.	Anàlisi dels resultats microbiològics i físico-químics de les cerveses en maduració extretes de barriques.....	26
4.6.	Propostes de millora.....	32
5.	CONCLUSIONS	35
6.	BIBLIOGRAFIA.....	36
	ANNEXOS	39

1. RESUM

L'envelliment de les cerveses en barrica és una tècnica cada vegada més popular en el sector artesà i cada vegada són més les que dediquen part de la seva producció a aquest tipus d'envelliment que dona complexitat i matisos. L'objectiu d'aquest treball és estudiar la utilització de barriques en la cerveseria artesana "Segarreta" per l'elaboració de cerveses àcides.

El treball es basa en un estudi físico químic i microbiològic amb diferents medis de cultiu per veure la població de microorganismes de cerveses amb una primera fermentació controlada en fermentadors d'acer inoxidable i acidificació en barriques. De forma paral·lela s'ha estudiat l'evolució de cerveses amb fermentació espontània.

També s'ha estudiat l'evolució de mostres de cerveses Sour Ale de Gerds a través de paràmetres sensorials recolzats per uns anàlisis físico-químics.

2. INTRODUCCIÓ

L'ús de recipients de fusta per l'emmagatzematge, transport, fermentació o envelliment de la cervesa, està profundament arrelat en la història. Els cervesers es veuen cada vegada més atrets per la complexitat gustativa i aromàtica aportada per la fusta. Des de l'acidificació ("souring") aportada pels microorganismes que s'allotgen en la fusta, fins al propi caràcter del barril (Cantwell i Bouckaert, 2016).

Les cerveses àcides poden anar, o no, acompanyades d'un envelliment en barrica, una pràctica altament reconeguda per millorar l'estabilitat i les propietats organolèptiques del producte final (Coelho et al., 2019). Durant el contacte de la cervesa amb al barrica es produeixen diversos fenòmens que tenen un impacte en la composició de la beguda com extracció de component de la fusta, evaporació de component volàtils de la cervesa, reaccions d'oxidació i reaccions entre la fusta i els components de la cervesa (Mosedale, Puech 1998).

El concepte de cervesa *Sour* no és un concepte modern ja que l'acidesa ha estat un component gustatiu de les cerveses així com de la majoria de les begudes al llarg de la història (Tonsmeiere, 2014).

Hi ha moltes maneres d'acidificar una cervesa; un primer mètode és la inoculació espontània en un "coolship" (fermentador ample, obert i pla), on el caràcter àcid és originat per l'activitat metabòlica de bacteris làctics, bacteris acètics i diferents tipus de llevats (Spitaels et al., 2014).

La població microbiana encarregada de la fermentació espontània i per tant, de l'acidificació de la cervesa és bastant similar segons el tipus de producció; industrial o artesana, només una primera etapa amb prevalença dels *Enterobacteriaceae* en el cas de la producció artesana és eliminada de la producció industrial (Spitaels et al., 2015). Aquesta primera fase d'*Enterobacteriaceae* comença entre el tercer i el setè dia i pot durar fins als 40 dies. Els principals microorganismes involucrats són *Enterobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* i *Hafnia alvei* (Martens, Dawoud i Verachtert, 1991), *Hanseniaspora uvarum*, *Naumovia* (*Saccharomyces*) *dairensis* i *Saccharomyces uvarum* actuen com a llevats principals (Van Oevelen et al., 1977).

La fermentació principal comença a partir del primer mes i està dominada per *S. cerevisiae*, *S. bayanus/pastorianus* i *S. uvarum* (Van Oevelen et al., 1977; Verachtert i Iserentant, 1995). La fase d'acidificació es caracteritza per l'elevada presència de bacteris làctics com *Pediococcus* spp. i ocasionalment de *Lactobacillus* spp., mentre que *Brettanomyces* spp. és més present a

partir del quart més de fermentació (Van Oevelen et al., 1977; Verachtert i Iserentant, 1995). Finalment, la fase de maduració comença als 10 mesos i es caracteritza per un descens gradual en la població de bacteris làctics (Van Oevelen et al., 1977; Verachtert i Iserentant, 1995).

Els bacteris acètics poden ser presents en qualsevol etapa de la fermentació i també estan involucrats en l'acidificació de la cervesa (Van Oevelen et al., 1977; Verachtert i Iserentant, 1995).

Altres mètodes de *souring* són l'acidificació del most durant el macerat o la inoculació de microorganismes acidificants al tanc de fermentació. Els mètodes anomenats no necessàriament van lligats a la utilització de fusta i tota la fermentació àcida (en el cas de l'acidificació de macerat o la inoculació d'una soca coneguda de *Lactobacillus* en els tancs) pot estar finalitzada en qüestió de dies. En canvi, l'acidificació en fusta porta inherent un llarg període de temps; el procés complet pot tardar des de mesos fins a anys.

Cal tenir en compte, que a part del temps necessari, hi haurà altres factors diferencials en el mètode d'acidificació en fusta; els microorganismes involucrats així com la impossibilitat d'esterilització de la fusta, i el paper que tindrà l'oxigen en procés (Cantwell, Bouckaert, 2016).

1.1.Cerveseria d'estudi.

La cerveseria Segarreta, és una cerveseria artesana situada a la localitat de Santa Coloma de Queralt. Entre d'altres estils, s'elaboren cerveses àcides envellides en barriques, en les que es centra una part d'aquest estudi. Als *blends* de diferents barriques, escollides pel cerveser segons els seus perfils aromàtics i intentant equilibrar els compostos aromàtics de cada barrica aportats per llevats com *Brettanomyces sp.*, els bacteris acètics o els bacteris làctics. A aquest *blend* s'hi afegeixen els gerds congelats i es deixa durant dos mesos en un fermentador d'acer inoxidable per tal que es fermentin els sucres provinents de la fruita. En cap moment del procés de maduració en barrica ni en la segona fermentació amb les fruites hi ha una inoculació de microorganismes.

2. OBJECTIUS

Aquest treball té com a objectiu general tenir una visió global de la utilització de les barriques en una cerveseria artesana en l'elaboració de cerveses àcides. Els objectius específics es defineixen en:

1. Realització d'un guió de referència a partir del qual la cerveseria artesana Segarreta pugui fer una caracterització microbiològica i físico-química al llarg del temps de la totalitat de les seves barriques, amb el fi de conèixer els perfils de cada una d'elles per tenir una estimació dels resultats finals de les cerveses (organolèptics).
2. Estudi de l'evolució de les fermentacions espontànies en barriques.
3. Estudiar l'evolució durant l'envelliment de mostres de cerveses Sour Ale de Gerds envellides en barriques a través de paràmetres sensorials recolzats per uns anàlisis físico-químics.

3. MATERIALS I MÈTODES

3.1. Mostres a analitzar.

De les mostres analitzades en aquest treball, en podem diferenciar dos grups segons el mètode d'acidificació.

El primer grup de mostres Sour Ale de Gerds, marcant en el procés el punt on s'han pres les mostres que posteriorment s'han analitzat (ANNEX I Figura 11). La cervesa base és una cervesa de blat, amb una proporció de 50% de malta Pale Ale i 50% malta de blat. Consta d'una primera fermentació controlada en fermentadors d'acer amb una inoculació de *Saccharomyces cerevisiae* (SafAle US-05) i una maduració en barrica de roure d'un període mínim d'un any. S'han pres mostres de 5 barriques diferents (cervesa base amb diferents temps d'envelliment però previ a l'addició de gerds). Amb quatre d'elles s'ha fet un *blend* buidant la totalitat del volum de les barriques en fermentador d'acer inoxidable i s'hi ha afegit els gerds congelats, d'aquesta barreja s'ha pres la cinquena mostra. Aquest mateix sistema d'elaboració ha estat el seguit en les mostres de cervesa acabada a partir de les quals s'han fet les anàlisis sensorials.

Per altra banda s'han estudiat tres cerveses de fermentació espontània fermentades totalment en barriques amb diferents temps d'envelliment. Aquestes prescindeixen d'una primera fermentació controlada. El most fred es va deixar inocular durant una nit a l'hivern a l'exterior de la cerveseria per tal que es contaminés amb els microorganismes ambientals (ANNEX I Figura 12).

Les barriques van ser enumerades durant l'estada en pràctiques a la cerveseria ja que no existia cap tipus de registre.

Totes les mostres es van guardar en refrigeració a una $T^a=5^{\circ}\text{C}$ fins al moment de les anàlisis.

Es mostra una taula resum de les mostres analitzades:

Taula 1. Taula informativa sobre les mostres analitzades.

<i>Nomenclatura</i>	<i>Estil de cervesa</i>	<i>Data d'elaboració</i>	<i>Data de Caducitat</i>	<i>Preses de mostres</i>
Mostra A	Sour Ale de Gerds embotellada	2019	10/01/2021	-
Mostra B	Sour Ale de Gerds embotellada	2017	01/08/2019	-
Mostra C	Sour Ale de Gerds embotellada	2018	12/02/2020	-

Mostra D	Sour Ale de Gerds embotellada	2017	31/05/2019	-
BARRICA 5	Cervesa de fermentació espontània en barrica	21/01/2019	-	Juny 2019
BARRICA 6	Cervesa de fermentació espontània en barrica	21/01/2019	-	Juny 2019
BARRICA 7	Cervesa de fermentació espontània en barrica	16/12/2016	-	Juny 2019
BARRICA 11	Cervesa de blat en barrica	07/03/2019	-	Juny 2019
BARRICA 12	Cervesa de blat en barrica	14/08/2018	-	Juny 2019
BARRICA 13	Cervesa de blat en barrica	14/08/2018	-	Juny 2019
BARRICA 17	Cervesa de blat en barrica	05/11/2018	-	Juny 2019
BARRICA 18	Cervesa de blat en barrica	05/11/2018	-	Juny 2019
BLEND	Volum total de les Barriques 12,13,17,18 + Gerds	17/05/2019	-	Juny 2019

3.2. Anàlisis

Totes les anàlisis realitzats es mostren en l'esquema del pla de treball (*Figura 1*).

3.2.1. Anàlisis Físico-químics

Per tots ens anàlisis físico-químics realitzats és necessari la descarbonatació total de la mostra mitjançant l'aplicació del buit a un matràs Kitasato.

- **pH.** Mesura mitjançant pH-Meter BASIC 20+ CRISON previ calibratge amb 3 solucions tampó. La resolució de l'equip és de 0,01 pH. Mesures per triplicat aplicant la desviació corresponent.
- **Densitat.** Densímetre portàtil digital Mettler Toledo Densímetre Densito 30PX que funciona segons el principi de tub oscil·lant. Els resultats es calculen automàticament en g/cm³. Resolució de 0,0001 g/cm³. Mesures per triplicat aplicant la desviació corresponent.
- **Amargor.** El procediment d'extracció es segueix el descrit per la AOAC (1995), el mateix proposat per el *European Brewing Congress* (EBC) i la *American Society of Brewing Chemists* (ASBC). Es pipetegen 10,0 mL de cervesa atemperada a 10°C i es passen en un tub de centrífuga de 50 mL, s'homogeneïtza amb una gota d'octanol,

20,0 mL de 2,2,4-trimetilpentà (iso-octà) en un medi acidificat amb 1,0 mL d'HCl 3N. Després d'una agitació vigorosa durant 15 minuts es centrifuga a 3500 rpm durant 15 minuts (centrífuga). Es separa el sobrenedant mesurant l'absorbància d'aquest en front la d'un blanc amb 20,0 mL de iso-octà i una gota d'octanol a 275 nm. El resultat s'expressa amb graus IBU mitjançant la següent fórmula:

$$^{\circ}IBU = 50 \times A_{275}$$

on el coeficient 50 (valor arrodonit de 51,2) relaciona la pendent de la correlació i la relació de dissolvent utilitzat i A_{275} és l'absorbància de la mostra a 275 nm mesurada amb l'espectrofotòmetre BioMate 3 que té una exactitud de 0,5%. Mesures per triplicat aplicant la desviació corresponent.

- **Color.** Mesura de l'absorbància de 10 mL de mostra en una cubeta de 10 mm de pas a 430 nm amb l'espectrofotòmetre BioMate 3 previ filtrat de la mostra amb un filtre estèril d'un ús de 0,45 micròmetres en front un blanc amb aigua destil·lada. És necessària la dilució de la mostra si aquesta té una absorbància superior a 0,800 nm fins a l'obtenció d'un valor entre 0,100 i 0,800. El valor EBC s'obté mitjançant la següent fórmula:

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

on f és el factor de dilució utilitzat i A_{430} és l'absorbància de la mostra a 430 nm i 25 una constant per escalar l'absorció.

- **Sucres totals.** Anàlisi mitjançant en pack de reactius anàlisi de sucres GAB AAK. En un matràs Erlenmeyer es col·loquen 10,0 mL de la solució cúprica, 5,0 mL d'àlcali i 2,0 mL de la mostra a analitzar. S'introdueix una mica de pedra pómez i es tapa amb un vidre de rellotge. Es col·loca sobre la placa calefactora fins a ebullició. Passats 90 segons es refreda la mostra i s'afegeixen 10,0 mL de iodur, 10,0 mL de midó i 10,0 mL d'àcid. Es valora amb el líquid de valoració col·locat a la bureta fins un viratge de color blau fosc a crema. El resultat s'interpreta en front un blanc que es realitza amb tots els reactius però substituint la mostra per 10,0 mL d'aigua destil·lada. El contingut de sucres totals s'obté a partir de la fórmula següent:

$$\text{Sucres total } \left(\frac{g}{L} \right) = (v - v')$$

on v' és volum de líquid de valoració gastat en la mostra i v el volum de líquid de valoració gastat en el blanc.

- **Acidesa valorable.** (Garcia,1990) L'acidesa valorable es mesura seguint dos procediments. El mètode potenciomètric de la ASBC es prenen 50,0 mL de mostra desgasificada a un vas de precipitats de 250 mL i un imant. Es col·loca la sonda de manera que estigui coberta per la mostra i es va afegint NaOH 0,1N de mil·lilitre en mil·lilitre fins que el pH sigui pròxim a 7,0 moment en el que es va afegint menor quantitat de NaOH fins que el pH és de 8,2. Mesura presa amb el pH-Meter BASIC 20+ CRISON previ calibratge amb 3 solucions tampó en mesura continua. L'acidesa total és expressada com a % d'àcid làctic i es calcula a partir de la fórmula següent:

$$\text{Acidesa valorable (\% àcid làctic)} = \frac{\text{mL NaOH } 0,1N \times 0,9}{\text{mL de cervesa} \times \text{densitat específica de la cervesa}}$$

Per altra banda es mesura l'acidesa amb una valoració amb indicador de Fenolftaleïna al 2%. Es prenen 15,0 mL de la mostra desgasificada en un matràs d'Erlenmeyer amb unes 2 o 3 gotes de l'indicador. Previ enrasament de la bureta amb NaOH 0,1% es valora la mostra fins a un viratge cap a color rosat en tot el volum de la mostra. Es pot diluir la mostra amb aigua destil·lada per facilitar l'observació del viratge de color. L'acidesa valorable expressada com a % d'àcid làctic, es calcula a partir de la fórmula següent:

$$\text{Acidesa total (\% àcid làctic)} = \frac{\text{mL NaOH } 0,1N \times 0,9}{\text{mL de cervesa} \times \text{densitat específica de la cervesa}}$$

- **Grau alcohòlic.** (Garcia, 1990) Mitjançant ebulliòmetre electrònic GAB. Es col·loquen 50,0 mL d'aigua i es fica en marxa l'equip. Començada l'ebullició es deix establitzar la temperatura i s'anota com a zero en el disc de càlcul GAB (regla per ebulliòmetre electrònic). Es buida l'aigua de l'equip; es col·loquen 50,0 mL de la cervesa desgasificada i es porta a ebullició fins a l'establització de la temperatura. Havent determinat com a 0 la temperatura d'ebullició de l'aigua, es determina el grau alcohòlic de la cervesa col·locant en el disc de càlcul GAB la temperatura d'ebullició de la cervesa. Precisió de l'equip de 0,1% vol.

3.2.2. Anàlisis microbiològics.

Anàlisis microbiològics realitzats a les mostres de mosts madurant en barrica.

Es realitza un banc de dilucions en tubs Eppendorfs de cada una de les mostres utilitzant con a diluent una solució salina al 0,85% NaCl (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006). Banc de dilucions fins a una concentració de mostra inicial de 10^{-6} . S'utilitzen micropipetes amb puntes estèrils de 100 i 1000µL.

Recompte inicial de cèl·lules totals amb càmera Neubauer seguint les indicacions de procediment proposades per l'empresa GAB analítica, amb la càmera neta amb alcohol 96% amb una micropipeta i una punta estèril es col·loca la mostra en una de les dues ranures de la càmera i per capil·laritat els llevats es distribuïran per la càmera. Es col·loca un cobreobjectes i es realitza el recompte al microscopi a 40X augments amb un microscopi òptic. Per realitzar el recompte de cèl·lules viables es dur a terme el mateix procediment però amb la mostra tenyida (dilució de 100 µL de mostra amb 10 µL de blau de metilè, agitació i 5 minuts de repòs). Les cèl·lules vives contenen enzims capaços de reduir el blau de metilè a compostos incoloros. Quan les cèl·lules estan en contacte amb el blau de metilè, aquest passa dins de les cèl·lules i els seus enzims el decoloren. Les cèl·lules mortes, on aquests enzims es troben inactius, no decoloren el blau de metilè i com a conseqüència romandran de color blau.

Tenint en compte els resultats de cèl·lules viables es preparen les dilucions per la sembra en placa.

Els medis utilitzats han estat:

Medi genèric :

- Medi YEPD (Yeast Extract Peptone Dextrose)- 2% (p/v) de Glucosa anhidra, 2% (p/v) de Peptona bacteriològica, 1% (p/v) d'Extracte de llevat i 2% (p/v) g d'Agar bacteriològic.

Medis selectius:

- Medi YEPD (Yeast Extract Peptone Dextrose)-Cicloheximida 0,01% p/v: Cicloheximida 0,01% (p/v) adicionada després d'autoclavar. Medi selectiu per llevats no *Saccharomyces*.
- Medi YEPD (Yeast Extract Peptone Dextrose)-Natamicina 0,01% p/v: Natamicina 0,01% (p/v) adicionada després d'autoclavar. Medi selectiu per bacteris.

- Medi YEPD (Yeast Extract Peptone Dextrose)-Cloramfenicol 0,01% p/v : Cloramfenicol 0,01% (p/v) addicionada després d'autoclavar. Medi selectiu per llevats.
- Medi GYC (Glucose Yeast Carbonate): 5% (p/v) de Glucosa anhidra, 1% (p/v) d'Extracte de llevat, 2% (p/v) de Carbonat càlcic, 1,5% (p/v) d'Agar bacteriològic. Natamicina 0,01% (p/v) afegida després d'autoclavar. Medi selectiu per bacteris acètics.
- Medi M.R.S. (Man, Rogosa i Sharpe): 5,5% (p/v) MRS Broth (Difco), 2,5% (p/v) d'extracte de tomàquet, 0,3% (p/v) maltosa. Cisteïna hidroclorehídrica 0,05% (p/v) i Nystatina 0,01% afegides després d'autoclavar. Afegir en placa 40µL d'Àcida sòdica 0,04% (p/v). Medi selectiu per bacteris làctics
- Medi M.R.S (Man, Rogosa i Sharpe) adaptat per mostres de cervesa: 0,26% (p/v) MRS Broth (Difco), 0,05% (p/v) d'Acetat de sodi, 1,5% (p/v) d'Agar bacteriològic, 2,5% (p/v) d'extracte de tomàquet. Es dissolen els component en 50% de cervesa pasteuritzada desgasificada i 50% aigua destil·lada. 0,08 % (p/v) Cisteïna hidroclorehídrica, 0,01% (p/v) Natamicina afegides després d'autoclavar. Afegir en placa 40µL d'Àcida sòdica 0,04 % (p/v). Medi selectiu per bacteris làctics.

També s'han realitzat en colònies aïllades dels medis GYC i medi MRS:

- **Prova de la Catalasa:** La catalasa és un enzim que tenen la majoria dels bacteris aerobis. Descompon el peròxid d'hidrogen en aigua i oxigen. Es col·loquen unes gotes d'aigua oxigenada sobre un porta objectes i es suspèn en ella la colònia a analitzar. La presència de bombolles procedents de l'oxigen indiquen que la prova és positiva.
- **Tinció de Gram:** tècnica de diferenciació taxonòmica segons l'estructura de la paret cel·lular. Es consideraran bacteris grampositius els que es vegin de color morat i gramnegatius els que es vegin de color rosa-vermell després de la tinció. Es col·loquen sobre el portaobjectes les colònies a analitzar sobre una gota de solució salina. Es fixa la mostra amb calor. Afegir blau de violeta i esperar un minut. Esbandir amb abundant aigua pel voltant de la mostra. Afegir lugol i esperar un minut. Afegir alcohol acetona i esperar 40 segons. Esbandir amb abundant aigua. Afegir fucsina i esperar un minut. Esbandir amb abundant aigua. L'observació al microscopi es realitza a 100X amb oli d'immersió.

3.2.3. Anàlisis sensorials

S'han realitzat dos tipus de proves sensorial, ambdues discriminants. En aquests tipus de proves no es desitjava reconèixer la sensació subjectiva que produeix un aliment a una persona, sinó que es desitja establir si hi ha diferència o no entre dues o més mostres i, en alguns casos la magnitud o importància d'aquesta diferència (Larmond, 1977).

Els jutges seleccionats per la realització de les proves discriminants eren jutges semientrenats o de "laboratori", aptes per proves discriminants simple que no requereixin una definició molt precisa de paràmetres o escales (Larmond, 1973, 1977).

- **Tast sensorial triangle.** Procediment per determinar si existeix diferència o similitud sensorial entre mostres de dos productes aplicable quan existeixen diferències en un únic atribut sensorial o en varis (ISO 4120:2004).

Presentació de dos cerveses d'estil Sour Ale de gerds, elaborades seguint el mateix procediment però amb diferent temps d'envelliment. Es proposa evidenciar, o no, la diferència organolèptica entre les dos mostres.

Tal com indica la norma ISO 4120:2004 i el procediment proposat per la *ASBC (American Society of Brewing Chemists)* per un test triangle de diferència, les mostres van ser avaluades per 18 jutges, tots ells estaven familiaritzats amb el test triangle i presentàvem el mateix nivell d'entrenament sensorial.

Es van preparar el mateix nombre de les sis combinacions possibles, ABB, BAA, AAB, BBA, ABA, BAB. Es van assignar 4 codis de 3 dígits per producte i es va preparar un pla de mostres aleatori i equilibrat.

Es van utilitzar copes negres per tal que el test es focalitzés únicament en paràmetres aromàtics.

Els resultats es tractaran tenint en compte un risc alfa o error Tipo 1 (probabilitat de concloure que existeix una diferència perceptible quan aquesta no existeix) definit segons el nombre de jutges. Si el recompte de respostes correctes és superior o igual al nombre donat a la Taula A.1 de la norma ISO 4120:2004 corresponents al nombre d'avaluadors (n) es conclou que existeix una diferència significativa entre mostres a un risc α determinat.

La fitxa del tast triangle es mostra en els annexos. (ANNEX II, Fitxa 1)

- **Tast sensorial aparellat simple.**

Tècnica per determinar si existeix una diferència sensorial perceptible o una similitud entre les mostres de dos productes en el que es refereix a la intensitat d'un atribut sensorial. Es tracta d'un tast de judici forçat entre dos alternatives (ISO 5495:2005 i ISO 5495:2005/Cor 1:2006).

Presentació de dos cerveses d'estil Sour Ale de gerds, elaborades seguint el mateix procediment però amb diferent temps d'envelliment. Es proposa evidenciar, o no, la diferència organolèptica entre les dos mostres.

En el mateix tast de comparació per parelles es pot diferenciar una prova unilateral (la hipòtesis nul·la H_0 és que els productes no són diferents; la proporció de les respostes correctes observada, p , és igual a $\frac{1}{2}$). La hipòtesis alternativa és $H_1 > \frac{1}{2}$) i una prova bilateral (la hipòtesis nul·la H_0 és que els productes no són diferents; la proporció de les respostes correctes observada, p , és igual a $\frac{1}{2}$). La hipòtesis alternativa és $H_1 \neq \frac{1}{2}$.

La prova unilateral es tracta de la part gustativa amb els següents paràmetres: dolçor, amargor i acidesa. El director de la prova té coneixement al respecte de la direcció de la diferència (anàlisi físico-químics de les mostres).

La prova bilateral es tracta de la part aromàtica amb els següents paràmetres: aroma a gerds, aroma a cuir/marroquineria, aroma a àcid acètic, aroma a paper/cartró, aroma a florit. La sensibilitat de la prova es defineix amb els valors d' α , β i p_d definits segons el nombre de jutges disponible.

Els resultats es tractaran de la següent manera: Per la part unilateral, si el recompte de respostes correctes és superior o igual al nombre donat a la taula A.4 de la norma ISO 5495:2005/Cor 1:2006 corresponents al nombre d'avaluadors (n) es conclou que existeix una diferència significativa entre mostres a un risc α determinat. Per la part bilateral en comptes de respostes correctes es tracta de respostes consensuades i s'analitza amb la taula A.2 de la norma ISO 5495:2005/Cor 1:2006.

Les mostres van ser avaluades per 18 jutges, tots ells familiaritzats amb el test de comparació per parelles i presentàvem el mateix nivell d'entrenament sensorial.

La representació de les dades obtingudes es fa mitjançant un MCA (*Multiple Correspondence Analysis*) una extensió de l'anàlisi de correlació (CA) que permet analitzar el patró que relacionen varies variables categòriques

dependents. Tècnicament el MCA s'obté mitjançant l'ús d'un anàlisi de correspondència estàndard en una matriu on les entrades són 0 i 1. Cada variable nominal comprèn diferents nivells i cada un d'aquestes nivells es codifica com una variable binària (Abdi et al., 2006). Aquesta tècnica permet estudiar grups d'individus amb patrons similars en les observacions (Fithian et al., 2016). La fitxa del test de comparació per parelles es mostra en els annexos. (ANNEX II, Fitxa 2)

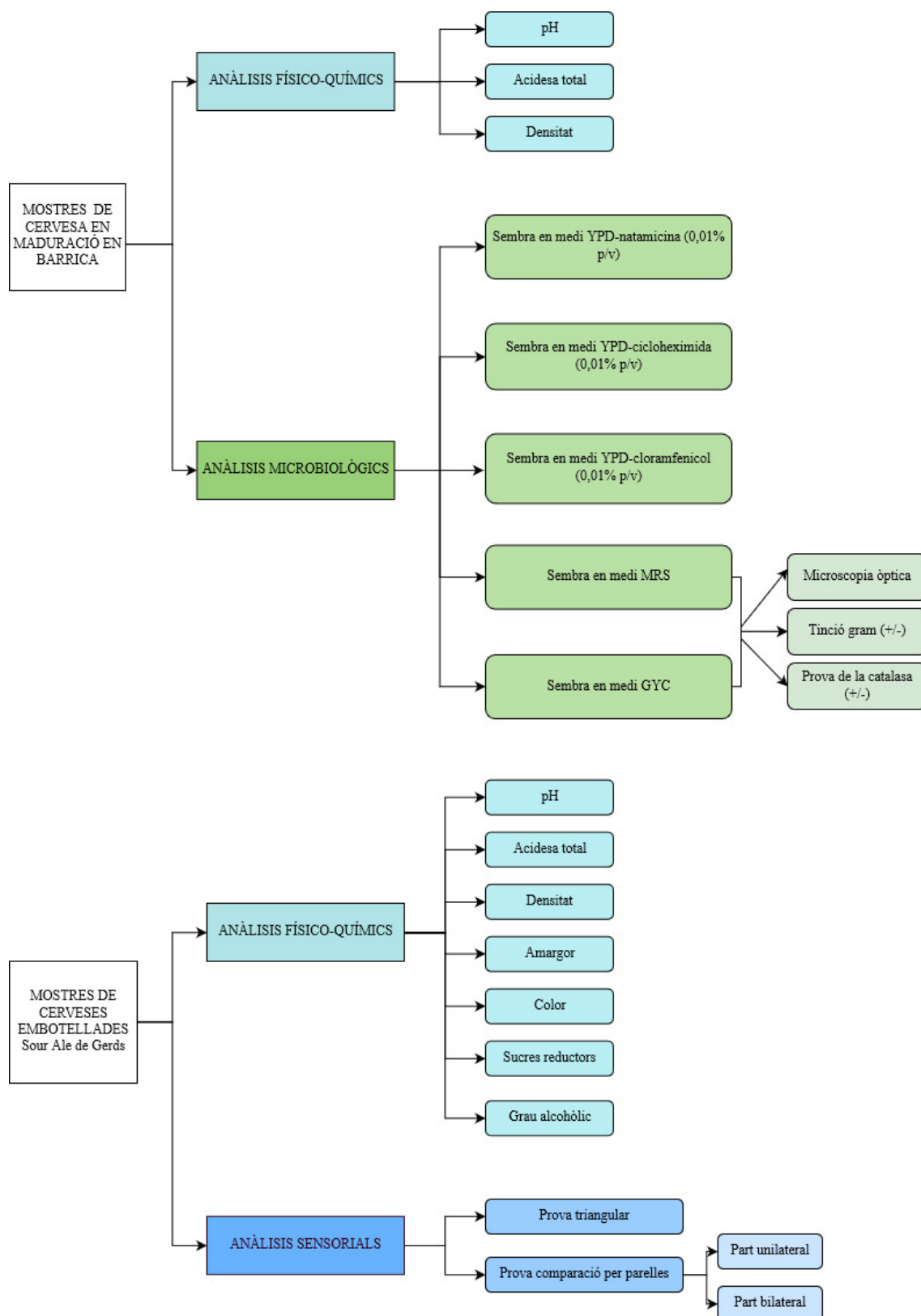


Figura 1. Esquema del Pla de treball seguit.

4. RESULTATS I DISCUSIÓ

4.1. Anàlisi dels resultats físico-químics de les cerveses Sour Ale de Gerds.

Taula 2. Resultat anàlisis físico-químics de les cerveses Sour Ale de Gerds.

	Mostra E (31/05/2019)	Mostra B (01/08/2019)	Mostra D (12/02/2020)	Mostra A (10/01/2021)
Color EBC	30,78±6,33E-02	28,63±6,61E-03	20,23±1,83E-02	19,63±2,2E-02
Sucres reductors (GAB) (g/L)	3,63±1,04E-01	3,49±5,57E-02	3,22±2,89E-02	3,02±7,64E-02
Densitat (g/cm ³)	1002,1±1,00E-04	1001,5±1,00E-04	1000,9±1,00E-04	1000,3±1,00E-04
Grau alcohòlic (GAB)	5,58±1,53E-02	5,63±1,15E-02	5,7± 1,15E-02	5,68±2,52E-02
pH	3,86±5,81E-03	3,63±0	3,55±0	3,47±0
Acidesa valoració (% àcid làctic)	0,329±5,00E-02	0,600±5,80E-02	0,859±7,61E-02	0,866±7,32E-02
Acidesa potenciomètrica (% àcid làctic)	0,326±7,61E-02	0,591±8,71E-02	0,861±5,86E-02	0,891±5,53E-02
IBU	5,23±7,75E-03	4,31±8,25E-03	3,21±8,25E-03	3,77±7,75E-03

Les mostres analitzades són mostres del mateix estil de cervesa (Sour Ale de Gerds) però de lots diferents, entenent com a lot el moment de la producció. És per això que no es pot realitzar un anàlisi comparatiu exhaustiu entre elles dels paràmetres físico-químics, ja que canvis en cada producció, poden fer variar els resultats analítics finals.

Per altra banda, aquest anàlisi seria més complert si es disposés d'informació complementària com els resultats analítics de diferents paràmetres en el moment de l'embotellament de cada una de les cerveses per tal de veure l'evolució al llarg del temps.

S'observa una tendència a l'augment del color comparant les mostres més recents amb les mostres més antigues, sent més fosques les mostres B i E, elaborades l'any 2017. El color de les cerveses augmenta durant l'emmagatzematge a causa de les molècules que deriven principalment de la reacció de Maillard i de l'oxidació de polifenols, sent més prominent aquest augment en les cerveses amb més contingut alcohòlic (Vanderhaegen et al., 2007).

Tanmateix no es pot obviar la possibilitat de que aquesta diferència de color hi fos des de la cocció de la cervesa.

En aquestes mostres no es poden relacionar aquelles més fosques amb les més alcohòliques ja que aquests últims valors són bastant lineals en totes les cerveses. No obstant, els resultats de densitat juntament amb el contingut de sucres reductors i el contingut alcohòlic si que es poden relacionar, sent aquelles mostres més atenuades i amb menys densitat les de més contingut alcohòlic (Mostres A i D).

L'amargor de les cerveses disminueix amb l'envelliment d'aquestes mentre que la dolçor augmenta, canviant així l'equilibri cap a un gust més dolç en tots els tipus de cervesa (Dalglish, 1977). Aquest augment de la dolçor si que s'observa en les mostres de l'any 2017 respecte les dels anys 2018 i 2019. Tanmateix, no es pot trobar aquesta relació respecte la disminució de l'amargor ja que aquest paràmetre és bastant variable en totes les mostres, sent les més amargues les elaborades els anys 2017 per tant, les més velles.

Les inflorescències femenines del llúpul utilitzat per les indústries cerveseres per afavorir la conservació i l'amargor, contenen glàndules de llupulina que a la vegada contenen diferents compostos com resines, àcids amargs, olis essencials i flavonoides. Els efectes i bioactivitats del llúpul son nombroses, entre les que destaca la seva capacitat antimicrobiana (Karabin et al., 2015). La cervesa Sour Ale de Gerds té un perfil aromàtic molt complex que el confereixen els microorganismes presents en les barriques on s'ha envellit la cervesa (*Brettanomyces/Dekkera*, bacteris làctics...). És per això que la recepta pot haver estat modificada reduint la quantitat de llúpul per tal d'afavorir el creixement microbià. Aquest fet es pot veure relacionat d'igual manera amb la diferència del pH i de l'acidesa valorable de les diferents mostres.

En les mostres de cervesa amb major concentració d'IBUs (cerveses elaborades l'any 2017) l'acidesa (pH i acidesa valorable) és menor i augmenta de forma inversa a mesura que els IBUs disminueixen. Aquest augment de l'acidesa pot ser causada per un augment de població de microorganismes com *Brettanomyces/Dekkera*, bacteris làctics o bacteris acètics.

4.2. Anàlisi dels resultats del tast sensorial triangle.

El tast triangular és una prova sensorial per determinar l'existència de diferència o similitud sensorial perceptible entre dos productes. Es realitza presentant tres mostres als jutges, de les quals dos són iguals i una diferent. Es tracta d'un mètode d'elecció forçada i és aplicable quan existeixen diferències en un únic atribut o en varis.

D'aquesta manera, s'han escollit dos mostres de cervesa Sour Ale de Gerds elaborades seguint el mateix procediment però en dates diferents. La mostra *Mostra A (10/01/2021)* elaborada l'any 2019 i la *Mostra B (01/08/2019)* elaborada l'any 2017. La data entre parèntesis correspon a la data de caducitat.

L'objectiu d'aquesta prova és evidenciar la diferència organolèptica entre dos cerveses del mateix estil elaborades per la mateixa cerveseria, però amb diferent temps d'envelliment.

Tot i que la normativa ISO 4120:2004 per el tast triangular afirma haver de triar un nombre de jutges segons la sensibilitat requerida, també contempla la possibilitat de realitzar-ho a la inversa. En aquest cas el nombre de jutges venia limitat, sent un màxim de 18 els jutges possibles. A partir del nombre de jutges es pot constituir un grup de valors per α , β i p_d que proporcionin una sensibilitat acceptable.

D'aquesta manera i analitzant la taula A.3 de la normativa ISO 4120:2004 es determina que s'utilitzaran 18 jutges ($n=18$), el nivell de risc $\alpha=0,10$ i el nivell de risc $\beta=0,20$. La proporció màxima de jutges que perceben una diferència (p_d) és d'un 40%.

Cal esmentar que la sensibilitat de la prova augmenta a mesura que disminueixen els percentatges d'error. En aquest cas amb la prova es vol determinar la diferència entre mostres, per tant el valor de risc β no s'utilitzarà ja que per definició és la probabilitat de concloure que no existeixen diferències perceptibles quan si que n'hi ha.

El tast s'ha realitzat amb gots negres ja que observant els resultats de color EBC de les anàlisis físico-químiques (Taula 2), els resultats són diferents i per tant a simple vista, la diferència entres les dos mostres iguals i la mostra diferent, és evident.

Les respostes obtingudes en el tast triangle es mostren en la taula següent:

Taula 3. Resultats del tast sensorial triangular.

	Jutges																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
COPA 1 <i>Mostra A</i> <i>(10/01/2021)</i>	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
COPA 2 <i>Mostra B</i> <i>(01/08/2019)</i>	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COPA 3 <i>Mostra B</i> <i>(01/08/2019)</i>	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Seguint la taula A.1 de la norma ISO 4124:2004, tenint en compte que $n=18$, el nombre mínim de respostes correctes per concloure que existeix una diferència perceptible als diferents nivells de risc alfa són:

Taula 4. Taula A.1 de la norma ISO 4120;2004

n	α				
	0,20	0,10	0,05	0,01	0,001
18	9	10	10	12	13

El nombre de respostes correctes han estat 16 i el mínim de respostes correctes necessàries per concloure que a un risc alfa de 0,1 es pot rebutjar la hipòtesi “no existeix diferència”, és de 10. Per tant, hi ha una diferència significativa entre les mostres estudiades.

La diferència de temps d’envelliment de les mostres, pot ser una causa de la diferència significativa trobada, no obstant, és difícil afirmar que únicament sigui per aquest motiu. La falta d’estandardització del procés així com el *blend* de cada lot fet a partir de cerveses envellides en diferents barriques, pot conferir diferències organolèptiques tot i tractar-se del mateix estil de cervesa.

4.3. Anàlisis de la part unilateral del tast sensorial de comparació per parelles.

La prova de comparació per parelles és una tècnica per determinar si existeix una diferència sensorial perceptible o una similitud entre les mostres de dos productes en el que es refereix a la intensitat d’un atribut sensorial. És una prova de judici forçat entre dos alternatives.

Les mostres analitzades es troben referenciades com a *mostra D* (cervesa Sour Ale de gerds amb data de caducitat 12/02/2020) i *mostra E* (cervesa Sour Ale de gerds amb data de caducitat 31/05/2019).

Amb aquesta prova es pretén, coneixent la direcció de les respostes a través de les anàlisis físico-químiques descrits en apartats anteriors, afirmar o no, la diferència significativa a nivell gustatiu entre dos mostres amb diferents temps d’envelliment.

En la metodologia del tast de comparació per parelles part unilateral, ve descrit que el nombre de jutges utilitzats ve determinat segons el nivell de sensibilitat requerit per la prova. Tot i això,

en el tast realitzat el nombre de jutges venia determinat per unes condicions materials; volum de mostra insuficient i un nombre determinat de jutges disponibles.

D'aquesta manera i sabent que el nombre màxim de jutges disponibles eren 18, la taula A.4 de la norma ISO 5495:2005/Cor 1:2006 es pot utilitzar de manera inversa per constituir un grup de valors per α , β i p_d que proporcionin una sensibilitat acceptable.

La taula anteriorment anomenada indica que per $n=18$, el nivell de risc $\alpha=0,05$ i el nivell de risc $\beta=0,50$. La proporció màxima de jutges que perceben una diferència (p_d) és d'un 40%.

Tenint en compte els resultats físico-químics es determina que la resposta correcta pel paràmetre ACIDESA és marcar com a **MÉS ACIDESA** la **Mostra D (12/02/2020)**, pel paràmetre DOLÇOR, marcar com a **MÉS DOLÇOR** la **Mostra E (31/05/2019)** i finalment pel paràmetre AMARGOR, marcar **MÉS AMARGOR** la **Mostra E (31/05/2019)**.

Els resultats obtinguts del tast de comparació per parelles (part unilateral) es mostren en la taula següent:

Taula 5. Respostes tast comparació per parelles part unilateral

	Mostra D (12/02/2020)	Mostra E (31/05/2019)
MÉS ÀCIDA	13	5
MÉS DOLÇA	4	14
MÉS AMAGRA	9	9

Taula 6. Respostes correctes tast comparació per parelles part unilateral

Paràmetres	RESPOSTES CORRECTES
ACIDESA	13
DOLÇOR	14
AMARGOR	9

Seguint la taula A.1 de la norma ISO 5495:2005/Cor 1:2006 i amb $n=18$, el nombre mínim de respostes correctes per concloure que existeix una diferència perceptible als diferents nivells de risc alfa són:

Taula 7. Taula A.1 de la norma ISO 5495:2005/Cor 1:2006

n	α				
	0,20	0,10	0,05	0,01	0,001
18	12	13	13	15	16

Per tant, en els paràmetres d'acidesa ($n=18$, $x=13$) i dolçor ($n=18$, $x=14$) hi ha una diferència a un nivell de significació del 5%. Per altra banda no es pot afirmar aquesta diferència pel paràmetre d'amargor ($n=18$, $x=9$).

A l'estudi dels patrons de les respostes del tast de comparació per parelles mitjançant el MCA (*Multiple Correspondence Analysis*), es pot observar que aproximadament un 86% de la informació ve explicada per les dues primeres dimensions.

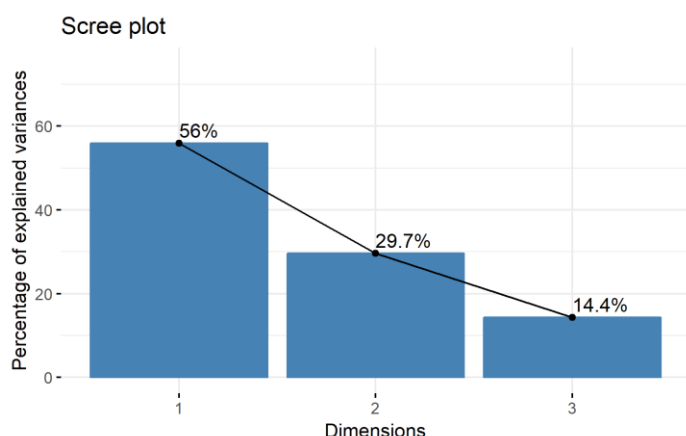


Figura 2. Dimensions MCA-Biplot tast sensorial comparació per parelles part unilateral.

La dimensió 1 (56,9%) ve explicada pels paràmetres que es mouen en l'eix x (*Figura 3* i *Figura 4*); en major mesura per la dolçor i acidesa i en menor mesura per l'amargor. La dimensió 2 (30,2%) ve explicada pels paràmetres que es mouen en l'eix y; principalment amargor seguit de l'acidesa i en menor mesura la dolçor.

Es poden distingir dos patrons de respostes, un primer grup que han descrit la *Mostra D* (12/02/2020) com a més amarga, més àcida i menys dolça (*Figura 3*). Per tant el mateix grup han descrit la *Mostra E* (31/05/2019) com a menys amarga, menys àcida i més dolça (*Figura 4*).

Es pot distingir un altre patró de respostes que han descrit la *Mostra D* (12/02/2020) com a menys dolça i menys amarga però més àcida (*Figura 3*). Per tant el mateix grup han descrit la *Mostra E* (31/05/2019) com a més dolça i amarga però menys àcida (*Figura 4*).

Cal destacar que aquests patrons de respostes representats amb el MCA – Biplot no indica un encert o error de cada paràmetre, sinó l'agrupació de les respostes dels jutges. No obstant, i relacionant aquesta representació amb els resultats estadístics de les respostes, el paràmetre variable entre els dos grups és l'amargor, que no tenia una diferència significativa.

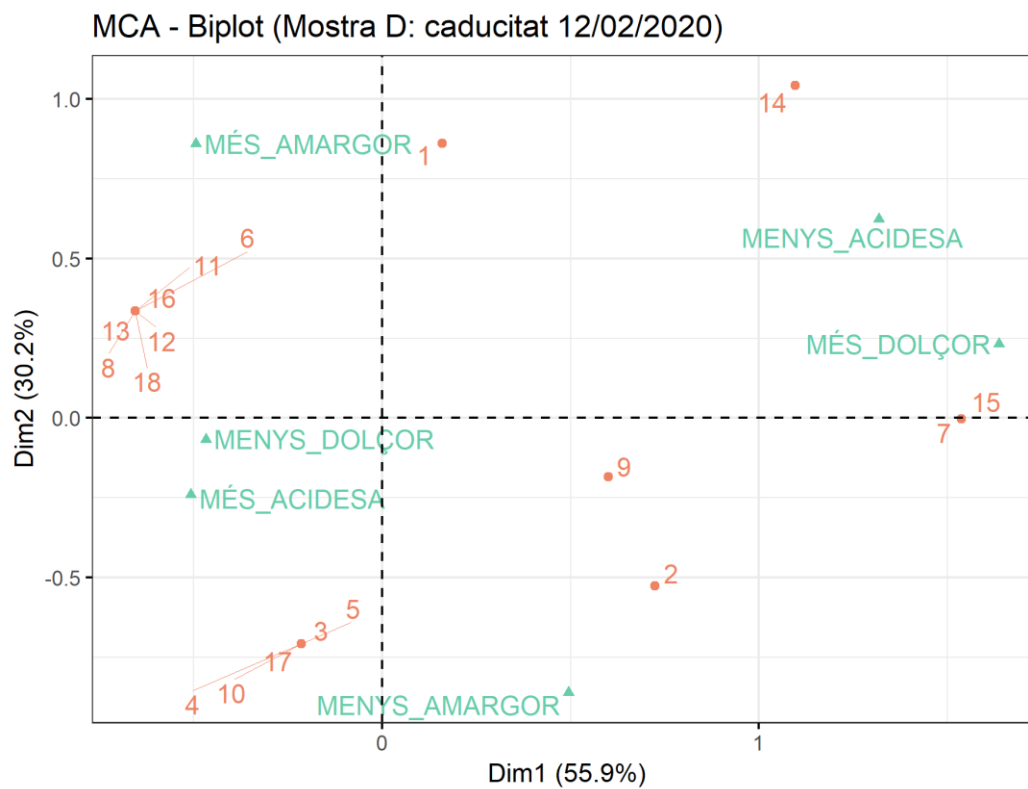


Figura 3. MCA Biplot Mostra D (12/02/2020) del tast sensorial de comparació per parelles part unilateral.

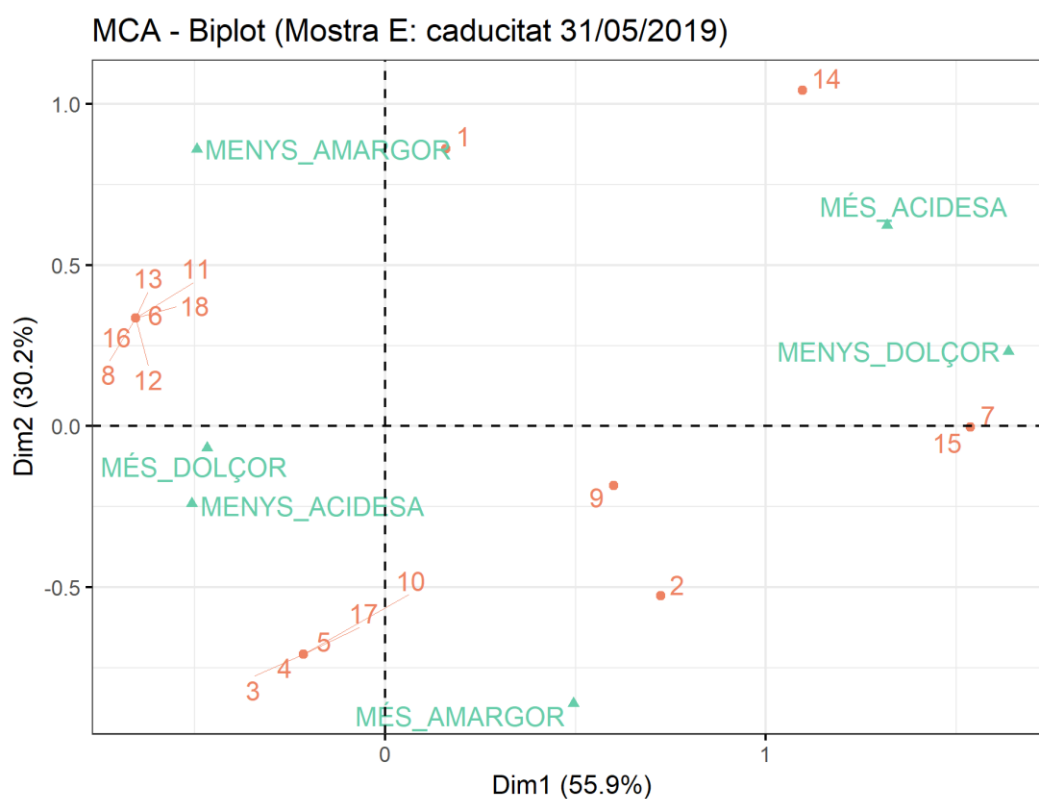


Figura 4. MCA Biplor Mostra E (31/05/2019) del tast sensorial de comparació per parelles part unilateral.

4.4. Anàlisi de la part bilateral del tast sensorial de comparació per parelles.

La part bilateral del tast de comparació per parelles, es caracteritza per no tenir a priori cap coneixement respecte la direcció de la diferència. D'aquesta manera, es parla de respostes consensuades i no de respostes correctes.

S'han escollit cinc paràmetres olfactivs per evidenciar, o no, la diferència entre ells en dos cerveses de diferents temps d'envelliment.

D'igual manera que en el cas anterior (prova de comparació per parelles unilateral) el nombre màxim de jutges disponibles eren 18. La taula A.5 de la norma ISO 5495:2005/Cor 1:2006 es pot utilitzar de manera inversa per constituir un grup de valors per α , β i p_d que proporcionin una sensibilitat acceptable. La taula anteriorment anomenada indica que per $n=18$, el nivell de risc $\alpha=0,10$ i el nivell de risc $\beta=0,50$. La proporció màxima de jutges que perceben una diferència (p_d) és d'un 40%.

Els resultats obtinguts del tast de comparació per parelles (part bilateral, en la que no es coneix la direcció de la diferència) es mostren en la taula següent:

Taula 8. Respostes tast comparació per parelles part bilateral

	<i>Mostra D</i> <i>(12/02/2020)</i>	<i>Mostra E</i> <i>(31/05/2019)</i>
MÉS AROMA A GERDS	13	5
MÉS AROMA A ÀCID ACÈTIC	11	7
MÉS AROMA A CUIR/MARROQUINERIA	5	13
MÉS AROMA A PAPER/CARTRÓ	11	7
MÉS AROMA A FLORIT	3	15

Seguint la taula A.2 de la norma ISO 5495:2005/Cor 1:2006 i tenint en compte que $n=18$, el nombre mínim de respostes consensuades per concloure que existeix una diferència perceptible als diferents nivells de risc alfa són:

Taula 9. Taula A.2 de la norma ISO 5495:2005/Cor 1:2006

n	α				
	0,20	0,10	0,05	0,01	0,001
18	13	13	14	15	17

Per tant, observant les respostes consensuades únicament en el paràmetre d'aroma a GERDS (n=18, x=13), aroma a CUIR/MARROQUINERIA (n=18, x=13) i aroma a FLORIT (n=18, x=15) es pot afirmar que hi ha una diferència perceptible a un nivell de significació d'un 10%.

A l'estudi dels patrons de les respostes del tast de comparació per parelles mitjançant el MCA (*Multiple Correspondence Analysis*), es pot observar que aproximadament un 70% de la informació ve explicada per les dues primeres dimensions (*Figura 5*), no obstant, i a diferència del cas anterior hi ha tres dimensions més per explicar la totalitat de la prova.

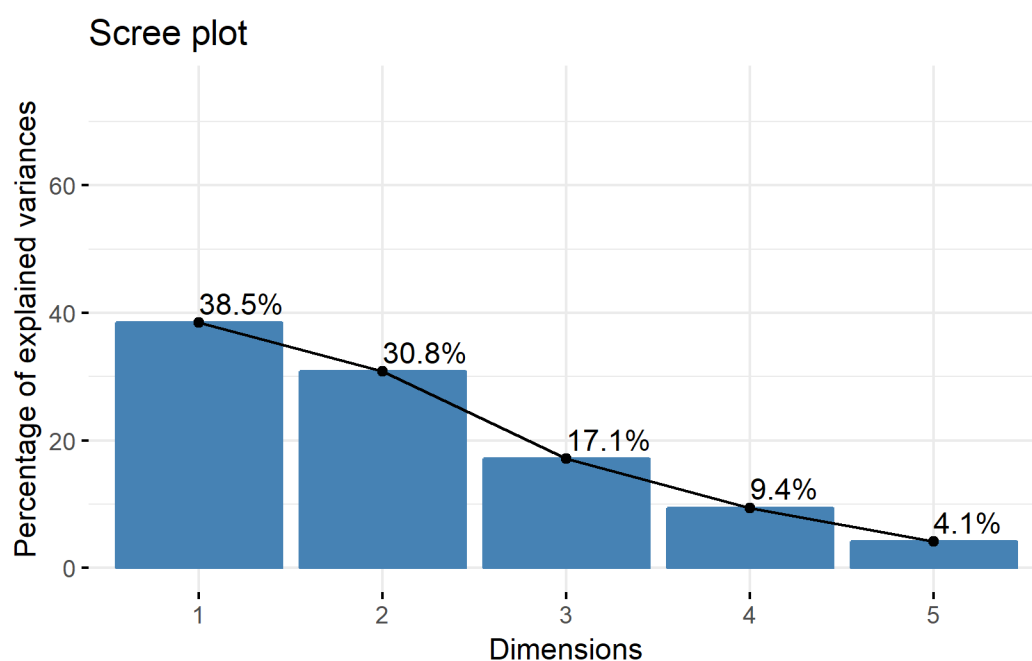


Figura 5. Dimensions MCA-Biplot tast comparació per parelles part bilateral.

La dimensió 1 (38,5%) ve explicada pels paràmetres que es mouen en l'eix x (*Figura i Figura*); en major mesura per l'aroma a gerds, cuir i l'aroma a florit. La dimensió 2 (30,8%) ve explicada pels paràmetres que es mouen en l'eix y; principalment aroma a paper cartró i aroma a àcid acètic.

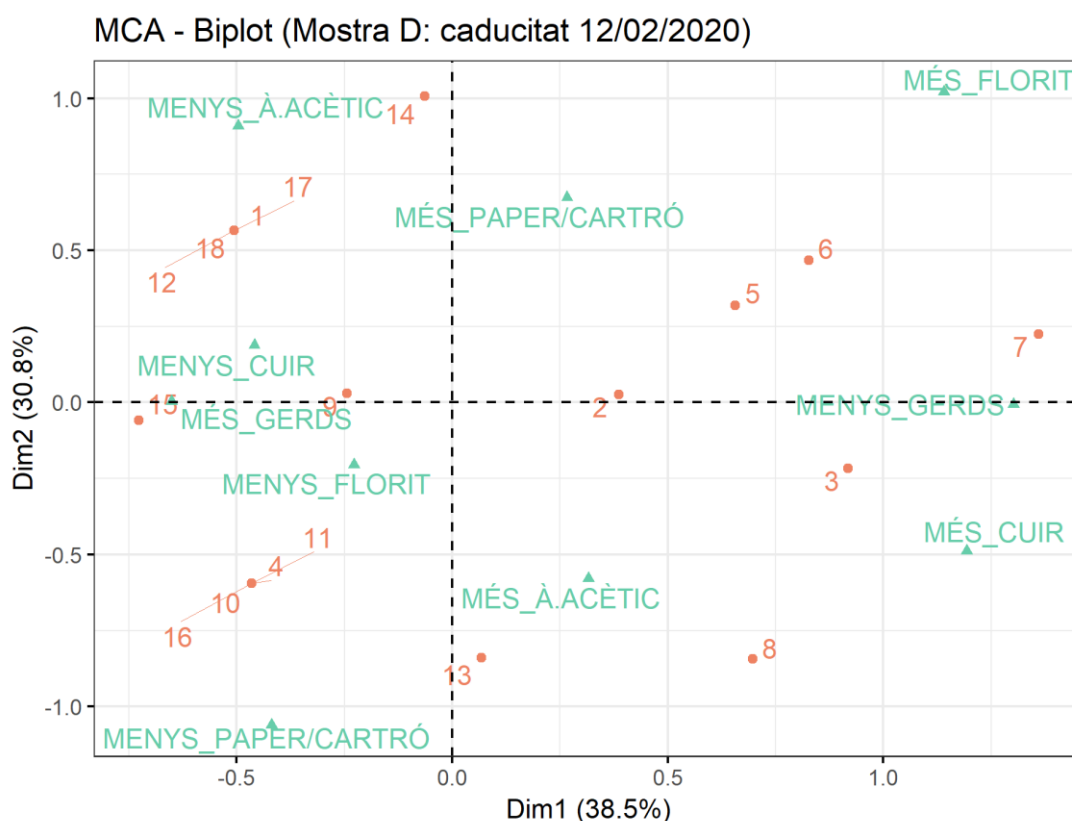


Figura 6. MCA Biplot Mostra D (12/02/2020) de la prova sensorial de comparació per parelles part bilateral.

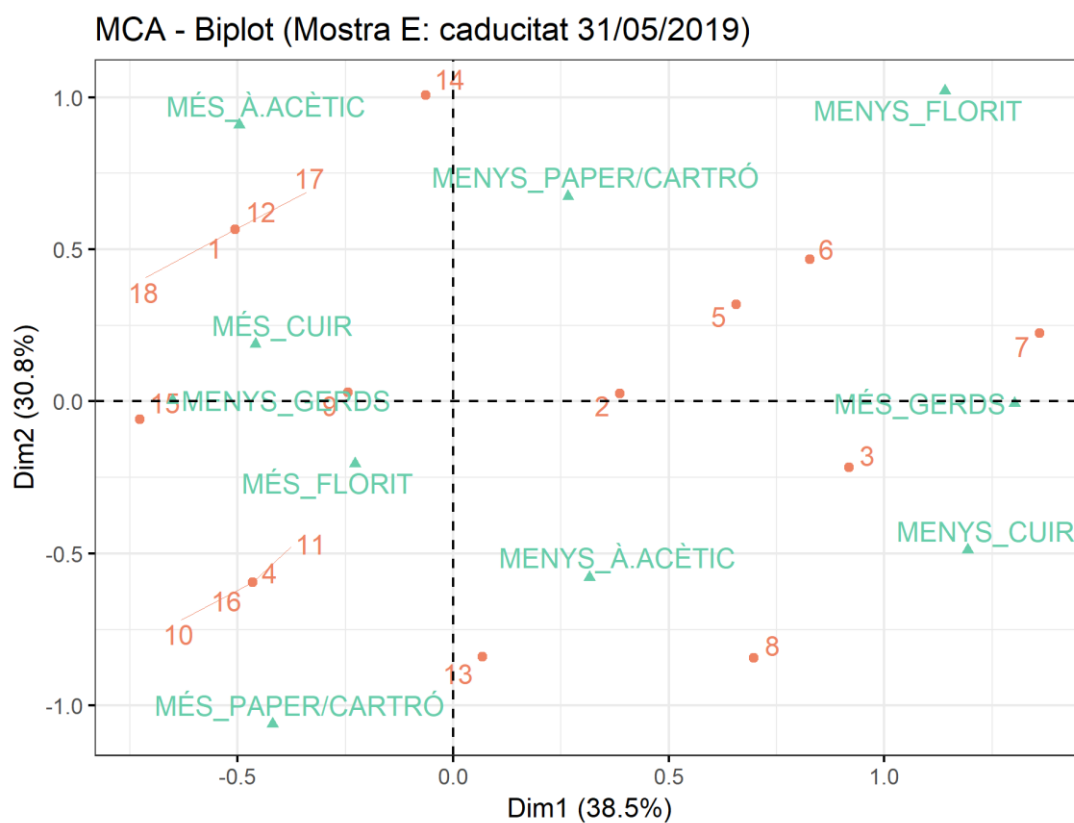


Figura 7. MCA Biplot Mostra E (31/05/2019) de la prova sensorial de comparació per parelles part bilateral.

Analitzant les agrupacions de respostes representades en el MCA – Biplot es poden diferenciar dos patrons. Un grup de jutges que han descrit la *Mostra D* (12/02/2020) com amb menys aroma a cuir/marroquineria, menys aroma a àcid acètic i més aroma a gerds. L'altre grup de jutges defineixen la mateixa mostra amb menys aroma a paper/cartró i menys aroma a florit (*Figura*). Els mateixos grups de mostres han definit la *Mostra E* (31/05/2019) amb els valors oposats (*Figura*).

Els paràmetres amb diferència significativa entre les dues mostres han estat l'aroma a gerds, l'aroma a cuir/marroquineria i l'aroma a florit. L'aroma a cuir/marroquineria és un indicador de *Brettanomyces* en l'etapa de la maduració de la cervesa en barrica, no es coneixen les barriques en les que han madurat aquestes cerveses però hi pot haver una diferència en la població d'aquest llevat entre elles.

Per altra banda, els indicadors de florit i gerds, són oposats pel que fa l'envelliment de la cervesa. En les cerveses amb fruites es sol relacionar un bon envelliment amb l'augment de la percepció de l'aroma de la fruita a partir de la qual ha estat elaborada. També es manifesta amb notes a enranciment amb un augment de les notes dolces, de mel o de melasses. En general es perden les notes més fresques. Per altra banda, un envelliment no adequat de la cervesa es pot relacionar amb l'aroma a paper/cartró (trans-2-nonenal) o l'aroma a florit (5-hydroxymethyl-furfural), que sol augmentar durant l'envelliment.

Les dos mostres utilitzades en aquest tast, havien estat elaborades amb dos anys de diferència; la *Mostra E* (31/05/2019) elaborada l'any 2017 i la mostra *Mostra D* (12/02/2020) elaborada l'any 2018. Els resultats organolèptics mostren clarament aquesta diferència.

4.5. Anàlisi dels resultats microbiològics i físico-químics de les cerveses en maduració extretes de barriques.

Els resultats del recompte de cèl·lules viables per mil·lilitre dels diferents medis de cultius empleats així com els resultats físico-químics es troben en els annexos d'aquest document (ANNEX 3).

Per tal de fer un millor anàlisi dels resultats obtinguts es separen les mostres en dos grups; les cerveses de fermentació espontània i les cerveses de blat amb fermentació controlada en fermentadors d'acer inoxidable i madurades en barrica. En aquest grup s'inclou l'anàlisi de la mostra del *blend* elaborat a partir de la cervesa de quatre barriques diferents junt amb gerds.

CERVESA FERMENTACIÓ ESPONTÀNIA

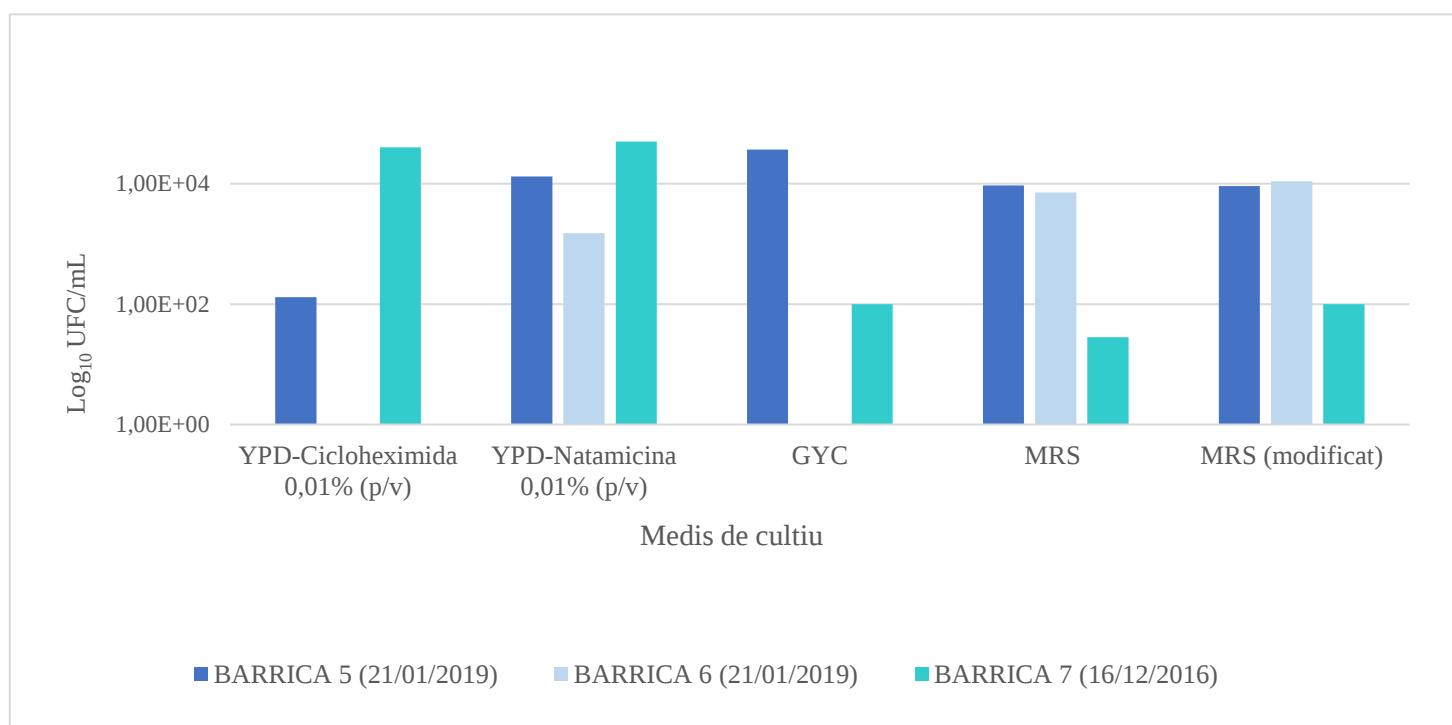


Figura 6. Representació gràfica en escala logarítmica de les UFC/mL en diferents medis de cultiu per les mostres de fermentació espontània.

Les barriques numerades com a 5,6 i 7 contenen cervesa de fermentació espontània. La barrica 7 conté una cervesa de finals de l'any 2016 i les barriques 5 i 6 de principis de l'any 2019. Així doncs, es pot analitzar l'evolució dels microorganismes a través dels resultats de les sèmbres en medis de cultiu realitzades.

Es pot observar l'absència de creixement en cap de les tres mostres en el medi YPD-cloramfenicol (0,01% p/v) medi selectiu per llevats. La fase dominada pels llevats en les fermentacions espontànies es dona a les 3-4 setmanes de fermentació principalment per *S.cerevisiae*, *S.bayanus/pastorianus* i *S.uvarum* (Van Oevelen et al., 1977; Verachtert i Iserentant, 1995).

Les mostres de les barriques 5 i 6 es trobaven en el cinquè mes de fermentació (en el moment de presa de les mostres) pel que bibliogràficament es trobaven entre la fase d'acidificació, caracteritzada per una elevada població de *Pediococcus spp.* i *Lactobacillus spp.* en menor volum i la fase de maduració on *Bretanomyces spp.* va sent més prevalent (Van Oevelen et al., 1977; Verachtert i Iserentant, 1995).

El recompte de bacteris làctics es va fer amb dos medis diferents de MRS, el genèric utilitzat en enologia substituint l'àcid D,L màlic i la fructosa per maltosa i un medi MRS amb certes

modificacions, per fer-lo més “específic” per afavorir el creixement de bacteris làctics de mostres de cerveses. Una diferència principal dels medis recau en el pH, sent el del medi MRS de 6,1 i el medi MRS modificat de 5,2 (Simpson i Smith, 1992). La diferència de resultats entre els dos medis era evident ja que tot i l'excés de creixement de microorganismes en placa que feia difícil l'aïllament, les colònies estaven més separades i definides en el medi MRS modificat.

Es pot observar en la taula de resultats (ANNEX 3, taula 10) la diferència de les barriques 5 i 6 respecte la barrica 7, aquesta última que porta aproximadament 2 anys i mig en barrica, que la població de bacteris làctics és bastant menor. Aquesta disminució de població també es pot observar en el medi GYC específic per bacteris acètics, tot i que només una de les colònies aïllades (medi GYC, colònia 1, barrica 5) va ser Gram-negativa i catalasa-positiva. Els bacteris acètics de la família *Acetobacteraceae* són, en termes generals, Gram-negatius i catalasa-positius (De Ley et al., 1984; Holt et al., 1994), no obstant aquests paràmetres poden canviar fent que algunes soques siguin Gram-variables i catalasa-negatius (Ameyama, 1975; Gosselé et al., 1983) fet que complica la seva identificació i classificació (Du Toit, Pretorius, 2002).

Finalment el medi YEPD-Cicloheximida 0,01% (p/v) en el que s'inhibeix el creixement de la majoria de llevats però no dels llevats resistents com per exemple *Dekkera/Brettanomyces*, s'observa que la població és major en la mostra de la barrica 7. Tot i que morfològicament en l'observació al microscopi tingui les característiques de *Dekkera/Brettanomyces* no es pot afirmar que ho fos ja que d'altres llevats no-*Saccharomyces* poden créixer en aquest medi.

L'atenuació en les cerveses de fermentació espontània es produeix de manera gradual a partir dels 10 mesos moment en que comença a disminuir la població de bacteris làctics (Ameyama, 1975; Gosselé et al., 1983). La densitat original d'aquestes cerveses es trobava al voltant de 1040 pel que es pot observar que les barriques 5 i 6 només han reduït aproximadament un 35% mentre que la barrica 7 ja es troba totalment atenuada. Aquesta evolució també s'observa en l'acidesa.

CERVESA FERMENTACIÓ CONTROLADA I MADURACIÓ EN BARRICA

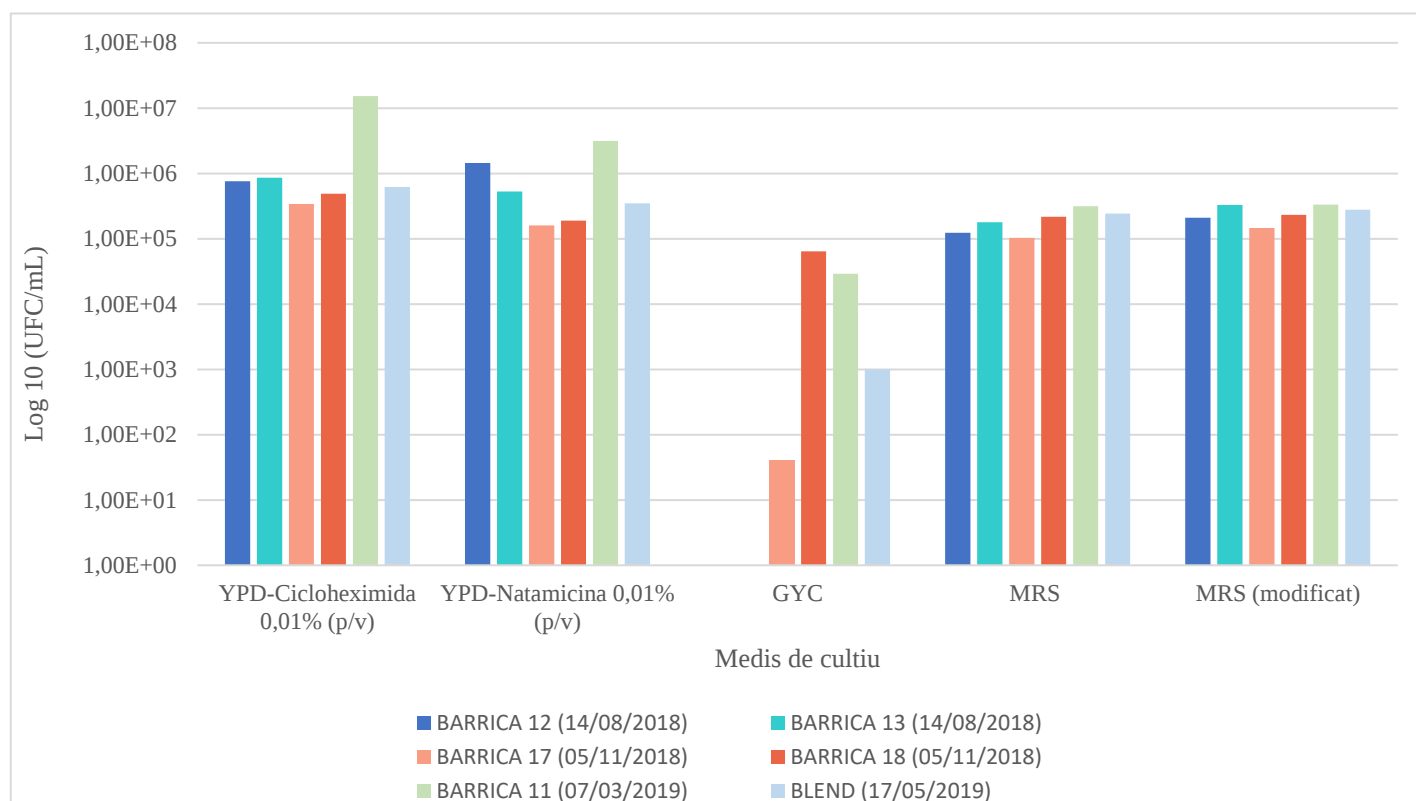


Figura 7. Representació gràfica en escala logarítmica de les UFC/mL en diferents medis de cultiu per les mostres de cervesa de blat en maduració en barrica.

La diferència principal entre aquestes mostres i les de fermentació espontània es troba en que han tingut una primera fermentació controlada en fermentadors d'acer inoxidable. El resultat de llevats totals (medi YEPD-Cloramfenicol 0,01% p/v) és la principal diferència amb els resultats obtinguts de les cerveses de fermentació espontània que no presentaven cap creixement. Els resultats de llevats no *Saccharomyces* (medi YPD-Cicloheximida 0,01% p/v) és molt superior als resultats de les mostres de fermentació espontània. La barrica que més dista en aquests resultats és la barrica 11 amb una població molt més elevada.

L'any 2017, a la barrica 11 se li va inocular un vial amb un cultiu de 40 mL de *Brettanomyces* òptim per un volum de cervesa de 20 L sent el volum de la barrica de 225 L de cervesa. Tot i no repetir la inoculació, es pot comprovar que la població de *Brettanomyces* és més elevada en comparació a la resta de barriques (Figura 9. Medi YPD-cicloheximida 0,01% p/v). Cal esmentar, que no es pot afirmar que tota la població d'aquest medi de cultiu sigui *Brettanomyces/Dekkera* tot i les característiques morfològiques observades al microscopi; morfologia cel·lular ogival o cilíndrica amb una mida variable i la formació de filaments.

Per altra banda, es pot observar que la població de bacteris làctics és pràcticament la mateixa en totes les barriques tot i la diferència de temps que porten en maduració.

En l'estudi de l'acidesa, s'ha analitzat tant el pH (potencial d'hidrogen) com l'acidesa valorable. En termes generals a menor pH, l'acidesa valorable serà major. El pH només mesura l'hidrogen dissociat, però els àcids orgànics de la fermentació són àcids dèbils i no tenen tanta facilitat per dissociar-se com els àcids més forts. L'acidesa valorable té en compte tant l'hidrogen dissociat com el l'associat, no obstant la valoració no té la capacitat de dissociar tots els àcids de la solució, per això el terme d'acidesa valorable i acidesa total no són estrictament el mateix. L'acidesa valorable és una aproximació de l'acidesa total. (Ibry, Alexander, 2019)

La correlació de Pearson (coeficient que informa del grau de relació entre dos variables) és de $r=-0,926$ amb un p-value de 0,002748 i un nivell de significació $p < 0,05$ pel que si que segueixen una relació inversa. Les mostres de fermentació són clarament més àcides que les mostres amb fermentació controlada i acidificació en barrica. Entre aquestes últimes els valors són similars a excepció de la mostra *blend* que té un valor de pH a les altres mostres, però el valor d'acidesa valorable és més elevat. Tot i això la població de bacteris no és superior a la resta de mostres.

Respecte la població crescuda al medi GYC, és més variant en totes les barriques amb mostres sense creixement. En aquest medi la població esperada era de bacteris acètics, no obstant els resultats de la tinció Gram i de la prova catalasa, no són concloents per afirmar que es tracten de bacteris acètics. En general els bacteris acètics són Gram-negatius i catalasa-positius, només tres de les colònies aïllades en aquestes barriques donaven aquests resultats.

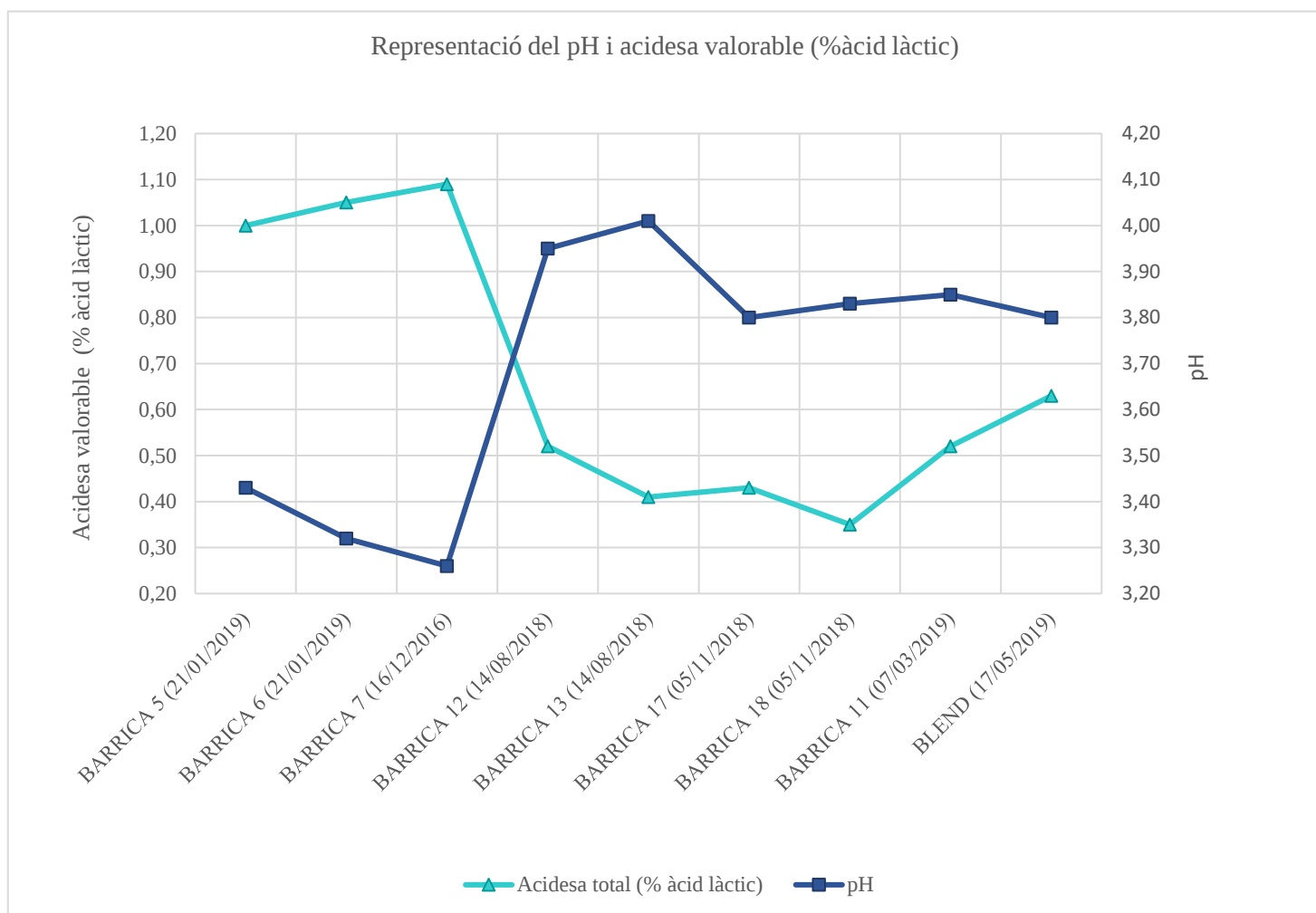


Figura 8. Representació gràfica de l'acidesa valorable (% d'àcid làctic) i pH per les mostres de cervesa amb fermentació espontània i cerveses de blat amb fermentació controlada i maduració en berrica.

4.6.Propostes de millora.

4.6.1. Problemes trobats i proposta de millora.

La idea inicial d'aquest treball era establir una relació entre l'origen (any de fabricació de la barrica, origen, tipus de cultiu vitivinícola, ús de sulfits o cultiu ecològic en origen, etc) i ús de cada barrica (vegades d'utilització en cerveseria, tipus de neteja realitzada, etc.) amb els resultats microbiològics i físico-químics obtinguts. No obstant, per falta total d'informació, es proposa a partir dels resultats obtinguts realitzar un full patró per cada barrica en estudi i adaptable a la totalitat de les barriques de la cerveseria, per millorar el sistema de traçabilitat i poder establir a llarg termini, patrons que permetin tenir una estimació de cada cervesa al final de la maduració.

D'aquesta manera es proposa un model de document amb informació rellevant de la barrica; origen, any de fabricació, any d'arribada a la cerveseria, tipus de fusta, tipus de cultiu originari (si escau). D'aquesta manera es podrà estudiar com afecten certs paràmetres al producte final i si aquests són els desitjats.

Per altra banda, també s'inclou en el model informació sobre cada producció en la que s'ha utilitzat cada barrica, per saber així les vegades que s'ha omplert i poder decidir el moment que prescindir d'elles.

Per últim un anàlisi sensorial per detectar a través de les produccions quins aromes seran més presents en cada barrica, ja que no s'inoculen microorganismes i cada barrica aporta els seus propis cultius.

4.6.2. Metodologia 5S

L'entorn de treball de qualsevol empresa té la capacitat de facilitar la feina o per el contrari fer-la caòtica. Una sensació de desordre, brutícia i falta d'organització generen pèrdues; pèrdues de temps, compres innecessàries, desorganització, falta d'enteniment entre el personal que integra l'empresa, etc.

La metodologia 5S és un mètode de gestió de l'espai de treball que va sorgir al Japó i es tracta d'una tècnica per establir i mantenir una qualitat organitzativa en l'entorn (Jiménez et al., 2015). El nom d'aquesta tècnica prové de cinc paraules japoneses; Seiri (organització), Seiton (ordre), Seiso (neteja), Seiketsu (estandardització) i Shitsuke (hàbit). Aquest sistema ajuda a organitzar un lloc de treball per tal d'augmentar la seva eficiència i la disminució d'activitats que no

aporten un valor afegit així com optimitzar la qualitat i la productivitat a través d'un entorn organitzat. (Singh et al., 2014)

Mantenint aquest objectiu de millora i manteniment d'unes condicions òptimes d'organització, ordre i neteja del lloc de treball, més que per una qüestió estètica, per un motiu funcional, neix la metodologia 5S tenint com a premissa que existeix un paral·lelisme entre el rendiment i les condicions de treball.

Es proposa aplicar aquesta metodologia de la següent manera:

- *Seiri*, organització. Separar innecessaris per eliminar de l'espai de treball allò que és inútil, aprofitar de manera òptima l'espai.

La classificació consisteix en identificar, classificar i separar tots aquells materials necessaris dels innecessaris, deixant a l'abast només els útils per la feina. La finalitat és despendre's dels utensilis que no s'utilitzen i que no hi ha previsió de utilitzar.

- *Seiton*, ordre. Millora de l'organització de l'espai de treball per millorar la productivitat dels treballadors.

L'ordre consisteix en identificar aquells objectes, àrees i zones amb l'objectiu de facilitar el treball dels operaris i disminuir els desplaçaments dels mateixos. Tenint en compte la freqüència d'utilització i ergonomia dels utensilis, recanvis, eines, ingredients... se'ls hi buscarà una ubicació òptima segons la seva freqüència d'utilització.

Finalment dins del *seiton* també té un punt important la identificació de tot allò que pugui comportar un error humà i una pèrdua de temps per part dels operaris que no puguin trobar a primera vista allò que estan buscant.

- *Seiso*, neteja. Eliminar brutícia per millorar el nivell de neteja dels llocs.

- *Seiketsu*, control visual. Establiment de normes i procediments interns prevenint així l'aparició de brutícia i desordre.

- *Shitsuke*, mantenir la disciplina, hàbit. Es basa en mantenir els esforços realitzats per part dels treballadors i gerent de l'empresa amb l'objectiu de mantenir els protocols establerts.

La quarta S del mètode de gestió de qualitat, consta de la visualització i el manteniment de les tres fases anteriors, aquesta normalització és el que permet conservar tots els èxits assolits, si no, fàcilment l'espai de treball tornarà a tenir elements innecessaris, pèrdua d'ordre i hi tornarà a haver punts amb falta d'higiene.

Es pot determinar que les dos últimes S del mètode de gestió de qualitat van íntimament relacionades i es poden implantar a la vegada. La disciplina significa la conversió en hàbit de tots els mètodes establerts, per poder mantenir els beneficis a llarg termini. Totes les fases anteriors es poden aplicar sense dificultat si es manté la disciplina, aquesta última S que arrodoneix tot el mètode; *Shitsuke*.

Es proposa la integració de les accions *Seiri*, *Seiton* i *Seiso* en els hàbits de treball dels operaris, fer que no es tractin d'accions puntuals. Aquestes tres primeres fases anteriorment descrites han d'estar integrades en les tasques diàries, repartint responsabilitats entre els treballadors i gerent (ja que en el cas de la cerveseria artesana d'estudi tots formen part de la cadena de producció).

5. CONCLUSIONS

S'ha pogut observar l'evolució del creixement microbià entre les dos mostres de cervesa amb fermentació espontània. Les mostres que porten 5 mesos en fermentació, presenten major població de bacteris làctics respecte la mostra de l'any 2016. Aquesta última en canvi, presenta més població de llevats no *Saccharomyces* com per exemple *Dekkera/Brettanomyces*. S'observa també una disminució entre les mostres més noves i la més vella de la població de microorganismes crescuts en medi GYC, potencialment bacteris acètics tot i que els resultats de les proves d'identificació no són concloents (prova de la catalasa i tinció de Gram).

Entre les cerveses de blat amb fermentació controlada amb *Saccharomyces* en fermentadors d'acer inoxidable i maduració àcida en barrica no s'observa una diferència significativa excepte en medi de cultiu YPD-cicloheximida 0,01% p/v per llevats no-*Saccharomyces* possiblement a causa de la inoculació d'un vial de *Brettanomyces/Dekkera* l'any 2017.

S'observa una gran diferència en els valors de pH i acidesa valorable entre les mostres de fermentació espontània i les mostres de fermentació controlada amb maduració àcida en barrica.

La prova sensorial triangular de les mostres Sour Ale de Gerds ha mostrat que hi ha una diferència significativa a un risc alfa de 0,1, no obstant, és difícil afirmar que únicament sigui per la diferència de temps d'envelliment de les cerveses. La falta d'estandardització del procés així com el *blend* de cada lot fet a partir de cerveses envellides en diferents barriques, pot conferir diferències organolèptiques tot i tractar-se del mateix estil de cervesa.

La part unilateral de la prova sensorial de comparació per parelles ha evidenciat una diferència a un nivell de significació de 0,05 pels paràmetres d'acidesa i dolçor però no pel paràmetre d'amargor. La part bilateral de la prova sensorial de comparació per parelles només ha donat una diferència perceptible en els paràmetres d'aroma a gerds, cuirt/marroquineria i aroma a florit a un nivell de significació d'un 10%..

6. BIBLIOGRAFIA

- Preparation of cycloheximide stock solution - The Australian Wine Research Institute. (n.d.). Retrieved August 27, 2019, from https://www.awri.com.au/industry_support/winemaking_resources/laboratory_methods/microbiological/preparation-of-cycloheximide-stock-solution/
- Understanding pH and Titratable Acidity in Sour Beer: Tools for Brewers and Enthusiasts Alike | Craft Beer & Brewing. (n.d.). Retrieved August 30, 2019, from <https://beerandbrewing.com/understanding-ph-and-titratable-acidity-in-sour-beer-tools-for-brewers-and/>
- ACENOLOGÍA| Brettanomyces/Dekkera: control y detección en bodegas. (n.d.). Retrieved August 31, 2019, from http://www.acenologia.com/ciencia78_2.htm
- ASBC Lab-in-a-Fishbowl Session 2: Titratable Acidity and pH | Brewers Association. (n.d.). Retrieved August 31, 2019, from <https://www.brewersassociation.org/seminars/asbc-lab-in-a-fishbowl-session-2-titratable-acidity-and-ph/>
- AINIA Instituto Tecnológico Agroalimentario. (2004). *Mejores técnicas disponibles en el sector cervecero*. Retrieved from [http://www.prtr-es.es/data/images/La industria cervecera-74F8271308C1B002.pdf](http://www.prtr-es.es/data/images/La%20industria%20cervecera-74F8271308C1B002.pdf)
- Ameyama M. (1975). *Gluconobacter oxydans* subsp. *sphaericus*, new subspecies isolated from grapes. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 25: 365-370.
- Anzaldúa-Morales, A. (1994). *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica*.
- Arana, I., & Orruño, M. (2006). *Tema 4. Detección y cuantificación de microorganismos*. Retrieved from https://ocw.ehu.es/pluginfile.php/7095/mod_resource/content/1/Temario/Tema_4_Enumeracion.pdf
- Asociación Española de Normalización y Certificación (1986- ...). (2010). *Análisis sensorial*. AENOR.
- Barrachina, A. (2019). Cerveses en català. Retrieved from <http://cervesaencatala.blogspot.com/>
- Boulton, C., & Quain, D. (2007). Brewing Yeast and Fermentation. In *Brewing Yeast and Fermentation*. <https://doi.org/10.1002/9780470999417>
- Cantwell, Dick & Bouckaert, P. (2016). *WOOD & BEER : A Brewer's guide* (F. Allen, Ed.). Kristi Switzer.
- Coelho, E., Magalhães, J., Pereira, F. B., Macieira, F., Domingues, L., & Oliveira, J. M. (2019). Volatile fingerprinting differentiates diverse-aged craft beers. *LWT*, 108, 129–136. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.03.044>
- De Ley J., Gosselé F., Swings J. (1984). Genus I *Acetobacter*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 1, Williams & Wilkins, Maryland, U.S.A., pp. 268-274.

- D'Hautcourt, O., & Smart, K. A. (1999). Measurement of Brewing Yeast Flocculation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 57(4), 123–128. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-57-0123>
- Fithian, W., & Josse, J. (2017). Multiple correspondence analysis and the multilogit bilinear model. *Journal of Multivariate Analysis*, 157, 87–102. <https://doi.org/10.1016/J.JMVA.2017.02.009>
- García Barceló, J. (1990). *Técnicas analíticas para vinos*. Retrieved from <http://shop.gabsystem.com/b2c/producto/1000000/1/tecnicas-analiticas-para-vinos>
- Gosselé F., Swings J., Kersters K., Pauwels P., De Ley J. (1983). Numerical analysis of phenotypic and protein gel electrophoregrams of a wide variety of *Acetobacter* strains. Proposal for the Improvement of the Taxonomy of the Genus *Acetobacter* Beijerinck 1898, 215. *System. Appl. Microbiol.*, 4: 338-368.
- Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T., Williams S.T. (1994). Genus *Acetobacter* and *Gluconobacter*. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th edn., Williams & Wilkens, Maryland, U.S.A., pp. 71-84.
- Jiménez, M., Romero, L., Domínguez, M., & Espinosa, M. del M. (2015). 5S methodology implementation in the laboratories of an industrial engineering university school. *Safety Science*, 78, 163–172. <https://doi.org/10.1016/J.SSCI.2015.04.022>
- Karabin, M., Hudcova, T., Jelinek, L., & Dostalek, P. (2015). Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. *Biotechnology Advances*, 33(6), 1063–1090. <https://doi.org/10.1016/J.BIOTECHADV.2015.02.009>
- King, B. M., & Duineveld, C. A. . (1999). Changes in bitterness as beer ages naturally. *Food Quality and Preference*, 10(4–5), 315–324. [https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(98\)00040-8](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(98)00040-8)
- Matoulková, D., Kosař, K., & Sigler, K. (2012). Rapid, Simple, and Specific Cultivation-Based Method for Detection of *Pectinatus* spp. in Brewery Samples. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 70(1), 29–34. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2011-1214-01>
- Mohan Sharma, K., & Lata, S. (2018). Effectuation of Lean Tool “5S” on Materials and Work Space Efficiency in a Copper Wire Drawing Micro-Scale Industry in India. *Materials Today: Proceedings*, 5(2), 4678–4683. <https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2017.12.039>
- Narendranath, N. V, Thomas, K. C., & Ingledew, W. M. (2001). Effects of acetic acid and lactic acid on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* in a minimal medium. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 26(3), 171–177. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.7000090>
- Panteloglou, A. G., Smart, K. A., & Cook, D. J. (2012). Malt-induced premature yeast flocculation: current perspectives. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 39(6), 813–822. <https://doi.org/10.1007/s10295-012-1086-0>
- Portugal, F. R., Silva, S., Taillandier, S., & Strehaiano, P. (2003). Inmovilización de levaduras. Usos enológicos actuales. *Vinidea.Net*, 8. Retrieved from <https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&q=vinidea.net>
- Rodas, A. M., Ferrer, S., & Pardo, I. (2003). 16S-ARDRA, a Tool for Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Grape Must and Wine. *Systematic and Applied Microbiology*, 26(3), 412–422. <https://doi.org/10.1078/072320203322497446>

- Schwalbe, R., Steele-Moore, L., & Goodwin, A. C. (2007). *Antimicrobial susceptibility testing protocols*.
- Simpson, W. J., & Smith, A. R. W. (1992). Factors affecting antibacterial activity of hop compounds and their derivatives. *Journal of Applied Bacteriology*, 72(4), 327–334. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1992.tb01843.x>
- Spitaels, F., Wieme, A. D., Janssens, M., Aerts, M., Daniel, H.-M., Van Landschoot, A., Vandamme, P. (2014). The Microbial Diversity of Traditional Spontaneously Fermented Lambic Beer. *PLoS ONE*, 9(4), e95384. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095384>
- Spitaels, F., Wieme, A. D., Janssens, M., Aerts, M., Van Landschoot, A., De Vuyst, L., & Vandamme, P. (2015). The microbial diversity of an industrially produced lambic beer shares members of a traditionally produced one and reveals a core microbiota for lambic beer fermentation. *Food Microbiology*, 49, 23–32. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2015.01.008>
- Taidi, B. (n.d.). *The Importance of Free Amino Nitrogen in Wort and Beer*. Retrieved from http://www.academia.edu/27748588/The_Importance_of_Free_Amino_Nitrogen_in_Wort_and_Beer
- Tonsmeire, M. (2014). *American sour beers : innovative techniques for mixed fermentations*.
- Van Oevelen, D., Spaepen, M., Timmermans, P., & Verachtert, H. (1977). MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF SPONTANEOUS WORT FERMENTATION IN THE PRODUCTION OF LAMBIC AND GUEUZE. *Journal of the Institute of Brewing*, 83(6), 356–360. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1977.tb03825.x>
- Vanderhaegen, B., Delvaux, F., Daenen, L., Verachtert, H., & Delvaux, F. R. (2007). Aging characteristics of different beer types. *Food Chemistry*, 103(2), 404–412. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2006.07.062>
- Verstrepen, K. J., Derdelinckx, G., Verachtert, H., & Delvaux, F. R. (2003). Yeast flocculation: what brewers should know. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61(3), 197–205. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1200-8>
- W.J., D. T., & I.S., P. (2002). *The occurrence, control and esoteric effect of acetic acid bacteria in winemaking*. Retrieved from <https://scholar.sun.ac.za/handle/10019.1/11879>
- White, C. (n.d.). Flocculation Basics | White Labs. Retrieved March 8, 2019, from <https://www.whitelabs.com/beer/flocculation-basics>
- Yakobson, C. M. (n.d.). flocculation | Craft Beer & Brewing. Retrieved March 8, 2019, from <https://beerandbrewing.com/dictionary/9yHbaDo6RA/>

ANNEXOS

ANNEX I.

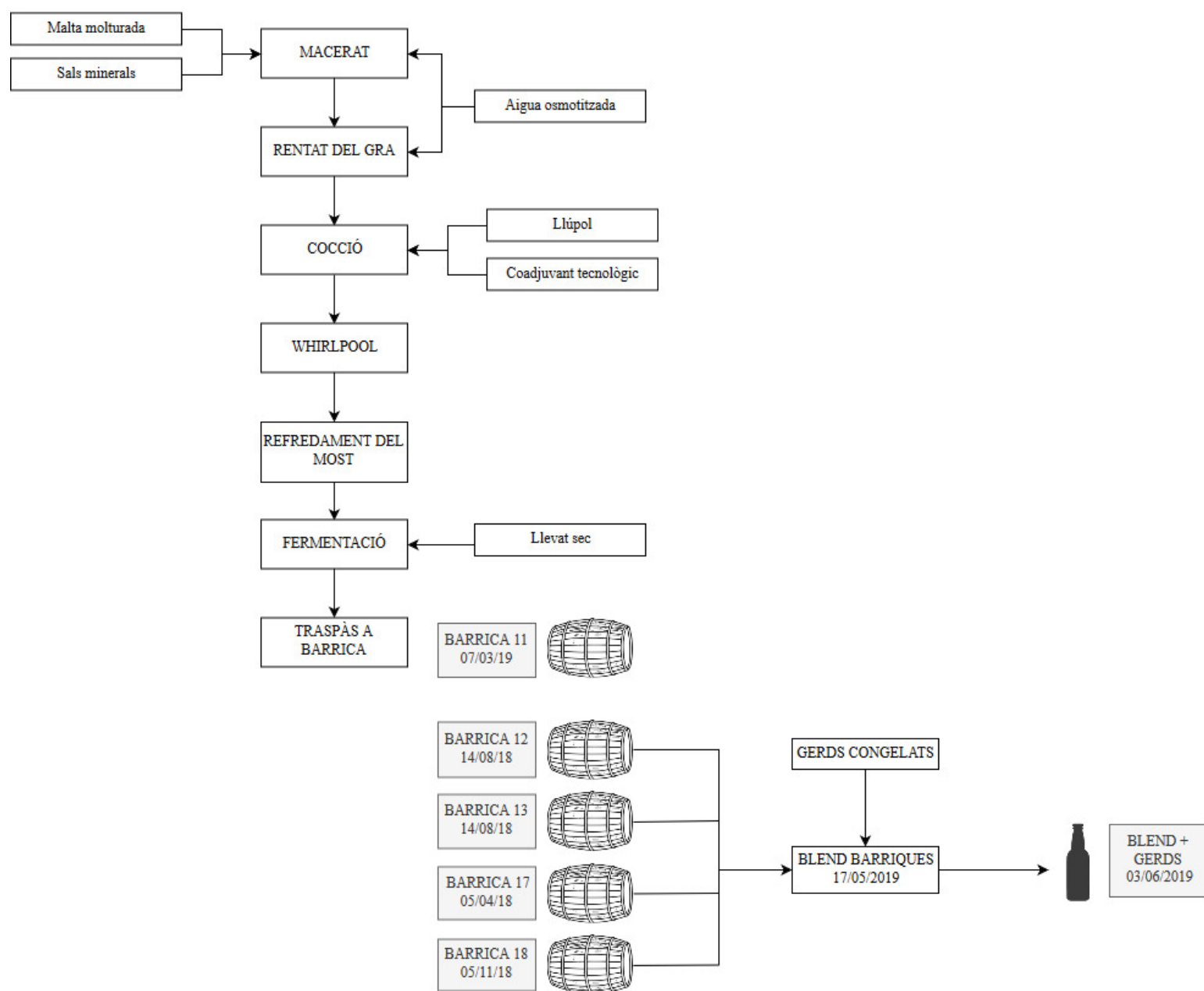


Figura 9. Diagrama de flux de les mostres de cervesa madurant en barriques i el blend.

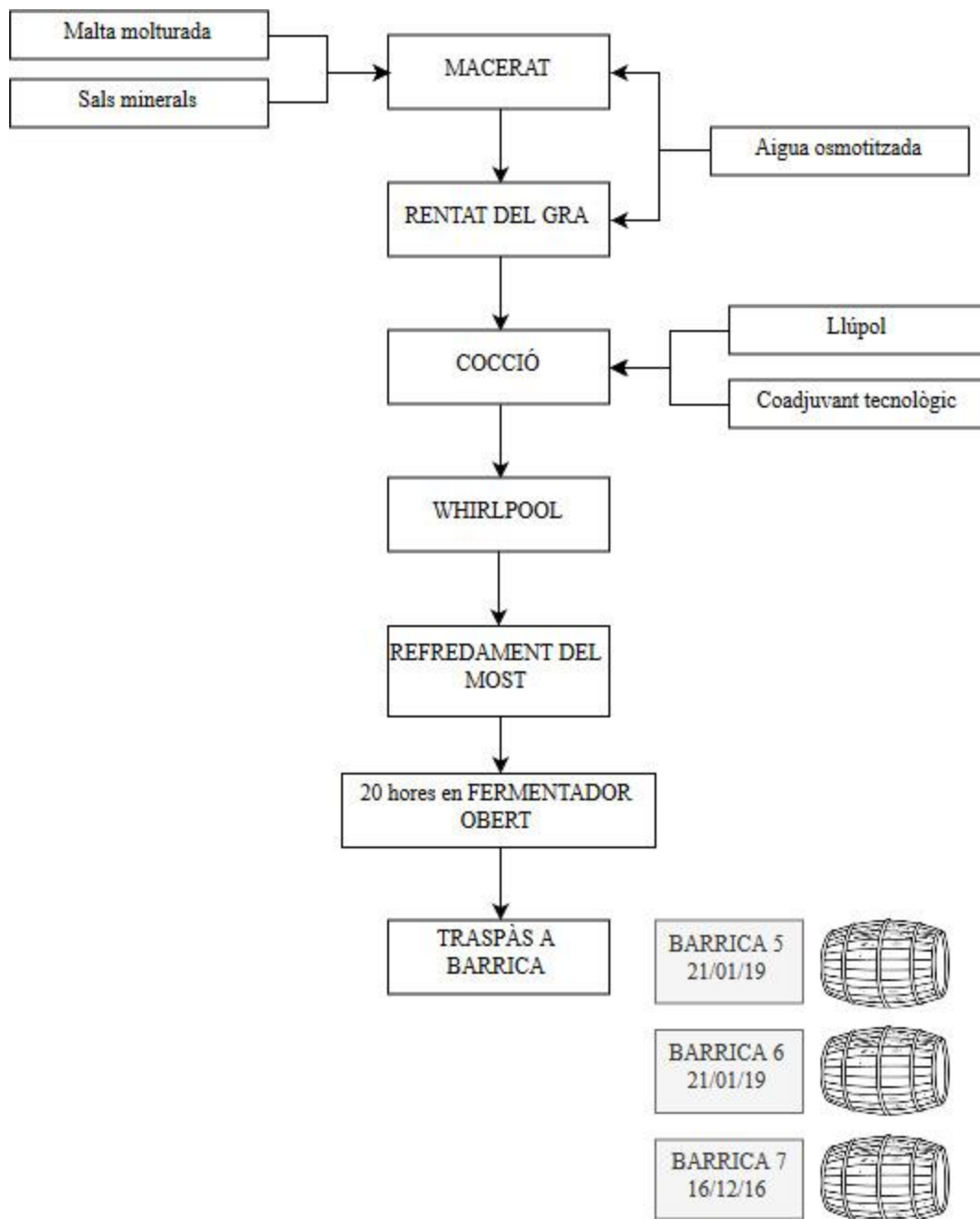


Figura 10. Diagrama de flux per les mostres de cerveses amb fermentació espontània.

ANNEX II.

FITXES DE TAST

Fitxa 1 (Tast triangle)

A continuació es presenten 3 mostres, **dos d'elles iguals entre si**. Provi-les i **marqui amb una X la mostra diferent**.

Si estima necessari pot deixar comentaris.

Comentaris:

MOLTES GRÀCIES

Fitxa 2 (Tast aparellat simple)

Provi les mostres d'esquerra a dreta i **ordeni-les segons la intensitat de l'atribut esmentat**. Si estima necessari pot deixar comentaris.

Mostres : ____

Més aroma a GERDS			Menys aroma a GERDS
--------------------------	--	--	----------------------------

Més aroma a CUIR/ MARROQUINERIA			Menys aroma a CUIR/ MARROQUINERIA
--	--	--	--

Més aroma a PAPER / CARTRÓ			Menys aroma a PAPER / CARTRÓ
---------------------------------------	--	--	-------------------------------------

Més aroma a ÀCID ACÈTIC (vinagre)			Menys aroma a ÀCID ACÈTIC (vinagre)
--	--	--	--

Més aroma a FLORIT			Menys aroma a FLORIT
---------------------------	--	--	-----------------------------

(gust)

Més ÀCIDA			Menys ÀCIDA
------------------	--	--	--------------------

Més DOLÇA			Menys DOLÇA
------------------	--	--	--------------------

Més AMARGA			Menys AMARGA
-------------------	--	--	---------------------

Comentaris:

MOLTES GRÀCIES

ANNEX III

Taula 10. Resultats microbiològics de les mostres de cerveses en barriques.

	YEPD cicloheximida (UFC/mL)	YEPD natamicina (UFC/mL)	YEPD cloramfenicol (UFC/mL)	GYC (UFC/mL)	Nº de colònies aïllades	Catalasa	Tinció gram	MRSME (UFC/mL)	Nº de colònies aïllades	Catalasa	Tinció gram	MRS (cervesa) (UFC/mL)	Nº de colònies aïllades	Catalasa	Tinció gram
	Llevats no <i>Sacharomyces</i>	Bacteris totals	Llevats totals	Bacteris acètics				Bacteris làctics				Bacteris làctics			
BARRICA 5 Espontània (21/01/2019)	1,30E+02	1,32E+04	0	3,70E+04	1	+	-	9,30E+03	1	-	+	9,10E+03	1	-	+
					2	-	-		2	-	+		2	-	+
BARRICA 6 Espontània (21/01/2019)	0	1,50E+03	0	0				7,12E+03	1	-	+	1,10E+04	1	-	+
BARRICA 7 Espontània (16/12/2016)	4,00E+04	5,00E+03	0	1,00E+02	1	-	+	2,83E+01	1	-	+	1,00E+02	1	-	+
BARRICA 12 Cervesa de blat (14/08/2018)	7,60E+05	1,45E+06	1,60E+06	0				1,24E+05	1	-	+	2,09E+05	1	-	+
BARRICA 13 Cervesa de blat (14/08/2018)	8,60E+05	5,30E+05	1,30E+06	0				1,79E+05	1	-	+	3,31E+05	1	-	+
BARRICA 17 Cervesa de blat (05/11/2018)	3,40E+05	1,60E+05	2,00E+05	4,00E+01	1	-	-	1,03E+05	1	-	+	1,46E+05	1	-	+
					2	+	-								
					3	+	-								
					4	-	+								
BARRICA 18 Cervesa de blat (05/11/2018)	4,90E+05	1,89E+05	6,00E+05	6,40E+04	1	-	+	2,17E+05	1	-	+	2,31E+05	1	-	+
BARRICA 11 Cervesa de blat (07/03/2019)	1,53E+07	3,14E+06	7,00E+05	2,90E+04	1	+	+	3,14E+05	1	-	+	3,35E+05	1	-	+
									2	-	+				
BLEND Barriques 12,13,17,18 gers (17/05/2019)	6,20E+05	3,49E+05	9,00E+05	1,00E+03	1	+	-	2,43E+05	1	-	+	2,79E+05	1	-	+

Taula 11. Taula dels resultats físico-químics de les mostres de cervesa en barrica.

MOSTRA	ACIDESA VALORABLE (valoració) (% àcid làctic)	ACIDESA VALORABLE (potenciomètrica) (% àcid làctic)	pH	Densitat (g/cm ³)
BARRICA 5 Espontània (21/01/2019)	1,04±2,81E-02	1,00±8,62E-02	3,43±0	1026,5±1,98E-03
BARRICA 6 Espontània (21/01/2019)	1,04±7,60E-02	1,05±5,00E-02	3,32±0	1027,0±3,00E-04
BARRICA 7 Espontània (16/12/2016)	1,10±5,01E-02	1,09±5,73E-02	3,26±0	1002,2±2,00E-04
BARRICA 12 Cervesa de blat (14/08/2018)	0,52±2,09 E-02	0,54±5,80 E-02	3,95±0	1003,0±1,00E-04
BARRICA 13 Cervesa de blat (14/08/2018)	0,51±2,87 E-02	0,52±5,76 E-02	4,01±1,2E-3	999,3±1,00E-04
BARRICA 17 Cervesa de blat (05/11/2018)	0,43±5,54 E-02	0,45 ± 5,76 E-02	3,80±0	1002,8±0
BARRICA 18 Cervesa de blat (05/11/2018)	0,35±3,73 E-02	0,37 ± 5,75 E-02	3,83±0	1003,1±2,00E-04
BARRICA 11 Cervesa de blat (07/03/2019)	0,52±7,60 E-02	0,56±5,80 E-02	3,85±0	1003,4±6,00E-04
BLEND Barriques 12,13,17,18 +gerds (17/05/2019)	0,63±8,70 E-02	0,64 ± 5,00 E-02	3,80± 2,1E-03	1001,6±1,00E-04

ANNEX IV . Fitxa model per la caracterització de barriques.

Nº barrica:	
Origen/Proveïdor:	
Tipus de fusta:	
Tipus de cultiu:	
Any fabricació:	
Any d'arribada a la cerveseria:	

Data d'emplenament:	
Litres:	
Estil de cervesa:	
Data de buidatge:	
Tipus de neteja:	
Característiques sensorials:	Acidesa total: Nul·la / Baixa / Mitja / Alta / Molt alta Acidesa làctica: Nul·la / Baixa / Mitja / Alta / Molt alta Acidesa acètica: Nul·la / Baixa / Mitja / Alta / Molt alta <i>Brettanomyces</i>: Nul·la / Baixa / Mitja / Alta / Molt alta
Notes:	