



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

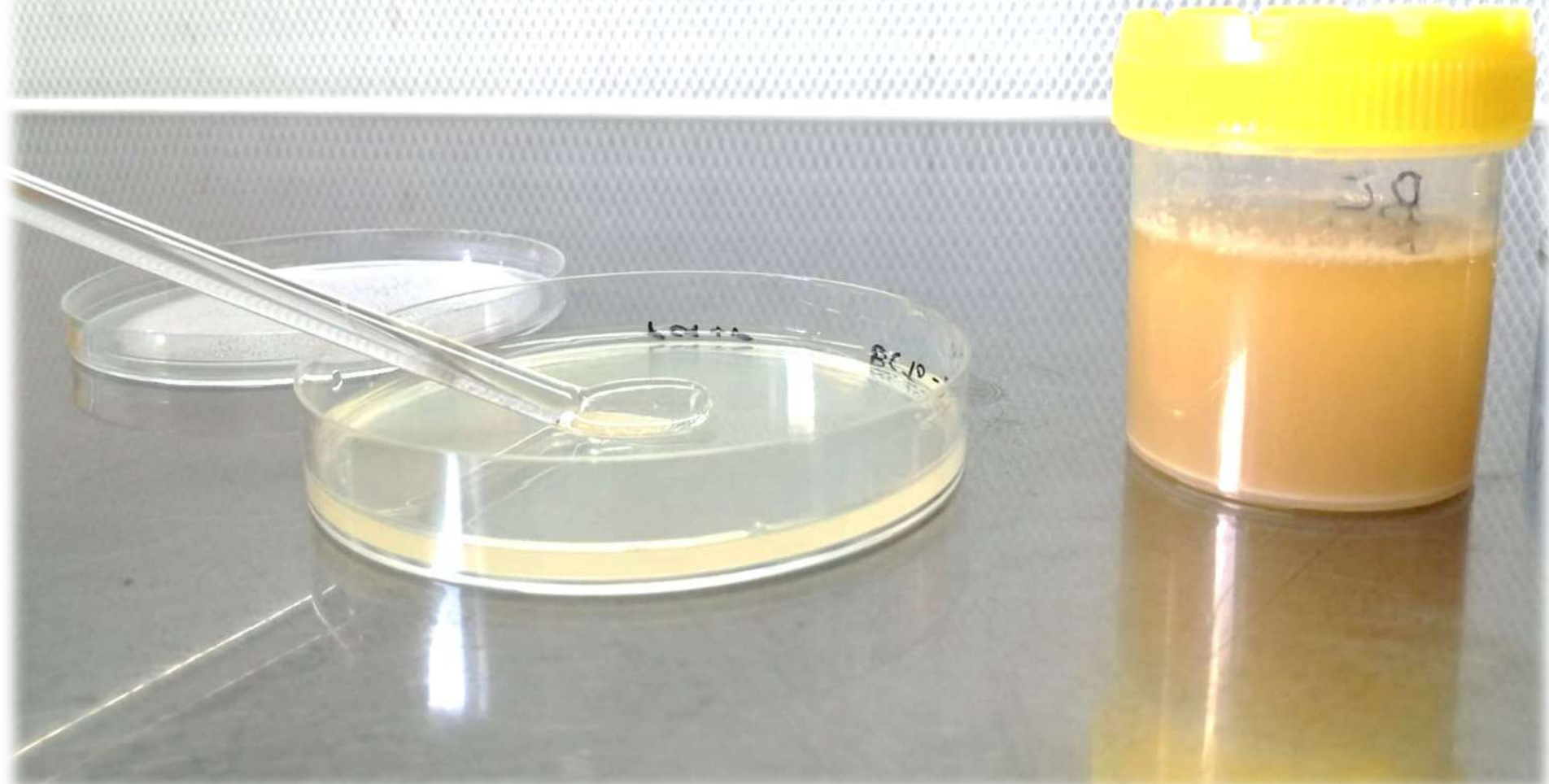
DAGRI

DIPARTIMENTO DI SCIENZE
E TECNOLOGIE AGRARIE
ALIMENTARI, AMBIENTALI E FORESTALI

**FOOD
MICRO
TEAM**



Aspetti microbiologici nella produzione della birra artigianale



Relatore:

Damiano Barbato

DAGRI

Università degli studi di Firenze

18 Novembre 2021



IL PROCESSO ARTIGIANALE: IDENTITA' E MINACCE

- La birra artigianale si contraddistingue da quella industriale per il processo produttivo, che ne determina le peculiarità organolettiche e ne rappresenta al tempo stesso il punto di forza e il punto di debolezza.
- **NON FILTRATA NON PASTORIZZATA.** Operazioni che conferiscono sicurezza e stabilità chimico-fisica e **MICROBIOLOGICA** al prodotto finito.
- Doppio effetto sulla birra, perché da una parte ne caratterizza l'identità, dall'altra rende il prodotto più vulnerabile a processi di alterazione microbica e chimico-fisica.





FOOD
MICRO
TEAM

BIRRA: GLI ASPETTI MICROBIOLOGICI SONO CENTRALI A PARTIRE DALLA DEFINIZIONE LEGALE DEL PRODOTTO.

D.P.R. N. 72 del 30/06/1998 - G.U. n. 185 del 10/08/1998

«Art. 1. - La denominazione "birra" è riservata al prodotto ottenuto dalla fermentazione alcolica con ceppi di *Saccharomyces carlsbergensis* o di *Saccharomyces cerevisiae* di un mosto preparato con malto, anche torrefatto, di orzo o di frumento o di loro miscele ed acqua, amaricato con luppolo o suoi derivati o con entrambi»



18

Novembre
2021

Microbiota della maltazione e del processo di produzione della birra



FOOD
MICRO
TEAM



18

Novembre
2021

BACTERIA

Bacillus Enterobacteriaceae
Flavobacterium Actinomycetales
Alcaligenes Lactobacillus
Pseudomonas Acetobacteriaceae

Enterobacteriaceae

Obesumbacterium
Rhanella aquatilis

Lactobacillus
Pediococcus

Selenomonas Lactobacillus
Micrococcus Pediococcus
Zymomonas Pectinatus
Acetobacter Megasphaera
Gluconobacter Zymophilus

FUNGI

Candida Penicillium
Debaryomyces Aspergillus
Hansenula Alternaria
Hanseniaspora Fusarium
Rhodotorula Epicoccum
Sporobolomyces Cladosporium
Trichosporon Botrytis
Aureobasidium
Absidia

Saccharomyces

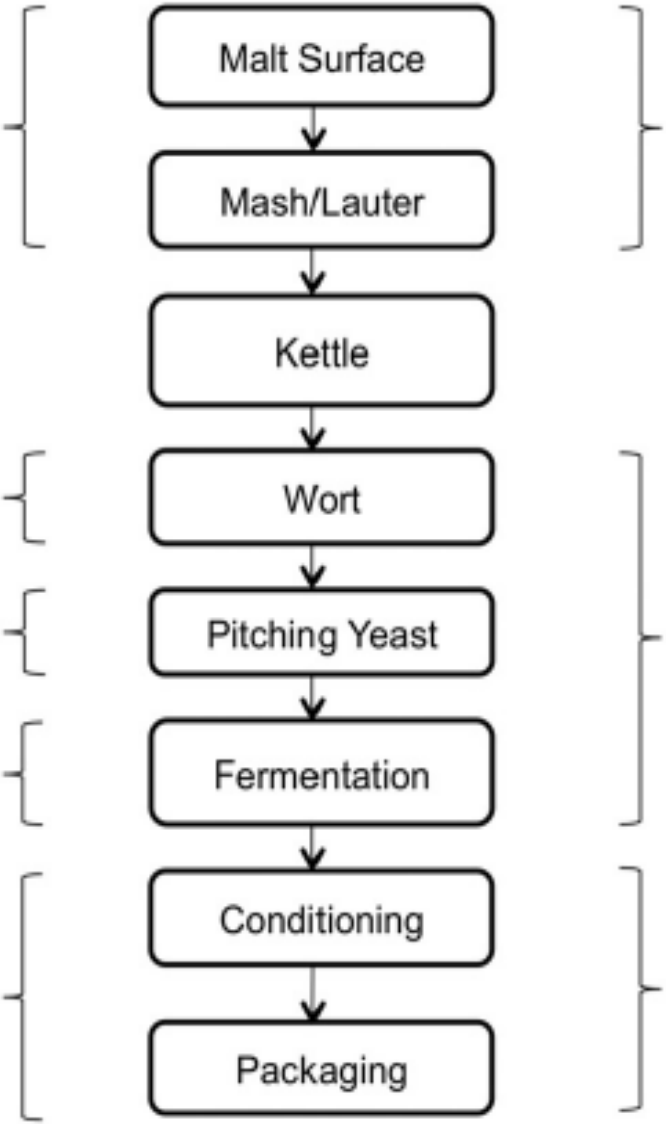
Saccharomyces
Hansenula
Pichia
Hanseniaspora
Torulopsis
Schizosaccharomyces
Brettanomyces
Candida

Micotossine
(stabili,
termoresistenti)

ALE:
S. cerevisiae



LAGER:
S. pastorianus
(sin. *S. carlsbergensis*)





I lieviti Sacch.



18

Novembre
2021

Bottom and Top Fermenting Yeast Strains

- **Bottom fermenting yeast**

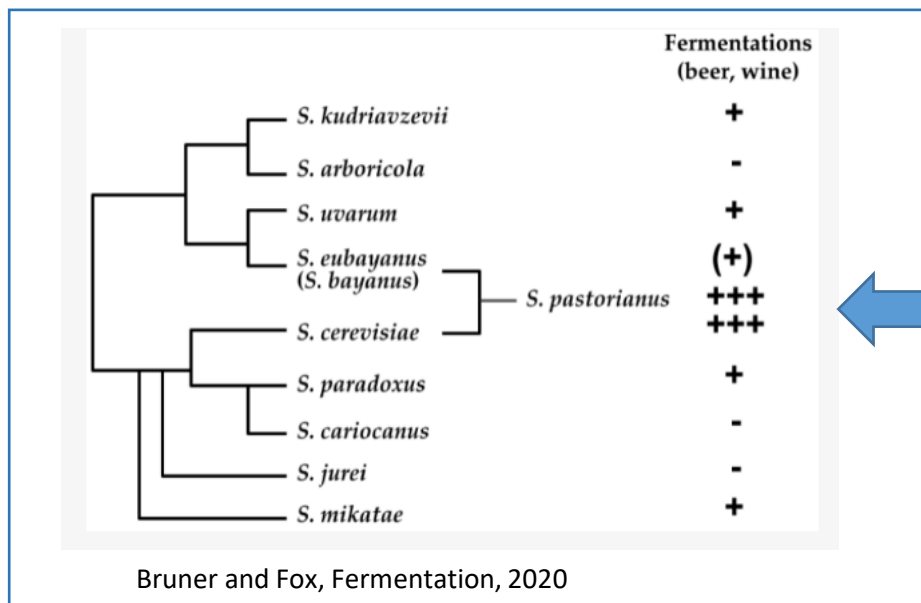
- Fermentation at lower temperatures (4-10°C)
- Forms aggregates at the end of fermentation (flocculation)
- Ability of degrading raffinose completely

LAGER:
Saccharomyces pastorianus
(sin. *S. carlsbergensis*)

- **Top fermenting yeast**

- Fermentation at higher temperatures (15-20°C)
- No ability to ferment raffinose (galactose, glucose, fructose)
- Produces less aroma components, especially esters (in comparison to bottom fermenting yeasts at same low temperatures)

ALE:
Saccharomyces cerevisiae



Ibridazione interspecifica tra *S. cerevisiae* e *S. eubayanus*, una specie strettamente correlata che non è tipicamente associata alle fermentazioni industriali.



Wild Yeasts.



FOOD
MICRO
TEAM

Lieviti non-*Saccharomyces*, ovvero tutti quei lieviti che non appartengono al genere *Saccharomyces*. Fra di loro moltissimi possono essere considerati “virtuosi, tecnologici”, altri alteranti.

- Dekkera/Brettanomyces* spp.
- Hanseniaspora* spp.
- Pichia* spp.
- Candida* spp.
- Torulaspota* spp.
- Ceppi diastatici di *Saccharomyces cerevisiae*.





I batteri: potenziali contaminanti e alteranti



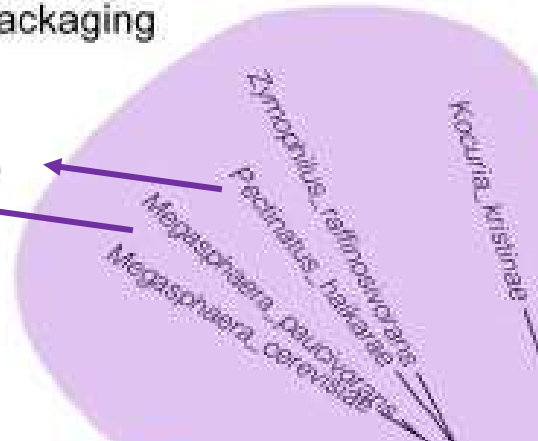
18
Novembre
2021

Gram – anaerobi: molto frequenti in birre alterate

Dimetilsolfuro,
ac. propionico, ac. acetico
mercaptani, H₂S



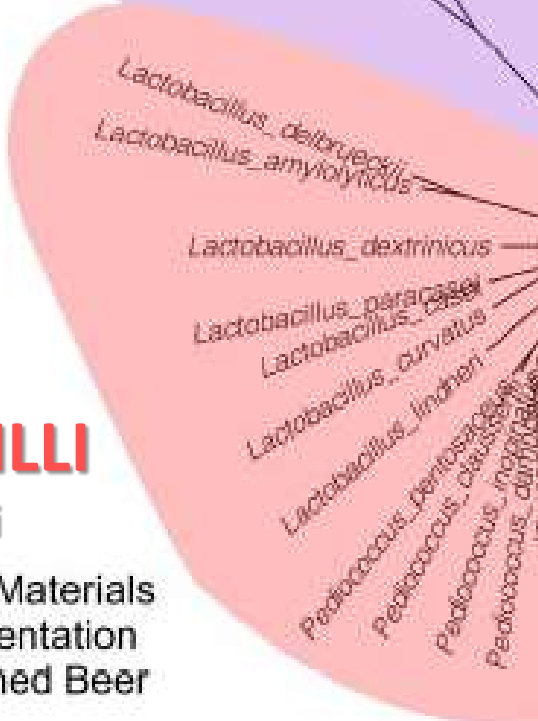
Packaging



LATTOBACILLI

Gram + anaerobi

Raw Materials
Fermentation
Finished Beer



Wort **ENTEROBATTERI** – anaerobi facoltativi



Dimetilsolfuro,
2,3-butanediolo, ac. organici
Vinilfenolo, diacetile, acido lattico



Draught Dispense



BATTERI ACETICI

Gram – aerobi

- *Gluconobacter* spp.: Filamentosità
- *Acetobacter* spp.: Inacidimento

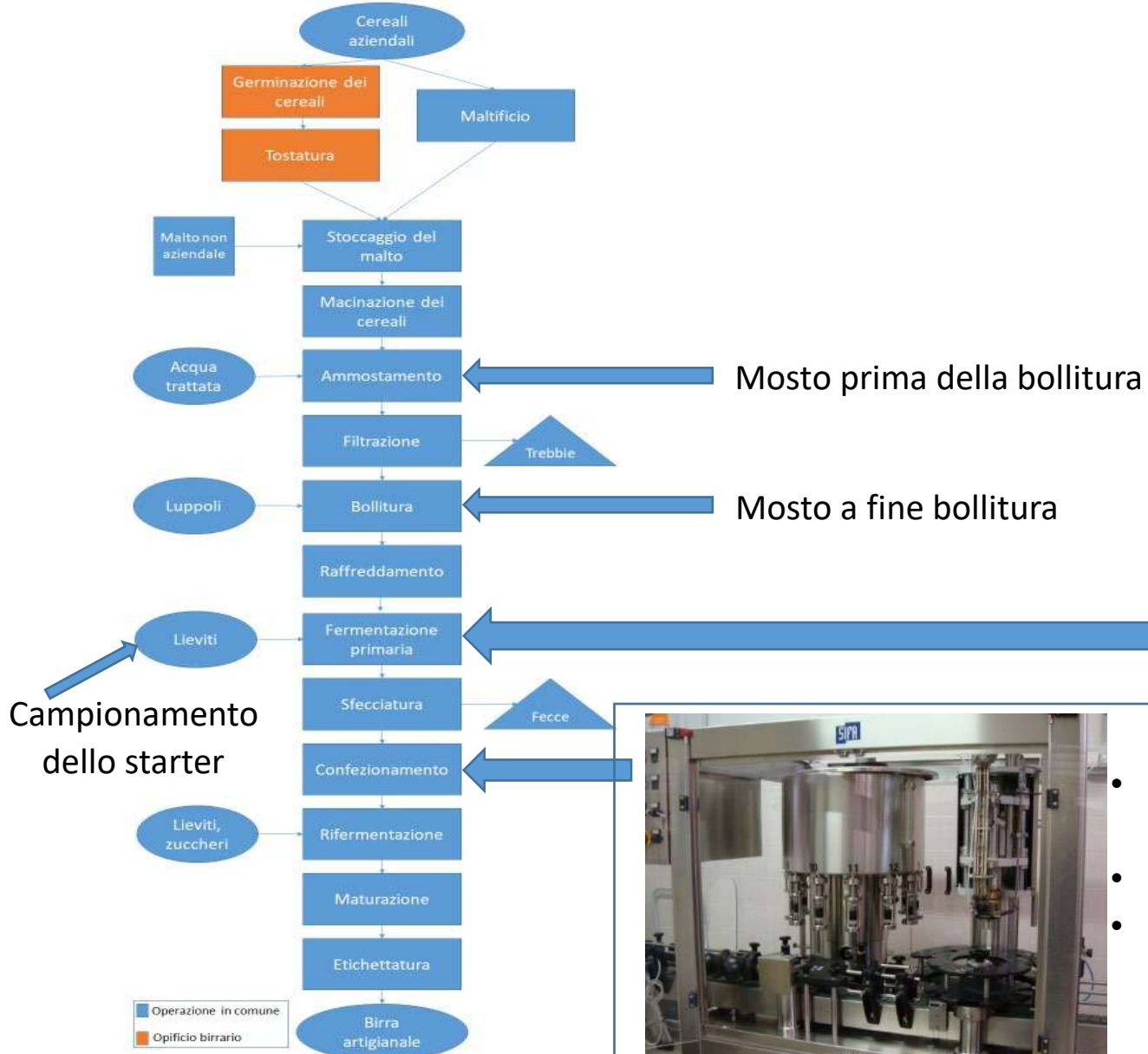
Qualibirre: il processo produttivo e i punti di indagine (tre cote diverse nei 4 birrifici oggetto di studio).



FOOD
MICRO
TEAM



18
Novembre
2021





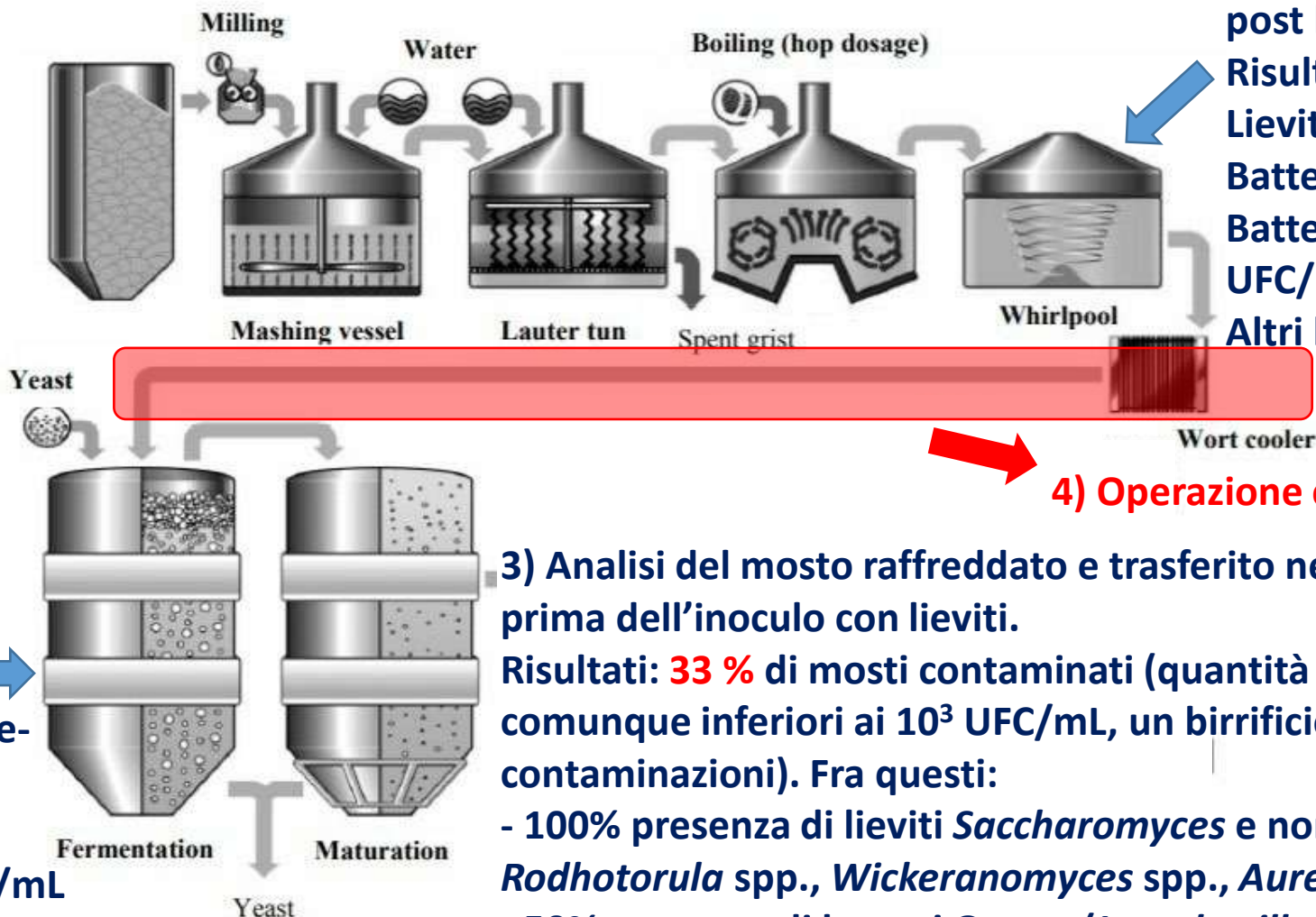
ASPETTI MICROBIOLOGICI nel processo produttivo: Bollitura, raffreddamento e trasferimento del mosto al serbatoio di fermentazione.



FOOD
MICRO
TEAM



18
Novembre
2021



1) Campioni di mosto post bollitura.

Risultati **Tutti i campioni:**

Lieviti: < 10 UFC/mL

Batteri lattici: < 2 UFC/mL

Batteri acetici: < 10

UFC/mL

Altri batteri: < 10 UFC/mL

4) **Operazione critica del processo.**

3) Analisi del mosto raffreddato e trasferito nel fermentatore prima dell'inoculo con lieviti.

Risultati: **33 %** di mosti contaminati (quantità variabili e comunque inferiori ai 10^3 UFC/mL, un birrifico non ha evidenziato contaminazioni). Fra questi:

- 100% presenza di lieviti *Saccharomyces* e non *Sacch.* (*Pichia* spp., *Rodhotorula* spp., *Wickeranomyces* spp., *Aureobasidium* spp.)

- 50% presenza di batteri Gram+ (*Lactobacillus* spp.) sia Gram- (Enterobacteriacee, *Pectinatus* spp., *Acetobacter* spp.).

2) Tamponi fermentatore pre-riempimento.

Tutti i campioni:

Lieviti: < 10 UFC/mL

CBT: < 10 UFC/mL

Muffe: < 10 UFC/mL



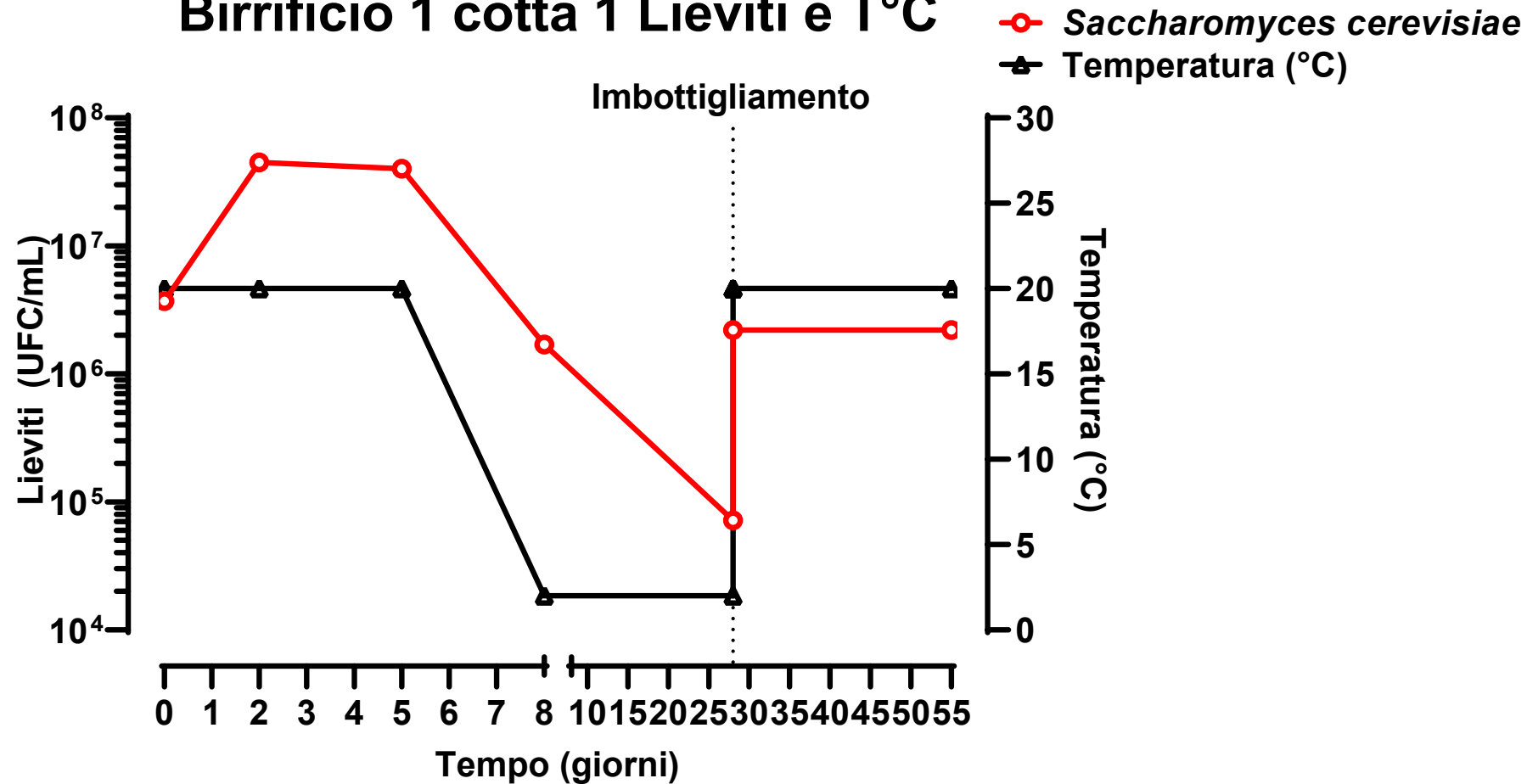
ASPETTI MICROBIOLOGICI nel processo produttivo: Monitoraggio di processo (esempio birrificio 1)



FOOD
MICRO
TEAM



Birrificio 1 cotta 1 Lieviti e T°C



18

Novembre
2021



ASPETTI MICROBIOLOGICI nel processo produttivo: Monitoraggio di processo (esempio birrificio 1)



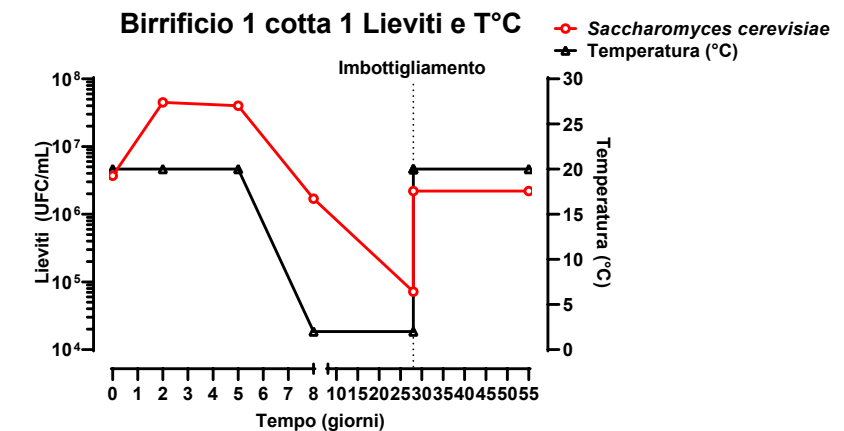
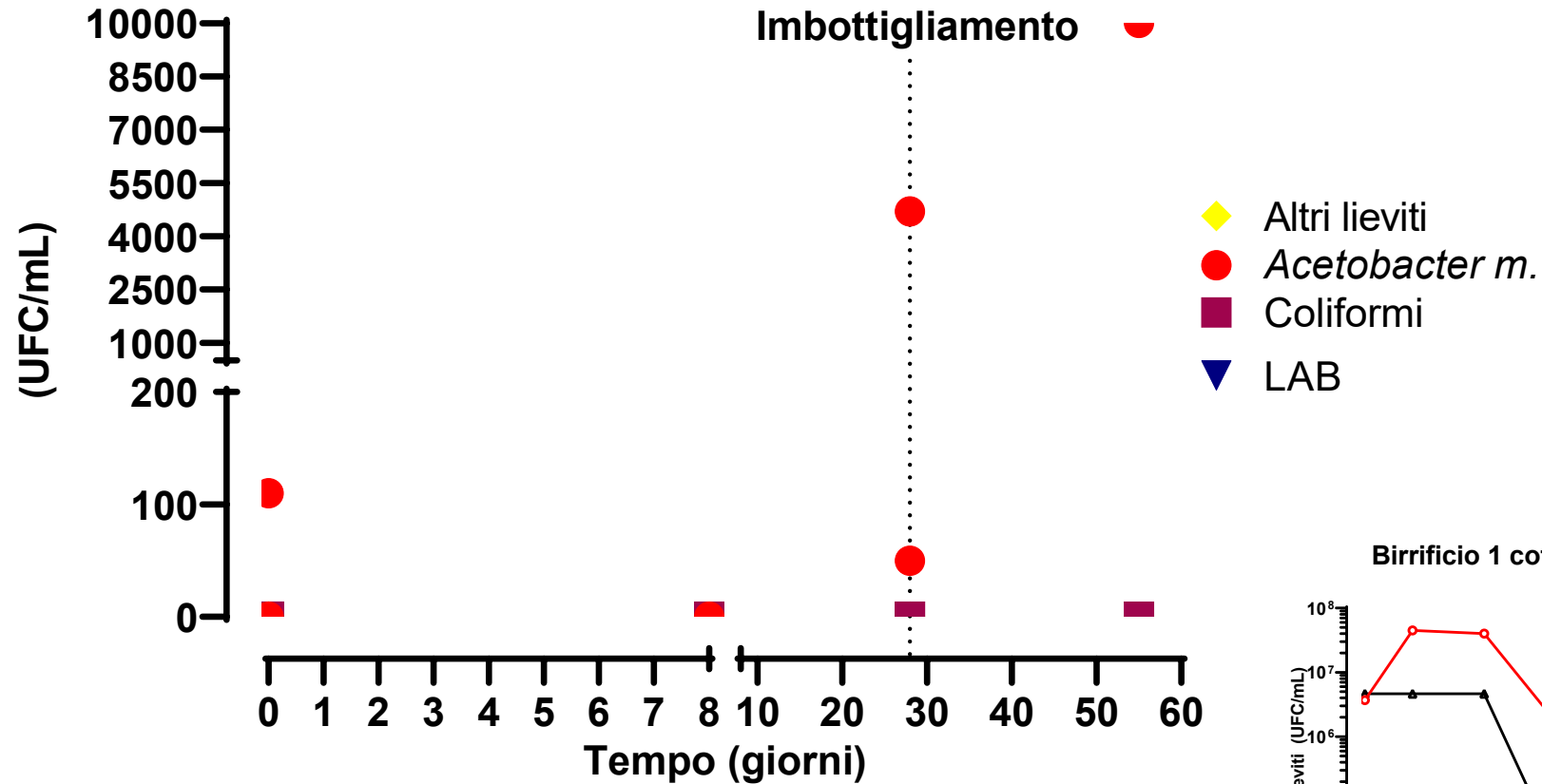
FOOD
MICRO
TEAM



18

Novembre
2021

Birrificio 1 Contaminanti





ASPETTI MICROBIOLOGICI nel processo produttivo:

Risultati in fermentazione:



FOOD
MICRO
TEAM



18

Novembre
2021

- L'inoculo di *Saccharomyces cerevisiae* è stato compreso fra i **50 e 100 g/hL**.
- La concentrazione di inoculo dei lieviti rilevata nel mosto è stata compresa fra i **4 e i 20 milioni di UFC/mL**.
- La concentrazione massima in fermentazione rilevata di *Saccharomyces cerevisiae* è stata di **100 milioni di UFC/mL** per un birrificio (ripetuta per tutte e tre le cotte). Gli altri birrifici si sono attestati come crescita massima fra i **35 e i 50 milioni di UFC/mL** con valori simili anche fra cotte diverse.
- Nell'**83%** delle fermentazioni non sono state rilevate popolazioni diverse da *Saccharomyces cerevisiae*.
- Le popolazioni rilevate nell'altro **17%** provengono probabilmente dalla contaminazione avvenuta nel trasferimento descritta precedentemente (appartengono ai medesimi generi e specie).
- La concentrazione di questi microrganismi non ha comunque mai superato **10^4 UFC/mL** e non hanno compromesso le produzioni da un punto di vista chimico-fisico.





ASPETTI MICROBIOLOGICI nel processo produttivo: Le fecce, un birrificio artigianale può pensare al «re-pitching»?



FOOD
MICRO
TEAM

- Condizioni: bassa temperatura (2-8 °C), scarico dei lieviti da serbatoio tronco conico durante la maturazione della birra.
- I campioni analizzati sono stati prelevati a 14 giorni dalla cotta.

Risultati **Tutti i campioni:**

Lieviti: 1×10^8 - 1×10^9 UFC/mL

Batteri lattici: < 2 UFC/mL

Batteri acetici: < 10 UFC/mL

Altri batteri: < 10 UFC/mL

Ipotizzabile re-pitching 1%





ASPETTI MICROBIOLOGICI nel processo produttivo: PRIMING

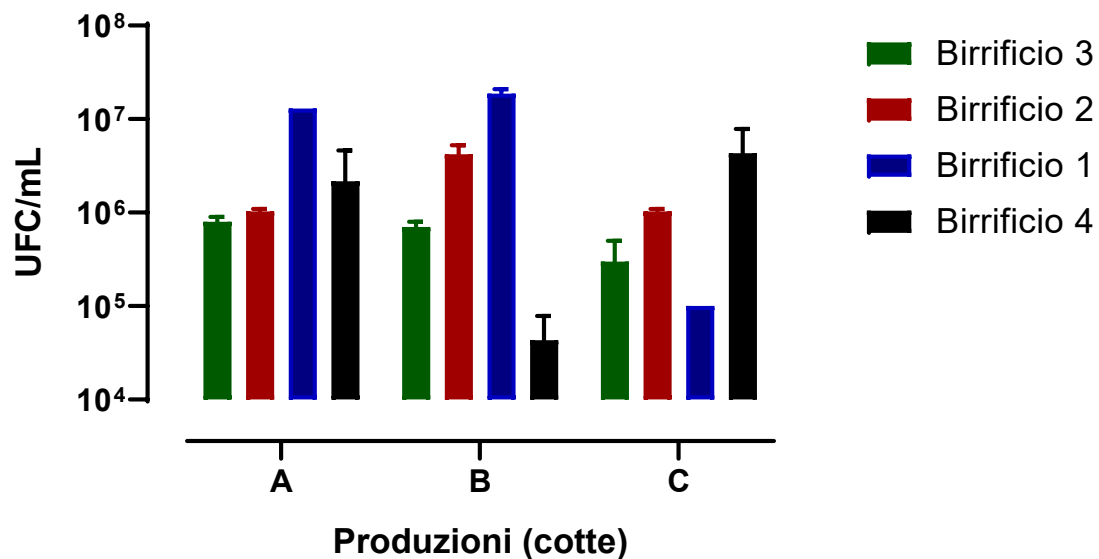


FOOD
MICRO
TEAM

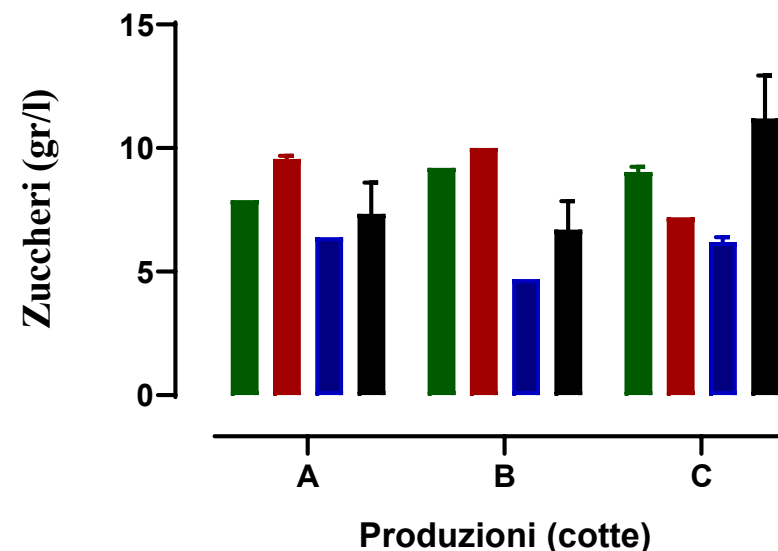
Controllo omogeneizzazione della massa

- Analisi chimiche e microbiologiche nelle tre produzioni monitorate
- 3 campioni di birra imbottigliata (inizio lotto, metà lotto, fine lotto).

Concentrazione dei lieviti all'imbottigliamento



Concentrazione degli zuccheri totali all'imbottigliamento





ASPETTI MICROBIOLOGICI nel processo produttivo: Indagini ambientali effettuate nei locali di imbottigliamento



Oltre **70** campionamenti di superfici ambientali nell'area imbottigliamento mediante l'impiego di tamponi.

Le popolazioni microbiche ritrovate:

-Lieviti e muffe.

Nessun tampone non conforme, ritrovati fra i limiti m e M (criteri microbiologici Reg. 2073/2005). Gli isolati identificati fanno riferimento ai generi: *Saccharomyces* spp., *Pichia* spp., *Wickerhamomyces* spp., *Rodothorula* spp., *Yarrowia* spp., *Candida* spp., *Aureobasidium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp.

-Batteri.

Il 7% dei tamponi presentava non conformità e un altro 10% restava fra limite m e M. Generi maggiormente identificati: *Lactobacillus* spp., *Pediococcus* spp., *Enterobacteriacee*, *Pectinatus* spp., *Acetobacter* spp.





ASPETTI MICROBIOLOGICI nel processo produttivo: Indagini ambientali effettuate nei locali di imbottigliamento Focus su alcuni strumenti



FOOD
MICRO
TEAM



18

Novembre
2021

M. Rodriguez-Sauvedra, et al.

International Journal of Food Microbiology 336 (2021) 108900

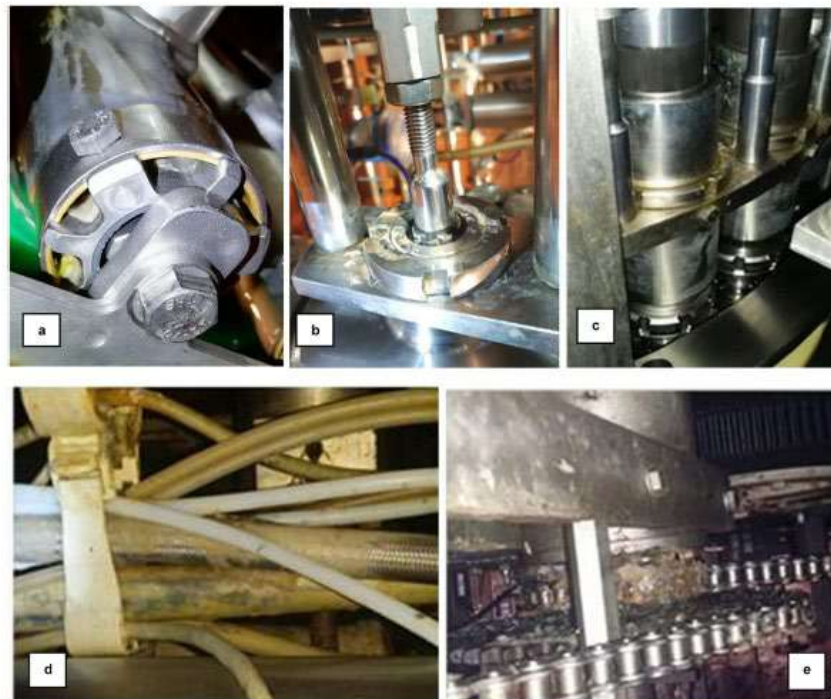
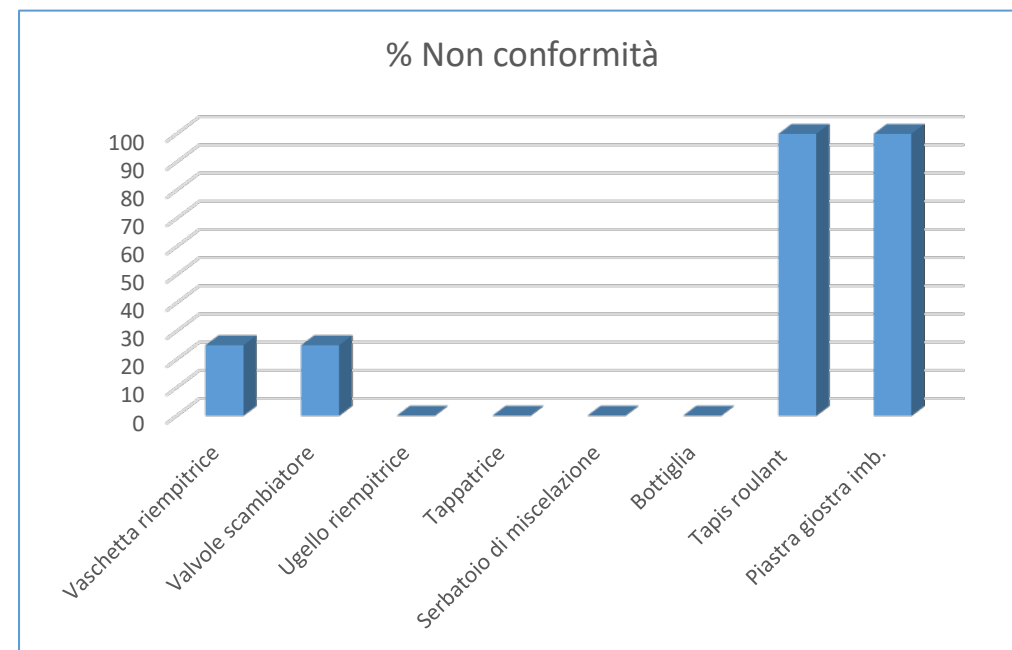


Fig. 2. Brewery points where biofilms with *Pectinatus* were detected: bottle raising pistons in filler (a); entry beer modulating valve (b); bottle raising pistons in crowner (c); bundles of cable lines (d); transmission chains (e).

- Fondamentali le buone pratiche di sanitizzazione dell'impianto.
- Contaminazioni random
- Presenza di biofilm
- Analisi ambientali

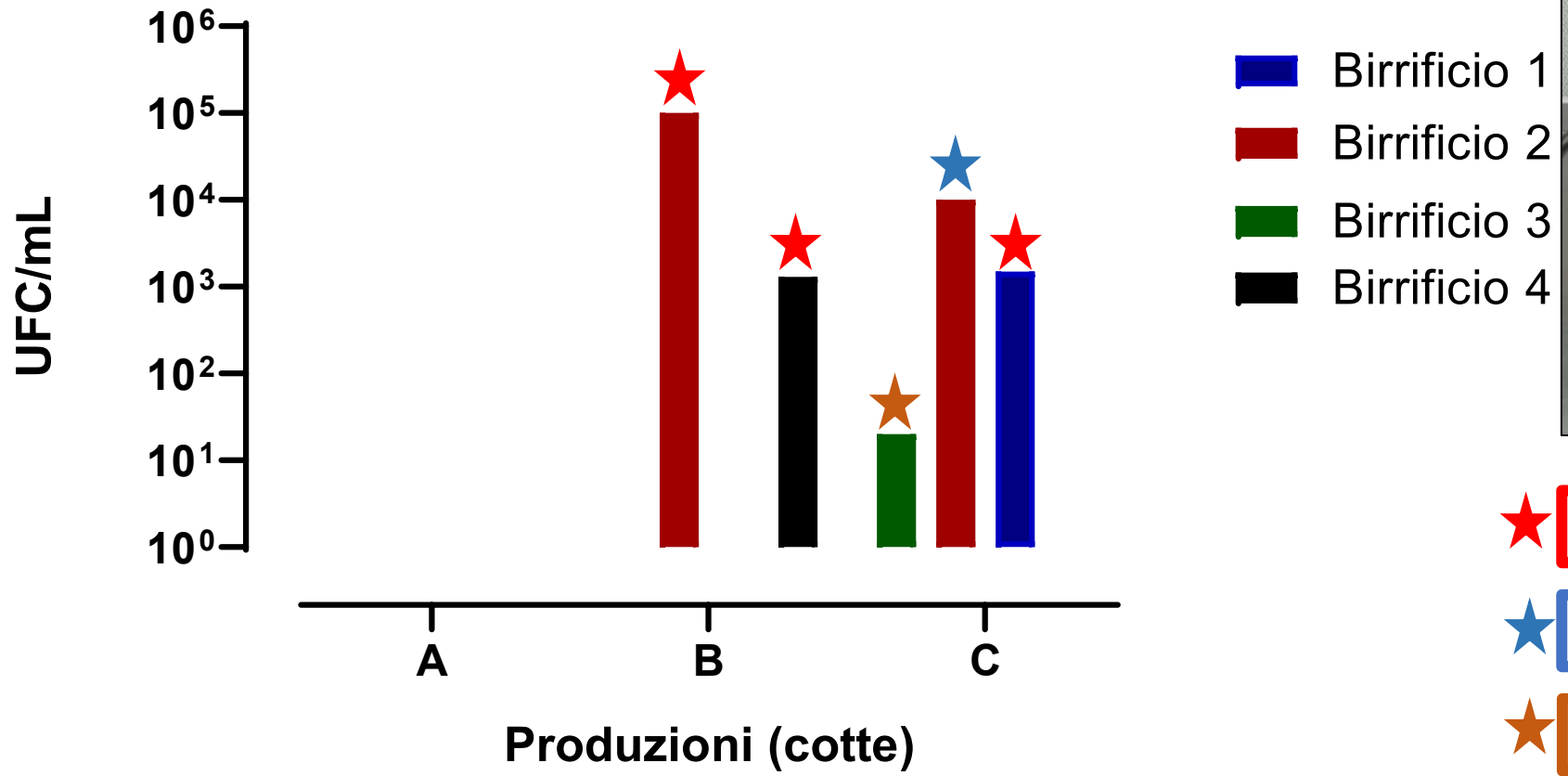


ASPETTI MICROBIOLOGICI nel processo produttivo: Contaminazioni avvenute al momento dell'imbottigliamento nelle cotte oggetto di studio



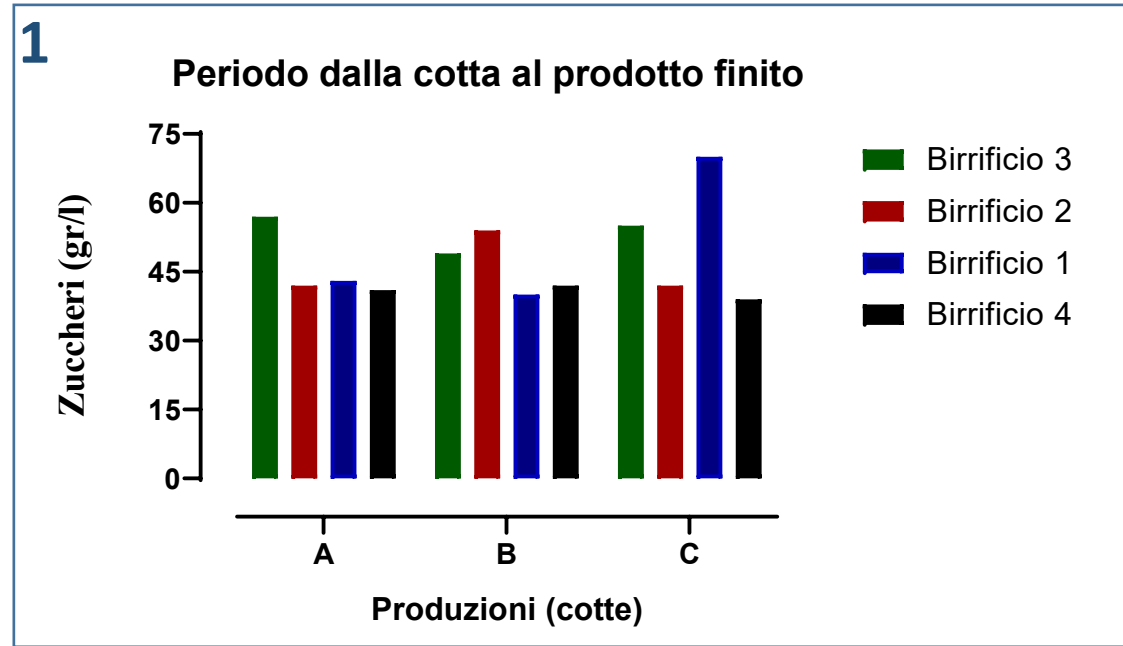
18
Novembre
2021

Contaminazioni all'imbottigliamento

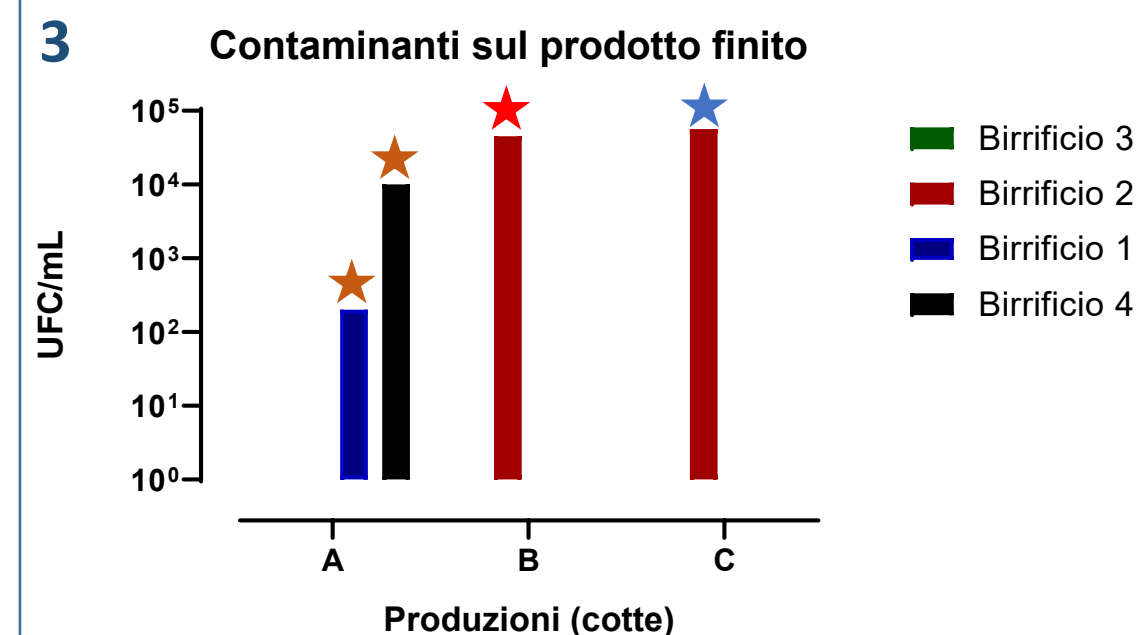
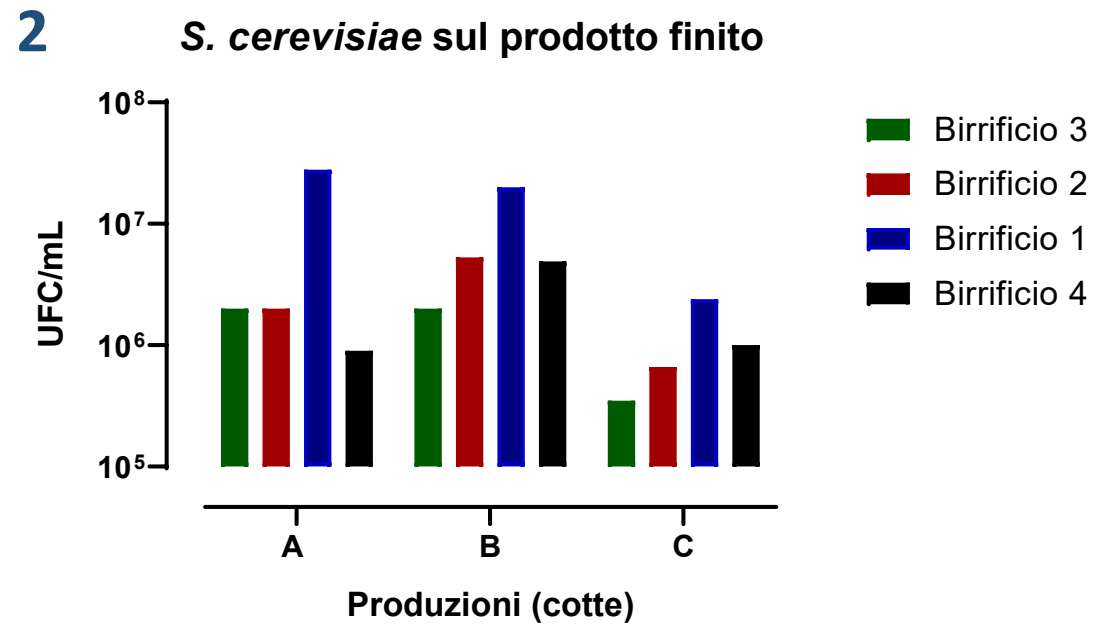


- ★ *Pichia spp.*
- ★ *Lactobacillus spp.*
- ★ *Candida spp.*

ASPETTI MICROBIOLOGICI nel processo produttivo: Il prodotto finito (fine fermentazione)



★ *Pichia spp.*
★ *Lactobacillus spp.*
★ *Acetobacter spp.*





ASPETTI MICROBIOLOGICI nel processo produttivo: I lieviti durante la shelf life

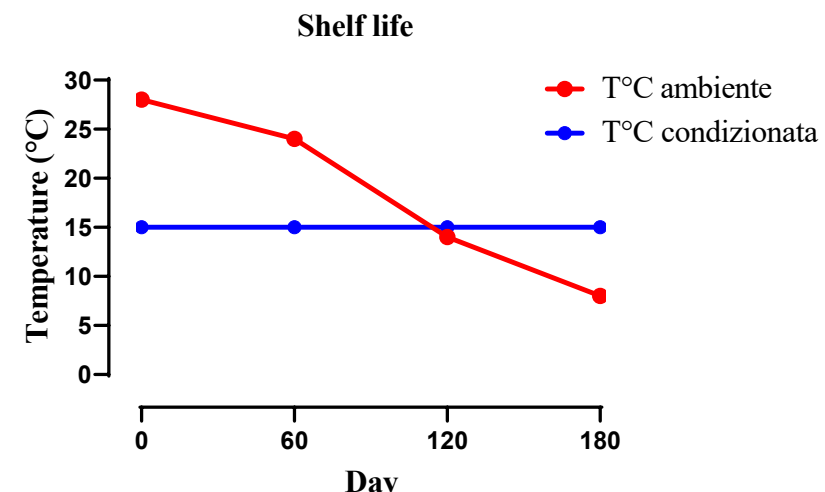
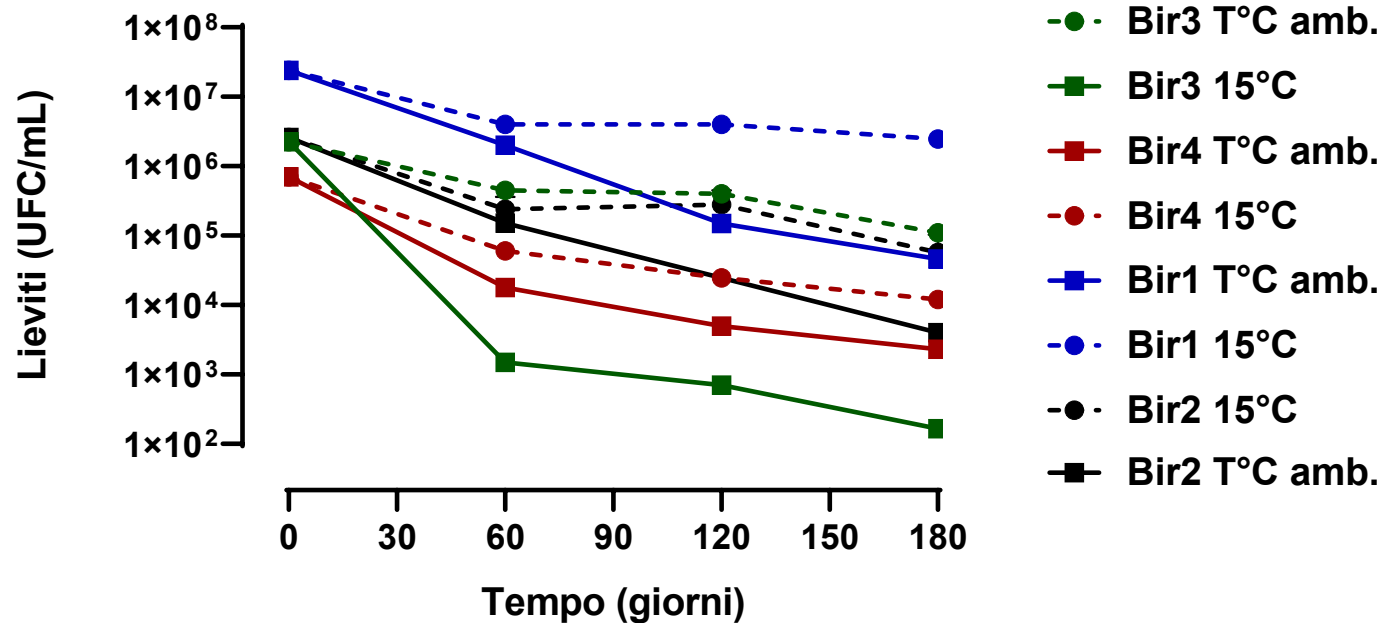


FOOD
MICRO
TEAM



18
Novembre
2021

Lieviti durante la shelf life





In conclusione:

Le contaminazioni microbiche possono essere ridotte:

- ✓ Aumentando il controllo del processo fermentativo in termini microbiologici e chimici (punti critici di controllo)
- ✓ Eseguendo interventi accurati di pulizia dell'impianto, degli strumenti e dei locali
- ✓ Incrementando l'attenzione alle norme igienico-sanitarie degli operatori e degli utensili
- ✓ Stabilendo procedure adeguate



FOOD
MICRO
TEAM



GRAZIE PER L'ATTENZIONE

Damiano Barbato

Tecnologo alimentare

DAGRI Università degli studi di Firenze

18

Novembre
2021