



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
FIRENZE

**DAGRI**

DIPARTIMENTO DI SCIENZE  
E TECNOLOGIE AGRARIE,  
ALIMENTARI, AMBIENTALI E FORESTALI

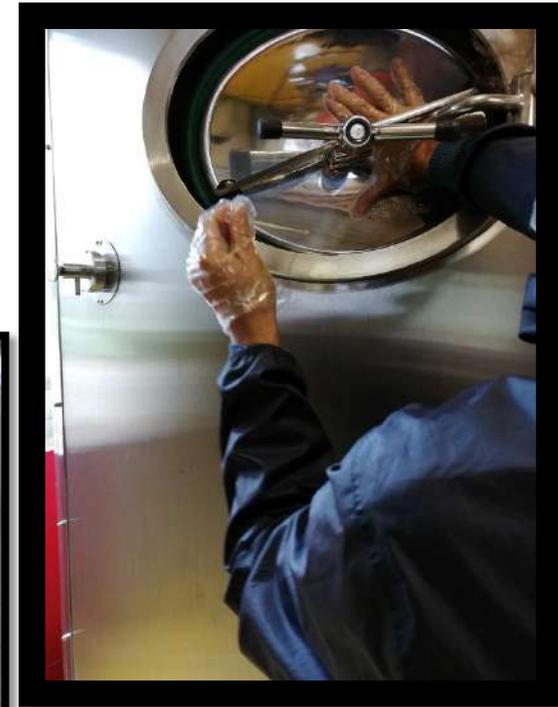
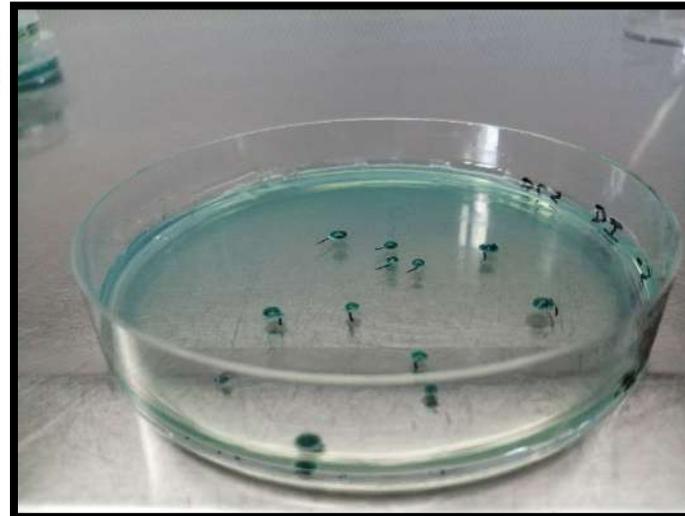
FOOD  
MICRO  
TEAM



**Relatore:**  
**Damiano Barbato**  
Food Micro Team

09 giugno 2022

# L'ecologia microbica di birre artigianali ad alta fermentazione dall'ammestramento alla bottiglia





FOOD  
MICRO  
TEAM



# Microbiota della maltazione e del processo di produzione della birra

## 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

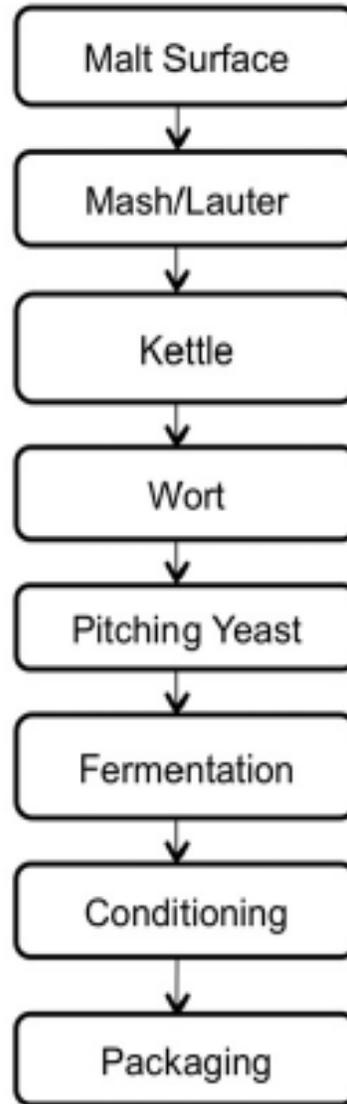
*Candida* *Penicillium*  
*Debaryomyces* *Aspergillus*  
*Hansenula* *Alternaria*  
*Hanseniaspora* *Fusarium*  
*Rhodotorula* *Epicoccum*  
*Sporobolomyces* *Cladosporium*  
*Trichosporon* *Botrytis*  
*Aureobasidium*  
*Absidia*

**Micotossine  
(stabili,  
termoresistenti)**

**ALE:  
*S. cerevisiae***



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



9 Giugno  
2022



## Progetto Qualibirre



**Monitoraggio di 4 processi di produzione per ogni birrificio aderente al progetto.**



**I punti di campionamento.**

**Le operazioni chiave del processo.**

**La distribuzione delle cotte (il periodo, lo stile, la tipologia di birra prodotta).**

**Il prodotto finito.**

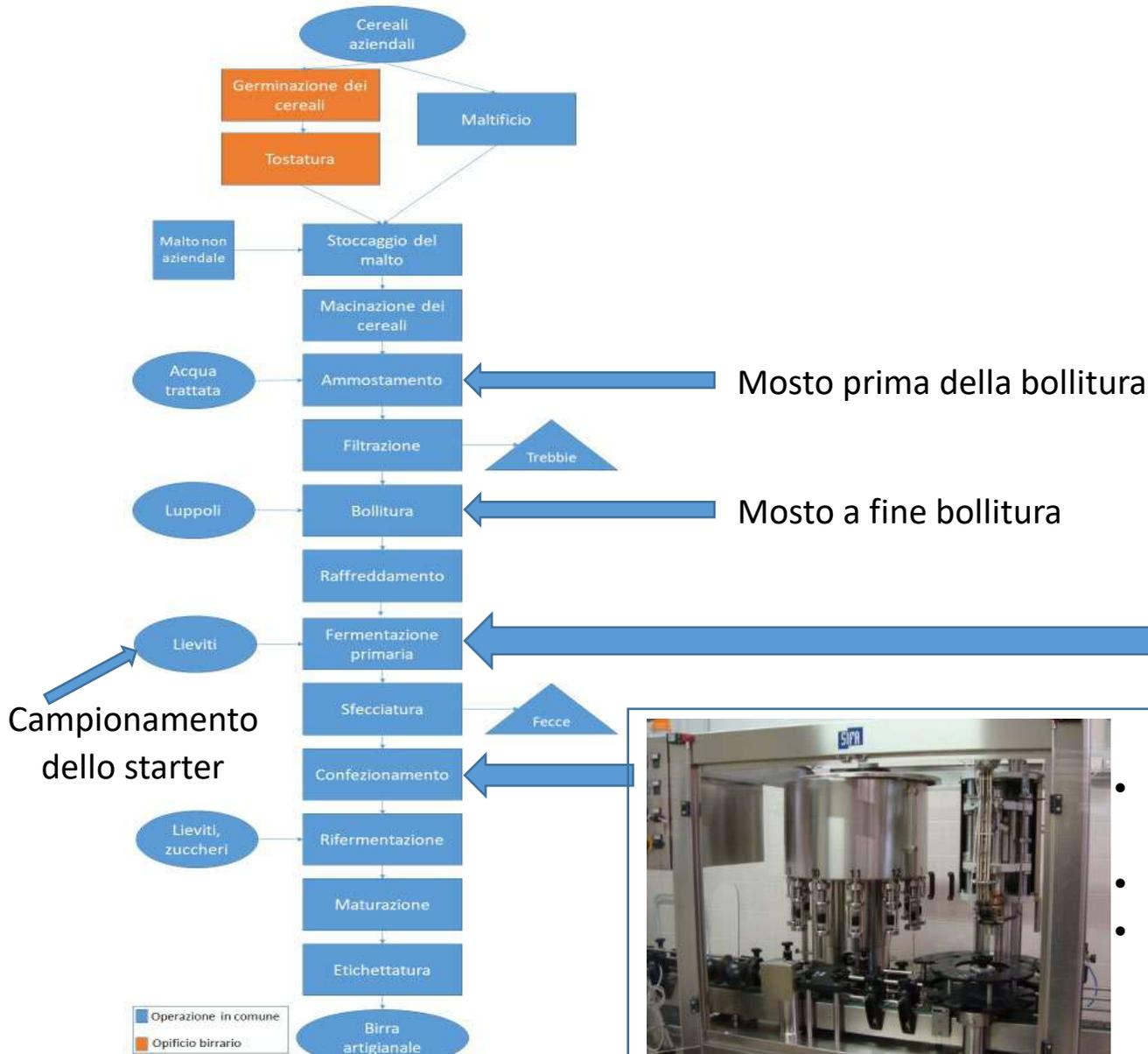
**Lo studio della shelf life.**



**9 Giugno  
2022**



FOOD  
MICRO  
TEAM



Campionamento dello starter

Mosto prima della bollitura

Mosto a fine bollitura



- Tampono fermentatore pre-riempimento
- Mosto dopo la bollitura prima dell'inoculo
- Prelievi in fermentazione T0, T4, T8, T14
- Prelievo spurgo (lieviti) T14



- Tamponi (serbatoio di miscelazione, vaschetta riempitrice, ugello riempitrice)
- Campione pre-imbottigliamento (da serbatoio)
- Bottiglie ad inizio, metà, fine imbottigliamento (per capire uniformità di inoculo)



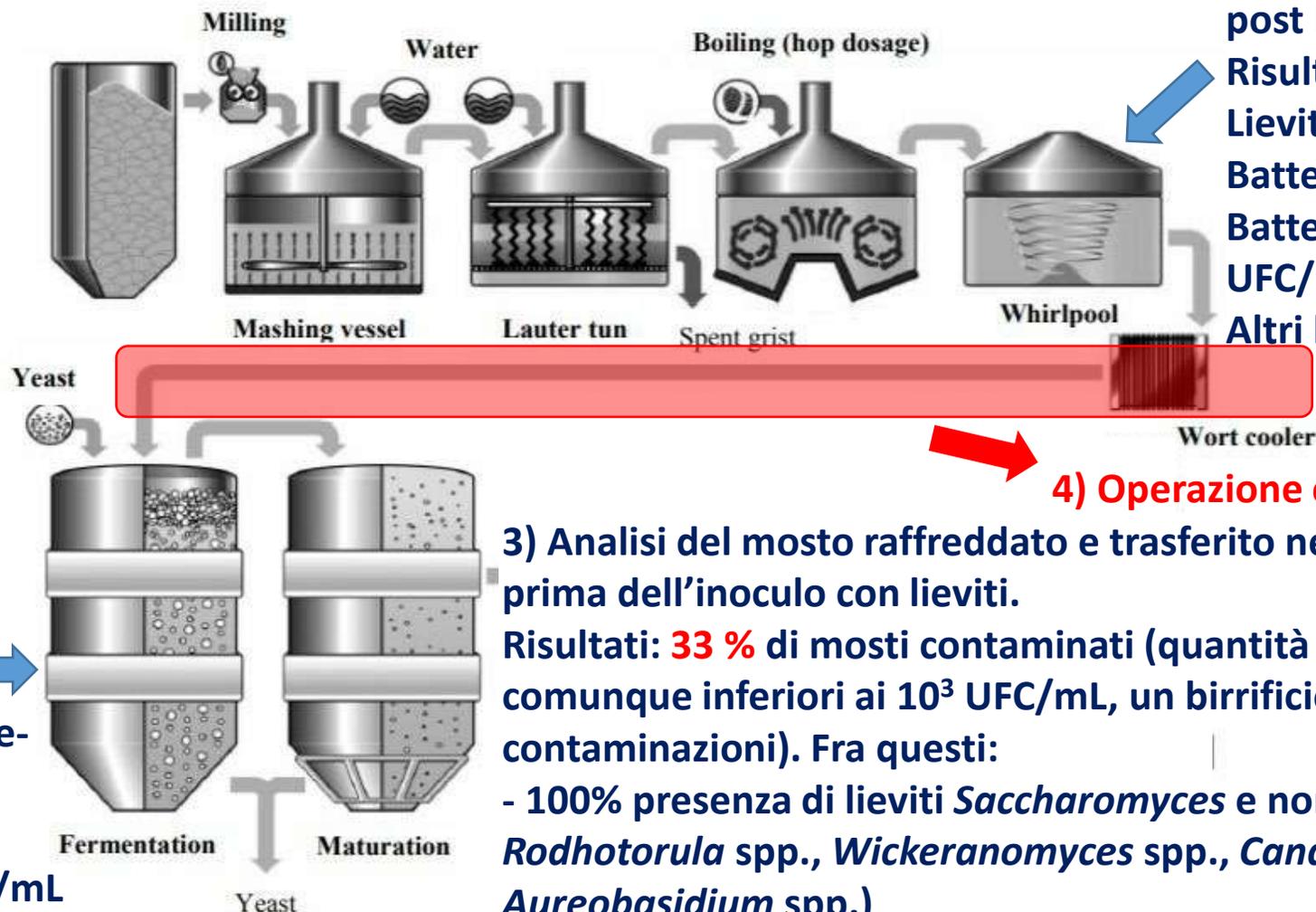
# ASPETTI MICROBIOLOGICI nel processo produttivo: Bollitura, raffreddamento e trasferimento del mosto al serbatoio di fermentazione.



FOOD  
MICRO  
TEAM



9 Giugno  
2022



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 birrificio non ha evidenziato contaminazioni). Fra questi:

- 100% presenza di lieviti *Saccharomyces* e non *Sacch.* (*Pichia* spp., *Rodhotorula* spp., *Wickeranomyces* spp., *Candida* 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: Indagini ambientali effettuate nei locali di imbottigliamento Focus su alcuni strumenti



FOOD  
MICRO  
TEAM



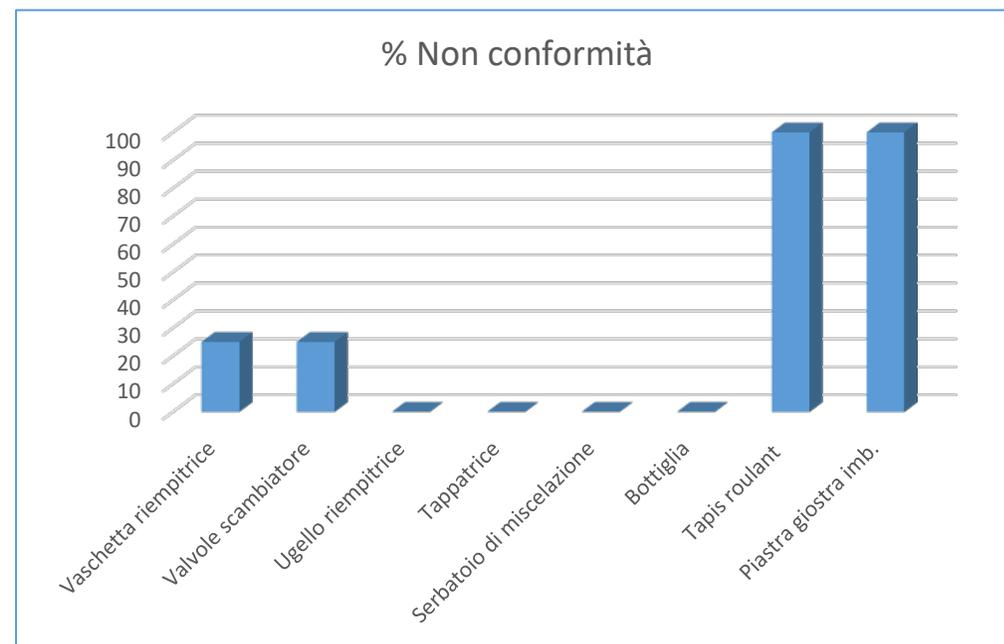
M. Rodríguez-Saavedra, et al.

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



9 Giugno  
2022



# ASPETTI MICROBIOLOGICI nel processo produttivo: Indagini ambientali effettuate nei locali di imbottigliamento Focus su imballaggi a contatto con il prodotto.



FOOD  
MICRO  
TEAM



	Total bacteria (UFC/cm <sup>2</sup> )	Total mould (UFC/cm <sup>2</sup> )	Total Yeast (UFC/cm <sup>2</sup> )
Tappi sfusi nel portatappi	69	0,00	0,00
Tappi confezionati da aprire	0,00	0,00	0,00



	Total bacteria (UFC/cm <sup>2</sup> )	Total mould (UFC/cm <sup>2</sup> )	Total Yeast (UFC/cm <sup>2</sup> )
Bottiglia vuota da pallet	0,00	0,00	0,00
Bottiglia lavata	0,00	0,00	0,00

9 Giugno  
2022



FOOD  
MICRO  
TEAM



## Progetto Qualibirre: le produzioni oggetto di studio.

1° e 2° cotta progetto  
(periodo 2020)



Blond Ale

**CASO 1**

3° e 4° cotta progetto  
(periodo 2021)



Birre d'abbazia

9 Giugno  
2022



# CASO 1

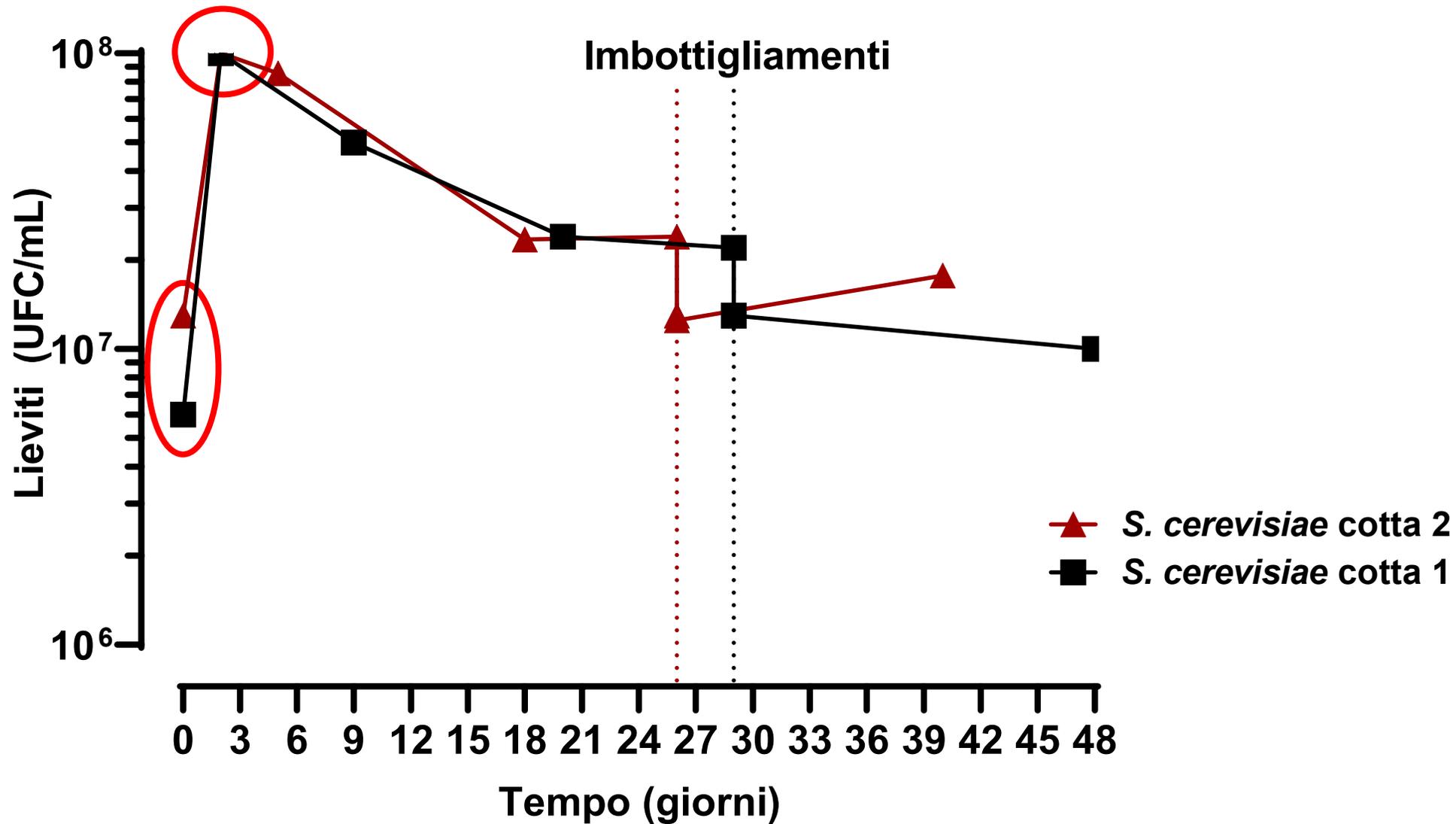


FOOD  
MICRO  
TEAM



9 Giugno  
2022

## Birrificio 1 Lieviti blond ale





# CASO 1

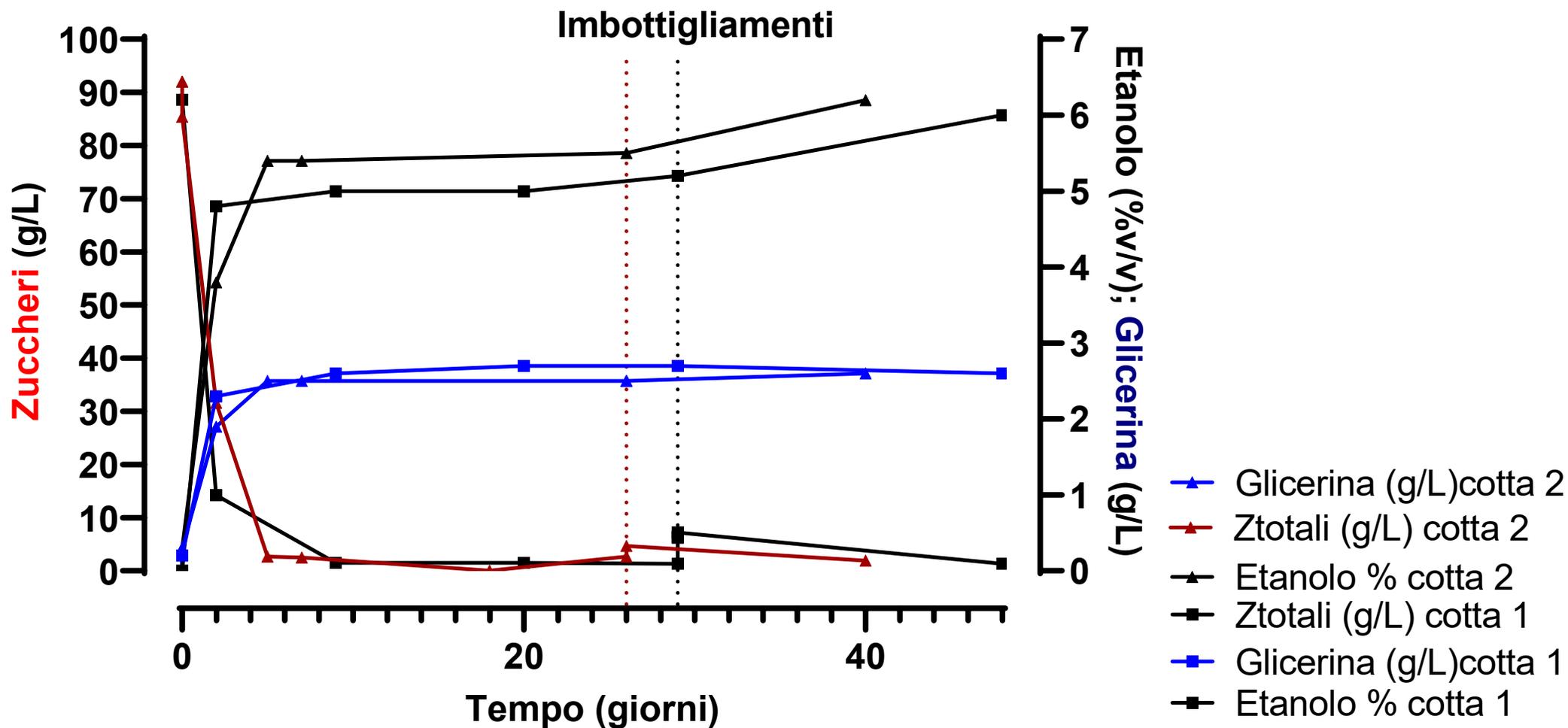


## Birrificio 1 blond ale

FOOD  
M<sub>2</sub>CRO  
TEAM



9 Giugno  
2022





# CASO 1

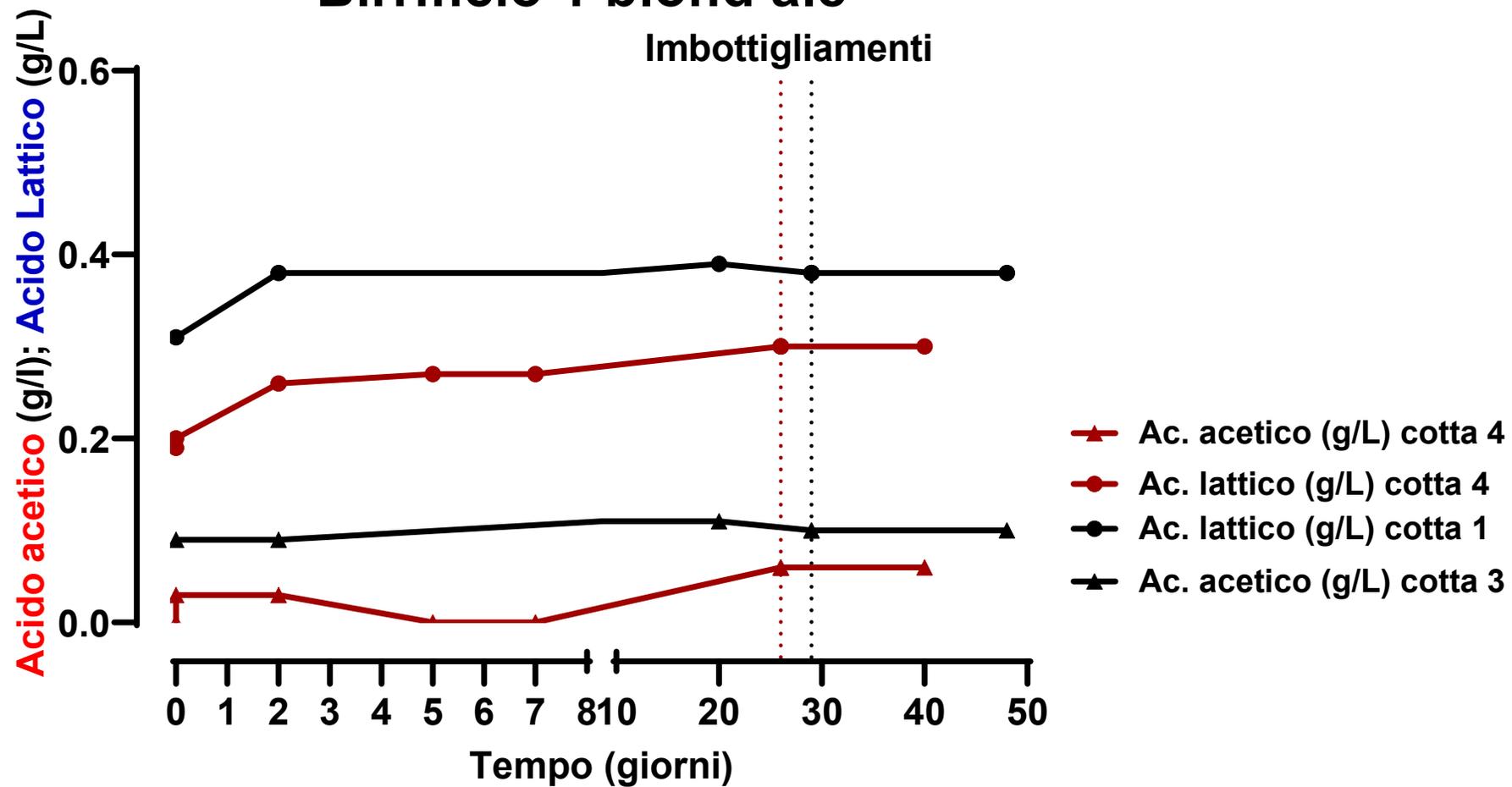


FOOD  
MICRO  
TEAM



## Birrificio 1 blond ale

Imbottigliamenti



9 Giugno  
2022



## Progetto Qualibirre: le produzioni oggetto di studio.

1° e 2° cotta progetto  
(periodo 2020)



Blond Ale

3° e 4° cotta progetto  
(periodo 2021)



Birre d'abbazia

**CASO 2**



# CASO 2



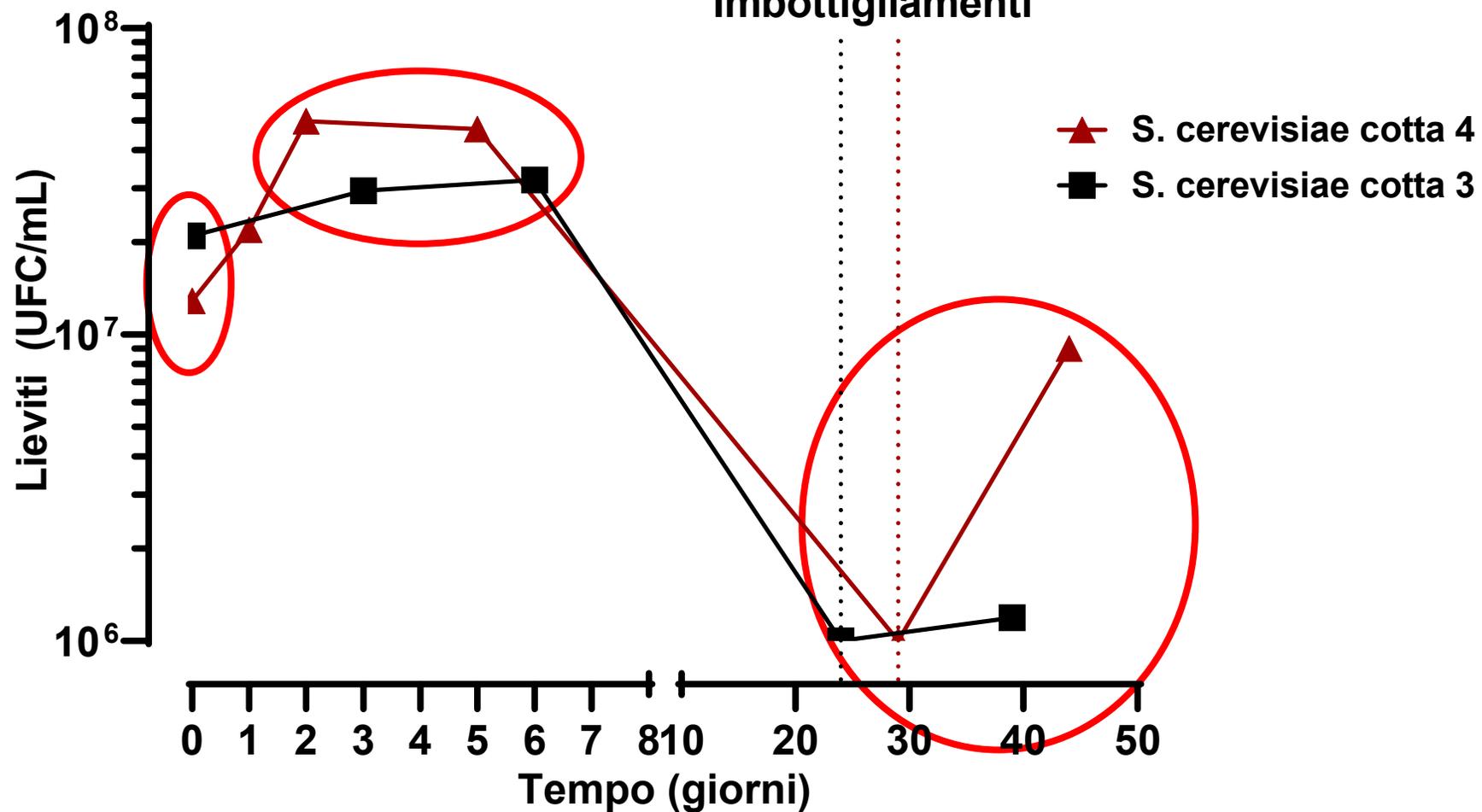
FOOD  
MICRO  
TEAM



9 Giugno  
2022

## Birrificio 2 Lieviti Abbazia

Imbottigliamenti





# CASO 2



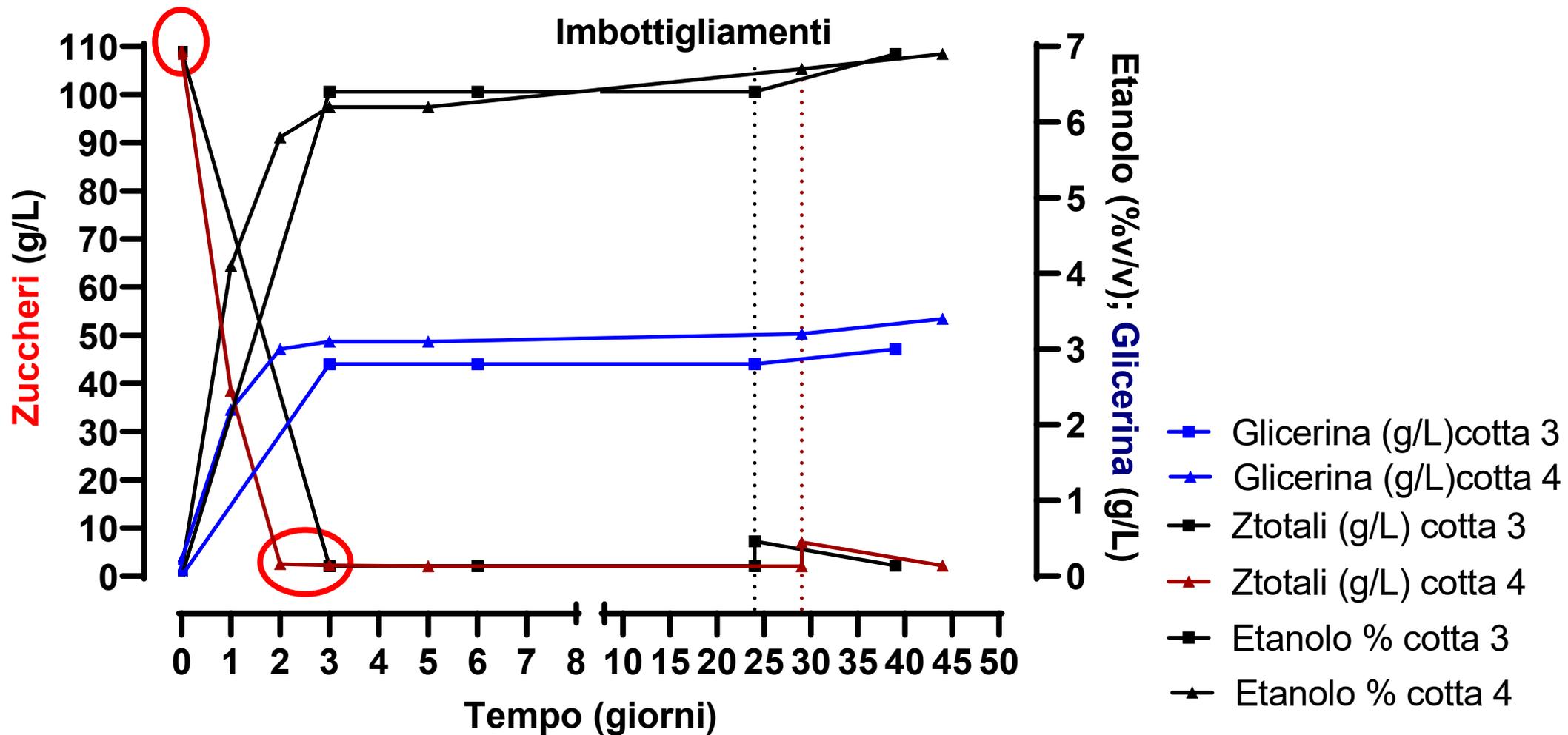
FOOD  
MACRO  
TEAM



9 Giugno  
2022

## Birrificio 2 Abbazia

Imbottigliamenti





# CASO 2



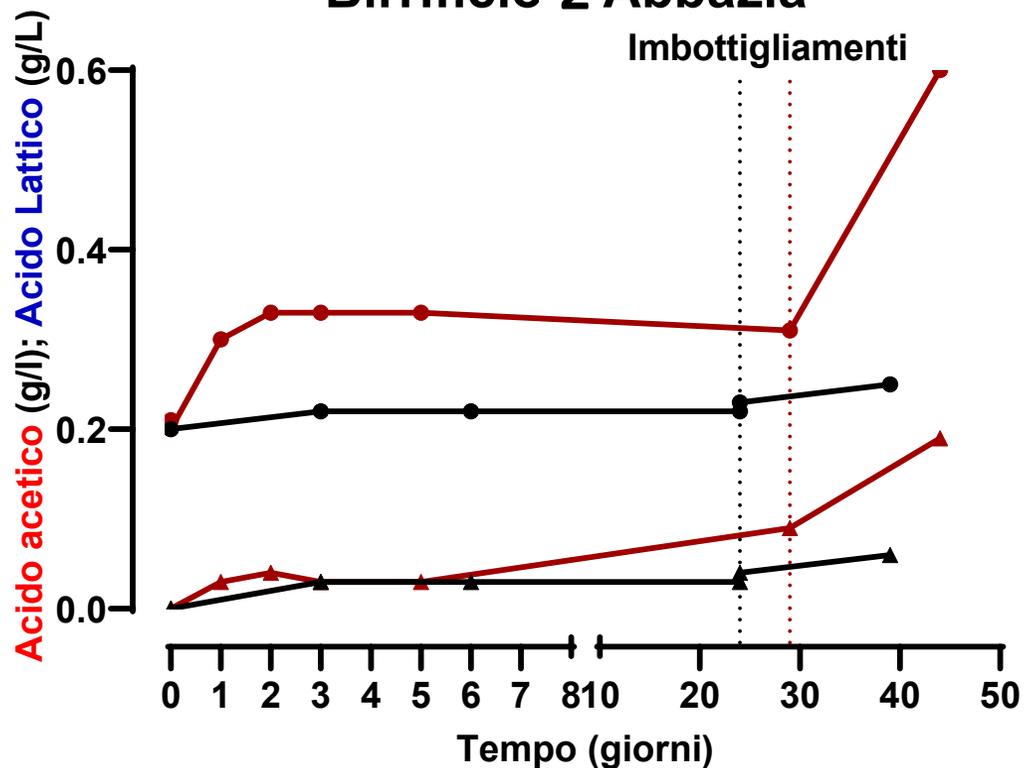
FOOD  
MICRO  
TEAM



9 Giugno  
2022

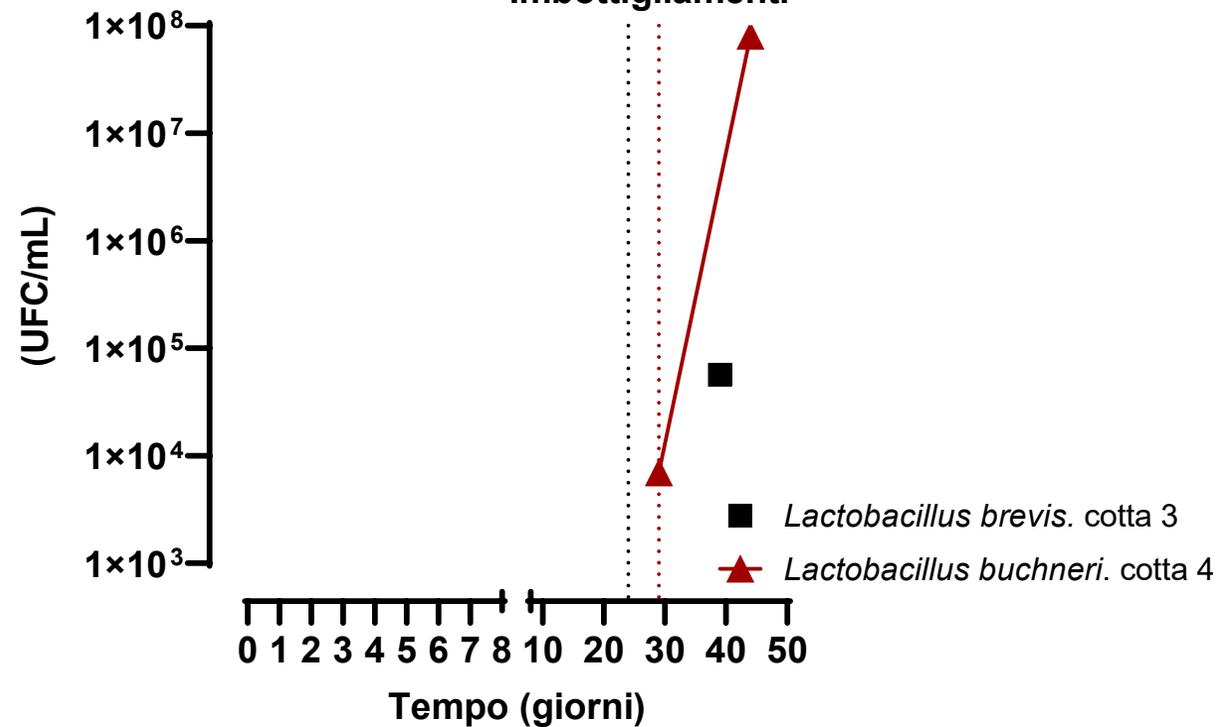
## Birrificio 2 Abbazia

Imbottigliamenti



## Birrificio 2 Contaminanti Abbazia

Imbottigliamenti



- ▲ Ac. acetico (g/L) cotta 4
- Ac. lattico (g/L) cotta 4
- Ac. lattico (g/L) cotta 3
- ▲ Ac. acetico (g/L) cotta 3



9 Giugno  
2022

**Table 1**  
Lactic acid bacteria associated with beer contamination.

Former genus	Current genus	Meaning of the genus name	Genus properties	Species	Homo-	Hetero-	Beer-spoilage potential
					fermentative	fermentative	
	<i>Fructilactobacillus</i>	fructose-loving lactobacilli	mesophilic, aerotolerant	<i>lindneri</i>	-	+	very high
	<i>Furfurilactobacillus</i>	lactobacilli from bran	broad metabolic potential	<i>curtus</i> <i>rossiae</i>	-	+	not determined high
	<i>Lacticaseibacillus</i>	lactobacilli related to cheese	many species ferment pentoses, and are resistant to oxidative stress	<i>casei</i> <i>paracasei</i> <i>fabifermentans</i> <i>pentosus</i>	+	-	high high high high
	<i>Lactiplantibacillus</i>	lactobacilli related to plants	ferment a wide range of carbohydrates, most species metabolise phenolic acids	<i>plantarum</i> <i>paraplantarum</i> <i>xiangfangensis</i>	+	-	high high high
	<i>Lactobacillus</i>	rod-shaped bacillus from milk	strain-specific ability to ferment pentoses, thermophilic	<i>acetotolerans</i> <i>acidophilus</i>	+	-	high high
	<i>Latilactobacillus</i>	wide-spread lactobacilli	mesophilic, many strains are psychrotrophic and grow below 8 °C	<i>curvatus</i>	+	-	high
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lentilactobacillus</i>	slow (growing) lactobacilli	mesophilic, fermenting a broad spectrum of carbohydrates	<i>buchneri</i> <i>parabuchneri</i>	-	+	high high
	<i>Levilactobacillus</i>	(dough)-leavening lactobacilli	mesophilic or psychrotrophic	<i>brevis</i> <i>cerevisiae</i> <i>paucivorans</i>	-	+	very high high very high
	<i>Limosilactobacillus</i>	slimy (biofilm-forming) lactobacilli	thermophilic	<i>fermentum</i>	-	+	high
	<i>Loigolactobacillus</i>	(food) spoiling lactobacilli	mesophilic or psychrotrophic	<i>backii</i> <i>coryniformis</i> <i>harbinensis</i>	+	-	very high high high
	<i>Schleiferilactobacillus</i>	Karl Heinz Schleifer's lactobacilli	aerotolerant, ferment a wide range of carbohydrates, produce diacetyl copiously	<i>perolens</i>	+	-	high
	<i>Secundilactobacillus</i>	second lactobacilli, growing after other organisms depleted hexoses	mesophilic or psychrotrophic	<i>collinoides</i> <i>paracollinoides</i> <i>malefermentans</i> <i>damnousus</i>	-	+	very high very high high very high
<i>Pediococcus</i>	<i>Pediococcus</i>	-	produce diacetyl	<i>claussenii</i> <i>inopinatus</i> <i>acidilactici</i>	+	-	high high high

(Deng et al., 2014; Garcia-Garcia et al., 2017a, 2017b; Garofalo et al., 2021; Rodhouse and Carbonero, 2019; Schneiderbanger et al., 2020; Turvey et al., 2017; Zheng et al., 2020; <http://www.lactobacillus.uantwerpen.be>)



## Progetto Qualibirre: le produzioni oggetto di studio.

1° e 2° cotta progetto  
(periodo 2020)



Blond Ale

3° e 4° cotta progetto  
(periodo 2021)



Birre d'abbazia

**CASO 3**



# CASO 3

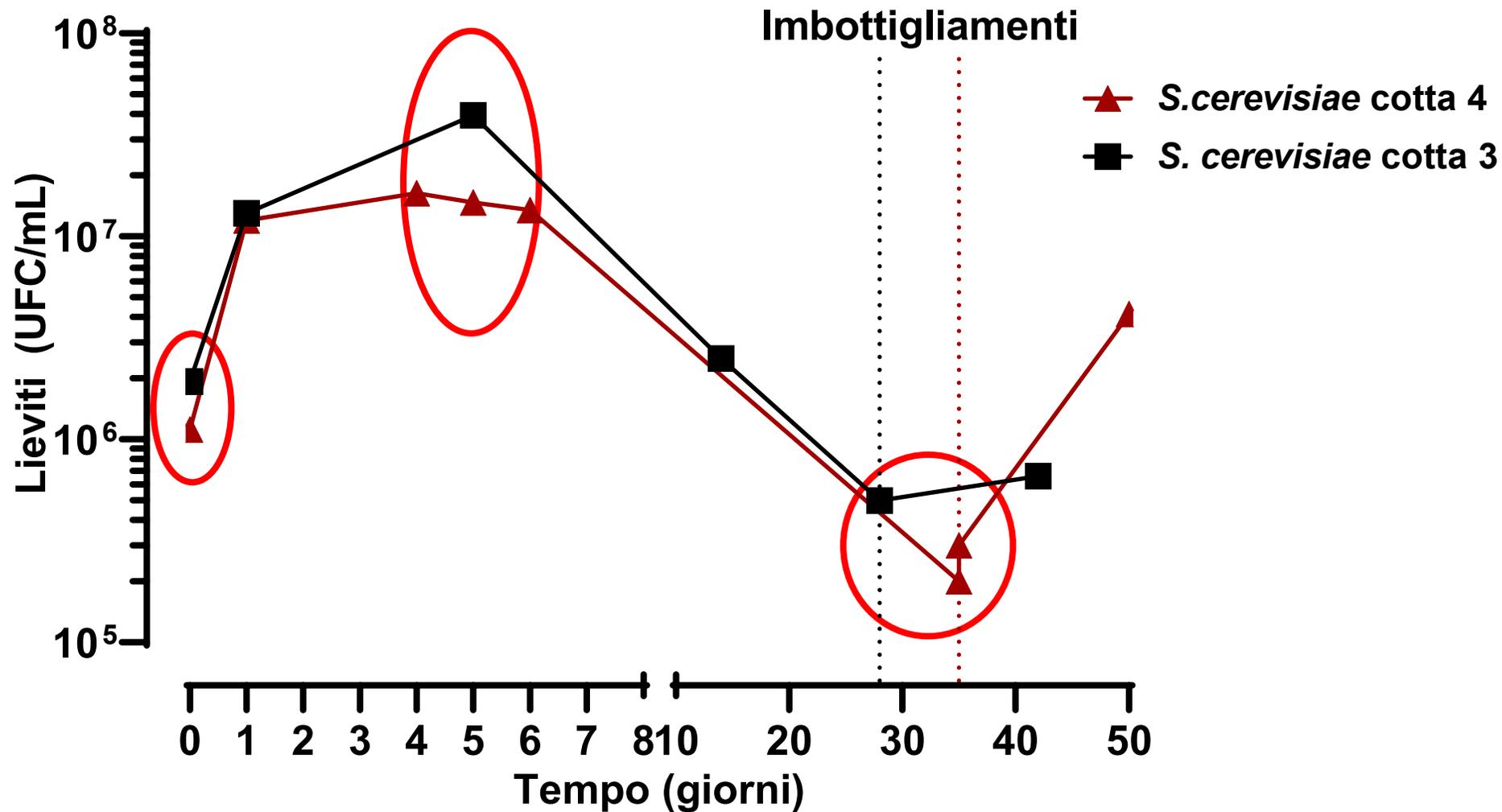


FOOD  
MICRO  
TEAM



9 Giugno  
2022

## Birrificio 3 Lieviti Abbazia





# CASO 3

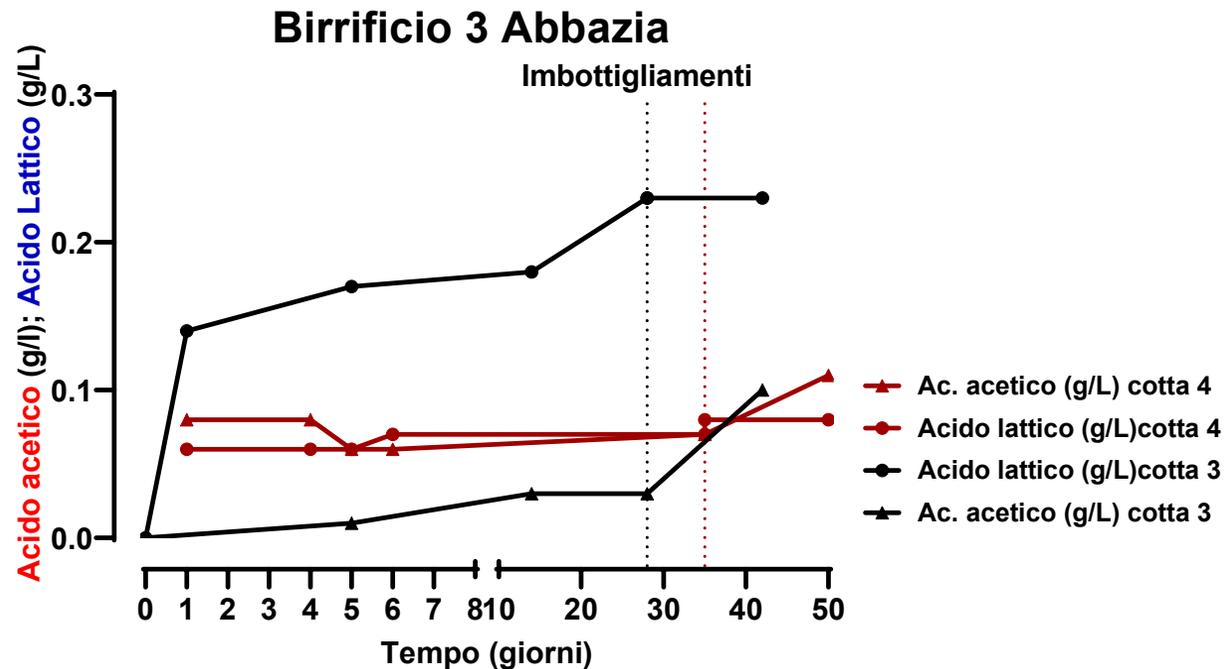
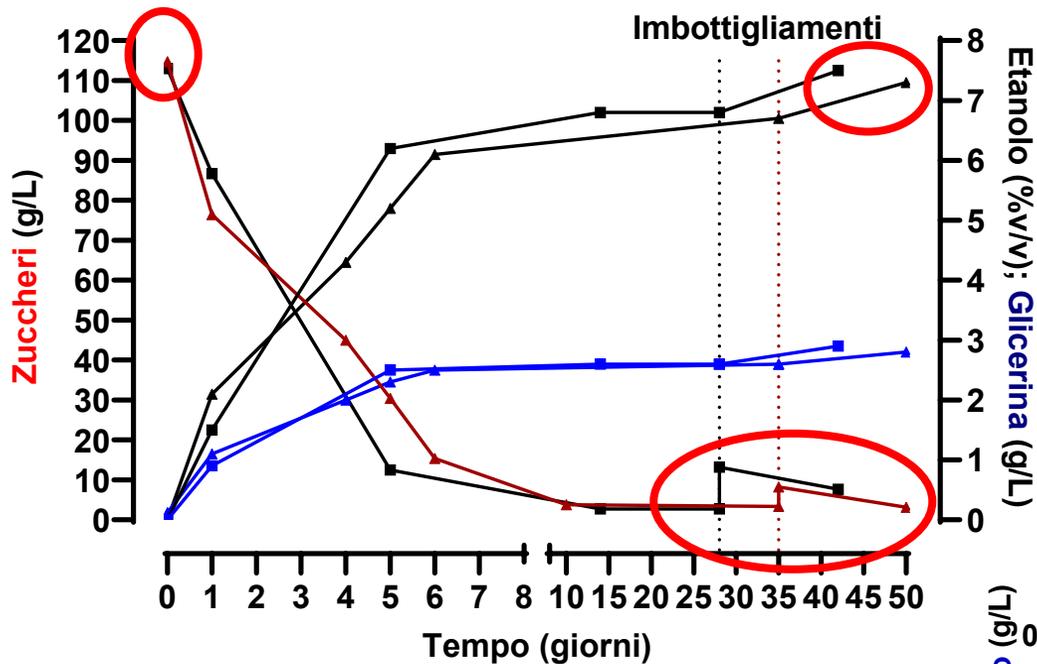
## Birrificio 3 Abbazia



FOOD  
MICRO  
TEAM



9 Giugno  
2022





FOOD  
MICRO  
TEAM



**GRAZIE PER L'ATTENZIONE**

**Damiano Barbato**

Tecnologo alimentare  
Food Micro Team

Per info: [www.qualibirre.it](http://www.qualibirre.it)  
[www.foodmicroteam.it](http://www.foodmicroteam.it)

**9 Giugno  
2022**