

30 Novembre 2022, Pistoia

LA GESTIONE E IL CONTROLLO DEL PROCESSO DI PRODUZIONE DELLA BIRRA



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE
DAGRI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE
E TECNOLOGIE AGRARIE,
ALIMENTARI, AMBIENTALI E FORESTALI

Lisa Granchi
Damiano Barbato
Eleonora Mari



D.R.E.A.M.
ITALIA

**FOOD
MICRO
TEAM**

FoodMicroTeam s.r.l.
Spin-Off Accademico
dell'Università degli Studi di Firenze

Simona Guerrini
Silvia Mangani



**LA
STECCIAIA**



Regione Toscana



IL PROCESSO DI PRODUZIONE DELLA BIRRA ARTIGIANALE



ASPETTI MICROBIOLOGICI 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»

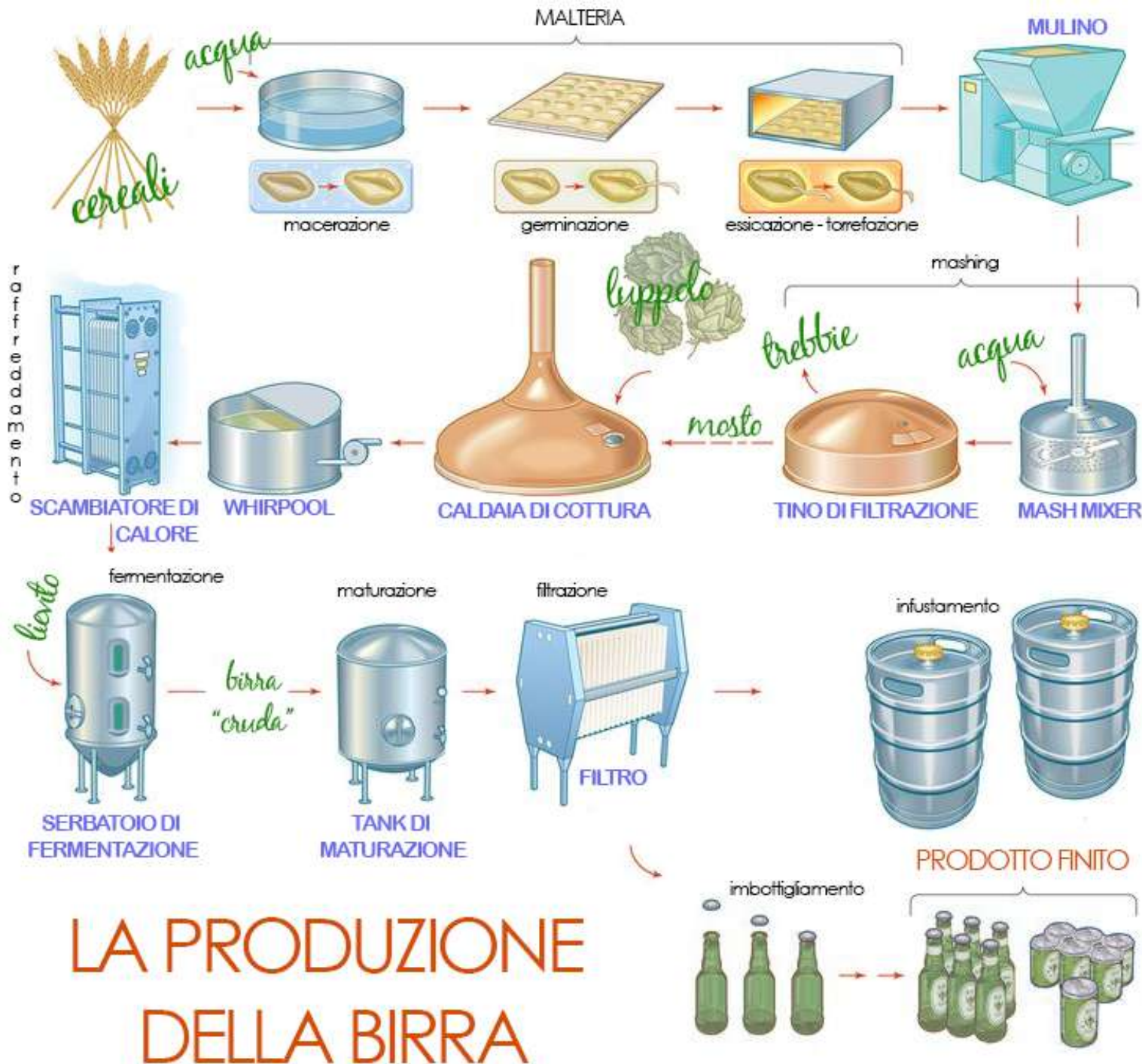
Legge n° 154 del 28 luglio 2016

«4-bis. Si definisce birra artigianale la birra prodotta da piccoli birrifici indipendenti e **non sottoposta, durante la fase di produzione, a processi di pastorizzazione e di microfiltrazione**»

Maggiore rischio di alterazioni microbiche



*Tipicità territoriale
Identità artigianale*



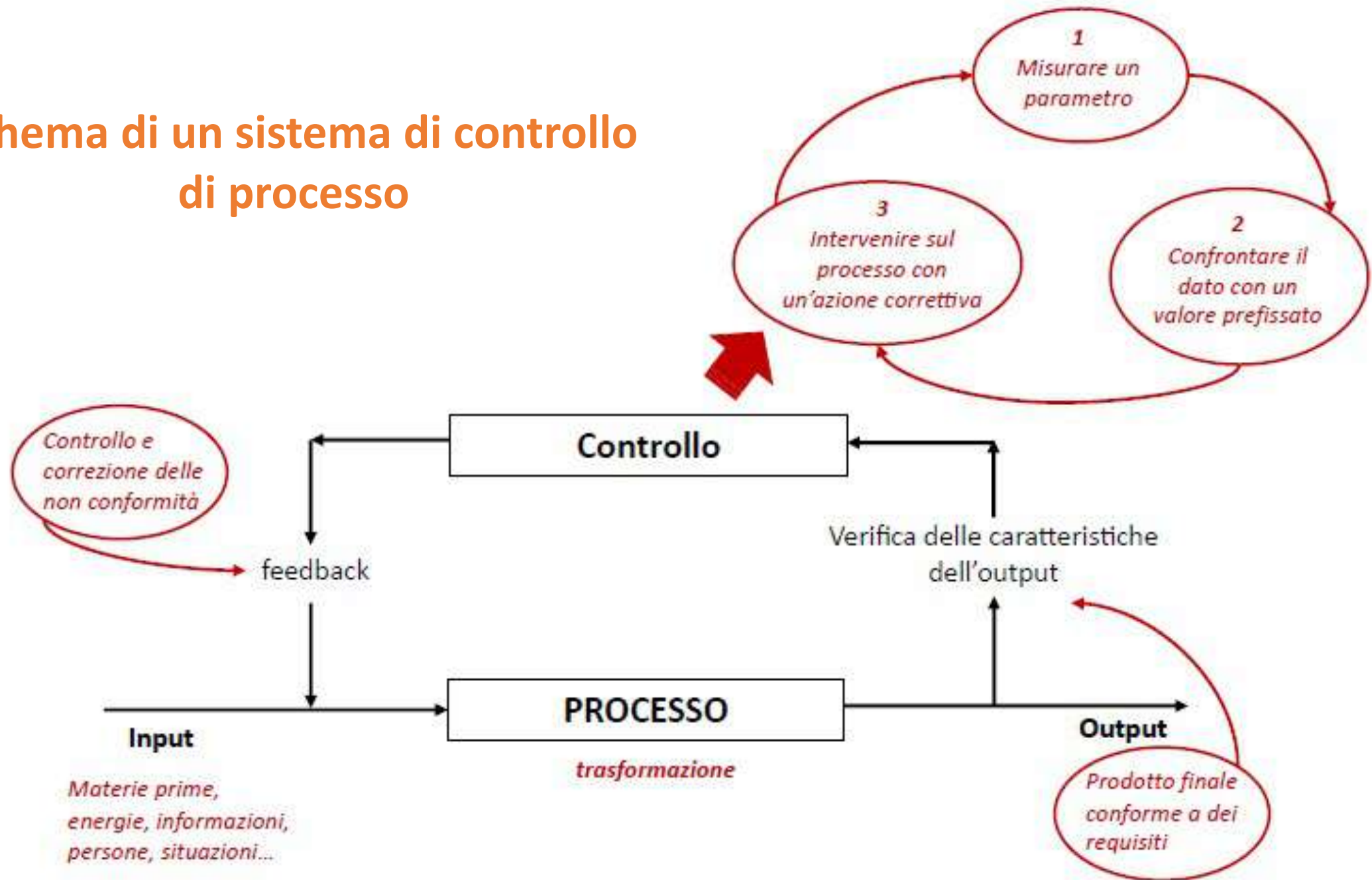
PROGETTO



- ✓ Definire un protocollo di autocontrollo del processo per produrre birre artigianali qualitativamente migliori da un punto di vista microbiologico e chimico in modo da ottenere prodotti più stabili nel tempo.
- ✓ Elaborare un Manuale di Buone Pratiche per la gestione e il controllo del processo di produzione della birra artigianale.

LA PRODUZIONE DELLA BIRRA

Schema di un sistema di controllo di processo



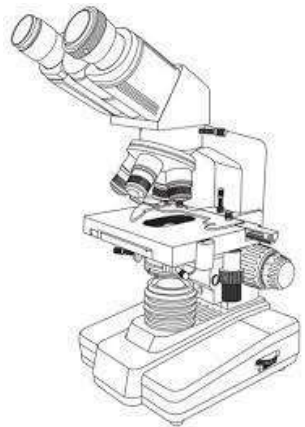
CONTROLLO DI PROCESSO



APPROCCIO MULTIDISCIPLINARE



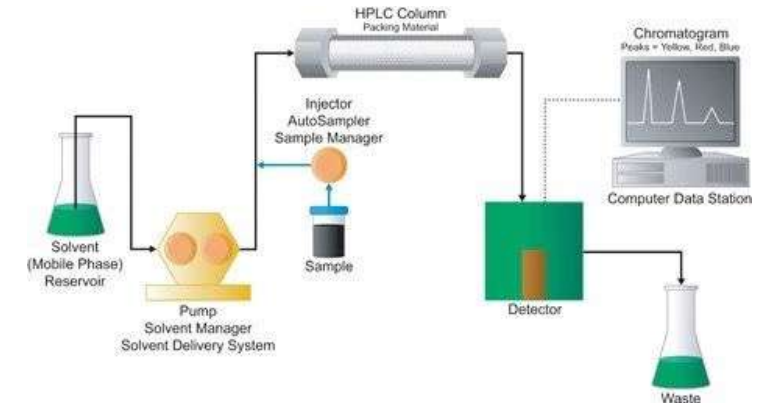
**Analisi
MICROBIOLOGICHE**



Analisi MOLECOLARI



Analisi CHIMICHE



FASI OPERATIVE DEL PROGETTO

1

- Questionario conoscitivo riguardante il processo di produzione dei 4 birrifici artigianali Toscani

2

- Verifica delle condizioni igienico-sanitarie dei locali e degli impianti di produzione

3

- Analisi microbiologiche e chimiche durante il processo di produzione delle birre

4

- Analisi microbiologiche e chimiche durante la shelf-life delle birre

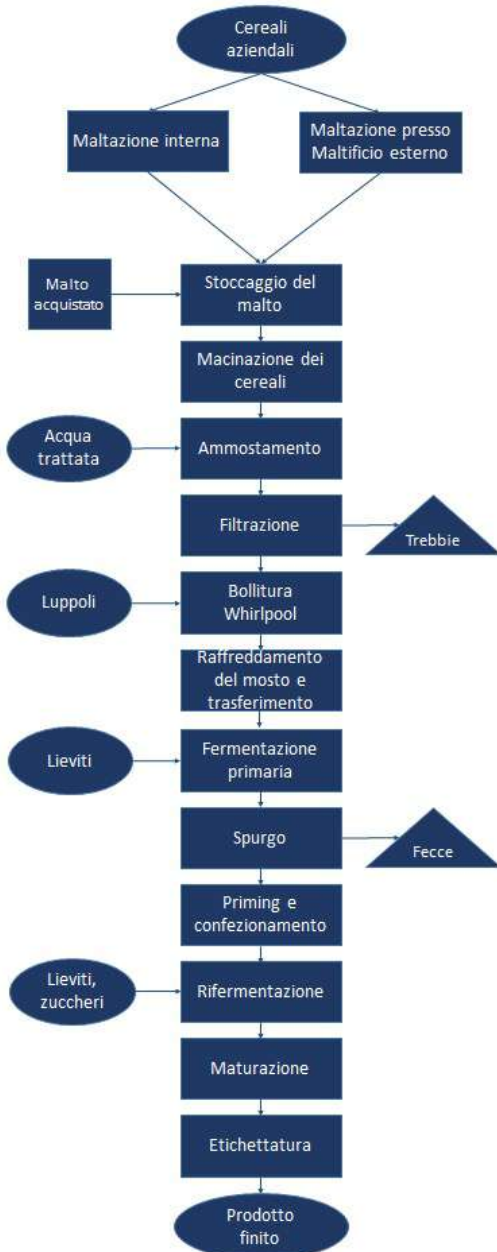
5

- Elaborazione dei dati ottenuti

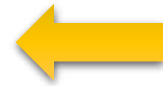
6

- Stesura del Manuale di Buone Pratiche per la gestione e il controllo del processo di produzione di birre artigianali

- Questionario conoscitivo riguardante il processo di produzione dei 4 birrifici



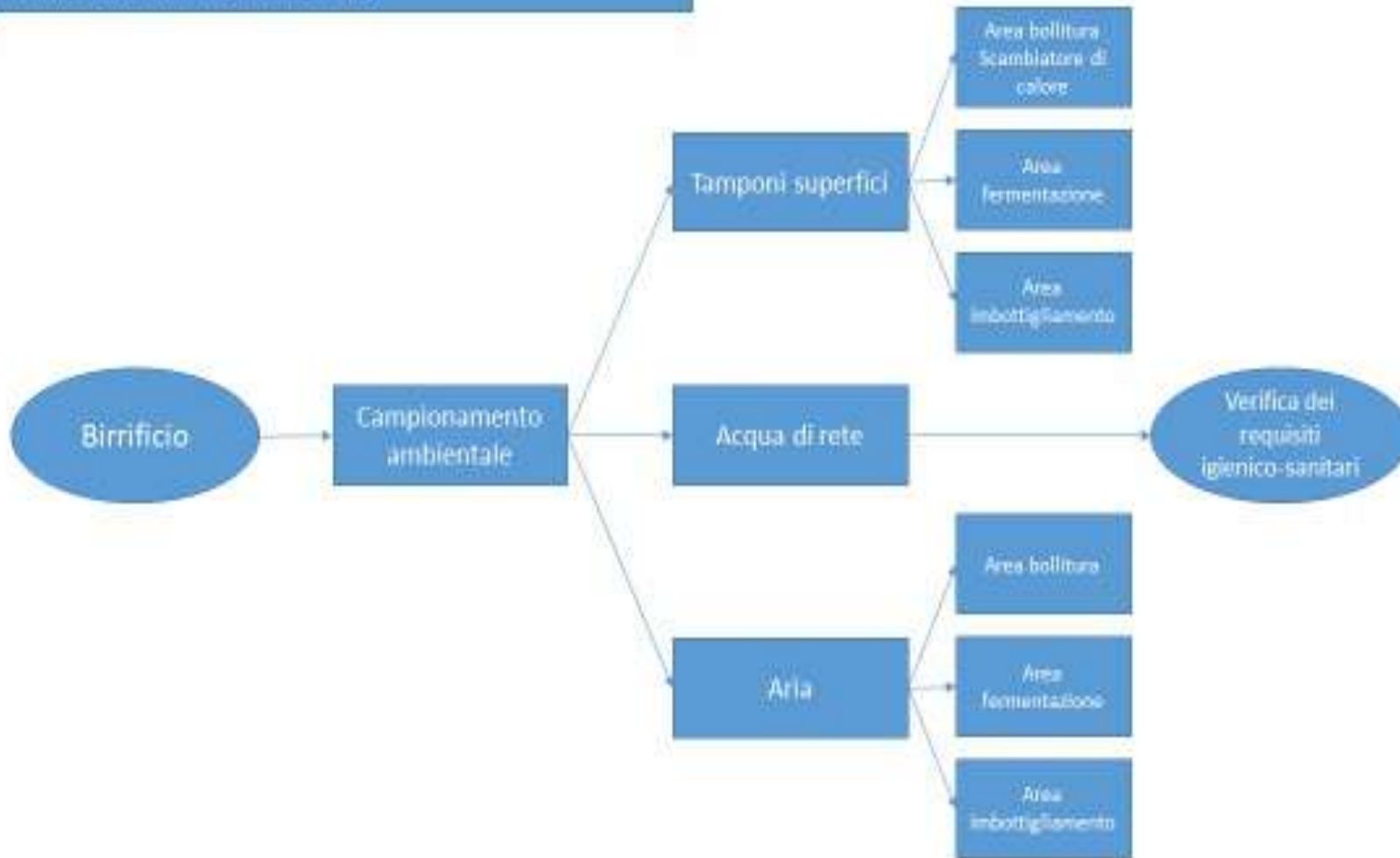
✓ Individuazione delle procedure di produzione di ciascun birrificio in termini tecnologici e igienico-sanitari



✓ Individuazione dei punti di campionamento ambientali, durante il processo di produzione e durante la shelf life delle birre finite

- Verifica delle condizioni igienico-sanitarie dei locali e degli impianti di produzione

PIANO DI CAMPIONAMENTO



- valvola del bollitore
- ugello della riempitrice
- ugello della linea di imbottigliamento
- Valvola scambiatore
- Tapis roulant
- Piastra giostra imbottigliamento



- qualità microbiologica dell'acqua

- qualità microbiologica dell'aria

Popolazioni microbiche trovate sulle superfici ambientali nell'area imbottigliamento:

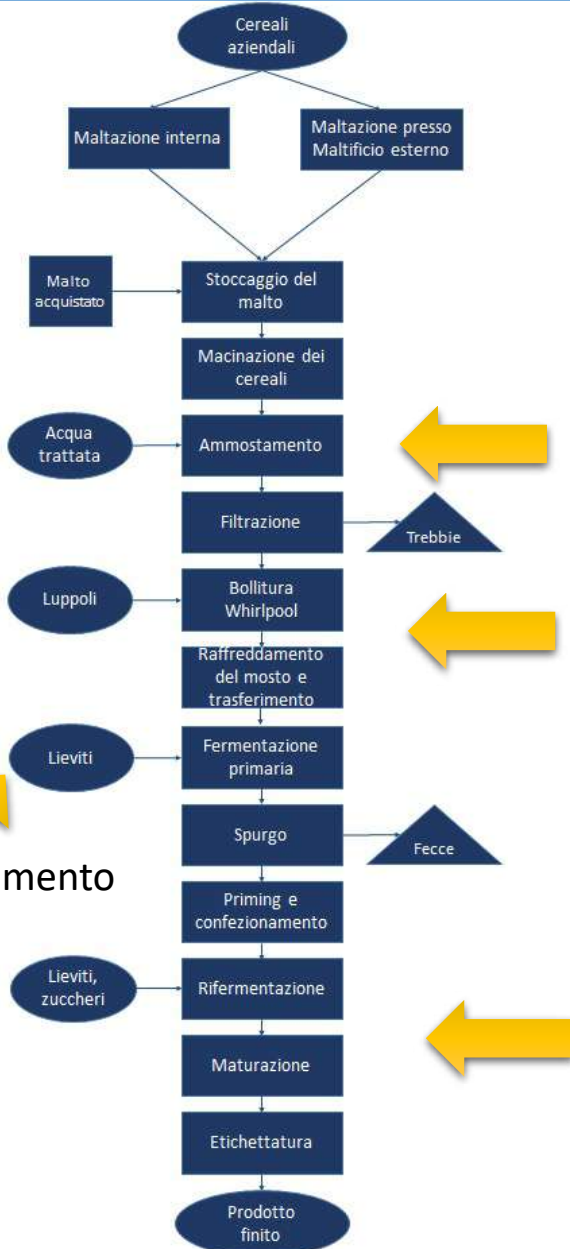
-Lieviti e muffe

- ✓ 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., *Wickerhanomyces* 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.

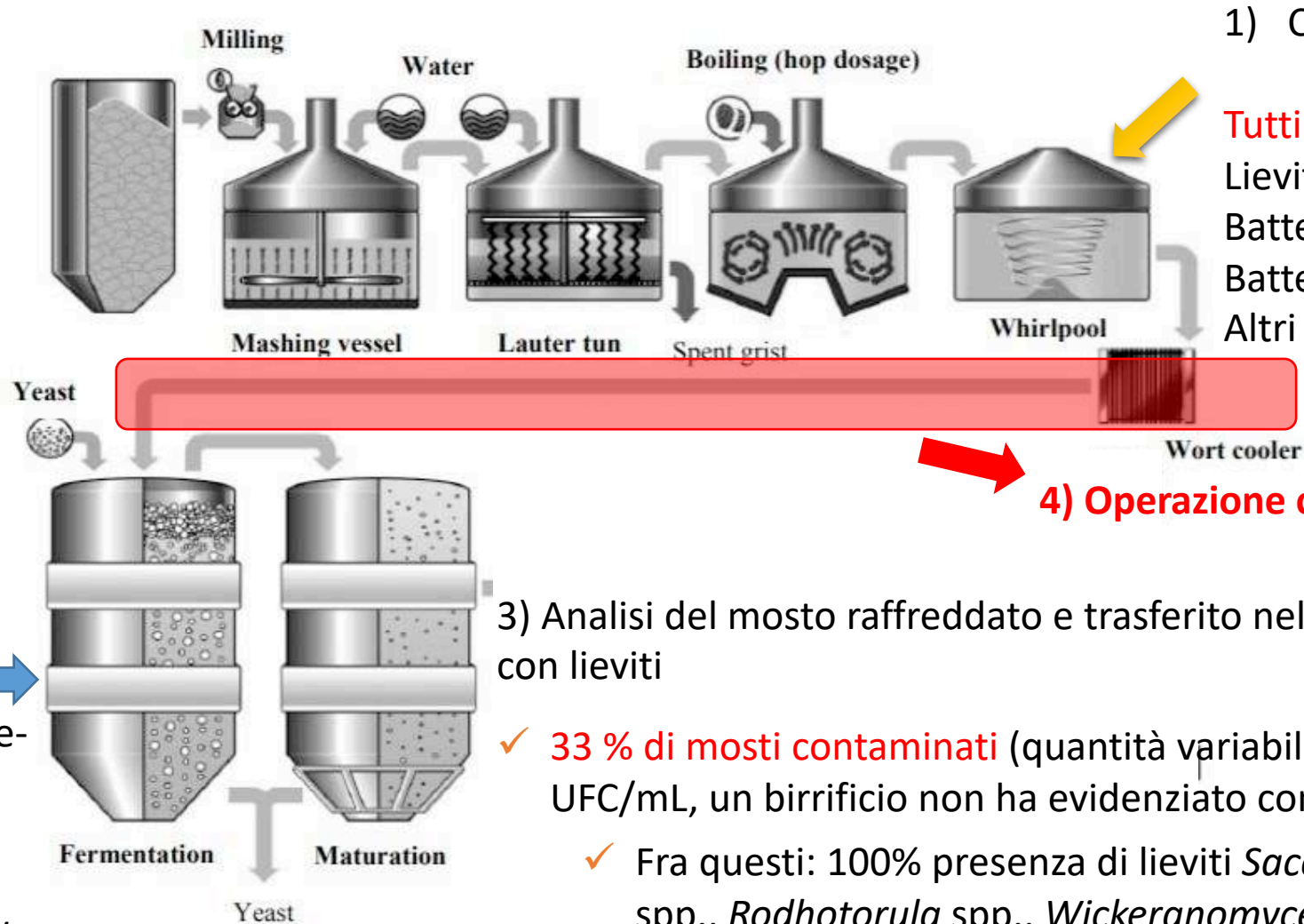
Analisi microbiologiche e chimiche durante il processo di produzione delle birre



- Mosto prima della bollitura
- Tampone 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 valutare uniformità di inoculo)



Analisi microbiologiche e chimiche durante il processo di produzione delle birre



1) Campioni di mosto post bollitura

Tutti i campioni:

Lieviti: < 10 UFC/mL

Batteri lattici: < 2 UFC/mL

Batteri acetici: < 10 UFC/mL

Altri batteri: < 10 UFC/mL

2) Tamponi fermentatore pre-riempimento.

Tutti i campioni:

Lieviti: < 10 UFC/mL

CBT: < 10 UFC/mL

Muffe: < 10 UFC/mL

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

✓ **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., *Aureobasidium* spp.)

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

4) Operazione critica del processo.

Contaminanti	Difetti prodotti nella birra.	
BATTERI GRAM POSITIVI		
<i>Lactobacillus brevis, Lb. brevisimilis, Lb. buchneri, Lb. coryneformis, Lb. curvatus,</i>	abbassamento del pH, aumento della viscosità del liquido e riduzione dei nutrienti per i lieviti.	Interazioni batteri lattici-lieviti
<i>Lactobacillus casei</i>	diacetile	
<i>Pediococcus damnosus e altre spp.</i>	Polisaccaridi, diacetile, ammine biogene	
BATTERI GRAM NEGATIVI		
<i>Pectinatus (anaerobio)</i>	acido propionico, acido acetico, acido succinico, acido lattico e acetoino.	<i>Pectinatus</i> diffuso nelle birre non pastorizzate e non filtrate nella fase di imbottigliamento <i>Batteri acetici</i> capacità di formare un biofilm
<i>Megasphaera (anaerobio)</i>	estrema torbidità del prodotto finito acido butirrico, acido acetico, acido isovalerico, acido valerico e acido caproico acetoino e acido solfidrico.	
<i>Zymomonas (anaerobio facoltativo)</i>	Acetaldeide, acido solfidrico, torbidità.	
LIEVITI		
<i>Brettanomyces spp.</i>	Etilfenoli	<i>Dekkera/Brettanomyces</i> NON è contaminante nelle birre Lambic
lieviti non- <i>Saccharomyces</i> : <i>Pichia spp., Candida spp., Kloeckera apiculata, Debaryomyces hansenii, Zygosaccharomyces spp</i>	Aromi sgradevoli in particolare acidi organici, sedimenti, biofilm superficiali	

Il monitoraggio del processo di produzione (analisi chimiche)

- ✓ FAN (free alfa aminoacidic nitrogen)
- ✓ Zuccheri fermentescibili
- ✓ Etanolo
- ✓ Glicerina
- ✓ Acido acetico (batteri acetici)
- ✓ Acido lattico (batteri lattici)
- ✓ Acido propionico (gram neg anaerobi)
- ✓ Ammine biogene (batteri lattici)
- ✓ Etil fenoli (*Brettanomyces*)

Analisi per il monitoraggio della fermentazione alcolica

- ✓ Monitorare il contenuto in **zuccheri fermentescibili** durante la fermentazione e la rifermentazione congiuntamente all'**etanolo** per individuare tempestivamente arresti fermentativi e la fine della fermentazione
- ✓ Controllare il contenuto di **FAN** a inizio e fine fermentazione e monitorare le birre con contenuti elevati con analisi microbiologiche e delle **ammine biogene**
- ✓ Monitorare il contenuto di **acido lattico, acetico e propionico** per valutare una eventuale non concordanza con i valori abituali e individuare precocemente, con l'ausilio dell'analisi microbiologica, lo sviluppo di batteri indesiderati

- **Analisi microbiologiche e chimiche durante il processo di produzione delle birre**

- ✓ Quindi le analisi chimiche possono coadiuvare l'analisi microbiologica nel diagnosticare tempestivamente la presenza di microrganismi alteranti prima che l'alterazione diventi evidente

Composto chimico	Microrganismi responsabili
Acido acetico	Batteri acetici, gram neg anaerobi
Acido lattico	Lattobacilli e Enterobatteri
Acido propionico	Gram negativi anaerobi
Diacetile	Enterobatteri
Ammine biogene	Lattobacilli e Pediococchi
Vinilfenoli	Enterobatteri
Etilfenoli	<i>Brettanomyces</i>

- **Analisi microbiologiche e chimiche durante il processo di produzione delle birre**

- ✓ L'inoculo di *Saccharomyces cerevisiae* è stato compreso fra i **50 e 100 g/hL**.
- ✓ La concentrazione di inoculo dei lieviti 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 del mosto al serbatoio di fermentazione
- ✓ La concentrazione di questi microrganismi non ha comunque mai superato **10⁴ UFC/mL** e non hanno compromesso le produzioni da un punto di vista chimico-fisico
- ✓ Presenza in alcune birre di microrganismi contaminanti ma a bassi livelli

- **Analisi microbiologiche e chimiche durante il processo di produzione delle birre**

- ✓ 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: **$1 \times 10^8 - 1 \times 10^9$ UFC/mL**

Batteri lattici: **< 2 UFC/mL**

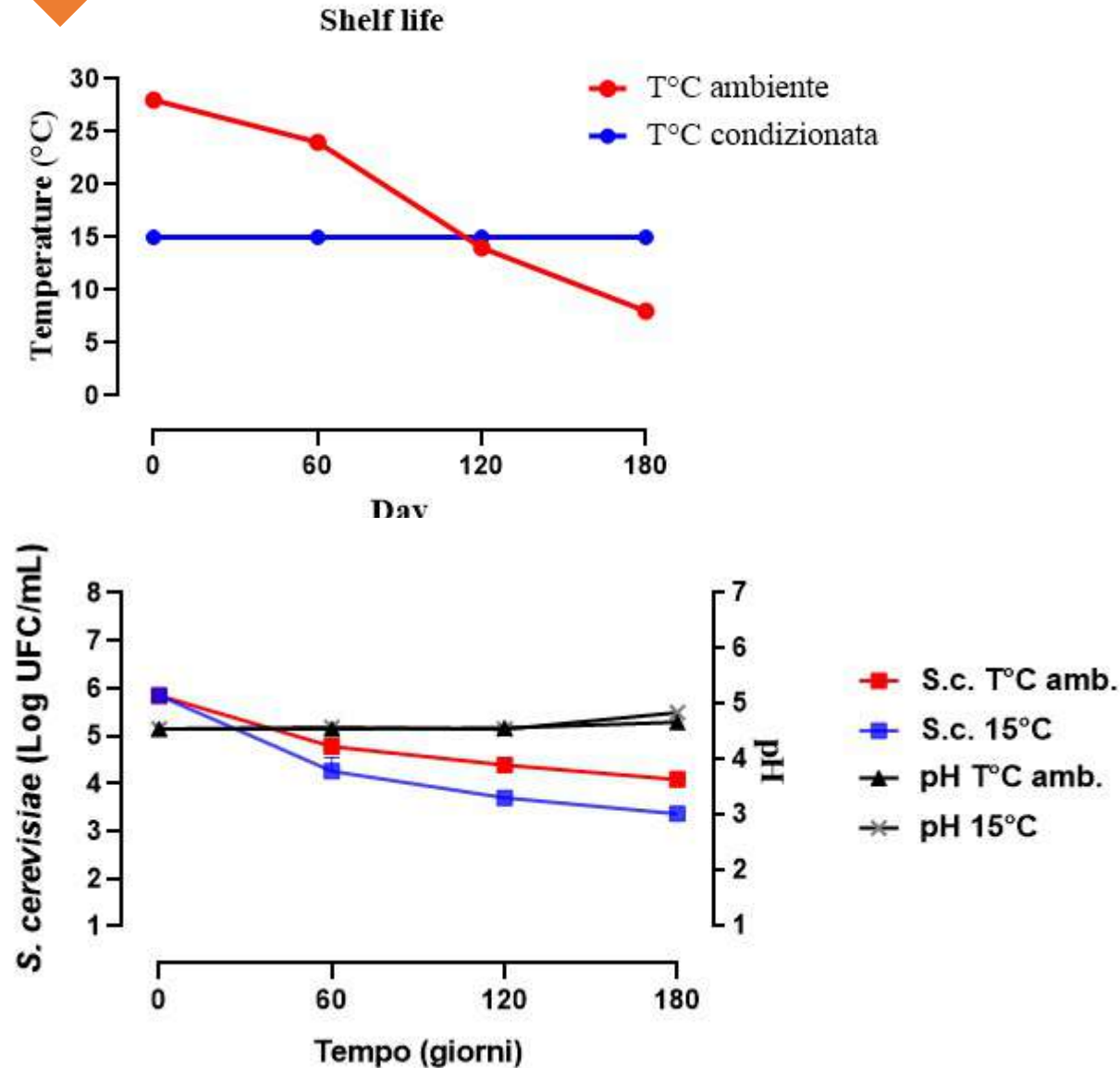
Batteri acetici: **< 10 UFC/mL**

Altri batteri: **< 10 UFC/mL**

Ipotizzabile re-pitching 1%



- Analisi microbiologiche e chimiche durante la *shelf life* delle birre



180 giorni a due condizioni differenti di temperatura:

- ✓ alla temperatura controllata di 15°C
- ✓ a temperatura ambiente (stoccaggio in un magazzino sottotetto sottoposto a variazioni di temperatura tipiche del periodo estivo e del periodo invernale per simulare una conservazione di magazzino)
- ✓ Analisi microbiologiche per valutare la *shelf life* sono state effettuate al momento della messa in commercio (fine rifermentazione in bottiglia T=0), poi rispettivamente a 60, 120, 180 giorni di conservazione
- ✓ Diminuzione della popolazione di *S. cerevisiae*
- ✓ Presenza in alcuni campioni di microrganismi contaminanti (batteri acetici, batteri latici, lieviti «wild»)

- **Stesura del Manuale di Buone Pratiche per la gestione e il controllo del processo di produzione di birre artigianali**

Schema riassuntivo rappresentante le analisi consigliate per il monitoraggio del processo produttivo di birra artigianale

Operazione nel processo	Tipologia di analisi	Metaboliti e/o popolazioni da ricercare
Fermentazione	-n. 5 Analisi chimiche (eventuale strumento interno)	-Zuccheri fermentescibili, -FAN, -Acido acetico -Acido lattico - pH
Maturazione	-n. 1 Analisi microbiologiche (laboratorio)	-Ricerca di contaminanti (lieviti selvaggi, batteri)
Imbottigliamento	-n. 2 Analisi chimiche (eventuale strumento interno)	-Zuccheri fermentescibili; -FAN; -Acido acetico -Acido lattico; -Etanolo; -pH
Rifermentazione	-n. 1 Analisi chimiche (eventuale strumento interno)	-Zuccheri fermentescibili; -FAN; -Acido acetico -Acido lattico; -Etanolo; -pH
Prodotto finito	-n. 1 Analisi chimiche e microbiologiche (laboratorio)	-Profilo chimico-fisico completo -Ricerca di contaminanti (lieviti selvaggi, batteri)
Shelf life prodotto (12 mesi)	-Analisi chimiche e microbiologiche (laboratorio)	-Profilo chimico-fisico completo -Ricerca di contaminanti (lieviti selvaggi, batteri)

- Stesura del Manuale di Buone Pratiche per la gestione e il controllo del processo di produzione di birre artigianali

Analizzatore automatico



Zuccheri totali (glu+fru+sacc+malt)
Zuccheri (glu+fru+sac)
pH
Acido D-lattico
Acido L-lattico
Grado alcolico
Azoto alfa amminico
Acido acetico

Criticità:
Utilizzo pipetta p1000
Utilizzo capillare
Limite massimo determinazione
zuccheri 25g/L



Formazione
del personale

30 Novembre 2022, Pistoia

Grazie per l'attenzione



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE
DAGRI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE
E TECNOLOGIE AGRARIE,
ALIMENTARI, AMBIENTALI E FORESTALI

Lisa Granchi
Damiano
Barbato
Eleonora Mari



D.R.E.A.M.
ITALIA

FOOD
MICRO
TEAM

FoodMicroTeam s.r.l.
Spin-Off Accademico
dell'Università degli Studi di Firenze

Simona
Guerrini
Silvia
Mangani



Regione Toscana

