



# Monitoraggio Microbiologico nel Microbirrificio

**Un approccio pratico per  
l'assicurazione della qualità della  
birra**

**Ing. Thiago Orestes  
Döhler GmbH – Darmstadt  
Germany**

**Craft Beer Italy – Milano  
22-23/11/2017**

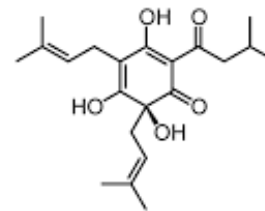
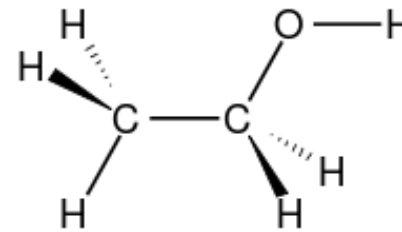
# 1. Qualità Microbica



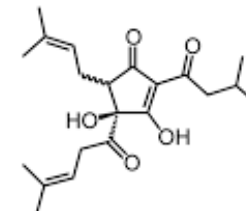
La Birra è un ambiente povero per i microrganismi. La sua composizione limita il numero di batteri che vi possono crescere.

## Birra

- Etanolo (4 - 8 vol/%)
- CO<sub>2</sub> (0,5 vol/%)
- Luppolo (10-50 mg/l)
- Basso O<sub>2</sub> (0,1 - 0,3 g/l)
- Basso livello di nutrienti
- Basso pH (3,8 - 4,7)



humulone



isohumulone

# 1. Qualità Microbica



Ma ci sono alcuni microrganismi altamente adattati che possono rovinare e danneggiare la qualità della Birra:

## Bacilli



*L. brevis*

### gram+

<i>L. Brevis</i>	40%
<i>L. Lindneri</i>	20%
<i>L. Brevisimilis</i>	3%
<i>L. casei</i>	3%
<i>L. frigidus</i>	2%
<i>L. coryniformis</i>	2%
<i>L. plantarum</i>	1%
<i>L. backii</i>	1%

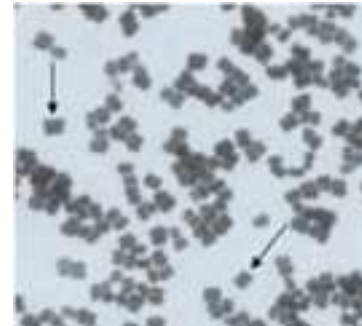
### gram-

<i>Pectinatus frisingensis</i>	4%
<i>Zymomonas mobilis</i>	1%
<i>Pantoea agglomerans</i>	1%
<i>Obesumbacterium proteus</i>	<1%
<i>Pectinatus cerevisiiphilus</i>	



*Pectinatus frisingensis*

## Cocchi



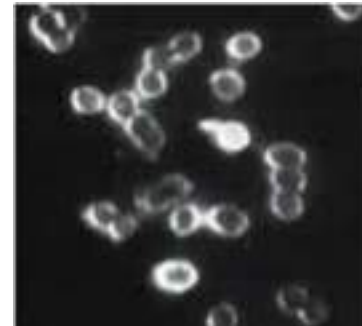
*Pediococcus damnosus*

### gram+

<i>Pediococcus damnosus</i>	17%
<i>Pediococcus inopinatus</i>	<1%
<i>Micrococcus kristinae</i>	<1%
<i>Lactococcus lactis</i>	<1%
<i>Lactococcus raffinolactis</i>	<1%
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<1%
<i>L. Paramesenteroides</i>	<1%
<i>Pediococcus clausenii</i>	

### gram-

<i>Megasphaera cerevisiae</i>	2%
-------------------------------	----



*Megasphaera cerevisiae*

# 1. Qualità Microbica



Sono divisi in base alla loro pericolosità e capacità di alterare la birra:

Obbligatori	Potenziati	Indiretti	Indicatori
<ul style="list-style-type: none"> <li>Elevata tolleranza alle caratteristiche della birra</li> <li>Senza tempo di adattamento</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Basso alcol/Basso Luppolo</li> <li>Elevato pH/ossigeno</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Prima della fermentazione principale</li> <li>Crescita non diretta nella birra</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Condizione igieniche</li> <li>Pulizia/disinfezione insufficiente</li> </ul>
Dove	Dove	Dove	Dove
<ul style="list-style-type: none"> <li>In quasi tutte le birre</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Zero o basso alcol</li> <li>Birra di grano, etc.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mosto, Lievito, Acqua</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Punti critici della linea</li> </ul>
Effetti	Effetti	Effetti	Effetti
<ul style="list-style-type: none"> <li>Torbidità</li> <li>Sedimentazione</li> <li>Off-flavors (ad esempio: ac. Lattico, diacetile, sapore fecale)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Torbidità</li> <li>Sedimentazione</li> <li>Off-flavors (ad esempio: ac. Lattico)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Fenolico</li> <li>DMS</li> <li>Acetoina</li> <li>Problemi nella fermentazione</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Nessun deterioramento diretto</li> </ul>
<i>Lactobacillus brevis/lindneri</i> <i>Pediococcus damnosus</i> <i>Megasphaera cerevisiae</i> <i>P.cerevisiiphilus/frisingensis</i> <i>Saccharomyces diastaticus</i>	<i>Lactobacillus plantarum,</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Micrococcus kristinae</i> <i>Zymomonas mobilis</i> <i>Saccharomyces pastorianus</i>	<i>Enterobacter agglomerans</i> <i>E.cloacae, Serratia marcescens</i> <i>Obesumbacterium proteus</i> <i>Candida kefyri</i> <i>Pichia anomala, wild yeast</i>	<i>Acetobacter pasteurianus</i> <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Debaryomyces hansenii</i> <i>Saccharomyces ,wild yeast</i>

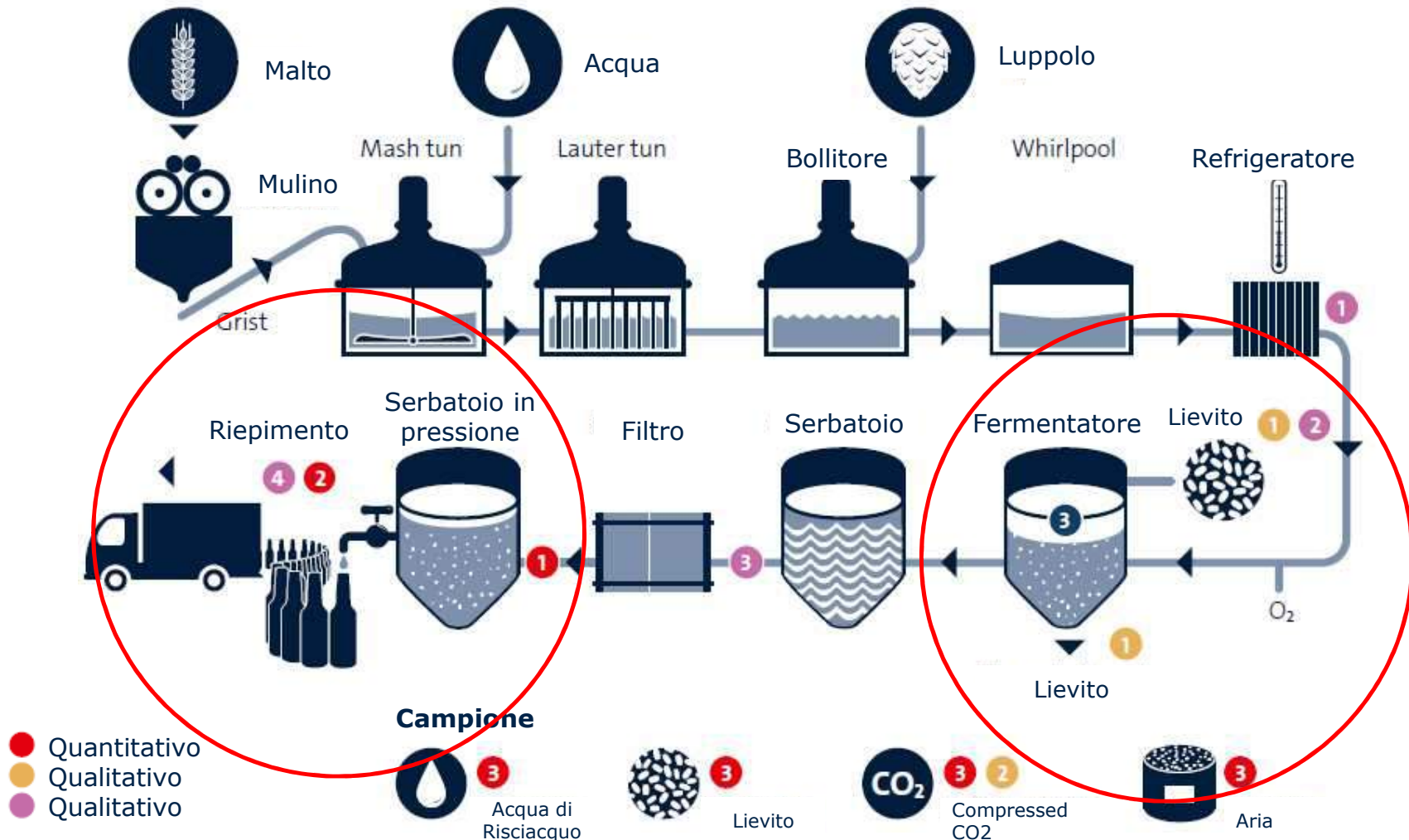
**Forte Pericolo**

**Debole Pericolo**

# 2. Campionamento



Un buon monitoraggio microbiologico inizia con un buon piano di campionamento, che copre tutti i punti critici di possibile contaminazione.



# 2. Campionamento



Ogni fase del processo richiede diverse forme di test:

Etichettatura	Tipo di Campione	Metodo
1 2	Birre chiare/ acqua di risciacquo	Filtrazione a membrana Pour-plate
3	Lievito	Diffusione o placatura su agar
3	Aria	Batteri ariosi
3 2	CO2 e aria compressa	Soffiando in acqua sterile e filtrazione a membrana su agar o gassazione diretta in brodo
1 2	Lievito	Campioni arricchiti
3 4	Campioni torbidi	Campioni arricchiti
1	Mosto	Campioni arricchiti

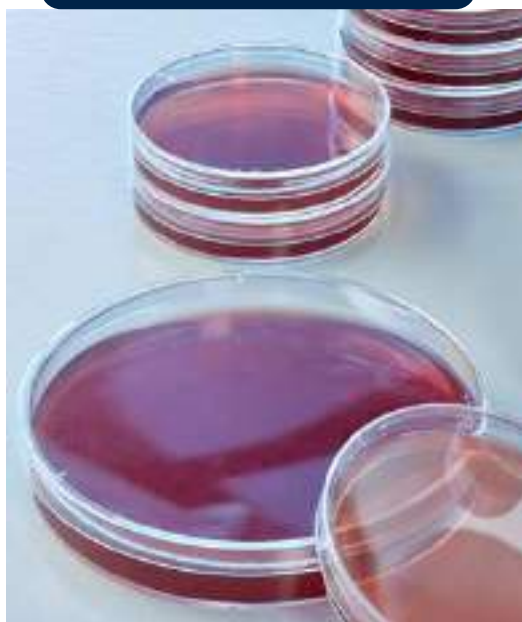


# 3. Metodo Tradizionale – Terreni di Coltura



Un terreno di coltura fornisce le migliori condizioni (per esempio nutrienti, pH) in diversi formati per la rapida crescita di microrganismi per renderli visibili.

**Solido**



**Risultato Quantitativo**  
[cfu/ml]

**Liquido**



**Selettività Regolabile.**  
**Risultato Qualitativo:**  
[sì/no]

**Liquido**



**Risultato Qualitativo**  
[yes/no]

# 3. Metodo Tradizionale – Terreni di Coltura



Agar – possibilità da contare le colonie.

**Solido**



**Risultato Quantitativo  
[cfu/ml]**



# 3. Metodo Tradizionale – Terreni di Coltura



Arricchimento – offrendo le migliori condizioni di crescita ai contaminanti nella birra

**Liquido**



**Selettività Regolabile.  
Risultato Qualitativo:  
[sì/no]**

# 3. Metodo Tradizionale – Terreni di Coltura



Liquido – veloce e affidabile

**Liquido**



**Risultato Qualitativo**  
[yes/no]

# 4. Laboratorio nel Birrificio



A seconda della dimensione del birrificio, richiede diversi test e controlli:

## Preparazione Campione



## Incubazione



## Valutazione



# 5. Biofilm



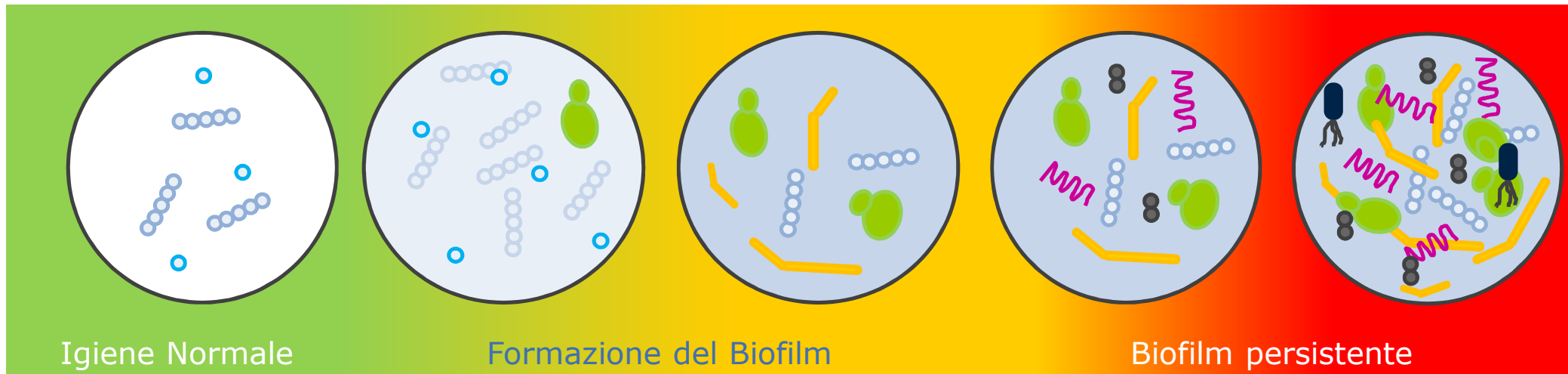
„...una contaminazione biologica trovata in quasi ogni superficie a contatto con un fluido“.

- Resistenza agli agenti di pulizia e misure di disinfezione: protezione contro lo stress ambientale
- Comunemente trovati: lieviti selvatici, lattici, acetici, Acetivobacter, Pseudomonas, Enterobatteri, Rhodotorula glutinis, Cryptococcus albidus, Geotrichum candidum, Arubasidium pullulans.
- La biomassa può servire come sostanza nutritiva per altri microrganismi come gli alterativi della birra
- Una superficie pulita all'occhio umano non è necessariamente esente da contaminanti e Biofilm
- L'imbottigliamento deve avvenire in condizioni di igiene altamente controllate

# 5. Biofilm



Fasi di formazione del biofilm:





- I microrganismi si stabiliscono

- Incapsulamento di microrganismi che formano film protettivo
- scudo contro il calore, asciugatura, disinfezione
- trasformazione in condizioni anaerobiche
- Variazione del pH mediante autolisi dei microrganismi

- Diversi microbi associati


- Separazione e diffusione


 Produttore di melma  
*Enterobacter, Rhodotorula*


 Acetic acid bacteria  
e.g. *Gluconocater*

 Lieviti  
*Candida, Saccharomyces*

 Batteri Lattici  
*Lactobacillus*

 *Pectinatus*

 *Megasphaera*

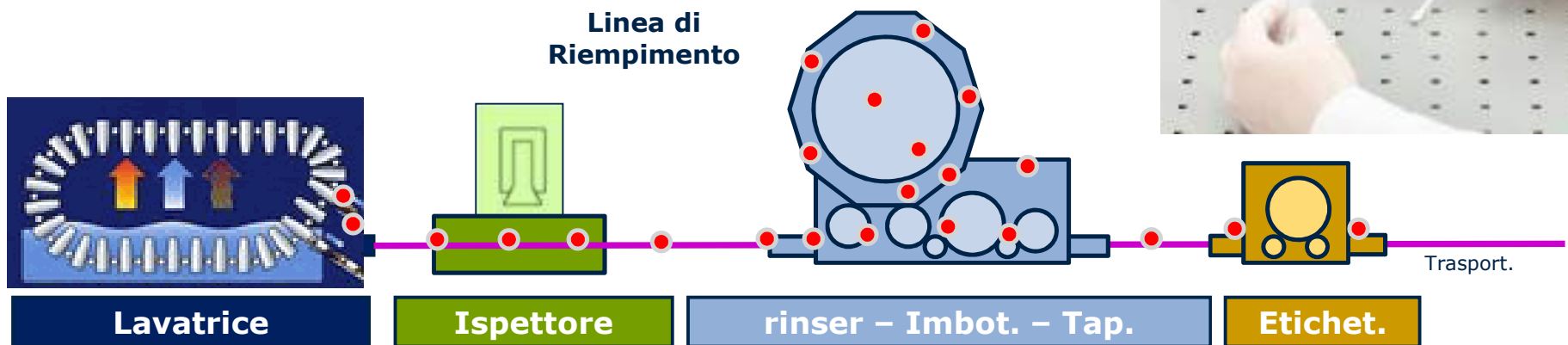
 *E. Coli, Coliformi*

# 5. Biofilm



Il monitoraggio regolare dello stato igienico è uno strumento fondamentale per tenere traccia di possibili punti deboli all'interno dei protocolli di pulizia e igiene e migliorare ulteriormente questi protocolli

1. Definire 20-30 punti critici a contatto diretto o indiretto con la linea di riempimento
2. Prendete i tamponi in questi punti, incubandoli e valutateli per pos./neg.
3. Ripetere la sessione settimanale per un monitoraggio continuo



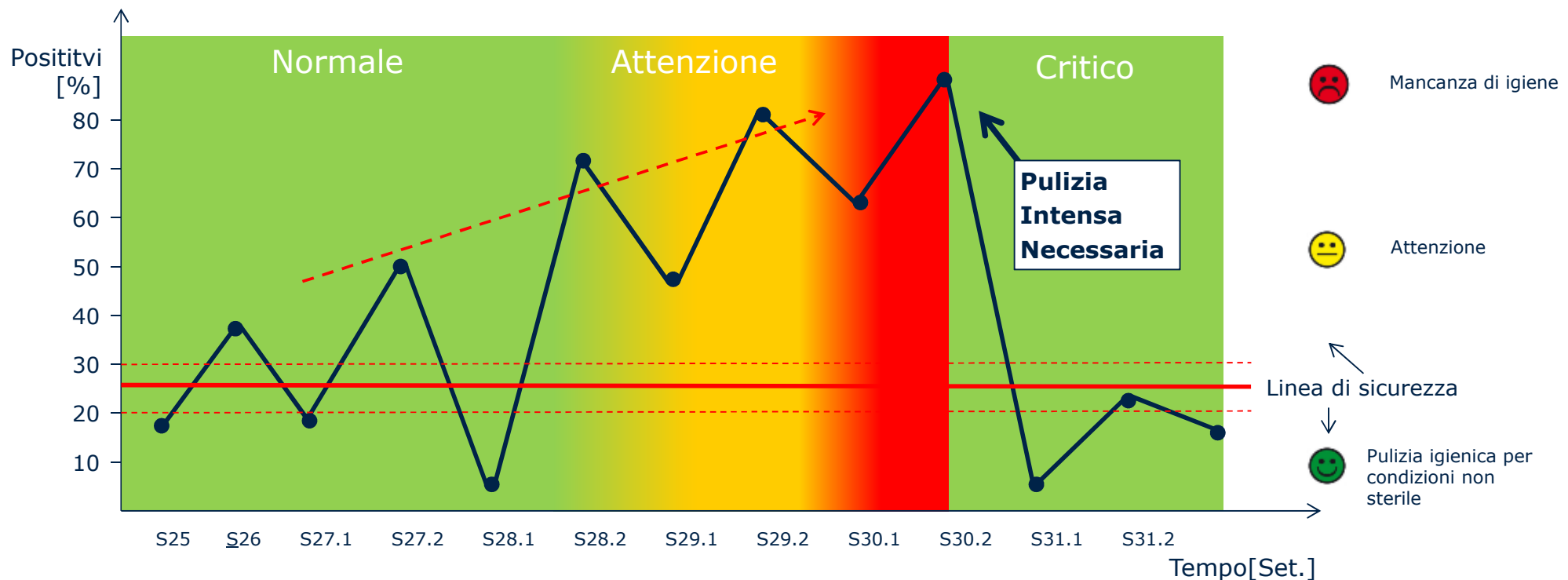
# 5. Biofilm



## Rilevamento dei microrganismi indicatori di Biofilm

Mettere i risultati in un diagramma ( $y = \% \text{ of positivi}$ ,  $x = \text{tempo}$ ) con una linea di sicurezza, con un intervallo compreso tra 20 e 30%. Collegare i punti con una linea.

Ripetere per tutto l'anno la procedura per ottenere una panoramica continua dello stato microbiologico





**„Gli amici teneteli stretti... ma i nemici,  
ancora più stretti“**



# Grazie



**Domande?**

DOKLE