



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**

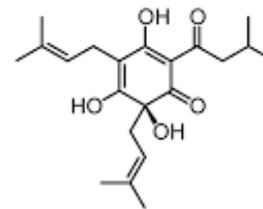
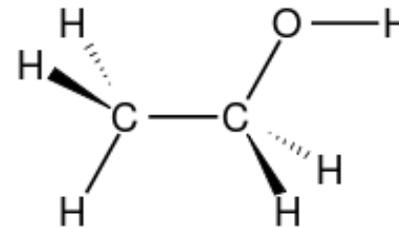
1. Qualità Microbica



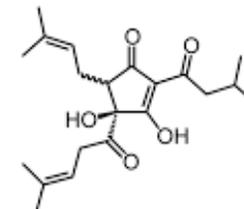
La Birra è un ambiente povero per i microrganismi. La sua composizione limita il numero di batteri che vi possono crescere.

Birra

- Etanolo (4 - 8 vol/%)
- CO₂ (0,5 vol/%)
- Luppolo (10-50 mg/l)
- Basso O₂ (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%

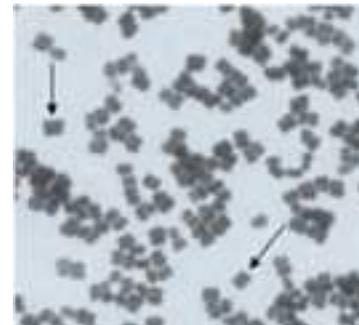
gram-

<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



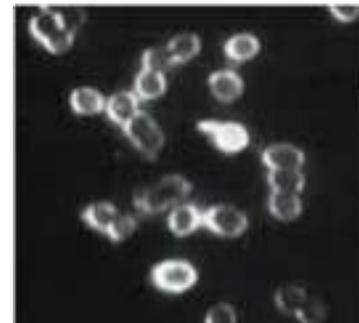
Pediococcus damnosus

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"> Elevata tolleranza alle caratteristiche della birra Senza tempo di adattamento 	<ul style="list-style-type: none"> Basso alcol/Basso Luppolo Elevato pH/ossigeno 	<ul style="list-style-type: none"> Prima della fermentazione principale Crescita non diretta nella birra 	<ul style="list-style-type: none"> Condizione igieniche Pulizia/disinfezione insufficiente
Dove	Dove	Dove	Dove
<ul style="list-style-type: none"> In quasi tutte le birre 	<ul style="list-style-type: none"> Zero o basso alcol Birra di grano, etc. 	<ul style="list-style-type: none"> Mosto, Lievito, Acqua 	<ul style="list-style-type: none"> Punti critici della linea
Effetti	Effetti	Effetti	Effetti
<ul style="list-style-type: none"> Torbidità Sedimentazione Off-flavors (ad esempio: ac. Lattico, diacetile, sapore fecale) 	<ul style="list-style-type: none"> Torbidità Sedimentazione Off-flavors (ad esempio: ac. Lattico) 	<ul style="list-style-type: none"> Fenolico DMS Acetoina Problemi nella fermentazione 	<ul style="list-style-type: none"> Nessun deterioramento diretto
<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>

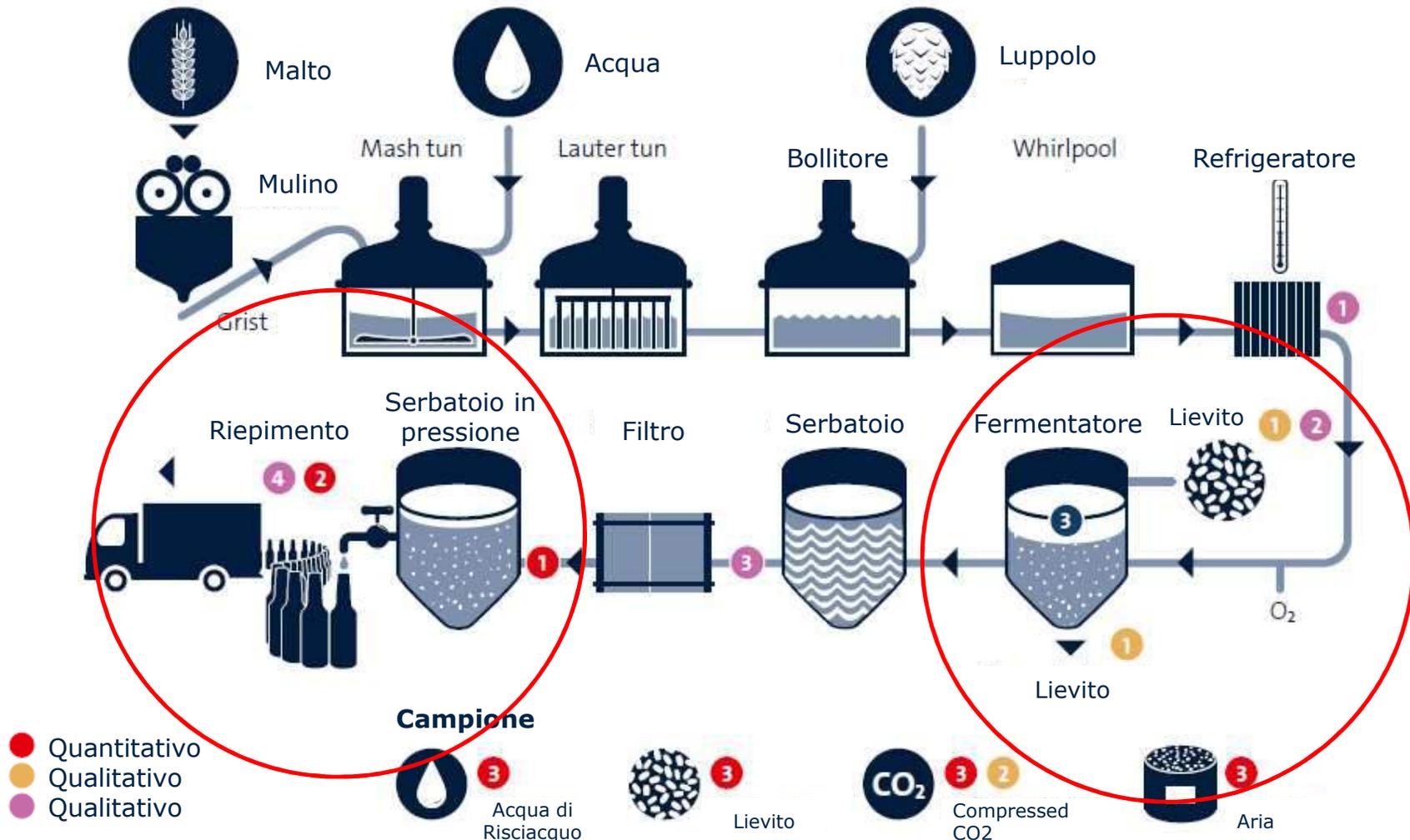
Forte Pericolo

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

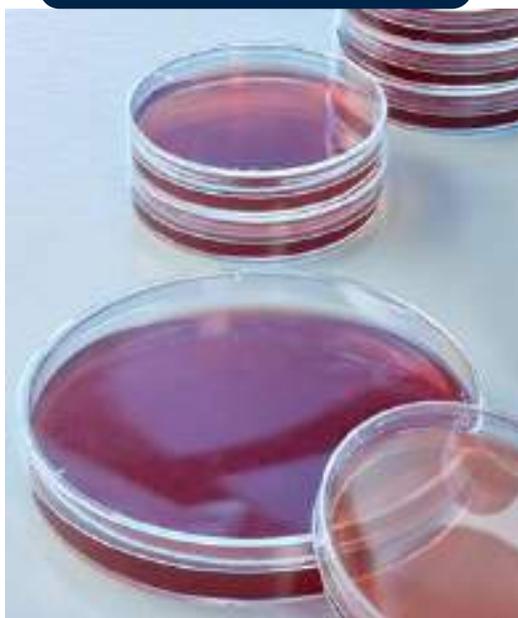


3. Metodo Tradizionale – Terreni di Coltura



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



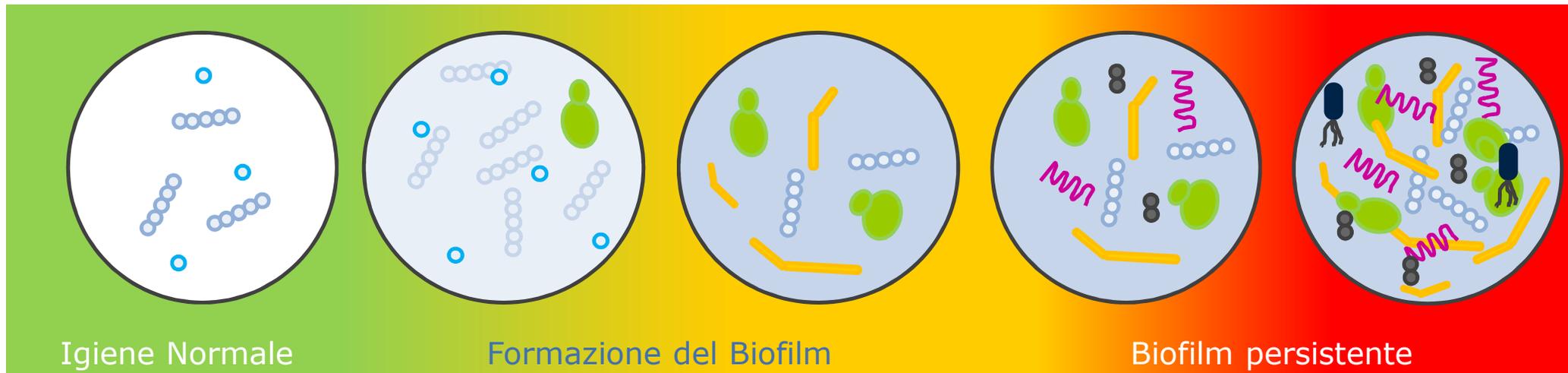
„...una contaminazione biologica trovata in quasi ogni superficie a contatto con un fluido“.

- 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*

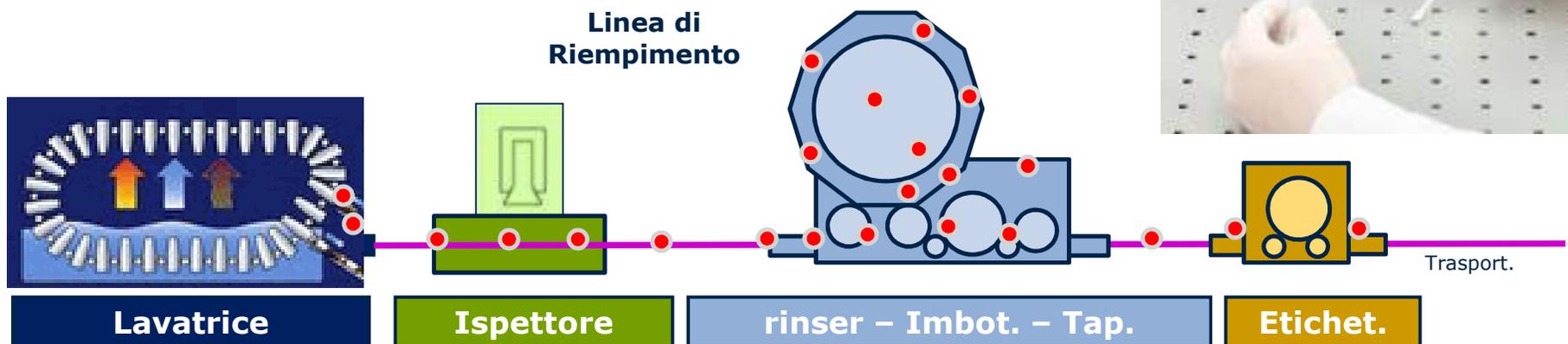
 *E. Coli, Coliformi*

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



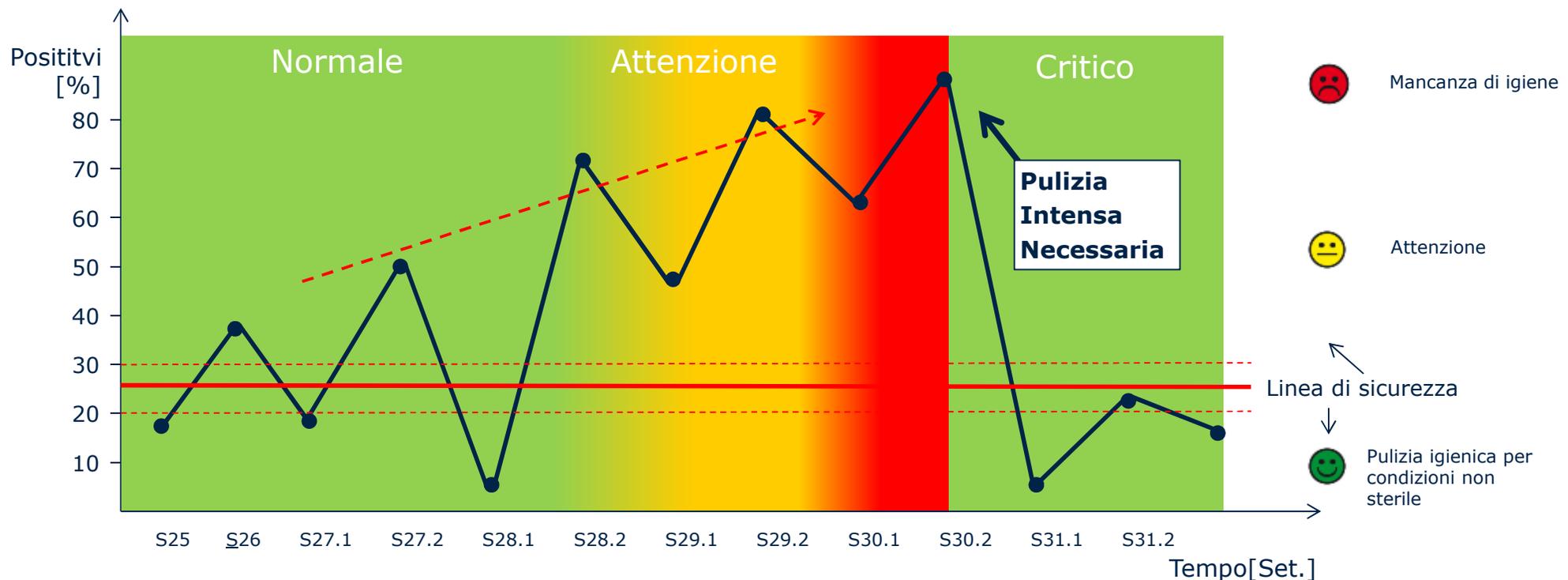
5. Biofilm



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

A photograph of two scientists in a laboratory setting. A woman on the left and a man on the right, both wearing white lab coats and safety glasses, are looking at a petri dish held by the man. The petri dish contains a greenish-yellow substance. The background is a blurred laboratory environment with blue lighting.

Domande?

A small logo in the bottom right corner of the image, featuring a stylized green leaf and the word "DOKLE" in a circular emblem.