

# COME MIGLIORARE IL PROCESSO DI BIRRIFICAZIONE

Raccolta di articoli e casi studio

## INDICE:

Le analisi per il controllo del processo di produzione della birra.	Pag.3
L'evoluzione degli zuccheri e della densità del mosto durante la fermentazione della birra.	Pag.7
CDR BeerLab®: l'effetto del Dry-Hopping sugli zuccheri fermentescibili e sul grado alcolico.	Pag.12
L'importanza di un corretto recupero del lievito.	Pag.14
Quell'aroma di burro chiamato diacetile!	Pag.19
CDR BeerLab®: gli effetti del "Late-hopping" e del Dry-hopping sull'amaro.	Pag.21
L'analisi dell'ammestamento in birrificio.	Pag.23
L'importanza silenziosa dell'acqua nella produzione della birra.	Pag.25

*La birra non esiste,  
esistono le birre!*

Lorenzo “Kuaska” Dabove

## Le analisi per il controllo del processo di produzione della birra

### Introduzione

Il settore brassicolo internazionale, negli ultimi anni, vede come protagonista una crescente offerta di birre artigianali, che nasce dalle richieste dei consumatori, sempre più educati al gusto e alla qualità.

Si parla infatti della cosiddetta “craft beer revolution”, che ha orientato ormai le strategie di marketing verso un recupero e una reinterpretazione di stili tradizionali, nonché un utilizzo di materie prime, al fine di esaltare i caratteri di genuinità e naturalezza. Anche in Italia, il successo del settore *craft* è stato travolgente, non a caso, recentemente si è registrata una progressiva e considerevole diffusione di microbirrifici e, parallelamente, una crescente popolarità delle birre da essi prodotte e commercializzate. Si può quindi parlare di un vero e proprio “movimento” costituito da esperti ed imprese fortemente eterogenee dal punto di vista delle caratteristiche produttive e strategico-organizzative [1], che rispondono alla domanda del consumatore con lo stesso criterio, ovvero con un prodotto di qualità.

Appare evidente che la qualità di un prodotto debba misurarsi con l’analisi di parametri oggettivi, al fine di eseguire un controllo durante il processo di produzione della birra.

### Parametri di analisi

Determinazione del pH: Il valore del pH del mosto di birra in fase di ammostamento è un parametro molto importante. Nei malti sono presenti diverse tipologie di enzimi (amilasi), ognuno con proprie caratteristiche che li porta ad entrare in azione a temperature e pH differenti. Si può quindi dire che ogni enzima presente nel malto ha una “finestra di operatività”, che garantisce la perfetta conversione dell’amido in zuccheri fermentescibili



e destrine. Un pH ottimale in fase di ammostamento è compreso fra 5.2 e 5.8, infatti le principali reazioni enzimatiche durante il processo di ammostamento avvengono in questo range.

Determinazione dell’amido: Nella fase di ammostamento l’amido viene convertito in zuccheri semplici grazie agli enzimi presenti nel malto. Un controllo dell’effettiva conversione può essere fatto misurando l’amido residuo nel mosto, così da poter proseguire con le operazioni successive. La misura dell’amido è forse più di tutti il parametro che indica la fine dell’ammostamento.

Determinazione del FAN: Durante la fase di ammostamento si produce azoto amminico libero (FAN). Esso è un importante nutriente e svolge un ruolo essenziale per mantenere vive le cellule del lievito durante la fermentazione. Determinare la quantità di FAN durante la fase di ammostamento consente ai produttori di birra di decidere se aggiungere o meno, nutrienti supplementari al mosto, prima della fermentazione. Misurare questo parametro è significativo per il processo della fermentazione. Infatti, livelli bassi di FAN sono indicativi di un processo di fermentazione lento e incompleto. In questo modo si possono evitare perdite di prodotto e risparmiare sui costi. Se non vengono immessi i nutrienti necessari, il mash potrebbe non completare la sua

fermentazione, poiché le cellule del lievito non sopravvivono per mancanza di azoto amminico libero. Mentre, in presenza di una quantità eccessiva di nutrienti, la birra potrebbe essere infettata da microbi che rovinerebbero la qualità del prodotto finale.

#### Determinazione degli zuccheri fermentescibili:

Durante la fermentazione, il lievito trasforma gli zuccheri fermentescibili, prodotti durante l'ammontamento, in etanolo e CO<sub>2</sub>. Il lievito è un organismo unicellulare che sviluppa il suo lavoro in tre fasi distinte: la respirazione, ovvero il lievito va ad attingere alle riserve di ossigeno presenti nel mosto per immagazzinare energia che gli servirà successivamente; la fermentazione: le cellule del lievito si riproducono convertendo gli zuccheri in alcol e anidride carbonica; e infine, la fase di sedimentazione: il lievito dopo aver consumato la quasi totalità degli zuccheri presenti nel mosto, si deposita sul fondo del fermentatore. Controllare la quantità degli zuccheri fermentescibili residui permette di attestare la fine della fermentazione. Gli zuccheri fermentescibili presenti nel mosto di birra sono: glucosio e fruttosio (10-15 %) (monosaccaridi), maltosio (50-60%) (disaccaride formato da due molecole di glucosio) e maltotriosio (15-20%) (polisaccaride formato da tre molecole di glucosio). Vengono detti zuccheri fermentescibili perché possono essere digeriti dai lieviti.

Il maltotriosio, a differenza degli altri zuccheri, è uno zucchero parzialmente fermentescibile, vale a dire che spesso non viene completamente digerito dai lieviti, poiché non tutti i ceppi di lievito sono in grado di fermentarlo completamente.

Determinazione dell'amaro (IBU): Il principale contributo al sapore amaro della birra proviene dagli iso-alfa-acidi del luppolo, una pianta a fiore appartenente alla famiglia delle *Cannabaceae*. Il luppolo, oltre a stabilizzare la schiuma e conferire un gusto più accattivante, fornisce alla birra l'amaro, che è necessario per contrastare la stucchevole dolcezza del malto ed equilibrarne così sapori e aromi. Sono gli alfa-acidi del luppolo presenti nelle resine a fornire la maggior parte

delle proprietà amaricanti. Durante la bollitura essi subiscono un cambiamento strutturale detto *isomerizzazione*, che ne aumenta la solubilità e crea i composti amaricanti che rimarranno fino al momento della mescolata e degustazione della birra finita.

La birra è quindi il risultato dell'unione del sapore dolce e rotondo dell'orzo convertito in malto, con il retrogusto gradevolmente amarognolo fornito dal luppolo.

Determinazione del colore: Facendo un breve excursus storico, negli ultimi cinquant'anni sono state utilizzate una mezza dozzina di tecniche per valutare il colore della birra, e tutte hanno fornito risultati diversi. Il sistema originale Lovibond è ancora in uso, e alcuni metodi per la determinazione del colore si riferiscono ad esso, il quale si basava su una comparazione visiva tra un campione di birra o mosto e un insieme di standard di vetro colorati, corrispondenti ai gradi Lovibond. Il sistema tentava di catturare il bilanciamento giallo/rosso e l'intensità complessiva di colore con un singolo standard per ogni grado Lovibond. Ovviamente, questo metodo era precedente all'avvento di spettrofotometri convenienti e affidabili per stimare la quantità di luce assorbita dalla birra contenuta in una cuvetta illuminata da una luce ad una precisa lunghezza d'onda [2]. Infatti, ad oggi, le caratteristiche cromatiche di una birra sono definite dal suo colore tramite la lettura di assorbenza a 420 nm. Un altro aspetto curioso è quello di ricercare le cause del colore di una birra nei prodotti della reazione di Maillard. Per reazione di Maillard si intende una serie complessa di fenomeni che avviene in seguito all'interazione di zuccheri (glucosio, fruttosio, maltosio, etc) ed amminoacidi, in processi ad alte temperature e in condizione di bassa attività dell'acqua. Tali condizioni si verificano, appunto, in fase di maltazione dell'orzo, ovvero quando le cariossidi germinate vengono dapprima essiccate e poi riscaldate alla temperatura specifica per l'ottenimento del malto desiderato. In altre parole, è intuitivo comprendere che le birre scure

si ottengono da malti molto tostati, viceversa le più chiare da malti sottoposti a blandi trattamenti termici.

Determinazione del grado alcolico: la determinazione del grado alcolico all'interno della birra non solo costituisce un parametro importante di processo per la produzione della stessa, ma rappresenta anche un parametro per conoscere il valore delle accise, che gravano sul produttore (), a seconda della percentuale di zuccheri presenti nel mosto prima di fermentare. Questa percentuale prende il nome di grado saccarometrico che viene indicato in gradi Plato (°P). A tal proposito, la Legislazione italiana suddivide la birra nelle seguenti categorie:

- Birra analcolica: grado Plato compreso tra 3 e 8, gradazione alcolica < 1.2 % vol;
- Birra leggera: grado Plato compreso tra 5 e 10.5, gradazione alcolica > 1.2 % vol;
- Birra normale: grado Plato oltre 10.5, gradazione alcolica > 4.5 % vol;
- Birra speciale: grado Plato oltre 12.5, gradazione alcolica > 5.5 % vol;
- Birra doppio malto: oltre 15 °P, gradazione alcolica > 6.5 %vol.

Da sottolineare che è entrato nel linguaggio comune l'espressione "birra doppio malto", main realtà non ha alcun significato se non di tipo fiscale.

Determinazione dell'acido lattico: L'acido lattico è il prodotto della fermentazione ad opera principalmente dell'attività microbica, infatti la sua concentrazione è correlata alla carica batterica totale. I batteri lattici sono microrganismi che creano acido lattico come principale prodotto della fermentazione dei carboidrati, producono quantità molto piccole di CO<sub>2</sub>, tollerano bene un'elevata acidità (alcune specie continuano a crescere fino a circa pH 3), fermentano fra i 15 e i

35°C e si sviluppano ottimamente anche con basse concentrazioni di ossigeno.

L'azione dei batteri lattici è limitata da abbondanti luppolature e alte concentrazioni di alcol. Anche se normalmente i batteri lattici sono responsabili di difetti della birra, se correttamente utilizzati sono in grado di contenere o di escludere la presenza di altri microrganismi non desiderati. Quindi una analisi chimica per la determinazione della concentrazione di acido lattico nella birra risulta un utile indicatore del buono stato di conservazione del prodotto. Ovviamente il controllo di questo parametro sarà tanto più utile quanto più tempestiva e rapida sarà l'analisi.

Determinazione dell'anidride solforosa: L'anidride solforosa (SO<sub>2</sub>) totale viene naturalmente prodotta durante il processo di fermentazione primaria e nella fase di rifermentazione. La sua azione antiossidante permette di prolungare la shelf life della birra.

I solfiti sono ampiamente utilizzati come additivi nelle bevande per impedire il deterioramento per ossidazione e la crescita batterica durante la loro produzione e il loro stoccaggio.

In particolare, il biossido di zolfo viene considerato come il fattore più importante nel preservare la durata della birra, perché inibisce la sua ossidazione. Infatti, è impiegato dai produttori di birra sotto forma di matabisolfito di potassio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), comunemente conosciuto come E224.

## CDR BeerLab®



Esiste un sistema di analisi sviluppato per effettuare il controllo e monitoraggio del processo di

birrificazione durante tutte le sue fasi e porta il nome di CDR BeerLab®.

Grazie a CDR BeerLab® è possibile eseguire un'ampia gamma di analisi su mosto e birra, in modo rapido e più semplice rispetto ai metodi tradizionali.

Un sistema versatile che soddisfa le esigenze dei mastri birrai e dei birrifici di tutte le dimensioni, senza rivolgersi a laboratori esterni, in assoluta e piena autonomia.

CDR BeerLab® è un vero e proprio laboratorio di analisi, costituito da un analizzatore a tecnologia fotometrica con 4 celle di lettura e 16 di incubazione, termostatate a 37 °C; un kit di reagenti pre-infiati e pronti all'uso, in modo tale da non aver bisogno di laboratori attrezzati di cappe aspiranti ed apposita vetreria; ed infine la funzione “Help” che descrive e guida step by step le procedure di analisi, che possono essere eseguite anche da personale non specializzato. CDR BeerLab® è quindi un sistema compatto, dotato di tutto ciò che serve per testare la qualità della birra, evidenziando nel settore brassicolo i suoi punti di forza, quali:

1. **Innovazione:** nel settore del controllo qualità su mosti e birra, CDR presenta un sistema di analisi innovativo, che cambia radicalmente il modo di eseguire le analisi;
2. **Affidabilità:** diversi studi comparativi realizzati da laboratori certificati dimostrano la stessa accuratezza dei risultati dei metodi tradizionali;
3. **Semplicità:** non c'è bisogno di tecnici specializzati perché tutti possono

eseguire l'ampio pannello di analisi semplicemente;

4. **Green:** il sistema CDR BeerLab® ha un basso impatto ambientale, dovuto alla minima produzione dei rifiuti e ai ridotti volumi di campione e reagente impiegati.

## Conclusioni

Per ottenere il corretto controllo della birrificazione è molto utile poter eseguire le analisi in modo autonomo, direttamente nel birrificio, velocemente, senza rivolgersi a un laboratorio esterno. CDR BeerLab® permette di monitorare costantemente il processo produttivo, ottenendo risposte precise in pochi minuti, senza il supporto di personale tecnico specializzato.

## Bibliografia

- [1] R.Espositi, M.Fastigi, E.Viganò, *Il movimento italiano delle birre artigianali: il caso dei birrifici agricoli*, Agriregionieuropa, anno 11 n.43, Dic.2015
- [2] R.Daniels *Progettare grandi birre* Edizioni LSWR

## L'evoluzione degli zuccheri e della densità del mosto durante la fermentazione della birra

Simone Bellassai Chimico - Enologo e esperto di analisi su alimenti e bevande presso CDR – Lisa Mearelli ricercatore del CDR Chemical Lab “Francesco Bonicolini”

Uno dei problemi cruciali del controllo del processo di birrificazione è la corretta individuazione della conclusione della fermentazione. Un'altra fase del processo di produzione della birra, che può essere causa di sgradevoli problemi, è il priming.

I ricercatori del laboratorio chimico di CDR “Francesco Bonicolini” hanno condotto uno studio sulla produzione della birra con l'obiettivo di:

- comprendere quale sia il metodo migliore per determinare la conclusione del processo di fermentazione
- determinare la concentrazione residua di zuccheri in modo da evitare problemi nella fase di priming.

A questo scopo sono state studiate la evoluzione degli zuccheri fermentescibili e la variazione della densità del mosto durante la fermentazione.

### Gli zuccheri nel mosto di birra

Nel mosto di birra possono essere presenti quattro tipi di zuccheri:

- **Glucosio e fruttosio:** zuccheri semplici completamente fermentescibili da parte dei lieviti usati in birrificazione;
- **Maltosio:** zucchero complesso, formato da due molecole di glucosio, completamente fermentescibile da parte dei lieviti;
- **Maltotriosio:** zucchero complesso, formato da tre molecole di glucosio, completamente fermentescibile solo da alcuni lieviti usati in birrificazione, mentre per altri è parzialmente fermentescibile o addirittura infermentescibile;
- **Saccarosio:** zucchero complesso, formato da una molecola di glucosio e una di fruttosio, facilmente fermentescibile da parte dei lieviti.

Glucosio, fruttosio, maltosio e maltotriosio sono zuccheri naturalmente presenti nel mosto di birra perché derivanti dall'amido dell'orzo utilizzato in ammostamento, invece il saccarosio può essere aggiunto dal birraio se la ricetta della birra da produrre lo prevede.

### Materiali e metodi

Per poter eseguire questo studio è stato necessario produrre in laboratorio due mosti di birra con le seguenti ricette.

#### RICETTA BIRRA 1

INGREDIENTI	TIPOLOGIA	QUANTITÀ
Estratto di malto	<i>Estratto di malto liquido extra light</i>	489 gr
Estratto di malto secco	<i>Estratto di malto secco extra light</i>	250 gr
Luppolo	<i>Luppolo in pellet Cascade</i>	22 gr
Bucce d'arancia	<i>Bucce d'arancia dolce essiccate</i>	23 gr
Saccarosio	<i>Zucchero da cucina</i>	50 gr
Acqua	**	5 L
Lievito	<i>White labs WLP002 (attenuazione: 63-70%)</i>	8,7 mL



## RICETTA BIRRA 2

INGREDIENTI	TIPOLOGIA	QUANTITÀ
Estratto di malto	<i>Estratto di malto liquido extra light</i>	489 gr
Estratto di malto secco	<i>Estratto di malto secco extra light</i>	250 gr
Luppolo	<i>Luppolo in pellet Cascade</i>	22 gr
Bucce d'arancia	<i>Bucce d'arancia dolce essiccate</i>	23 gr
Saccarosio	<i>Zucchero da cucina</i>	50 gr
Acqua	**	5 L
Lievito	<i>White labs WLP099 (attenuazione: 80-100%)</i>	7,6 mL

\*\* L'acqua utilizzata aveva le seguenti caratteristiche:

- Calcio: 115 mg/L
- Alcalinità: 98 ppm
- Solfati: 256 mg/L
- Cloruri: 56 mg/L

### I lieviti impiegati

Le birre sono state prodotte seguendo per entrambe una ricetta per birre IPA, eccetto che per il lievito. Infatti in una birra è stato aggiunto al mosto un lievito a bassa attenuazione, mentre nell'altra un lievito ad alta attenuazione. Le caratteristiche dei lieviti utilizzati sono le seguenti:

- *White Labs WLP002*: è un lievito a bassa attenuazione (63-70%) che quindi non riesce a trasformare tutti gli zuccheri in alcol. Il range di temperatura ottimale per la fermentazione è 18-20°C, presenta una flocculazione molto alta e ha una media tolleranza all'alcol (5-10% v/v).  
È comune una leggera produzione di diacetile. A causa dell'elevata flocculazione di questo ceppo, la birra finita sarà chiara e il lievito può essere facilmente raccolto dal fermentatore per un uso futuro. È comune per questo lievito sembrare coagulato.
- *White Labs WLP099*: è un lievito ad alta attenuazione (80-100%) che quindi riesce a trasformare quasi tutti gli zuccheri in alcol. Il range di temperatura ottimale per la fermentazione è 18-20.5°C, presenta una flocculazione di grado medio e ha una tolleranza all'alcol molto alta (>15% v/v). Questo tipo di lievito è stato geneticamente modificato per aumentare la percentuale di attenuazione.

Dal momento dell'inoculo dei due lieviti per ogni mosto sono stati raccolti i dati sulla concentrazione degli zuccheri fermentescibili e sulla densità del mosto.

### Gli strumenti di misura e le analisi

Per determinare la variazione della concentrazione degli zuccheri fermentescibili è stato impiegato **CDR BeerLab®**, mentre per misurare la variazione della densità del mosto è stato utilizzato un densimetro digitale portatile. Grazie a questi due strumenti sono stati raccolti i dati dall'inoculo del lievito fino al momento in cui si è ritenuto che la fermentazione fosse terminata. Per ogni sessione d'analisi, sono stati prelevati da ogni recipiente circa 10 mL di mosto in fermentazione e filtrati con dei filtri di carta. Per la misura della densità sono stati necessari circa 3 mL di campione, mentre per l'analisi con CDR BeerLab® è stato sufficiente impiegarne circa 1 mL per portare a termine tutte le analisi.

## I risultati

Nelle tabelle seguenti sono riportati i dati raccolti divisi per ogni mosto.

Strumento di misura	CDR BeerLab®						Densimetro
Data e ora dell'analisi	Glucosio+ Fruttosio+ Maltosio (g/L)	Glucosio+ Fruttosio+ Maltosio+ Saccarosio (g/L)	Glucosio (g/L)	Fruttosio (g/L)	Maltosio (g/L)	Saccarosio (g/L)	Densità (g/cm <sup>3</sup> )
04/01/2019 16:30	85	92,2	12,7	2,6	69,7	7,2	1,055
07/01/2019 09:30	66	73,5	6,9	6,7	52,4	7,5	1,048
07/01/2019 15:00	70	70,7	6,7	5,6	57,7	0,7	1,044
08/01/2019 09:00	35	37,1	0,1	2	32,9	2,1	1,029
08/01/2019 14:30	31	31,1	i.l.m.	1,1	29,9	0,1	1,025
09/01/2019 08:30	20	20	i.l.m.	i.l.m.	20	i.l.m.	1,020
09/01/2019 14:30	18	< 18	i.l.m.	i.l.m.	18	i.l.m.	1,011
09/01/2019 16:30	19,5	< 18	i.l.m.	i.l.m.	19,5	i.l.m.	1,019
10/01/2019 09:00	16,2	< 18	i.l.m.	i.l.m.	16,2	i.l.m.	1,017
10/01/2019 14:30	16,3	< 18	i.l.m.	i.l.m.	16,3	i.l.m.	1,017
11/01/2019 09:30	15	< 18	i.l.m.	i.l.m.	15	i.l.m.	1,015
11/01/2019 14:30	13,6	< 18	i.l.m.	i.l.m.	13,6	i.l.m.	1,015
14/01/2019 08:30	12,7	< 18	i.l.m.	i.l.m.	12,7	i.l.m.	1,014
15/01/2019 08:30	12,7	< 18	i.l.m.	i.l.m.	12,7	i.l.m.	1,015

**Tabella 1.** Dati relativi al mosto nr. 1 (i.l.m.= dato inferiore al limite minimo rilevabile dallo strumento.)

Strumento di misura	CDR BeerLab®						Densimetro
Data e ora dell'analisi	Glucosio+ Fruttosio+ Maltosio (g/L)	Glucosio+ Fruttosio+ Maltosio+ Saccarosio (g/L)	Glucosio (g/L)	Fruttosio (g/L)	Maltosio (g/L)	Saccarosio (g/L)	Densità (g/cm <sup>3</sup> )
04/01/2019 16:30	87	96,3	12,8	2,7	71,5	9,3	1,054
07/01/2019 09:30	59	59,9	0,5	1,4	57,1	0,9	1,037
07/01/2019 15:00	55	56,6	0,4	0,8	53,8	1,6	1,034
08/01/2019 09:00	37	37,2	0,3	0,1	36,6	0,2	1,025
08/01/2019 14:30	35	34,6	0,3	0,1	34,6	i.l.m.	1,023
09/01/2019 08:30	16,5	< 18	i.l.m.	i.l.m.	16,5	i.l.m.	1,016
09/01/2019 14:30	14,4	< 18	i.l.m.	i.l.m.	14,4	i.l.m.	1,014
09/01/2019 16:30	12,2	< 18	i.l.m.	i.l.m.	12,2	i.l.m.	1,013
10/01/2019 09:00	6,4	< 18	i.l.m.	i.l.m.	6,4	i.l.m.	1,009
10/01/2019 14:30	4,7	< 18	i.l.m.	i.l.m.	4,7	i.l.m.	1,008
11/01/2019 09:30	1,7	< 18	i.l.m.	i.l.m.	1,7	i.l.m.	1,006
11/01/2019 14:30	1,2	< 18	i.l.m.	i.l.m.	1,2	i.l.m.	1,005
14/01/2019 08:30	1	< 18	i.l.m.	i.l.m.	1	i.l.m.	1,005
15/01/2019 08:30	1	< 18	i.l.m.	i.l.m.	1	i.l.m.	1,006

**Tabella 2.** Dati relativi al mosto nr.2 (i.l.m.= dato inferiore al limite minimo rilevabile dallo strumento.)

Lo strumento CDR BeerLab® permette di effettuare due tipi di analisi: la determinazione della somma di glucosio, fruttosio e maltosio e la determinazione della somma di glucosio, fruttosio, maltosio e saccarosio. Per questa ricerca sono stati comunque misurati singolarmente i vari zuccheri per una completezza di informazioni.

Dai dati riportati nelle tabelle precedenti è possibile valutare l'andamento delle concentrazioni degli zuccheri fermentescibili presenti nel mosto di birra. I primi zuccheri ad essere fermentati dai lieviti sono il glucosio, il fruttosio e il saccarosio. Infatti per entrambi i mosti dopo quattro giorni questi tre zuccheri risultano quasi assenti. Successivamente vengono fermentati anche il maltosio e il maltotriosio (determinato insieme al maltosio). La fermentazione si può considerare conclusa dopo 6 giorni, quando la concentrazione di zuccheri rimane costante in 2 misurazioni effettuate a distanza di 24 ore.

Come si nota dalle tabelle considerando la colonna *Glucosio + Fruttosio + Maltosio (g/L)*, al termine della fermentazione i lieviti hanno agito in modo diverso. Infatti al termine dell'azione del lievito White Labs WLP002 (a bassa attenuazione) nel mosto sono rimasti 12,7 g/L di zucchero (maltotriosio) non fermentato, mentre il lievito White Labs WLP099 (ad alta attenuazione) ha permesso la fermentazione della quasi totalità degli zuccheri, lasciando all'interno del mosto solo 1 g/L di zucchero (maltotriosio) non fermentato. Questa differenza di concentrazione finale di zuccheri, dovuta alle caratteristiche dei lieviti utilizzati, è da tenere presente nella valutazione della fine della fermentazione, perché, come si vede da queste misurazioni, non sempre la fermentazione finisce quando la concentrazione residua degli zuccheri è prossima allo zero.

Inoltre è importante conoscere la concentrazione residua degli zuccheri al termine della fermentazione al fine di valutare correttamente la quantità di zucchero da aggiungere alla birra nella fase di priming in modo da evitare sovrassature.

Il priming è il processo con cui si aggiunge anidride carbonica alla birra. Il metodo di priming più utilizzato dai birrifici artigianali è quello di tipo naturale; la carbonatazione viene ottenuta aggiungendo alla birra degli zuccheri fermentescibili prima dell'imbottigliamento. Di norma si aggiunge per il priming una concentrazione variabile da 4 a 7 g/L di zucchero, in quanto ogni birra può richiedere un differente livello di gassatura.

### **Comparazione tra i risultati ottenuti con il densimetro e con CDR BeerLab®**

Al fine di determinare la conclusione della fermentazione e misurare la concentrazione residua di zuccheri è necessario fare un focus sugli ultimi quattro giorni di questo processo.

Sia per la birra nr. 1 che per la nr. 2 si può notare come la densità del mosto rilevata dal densimetro portatile negli ultimi quattro giorni vari di 0,001. Poiché la risoluzione dello strumento è 0,001 il densimetro fornisce un dato potenzialmente non significativo in quanto non rispecchia la variazione della concentrazione degli zuccheri.

Invece, analizzando i risultati delle analisi ottenuti con CDR BeerLab® negli ultimi 4 giorni della fermentazione, si nota che la concentrazione degli zuccheri fermentescibili rilevate variano nel caso della birra nr. 1 di 2,3 g/L e nel caso della birra nr. 2 di 0,7 g/L.

Dalla analisi dei dati appena effettuata, si nota che il densimetro digitale portatile è abbastanza preciso nel valutare la densità del mosto, quindi è utilizzabile per controllare l'andamento della fermentazione. Invece, per stabilire la fine effettiva della fermentazione, è molto più efficace utilizzare CDR BeerLab®, che risulta essere più preciso e capace di rilevare anche i piccoli cambiamenti di concentrazione zuccherina che invece il densimetro portatile non è in grado di evidenziare efficacemente.

Avere la sicurezza di aver portato a termine la fermentazione è fondamentale per la fase di priming.

Per evitare sovrageassature, che potrebbero dar luogo a fenomeni di gushing, è fondamentale essere sicuri che la fermentazione sia terminata. L'analisi degli zuccheri fermentescibili è quindi di primaria importanza per il calcolo della quantità di zucchero da aggiungere nella fase di priming ottenendo così i volumi di CO<sub>2</sub> richiesti dalla ricetta utilizzata.

Stile di birra	Volumi di CO <sub>2</sub>
British ales	1,5 - 2,0
Porter, Stout	1,7 - 2,3
Belgian ales	1,9 - 2,4
Lager	2,2 - 2,7
Wheat beer	3,3 - 4,5

In particolare, prendendo in esame le birre prodotte, valutando la fine della fermentazione con il densimetro, avremmo considerato un punto di fine fermentazione anticipato, che avrebbe lasciato nelle birre dei residui di zuccheri rispettivamente di 2,3 g/L di zuccheri nel caso della birra nr. 1 e 0,7 g/L nel caso della birra nr.2. Queste quantità di zuccheri fermentescibili residui avrebbero dato luogo rispettivamente a 0,57 e 0,17 volumi di CO<sub>2</sub>, che, avrebbero potuto provocare una gassatura eccessiva della birra.

## Conclusioni

Possiamo affermare che la fermentazione sia terminata quando la concentrazione degli zuccheri rimane costante per 24 ore consecutive. Quindi per determinare la fine del processo di fermentazione è molto più efficace controllare la variazione della concentrazione degli zuccheri nel mosto piuttosto che la densità.

CDR BeerLab® risulta essere lo strumento più adatto a determinare la fine della fermentazione, essendo in grado di rilevare anche le più piccole variazioni di concentrazione di zuccheri che altrimenti, attraverso la misura della densità, non saremmo in grado di apprezzare.

Con CDR BeerLab® è possibile misurare la concentrazione esatta di zuccheri residui al termine della fermentazione in modo da evitare errori nella fase di priming.

## Link utili

[Densimetro](#)

[Determinazione degli zuccheri fermentescibili](#)

[Sistema di analisi CDR BeerLab®](#)

## CDR BeerLab® : L'effetto del Dry-Hopping sugli zuccheri fermentescibili e sul grado alcolico

### Introduzione

Ospitato in un famoso mulino "Grade II" situato nel cuore spirituale della rivoluzione industriale, il birrificio Northern Monk impiega migliaia di anni di tradizione monastica nella birrificazione e la combina con le migliori nuove tecniche di birrificazione insieme a ingredienti locali ed internazionali.

Tutte le birre del Northern Monk sono prodotte internamente per creare un prodotto unico nel gusto, colore ed origine. Producendo 20.000 pinte alla settimana per la distribuzione in tutto il mondo, il Northern Monk lavora con organizzazioni di beneficenza e aziende locali e collabora con birrifici e aziende che condividono la loro stessa visione di artigianalità e qualità per aiutare a rafforzare il Nord.



Il Northern Monk ha iniziato a produrre birra nel 2014 e da allora è diventato un'istituzione di innovazione nel campo della produzione della birra, facendo attenzione alla qualità, la quale viene ampiamente monitorata direttamente in azienda usando una notevole varietà di apparecchiature di laboratorio, incluso il CDR BeerLab®.

Tenendo conto di ciò, non sorprende che il mastro birraio Brian Dickson e il manager della produzione Colin Stronge si siano dimostrati entusiasti di usare il loro CDR BeerLab® nel nostro ultimo studio che aveva l'obiettivo di scoprire gli effetti del Dry-Hopping sugli zuccheri fermentescibili e sul grado alcolico.

### Il progetto

Un articolo pubblicato su Journal of the Institute of Brewing nel 1941 da Janicki, J. *et al*<sup>[1]</sup> riguarda la presenza di attività diastatica nel luppolo e il modo in cui ciò può influire sulla fermentazione secondaria della birra nel fusto. I loro esperimenti consistevano nel prelevare campioni di amido disciolti in acqua a pH modificato (approssimato al pH della birra) e aggiungere luppolo Saaz fino ad arrivare ad una concentrazione approssimativa di 40 g/L. I ricercatori hanno scoperto che il maltosio era prodotto dal dry-hopping in piccole quantità (mg) in sole 5 ore, suggerendo che l'amido in soluzione veniva scomposto dagli enzimi del luppolo.

Ron Pattinson sul suo blog sottolinea (Marzo 2018), che Brown e Morris hanno anche constatato, che il luppolo contiene una notevole percentuale di glucosio e fruttosio (circa il 3%), il quale si è anche dimostrato completamente fermentabile dopo l'estrazione dal luppolo e l'aggiunta del lievito.<sup>[2,3]</sup> La seconda parte dell'articolo sul blog di Ron rivisita anche un lavoro pubblicato da Janicki *et al*, che discute ulteriormente della capacità del luppolo di scomporre l'amido in zuccheri fermentescibili.

Per indagare al meglio questi due effetti, abbiamo selezionato, per il nostro studio tre stili di birra con quantità crescenti di dry-hopping, vale a dire una "Session IPA", una "American IPA" e una "Double



IPA". Le crescenti quantità di dry-hopping – tutte aggiunte attraverso HopRocket – dovrebbero dare gradi crescenti di attività diastatica, aumento di zuccheri fermentescibili e, potenzialmente, un aumento del grado alcolico finale della birra.

### Risultati

Per lo studio, sono stati prelevati due campioni dal fermentatore, ogni 30 minuti, uno prima del dry-hopping e uno dopo. A tutte e tre le birre è stato fatto il dry-hopping per 3 ore usando un HopRocket e tutti i campioni sono stati sottoposti ad misura del grado alcolico, degli zuccheri fermentescibili (g/L), dell'amido (g/L), del pH e dell'amaro (IBU) usando il CDR BeerLab®. L'amido misurato con il CDR BeerLab® include una miscela di molecole complesse di amido non scomposte durante l'ammostamento e alcune molecole di destrine a catena più lunga.

Mentre la misura degli zuccheri fermentescibili misurano glucosio, fruttosio, maltosio e maltodestrine.

L'American IPA e la Double IPA non sono state sottoposte a dry-hopping prima di avviare l'Hop Rocket, tuttavia la Session IPA è stata sottoposta a dry-hopping prima di usare l'HopRocket e prima delle analisi. Il luppolo utilizzato in ciascun dry-hopping differisce per all'aliquota aggiunta e alla percentuale di Alfa acidi come mostrato nella Tabella 1.

Tabella 1. Aliquota di luppolo aggiunta e percentuale di Alfa acidi.

Birra	Aliquota aggiunta	Luppolo #1	Luppolo #2	Luppolo #3
Session IPA	3.5 g/L	11.2%	10.0%	8.1%
American IPA	4.0 g/L	7.2%	15.6%	14.6%
Double IPA	6.0 g/L	12.8%	10.6%	15.4%

### American IPA e Double IPA

I due risultati più rilevanti giungono dall' American IPA e dalla Double IPA come da aspettativa, entrambe le birre mostrano un alto quantitativo iniziale di amido che diminuisce all'aumentare degli zuccheri fermentescibili. Come mostrato nella figura 1 e 2 l'American IPA ha una concentrazione iniziale di amido intorno ai 2 g/L che diminuisce fino a 1.5 g/L, questo calo è ancora più marcato nella Double IPA la quale vede una diminuzione dell'amido da circa 1.8 g/L a 0.5 g/L.

Figura 1. American IPA zuccheri Vs amido.

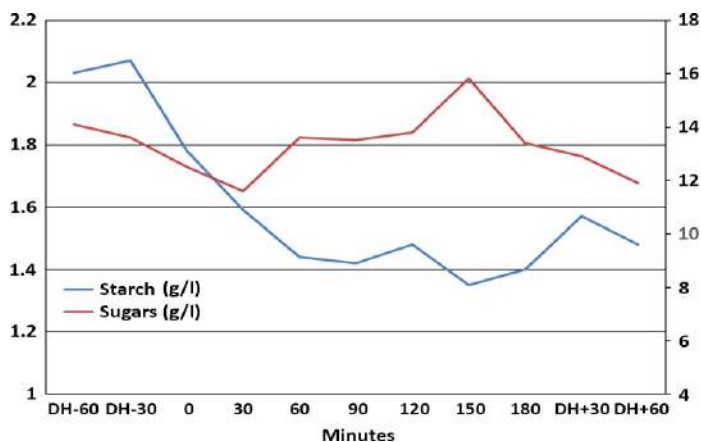
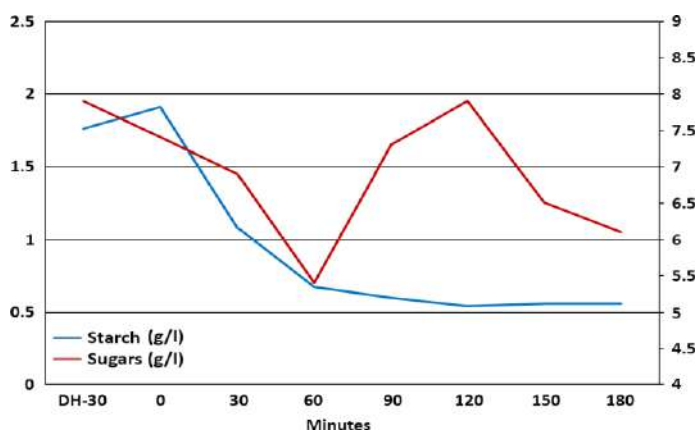


Figura 2. Double IPA zuccheri Vs amido.

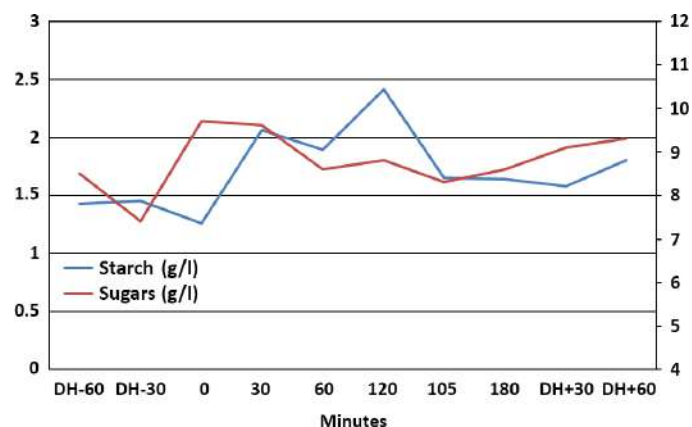


La concentrazione degli zuccheri fermentescibili sembra leggermente più variabile: si nota infatti un calo della loro concentrazione iniziale, probabilmente dovuto al passaggio del mosto nell’HopRocket, il quale rimette in sospensione il lievito sedimentato, che a sua volta assimila parte degli zuccheri fermentescibili più velocemente. Ciò è seguito da un picco della concentrazione di zuccheri che potrebbe derivare dal potere diastatico del luppolo sull’amido residuo o dall’aggiunta di zuccheri fermentabili che si trovano nel luppolo stesso.

**Session IPA**

Come accennato in precedenza, nella Session IPA il dry-hopping è stato fatto prima di accendere l’HopRocket e come si può vedere nella Figura 3, l’amido non mostra una diminuzione di concentrazione, ma c’è comunque un leggero aumento della concentrazione di zuccheri. Ciò può essere dovuto al fatto che il dry-hopping iniziale ha abbattuto tutto l’amido semplice e ha lasciato solo molecole di amido complesse, il che significa che il secondo dry-hopping con l’HopRocket non può abbattere più l’amido, ma può aggiungere solo zucchero.

Figura 3. Session IPA zuccheri Vs amido



**Gli effetti del Dry-hopping sul grado alcolico**

È facile vedere nelle figure 1 e 2 che il luppolo ha avuto un dimostrabile effetto sulla riduzione dell’amido e sulla produzione di zuccheri, che alla fine porterà ad un’ulteriore fermentazione della birra – dando potenzialmente, un grado alcolico più alto del previsto nella birra finita/confezionata rispetto a quello che ci si aspettava al momento del dry-hopping.

Tabella 2. Grado alcolico durante il dry-hopping Vs birra finita

Campione	Grado alcolico durante il DH	Grado alcolico birra finita	Incremento
Session IPA	4.1 (±0.1)	4.2	+0.1
American IPA	5.1 (±0.1)	5.7	+0.6
Double IPA	9.0 (±0.1)	9.9*	+0.9

\*Grado alcolico confermato per distillazione e densimetro a 9,99%

A parte la ripetibilità del grado alcolico sul CDR BeerLab® (± 0,1) non vi è stato alcun aumento significativo del grado alcolico durante il dry-hopping, tuttavia, come si può vedere nella Tabella 2, c’è un aumento del valore del grado alcolico nella birra finita confezionata. L’aumento per la Session IPA è trascurabile, tuttavia per l’American IPA e la Double IPA c’è un aumento significativo del grado alcolico, che si correla con i grafici “zuccheri Vs amido” di cui sopra.

Per confermare l’accuratezza dei risultati sulla birra finita, la Double IPA è stata analizzata mediante distillazione e misurazione di densità dando in entrambi i casi una misura del grado alcolico di 9,99%.



**Conclusioni**

È evidente che il dry-hopping effettuato su una birra al termine della fermentazione contribuirà a una riduzione dell’amido residuo e ad un aumento degli zuccheri fermentescibili. Ciò può essere spiegato da due effetti; l’attività diastatica enzimatica presente nel luppolo, che scompone l’amido in zuccheri e il contributo di zuccheri fermentescibili del luppolo stesso.

A causa dell’aumento degli zuccheri fermentescibili che si verifica prima del termine della fermentazione, il lievito continuerà a fermentare oltre la data presunta di fine fermentazione, causando un aumento del grado alcolico, il quale potrebbe non essere stato previsto nella stima iniziale del grado alcolico finale effettuata per densità.

**Bibliografia**

- [1] Janicki J., Kotasthane W. V., Parker A., Walker T. K.; *J. Inst. Brew.*; 1941; Vol. 47; pp. 24 – 36.
  - [2] Brown H. T., Morris H.; *J. Inst. Brew. (The Brewers’ Guardian)*; 1893; Vol. 6; pp 93 – 94.
  - [3] <http://barclayperkins.blogspot.co.uk/2018/03/why-dry-hop.htm>
- Author:  
Dr Lee Walsh, QCL, Riverside, Forest Row Business Park, Forest Row, East Sussex, RH18 5DW, UK

## L'importanza di un corretto recupero del lievito

*Metodi per la determinazione della quantità di cellule vive (Viability) e della loro vitalità (Vitality)*

Simone Bellassai Chimico - Enologo e esperto di analisi su alimenti e bevande presso CDR – Lisa Mearelli ricercatore del CDR Chemical Lab “Francesco Bonicolini”

Come è noto durante il processo produttivo della birra, nella fase di fermentazione, è necessaria l'azione dei lieviti al fine di trasformare gli zuccheri e gli aminoacidi presenti nel mosto in alcol.

Per ottenere una fermentazione ottimale è necessario aggiungere il lievito poiché quello naturalmente presente nelle materie prime viene completamente denaturato nella fase di ammostamento.

### Perché riutilizzare il lievito

Il lievito è di fatto una delle materie prime che il birraio deve acquistare sopportando costi che aumentano in modo inversamente proporzionale alla quantità della birra da produrre. Perciò in particolare nella produzione di birra artigianale l'acquisto del lievito può incidere in maniera rilevante sui costi di produzione.

Quindi al fine di ridurre i costi alcuni produttori di birra riutilizzano il lievito già usato nelle produzioni precedenti.

Inoltre il riutilizzo del lievito può essere finalizzato a creare migliori e più interessanti tipologie di birra.

Infatti, il lievito riutilizzato, riproducendosi più volte, si evolve e può dare vita ad una popolazione di cellule di lievito “diverso” da quella utilizzata nell'inoculo iniziale, portando a un significativo cambiamento delle qualità organolettiche della birra con ottimi risultati.

### Come si ottiene il lievito da riutilizzare

Per ottenere il lievito da riutilizzare è necessario recuperare i residui della fermentazione che si depositano sul fondo del tino (*slurry*), composti da lievito, da proteine coagulate, resti di luppolo ed impurità di cui il mosto di birra, fermentando, si è liberato.

Per poter liberare in modo efficace il lievito da tutte le impurità, una volta separato lo *slurry* dal

mosto di birra, sono impiegate due procedure: il *rinsing* e il *washing*.



Nel *rinsing* le cellule di lievito vengono liberate dai resti di luppolo, dalle proteine coagulate e dalle restanti impurità grazie ad alcune diluizioni del residuo con acqua sfruttando il diverso peso che ha ogni componente dello *slurry*.

Nel *washing*, vengono impiegati composti acidi o altri composti chimici simili per ridurre il numero di batteri lattici attivi, che sono normalmente presenti in un campione di lievito recuperato, ma risultano estremamente dannosi per un mosto di birra che ancora non ha cominciato la fermentazione. La procedura di *acid washing* ha effetti diversi sui vari ceppi di lievito ed è possibile che ne riduca le performance.

### Un lievito subito pronto per essere utilizzato

Il processo di recupero, risanamento e riutilizzo del lievito, oltre agli aspetti positivi già citati di economicità e miglioramento delle qualità della birra prodotta, presenta vantaggi anche per la condizione in cui si trovano i lieviti dopo il recupero. Infatti, mentre i lieviti di commercio, per una questione di conservazione, vengono essiccati e quindi necessitano di reidratazione e di qualche ora per riprendere l'attività metabolica, quelli che vengono riciclati da cotte precedenti sono già idratati e soprattutto sono già attivi e pronti a riprendere il loro stato metabolico appena messi in contatto con il substrato idoneo.

## Attenzione all'efficienza delle cellule recuperate

Nel riutilizzare i lieviti è necessario porre molta attenzione all'efficienza delle cellule recuperate per stabilire quanto sedimento sia necessario per ottenere la fermentazione adatta allo stile di birra che si desidera produrre.

Infatti in questo sedimento sono presenti non solo lieviti vivi e pronti all'utilizzo, ma anche lieviti morti o morenti che non sono più utilizzabili e che costituiscono essenzialmente materiale di scarto. Inoltre, non è possibile a priori stabilire in che rapporto si trovino le due tipologie di cellula di lievito.

## La conta delle cellule vive o viability

Questo problema si può risolvere impiegando la determinazione della *viability* che dà indicazioni su quante cellule vive sono presenti all'interno del sedimento di lievito che si vorrebbe riutilizzare.

Per una corretta fermentazione è necessario che la percentuale di *viability* non sia al di sotto del 90%, anche se alcuni produttori di birra usano comunque i campioni che non raggiungono questo livello, ovviando alla mancanza di cellule vitali con l'aggiunta di una maggior quantità di lievito recuperato.

Questo comportamento può essere vincente, ma può anche dare problemi durante la fermentazione; infatti la salute complessiva delle cellule di lievito inoculate può essere talmente cagionevole da non poter portare avanti con successo tutta la fermentazione e quindi produrre nella birra aromi sgradevoli e caratteristiche indesiderate, quali una maggiore acidità o un sapore inaspettato.

Questo accade perché, aumentando la quantità di lievito riutilizzato aggiunto al mosto, potrebbero essere aggiunte anche cellule morte o morenti (in quanto non sono separabili da quelle vive) che andrebbero a alterare negativamente le caratteristiche della birra.

Inoltre, l'aumento della percentuale di cellule morte rispetto a quelle vive può portare ad un aumento del tempo necessario alla fermentazione,

esponendo il mosto di birra ad una maggiore quantità di agenti inquinanti.

## La vitalità del lievito o Vitality

Per risolvere tutte queste problematiche è opportuno inserire nella valutazione del lievito recuperato la determinazione del parametro *VITALITY* o vitalità del lievito.

L'analisi della *vitality* è utile al fine di conoscere le condizioni di salute delle cellule di lievito, ovvero a determinare se siano capaci di nutrirsi e riprodursi, in modo da dare luogo alla fermentazione alcolica. In poche parole, la *vitality* è un parametro che misura dell'attività metabolica del lievito: se è sano, forte e pronto alla fermentazione allora si può dire che quel campione di lievito abbia un'alta *vitality*. Questo parametro è molto importante perché è collegato alle performance di fermentazione.

Un campione di lievito recuperato in un ottimo stato di salute hanno livelli di *vitality* compresi tra 2 e 2.7.

I metodi ad oggi riconosciuti ed utilizzati per testare la *viability* e la *vitality* si basano su tre principi generali: la perdita della capacità delle cellule di lievito di replicarsi, la perdita dell'attività metabolica e il danneggiamento delle cellule.

Il metodo oggi utilizzato per misurare la *viability* si basa sui coloranti vitali come il blu di metilene: viene valutata l'integrità delle pareti cellulari dei lieviti misurando la loro capacità di essere impermeabili ai coloranti. Al successivo controllo al microscopio ottico le cellule con buona *viability* risulteranno prive di colorazione.

Per quanto riguarda la *vitality*, il metodo riconosciuto, chiamato *acidification power test* (AP TEST), si basa sul cambiamento del pH all'interno della soluzione in cui è inserito il lievito da testare. Di seguito la procedura:

1. Calibrare il pH-metro prima di ogni serie di misurazioni;
2. Calibrare il pH-metro prima di ogni serie di misurazioni;
3. Aggiustare il pH dell'acqua deionizzata a 6.5;



4. Mettere 15 mL di acqua deionizzata sterile in una provetta da centrifuga conica da 50 mL contenente un agitatore conico;
5. Monitorare il pH dell'acqua mentre si agita la provetta per circa 5 minuti;
6. Alla fine dei 5 minuti misurare e prendere nota del valore del pH letto (AP0) e aggiungere 5 mL di residuo di lievito recuperato e già lavato e concentrato ( $1 \times 10^9$  cells/mL) alla provetta da centrifuga;
7. Agitare per 10 minuti e registrare il valore del pH (AP10);
8. Aggiungere immediatamente 5 mL di soluzione di glucosio al 20%;
9. Agitare per 10 minuti e misurare il pH finale (AP20). L'*acidification power* si ottiene dalla differenza tra la lettura AP20 e AP0;
10. Ripetere altre due volte tutta la procedura e confermare i risultati.

Come si può comprendere leggendo la procedura da seguire per svolgere l'AP TEST, questo metodo necessita di attrezzature specifiche, che si possono trovare solo in un laboratorio chimico ben attrezzato e personale formato e risulta molto laboriosa e onerosa in termini di tempo.

Tra le attrezzature necessarie allo svolgimento di questo test, c'è il pH-metro, strumento che necessita di essere tarato ogni volta prima dell'uso, di una minuziosa opera di pulizia e di notevoli cure per la sua manutenzione.

Molto raramente tutte queste attrezzature si trovano all'interno di un birrificio ed è per questo motivo che spesso i produttori di birra, per accertarsi di poter riutilizzare il lievito recuperato dalle cotte precedentemente prodotte, sono costretti ad avvalersi dei servizi di laboratori chimici esterni con i conseguenti costi.

Per questi motivi CDR ha messo appunto un test alternativo all'AP test che rende la metodica analitica molto più semplice e veloce, ma sfrutta lo stesso principio chimico-fisico.

### La determinazione della vitality con il metodo CDR BeerLab®

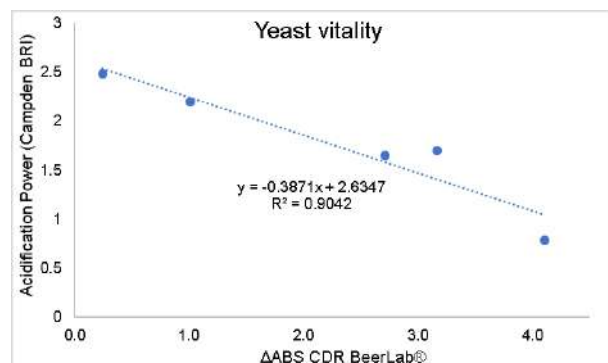
Il test messo a punto da CDR prevede la valutazione della variazione del pH della soluzione in cui è inserito il campione di lievito attraverso l'impiego di reagenti che contengono cromogeni della birra. Questi cromogeni al variare del valore del pH variano il colore della soluzione rendendo possibile la misurazione del pH attraverso letture spettrofotometriche effettuate con il sistema CDR BeerLab®.

CDR BeerLab® fornisce i risultati del test in *Acidification Power*, grazie alle curve di calibrazione di cui è corredato. Diversamente da quanto detto per l'AP test, il metodo ideato da CDR non necessita di alcuna taratura né dell'impiego di personale specializzato in tecniche di laboratorio. I reagenti impiegati sono pre-infialati nella quantità necessaria per ogni misurazione in provette pronte all'uso. Il risultato si ottiene tramite delle semplici letture fotometriche.

#### Correlato con *Acidification Power test*

Il metodo CDR può vantare una ottima correlazione con il metodo riconosciuto per la misurazione della vitality *Acidification Power test* come stabilito dal laboratorio di riferimento internazionale Campden BRI.

Di seguito la curva di calibrazione tra i risultati delle misurazioni ottenuti con in metodo CDR e le misurazioni effettuate con il metodo *Acidification power* ottenuta nei laboratori Campden BRI.



Nello studio realizzato dall'istituto di riferimento, per valutare la performance di CDR BeerLab® per l'analisi della vitalità del lievito, sono stati analizzati 5 campioni di liquame in triplo utilizzando il sistema CDR BeerLab® e il metodo di riferimento.

Lo studio di Campden BRI ha stabilito che per la determinazione della vitalità del lievito i risultati del CDR BeerLab® sono paragonabili a quelli dei metodi di riferimento (correlazione  $R^2 = 0,90$ ) confermando il che metodo CDR BeerLab® è preciso e ripetibile.

### Conclusioni

Il riutilizzo del lievito è utile al fine di ottenere un buon risparmio economico e può dare miglioramenti nelle qualità organolettiche della birra.

Nel riutilizzare i lieviti è necessario porre molta attenzione all'efficienza delle cellule recuperate per cui è utile determinare la *viability*.

La conta delle cellule o determinazione della *viability* non è però sufficiente a determinare se le cellule del substrato recuperato siano in grado di dare luogo alla fermentazione alcolica.

È quindi necessario determinare la vitalità del lievito (*vitality*).

La procedura per determinare questo parametro con il metodo riconosciuto, *acidification power test* (AP TEST), risulta molto laboriosa e onerosa in termini di tempo, necessita di attrezzature specifiche che devono essere tarate spesso o si possono trovare solo in un laboratorio chimico ben attrezzato, utilizzabili solo da personale formato.

Per questo è stato messo a punto il metodo CDR BeerLab® per la determinazione della *vitality*. Questo metodo non necessita di alcuna taratura né dell'impiego di personale specializzato in tecniche di laboratorio.

I reagenti sono pre- infialati nella quantità necessaria per ogni misurazione in provette pronte all'uso. Il risultato si ottiene tramite delle semplici letture fotometriche.



Il metodo è ben correlato con AP TEST come stabilito dallo studio condotto dal laboratorio di riferimento internazionale CampdenBRI e fornisce i risultati in *acidification power*.

Quindi il metodo CDR BeerLab® per la determinazione della *vitality*, parametro essenziale per la determinazione dell'efficienza del lievito da riutilizzare, è semplice da usare, fornisce risultati rapidamente, è affidabile e può essere utilizzato da qualsiasi operatore direttamente in birrificio sulla linea di produzione.

## Bibliografia

- [1] Haddad, S., and C. Lindegren. "A Method for Determining the weight of an Individual yeast Cell." *Applied Microbiology* 1, no. 3, (1953), 153-156.
- [2] Lenoel, M., J.P. Meurier, M. Moll, and N. Midoux. "Improved System for Stabilizing Yeast Fermenting Power During Storage." Proceedings of the 21<sup>st</sup> European Brewing Congress, 1987, 425-432.
- [3] Nielsen, O., "Control of the Yeast Propagation Process: How to Optimize Oxygen Supply and Minimize Strees." *MBAA Technical Quarterly*, vol. 42, no. 2 (2005), 128-132.
- [4] Fernandez, J.L., and W.J. Simpson. *Journal of Applied Bacteriology* 75 (1993), 369.
- [5] Kara B. V., Simpson W.J. and Hammond J. R. M., *Predinction of the Fermentation Performance of Brewing Yeast with the Acidification Power Test*, in «Journal of the institute of brewing», no. 94, 1988, pp 153-158
- [6] Gabriel P., Dienstbier M., Matoulková D., Kosař K., and Sigler K., *Optimised Acidification Power Test of Yeast Vitality and its Use in Brewing Practice*, in «Journal of the institute of brewing», no. 114(3), 2008, pp. 270-276.
- [7] Mearelli L. "La Fermentazione della Birra Artigianale: Studio del Metabolismo dei Lieviti e Messa a Punto di un Metodo Rapido per la Misura della Loro Attività Metabolica." 2018, pp. 14-16.

## Link

- [a] [Yeast Vitality determination](#)
- [b] [CDR BeerLab® the Beer and Wort analysis](#)
- [c] [Evaluation of new features \(VDK, yeast vitality\) of the CDR BeerLab® Analyser – CamdenBRI](#)
- [d] [Campden BRI](#)

## Quell'aroma di burro chiamato diacetile!

Di cosa sa il diacetile? Il sapore del diacetile può essere accostato a quello del butterscotch inglese, prodotto dolciario a base di burro e zucchero caramellato.

**Dr. Emanuela Pascale**

Ricercatrice del Dipartimento di Chimica dell'Università degli Studi di Firenze

### Il diacetile

Dal punto di vista chimico il diacetile è un dicetone vicinale (legami insaturi prossimali), prodotto del metabolismo del lievito, che si forma durante la fermentazione. Insieme ad altri dicetoni vicinali o VDK (dall'inglese *vicinal diketone*), contribuisce al profilo aromatico (*flavour*) della birra, con conseguenze organolettiche, a seconda del quantitativo presente.

Infatti, a causa del particolare sapore, una concentrazione di diacetile superiore a 0,05 mg/L ha un effetto negativo nelle birre *lager* (ovvero a bassa fermentazione). Invece concentrazioni più elevate, fino a 1 mg/L, sono accettate in alcune birre *ale* (ad alta fermentazione), poiché attenuano gli eventuali aromi molto marcati contribuendo a bilanciarne il profilo aromatico (1).

Una presenza eccessiva e problematica del diacetile nella birra è spesso dovuta a una fermentazione svolta in condizioni non ottimali. Talvolta invece la causa è da ricercarsi in una contaminazione batterica, anche se questo è un evento raro, dato che i birrifici hanno generalmente una particolare cura per la pulizia e sanitizzazione.

### Il processo di fermentazione e il metabolismo del lievito

Il diacetile è un composto organico, prodotto dal metabolismo del lievito durante la fermentazione del mosto.

Il metabolismo del lievito è un processo molto complesso, costituito da diverse fasi, che prevedono la formazione di sottoprodotti. In genere questi sottoprodotti vengono impiegati nel



percorso metabolico, ma a volte, in condizioni particolari, possono fuoriuscire dalla cellula del lievito e andare a “sporcare” il profilo organolettico della birra. In particolare uno dei prodotti metabolici del lievito è l'acetolattato. Questo composto derivato dai piruvati, utile per la sintesi degli amminoacidi è coinvolto nella sintesi del diacetile. Infatti parte dell'acetolattato viene trasformato in valina, e parte fuoriesce dalla membrana cellulare del lievito e finisce nella birra, dove attraverso una reazione di chimica di ossidazione, si trasforma in diacetile.

La produzione di acetolattato continua durante tutto il processo di fermentazione degli zuccheri, fino a quando non si arresta.

Il lievito è anche in grado di “neutralizzare” il diacetile: quando la fermentazione rallenta la sua attività e la birra inizia a maturare, le cellule del lievito riassorbono il diacetile al loro interno per ridurlo, attraverso un processo enzimatico, ad acetoino e poi 2,3-butandiolo, composti ininfluenti da un punto di vista organolettico.

Affinchè la riduzione del diacetile vada a buon fine è importante concedere al lievito il tempo necessario a ridurre il livello di diacetile nella birra che dipende dalla velocità con cui il composto viene trasformato in acetoino e 2,3-butandiolo. Inoltre occorre valutare la salute dei lieviti. Infatti

lieviti conservati per lungo tempo o a temperature non idonee o che non abbiano l'adeguata disponibilità nutrizionale durante la fermentazione, sono meno efficienti nel processo di riduzione del diacetile rispetto a lieviti in condizioni fisiologiche ottimali (1).

### La temperatura

L'aumento della temperatura di alcuni gradi alla fine della fermentazione favorisce l'attività metabolica del lievito, nonché la riduzione del diacetile: questa tecnica è detta *diacetyl rest*. In base al ceppo di lievito questo processo può variare in termini di tempo e valori di temperature. Dopo il *diacetyl rest*, la birra viene raffreddata alla temperatura idonea alla maturazione. Generalmente il raffreddamento non inizia prima che le analisi indichino un livello di diacetile inferiore a 0.1-0.2 mg/L in modo da essere sicuri che il livello di diacetile non aumenti in seguito, in particolare durante la pastorizzazione.

### Le analisi per la determinazione del diacetile

Effettuare le analisi per la determinazione del diacetile è fondamentale da un punto di vista tecnico, al fine di realizzare un miglioramento del processo di produzione, della gestione e infine della conservazione del prodotto. Inoltre è importante che i birrifici, ma anche gli appassionati, identifichino e valorizzino adeguatamente il prodotto, quando note organolettiche "particolari", come il diacetile, possono rappresentare un elemento di unicità, piuttosto che un vero e proprio difetto.

**CDR BeerLab®**, il sistema di analisi che permette di determinare con un unico strumento tutti i più importanti parametri chimici della birra, del mosto e dell'acqua, permette di determinare anche il diacetile, basandosi sul metodo di riferimento.

Il campione di birra da analizzare, viene preventivamente distillato. I chetoni vicinali contenuti nel distillato reagiscono con una soluzione di alfa-naftolo e creatina formando un complesso colorato che assorbe a 520nm. Viene misurata l'assorbanza, la quale è proporzionale alla concentrazione dell'analita.

Il sistema di analisi CDR BeerLab® prevede reagenti già infialati in provette monouso, al fine di semplificare sia le procedure analitiche sia la preparazione del campione, garantendo Standard di accuratezza in linea con i metodi di riferimento.



CDR BeerLab® può essere usato da chiunque direttamente in birrificio permettendo di controllare il processo di birrificazione in tempo reale e di prendere tempestivamente le decisioni utili per migliorare la qualità del prodotto finito.

### Conclusioni

Monitorare il livello dei chetoni vicinali durante la fermentazione permette di conoscere ciò che accade durante le fasi del metabolismo del lievito, e di controllare il livello di diacetile al fine di migliorare le caratteristiche organolettiche specifiche per ciascun tipo di birra.

Impiegare sistemi rapidi e semplici, come CDR BeerLab®, che permettano di eseguire il controllo del processo di birrificazione in birrificio senza l'aiuto di personale pratico di tecniche di laboratorio, permette di migliorare la qualità del prodotto finito risparmiando tempo e denaro.

### Bibliografia

1. **Cieol, Michele.** Il diacetile e la birra. *Birra e Malto*. 2005, 90-91.
2. **Chris White, Jamil Zainasheff,** *Yeast: The Practical Guide to Beer Fermentation (Brewing Elements)*, Brewers Publications

### Links

- Determinazione del diacetile e chetoni vicinali
- CDR BeerLab® Sistema di analisi della birra
- Validazione delle determinazioni del diacetile e della vitalità del lievito con CDR BeerLab® - CampdenBRI
- [Campden BRI](#)

# CDR BeerLab®: Gli effetti del “Late-hopping” e del Dry-hopping sull’amaro

## Introduzione

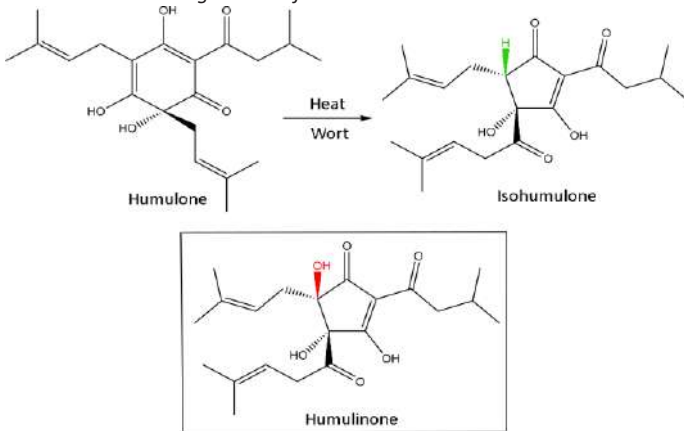
Nel corso degli anni, sono state impiegate, dai mastri birrai, diverse tecniche analitiche per monitorare il processo di birrificazione come la misura del pH, della densità, la microscopia etc. Più recentemente, è stata utilizzata la spettroscopia UV/Visibile per determinare l’amaro della birra, la quale dà un valore di amaro chiamato International Bittering Units (o IBU) – valore che tipicamente varia tra 0 – 100. Potendo avere un numero misurabile associabile all’amaro, i micro-birrifici sono in grado di monitorare gli standard della loro produzione lotto per lotto, oltre a garantire che siano conformi alle specifiche.

L’amaro che contraddistingue la birra è ottenuto dal luppolo aggiunto al mosto bollente durante il processo di birrificazione, in cui i composti, presenti nella foglia di luppolo, chiamati alfa-acidi (principalmente l’umulone) subiscono isomerizzazioni e producono iso- $\alpha$ -acidi (isumulone) come mostrato nella Figura 1. Usando lo spettrofotometria, l’assorbanza di un campione di birra, letta a 275 nm può essere convertita per dare il valore di IBU (che è approssimativamente la concentrazione di iso- $\alpha$ -acidi in ppm).

Questo metodo tradizionale per misurare l’amaro richiede di solito un laboratorio con un tecnico di laboratorio, uno spettrofotometro UV / Vis, un bagno ad ultrasuoni, vetreria, solventi ecc. e può richiedere dai 15 ai 30 minuti. Usando il CDR BeerLab®, l’amaro di un campione di birra può essere misurato in circa 6 o 7 minuti e può essere eseguita da chiunque.

Un recente articolo pubblicato su MBAA Technical Quarterly di Maye, di Smith e Leker<sup>1</sup> ha dimostrato che col tempo c’è una formazione di umulinone (vedi figura 1) nel luppolo e nel luppolo in pellet causata dalla ossidazione dell’umulone, la quale era stata individuata anche in birre che avevano già subito il dry-hopping.

Figura 1: La formazione dell’Humulinone



Maye et al. hanno dimostrato che l’umulinone è circa due terzi più amaro degli isumuloni e come tali contribuisce all’amaro finale delle birre luppolate. La struttura chimica dell’umulinone è molto simile a quella dell’isumulone, a parte per i gruppi funzionali evidenziati in rosso e verde (Figura 1) e per questo motivo l’assorbanza a 275 nm è anche molto simile - il che significa che l’umulinone contribuisce all’ IBU misurato.

Tenendo conto di tutto ciò, è facile vedere (contrariamente alla credenza popolare) che il dry-hopping può, ed infatti contribuisce, all’amaro della birra.

## Il progetto

Fondato nel 2011, il birrifico Hackney Brewery produce birre con un mix di stili moderni e tradizionali. All’inizio produceva birra solo in fusti, ma adesso la gamma di prodotti si è ampliata fino ad abbracciare le birre alla spina, imbottigliate ed infine in lattina. Vengono utilizzati malto e luppolo del Regno Unito, nonché ingredienti provenienti da Stati Uniti, Nuova Zelanda ed Europa, tutti tracciabili fino alla fonte.

Il birrifico utilizza il 100% di energia rinnovabile proveniente dai mulini a vento, mantenendo la sua “carbon footprint” il più bassa possibile e possiede una tecnologia per il recupero dell’energia che permette di recuperare il calore che altrimenti andrebbe perso durante la produzione.

L’acqua di processo in eccesso viene riutilizzata durante la pulizia e gli agricoltori locali raccolgono i cereali esusti per l’alimentazione degli animali. Il birrifico sostiene il piano del London Living Wave ed è attivamente coinvolto nelle associazioni benefiche della comunità locale.



Lo scopo di questo progetto è di usare il CDR BeerLab® per misurare il valore di IBU di due birre Hackney durante il “late-hopping” (luppolo aggiunto proprio alla fine dell’ebollizione) e durante il dry-hopping (luppolo aggiunto durante la fermentazione) con una misurazione finale dell’IBU effettuata sul prodotto finito. Si pensava che lo studio avrebbe fornito un determinato valore di IBU dovuto al late-hopping, e successivamente un altro valore di IBU, stavolta dovuto al dry-hopping, che sarebbero serviti per fornire, in definitiva, delle linee guida su come utilizzare il late/dry-hopping durante la preparazione, in base alle diverse ricette, e secondo le specifiche della birra che si desidera produrre.

## I risultati

Per lo studio, un campione di mosto è stato prelevato prima di un eventuale late-hopping e raffreddato a temperatura ambiente prima di misurare l’amaro con il CDR BeerLab®. Alla fine della bollitura, il mosto è stato raffreddato fino a 80 °C prima di essere trasferito nel fermentatore. Durante il raffreddamento un campione veniva prelevato dal tino ogni 5 minuti e l’amaro veniva analizzato con il BeerLab. Nel corso del trasferimento al recipiente di fermentazione, un campione è stato prelevato ogni 15 minuti e analizzato l’IBU con il CDR BeerLab®. Dopo il trasferimento, è stato aggiunto il lievito e su una campionatura è stato misurato l’IBU prima e dopo ogni dry-hopping, con un campionamento finale fatto per l’analisi dal prodotto confezionato finito.

## Kapow!

La prima birra analizzata è stata la Hackney Kapow! una birra con una amaro non tradizionale in quanto non aggiunta di luppolo durante l’ebollizione del mosto. Tutto l’amaro e le note di luppolo della birra provengono infatti dal late/dry-hopping. Non sorprende quindi, che prima di ogni aggiunta in late-hopping al tempo X (vedi Figura 2) si riscontrava un valore di IBU pari a 0, e allo stesso modo, prima della prima aggiunta in late-hopping a tempo 0, si misurava comunque un IBU pari a 0.

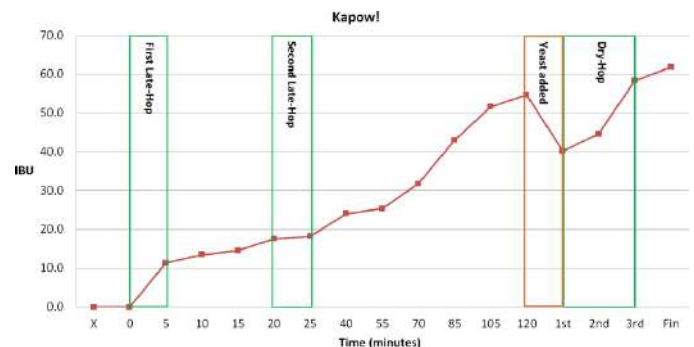


Figura2: Kapow!

Dalla fine della bollitura, fino alla fine del trasferimento nel fermentatore, è evidente un costante aumento del valore di IBU, causato dal costante contatto del mosto con il luppolo, aggiunto con il late-hopping, raggiungendo un IBU di 55.

Dopo il trasferimento nel fermentatore, viene aggiunto il lievito e dopo tre giorni viene prelevato un campione per analizzarne il valore di IBU prima del primo dry-hopping, tale analisi mostra come l'IBU sia diminuito durante la fermentazione. Ciò è dovuto agli alfa-iso-acidi (che non sono particolarmente solubili in acqua) che vengono assorbiti dal lievito e precipitano nella birra, questo è ulteriormente facilitato dal calo del pH, che si accompagna alla fermentazione.

La Figura 2 mostra che il campione è stato analizzato prima della 1°, 2° e 3° aggiunta di luppolo in dry-hopping, e che tali analisi dimostrano ancora una volta, un aumento del valore di IBU, sebbene, questa volta, la temperatura della birra in fermentazione sia di circa 18 °C. Ciò suggerisce che l'aumento di 20 IBU ottenuto durante il dry-hopping non potrebbe provenire dagli iso-alfa-acidi (poiché ciò richiederebbe calore) e che invece proviene da altri componenti del luppolo come gli umulinoni, come menzionato prima.

Il luppolo aggiunto e il contenuto di alfa-iso-acidi di questo lotto di Kapow! è mostrato nella Figura 3 qui sotto.

	1° Late-Hopping	2° Late-Hopping	Dry-Hopping	Alfa-iso-Acidi
Luppolo 1	1,25 Kg	1,25 Kg	6,00 Kg	11,6 %
Luppolo 2	1,25 Kg	1,25 Kg	5,00 Kg	9,6 %
Luppolo 3	1,00 Kg	4,00 Kg	6,00 Kg	14,5 %

Figura 3: Le aggiunte di luppolo -Kapow!

Come si può vedere, 10Kg di luppolo aggiunto in late-addition hanno contribuito ad un valore iniziale di IBU di 55, che risulta essere in disaccordo con il valore di IBU calcolato con il calcolatore Brewer's Friend IBU<sup>3</sup>, il quale prevedeva che con la quantità di luppolo utilizzata si sarebbe prodotto un amaro di soli 42 IBU. Inoltre, i 17Kg di luppolo aggiunto in dry-hopping hanno aggiunto 22 IBU, a temperatura di fermentazione, portando l'amaro finale di Kapow! a 62 IBU.

#### APA

La seconda birra scelta per le analisi è la Hackney APA. Questa birra prevede un'amaratura tradizionale con due aggiunte di luppolo durante la bollitura per dare un IBU di partenza di circa 20.

Come da spettativa, il valore di amaro inizialmente misurato al tempo X è di 20 IBU, seguito da un leggero aumento al tempo 0 e 5 minuti dopo la fine della bollitura. A questo punto del campionamento, la quantità di luppolo presente iniziò ad ostruire il rubinetto di campionatura, causando la lenta fuoriuscita del campione e un'elevata concentrazione di luppolo nel campione prelevato. Ciò ha portato ad osservare risultati sovrastimati durante il periodo di campionamento direttamente dal fermentatore. È importante evidenziare la genuinità del campionamento, poiché qualsiasi campione prelevato con un alto contenuto di luppolo o campioni bloccati nel rubinetto, possono causare risultati sovrastimati.

I campioni prelevati dal tempo 40 al tempo 120 sono stati prelevati direttamente dal fermentatore durante il trasferimento dal tino di ammostamento, evitando il problema del rubinetto di campionamento ostruito e producendo risultati simili a quelli visti in Kapow! con un costante aumento delle IBU da 22 a 27,5.

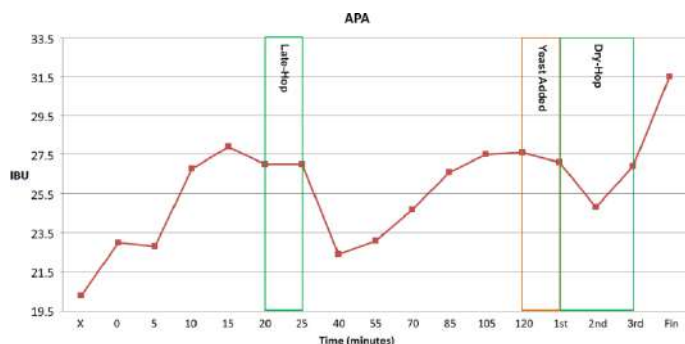


Figura 4: APA

Ancora una volta, l'aggiunta di lievito e la fermentazione di 3 giorni hanno prodotto un calo di IBU a 24, ma dopo il secondo giorno di dry-hopping l'IBU è salito a 31,5 nel prodotto finito. Le aggiunte di luppolo e il contenuto di alfa-acidi per questo lotto di APA sono mostrati nella Figura 5.

	1° Late-Hopping	2° Late-Hopping	Dry-Hopping	Alfa-Acidi
Luppolo 1	0,55 Kg	-	-	14,6 %
Luppolo 2	1,25 Kg	3,75 Kg	5,00 Kg	8,5 %
Luppolo 3	-	-	5,00 Kg	10,5 %

Figura 5: Aggiunte di luppolo - APA



Se si osservano queste cifre si nota che gli 1,80 kg di luppolo aggiunti in ebollizione contribuiscono ai 20 IBU di partenza come previsto, tuttavia è difficile vedere l'effetto dell'aggiunta in late-hopping a causa del blocco del rubinetto di campionatura. Inoltre vediamo un leggero aumento da 21 a 27 IBU durante il trasferimento al fermentatore, che dovrebbe essere derivato dall'aggiunta in late-hopping. In questo caso, i 10 kg aggiunti in dry-hopping hanno dato luogo a un aumento di amaro di circa 7 IBU, che comparato alla Kapow!, è circa la metà dell'IBU sviluppato dalla Kapow! con l'aggiunta della stessa quantità di luppolo, ma ciò potrebbe essere dovuto a un contenuto di alfa-acidi inferiore nel luppolo utilizzato nell'APA rispetto alla Kapow!

#### Le conclusioni

Il luppolo viene tradizionalmente aggiunto al mosto bollente durante il processo di ammostamento per convertire gli umuloni in isoumuloni, aumentando così l'amaro ed equilibrando l'aroma dolce del mosto. Nei moderni stili di birra si è assistito ad un incremento del luppolo aggiunto nelle diverse fasi del processo di birrificazione, anche alla fine dell'ammostamento (late-hopping) e appena prima della fine della fermentazione (dry-hopping). Si è sempre pensato che il late-hopping e il dry-hopping non contribuiscano all'amaro nella birra, tuttavia, usando il CDR BeerLab®, Hackney è stato in grado di condurre uno studio al riguardo senza la necessità di un laboratorio chimico. Abbiamo dimostrato un notevole aumento dell'amaro dovuto sia al dry-hopping, sia al late-hopping, suggerendo che i composti alternativi presenti nel luppolo (come l'umulinone) contribuiscono effettivamente al valore di IBU durante il processo di birrificazione.

#### References

- MAYE J. P., SMITH R., Leker J.; MBAA Technical Quarterly, 2016, Vol. 53, pp. 23 – 27.
- DE KEUKELEIRE D., VERZELE M.; Tetrahedron, 1971, Vol. 27, pp. 4939 – 4945.
- <https://www.brewersfriend.com/ibu-calculator>

Author:

Dr Lee Walsh, QCL, Riverside, Forest Row Business Park, Forest Row, East Sussex, RH18 5DW, UK





# L'analisi dell'ammestamento in birrificio

## Introduzione

Il processo di birrificazione può essere generalmente descritto in 4 fasi chiave; ammostamento dell'orzo maltato (possibilmente con altre aggiunte di cereali), la bollitura e l'amaricatura del mosto dolce risultante, la fermentazione del mosto bollito e quindi la rifermentazione della birra prima del confezionamento. Tutti questi passaggi sono importanti nella produzione di un'ottima birra; tuttavia sono tutti superflui senza un ammostamento ben eseguito. In questo processo, l'orzo maltato viene immerso in acqua calda per circa un'ora al fine di attivare alcuni enzimi che scompongono gli amidi complessi del grano in zuccheri fermentescibili.

La fine del processo di ammostamento non viene in genere misurato nel microbirrificio; tuttavia, dopo il trasferimento del mosto dolce nel fermentatore, di solito verrà misurato il peso specifico del mosto per garantire che l'ammestamento abbia prodotto la quantità desiderata di zucchero per lo stile di birra prescelto.

## Il progetto

Il Long Man Brewery si trova nella Church Farm a Litlington. Con sede nel South Downs National Park, questo birrificio è orgoglioso di produrre pregiate Sussex Ale con l'obiettivo principale della sostenibilità ambientale. Ciò si ottiene in quasi tutti i processi del birrificio coltivando direttamente l'orzo utilizzato per la birra, approvvigionando l'acqua da una fonte nella proprietà e alimentando il birrificio usando un complesso di 100 pannelli solari.



Lo scopo di questo progetto era quello di eseguire un'analisi del processo di ammostamento usando il CDR BeerLab® studiando 3 diversi stili di birra Long Man al fine di ridurre i tempi di ammostamento e migliorare l'efficienza del processo. Lo studio ha confrontato la produzione di zuccheri fermentescibili rispetto all'amido attraverso misurazioni di pH e temperatura, nonché di azoto organico libero (FAN). L'idea era di dimostrare come in un paio d'ore di campionamento, le analisi eseguite saranno in grado di mostrare cosa sta succedendo nel tino di ammostamento in termini di produzione di zuccheri, dagli enzimi e la sua correlazione con il pH e le variazioni di temperatura (se presenti).

## I risultati

### Best Bitter

Il primo ammostamento analizzato è stato quello della birra Long Man Best Bitter; tale processo prevedeva l'ammestamento ad una temperatura di 73 °C (che ha richiesto 20 minuti), l'agitazione del composto e l'avvio del timer. Ogni 10 minuti veniva prelevato un campione dal recipiente dell'ammestamento con le stesse modalità, partendo da un campione al tempo 0 (ovvero immediatamente dopo l'inizio dell'ammestamento). Una volta prelevato, il campione è stato immediatamente raffreddato in acqua ghiacciata per interrompere il processo di ammostamento e impedire l'ulteriore produzione di zucchero fermentescibile.

Come si può vedere dalla Figura 1, la Best Bitter ha dato esattamente il tipo di risultati che ci aspettavamo. Lo zucchero e l'amido aumentano gradualmente nei primi 10 minuti dell'ammestamento poiché entrambi si dissolvono nel mosto; poi, quando, al 20° minuto, l'attività dell'enzima raggiunge il suo picco, la concentrazione di amido diminuisce, mentre lo zucchero continua a salire. Dopo 20 minuti e fino al punto di sparging, gli zuccheri fermentescibili sembrano raggiungere un plateau durante il quale si raggiunge la massima concentrazione di zuccheri per questa particolare ricetta - tuttavia l'amido aumenta gradualmente (l'amido complesso che non può essere scisso dagli enzimi si dissolverà nel mosto).

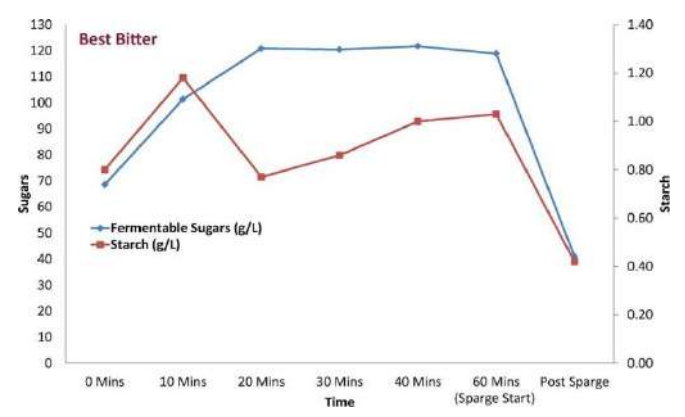
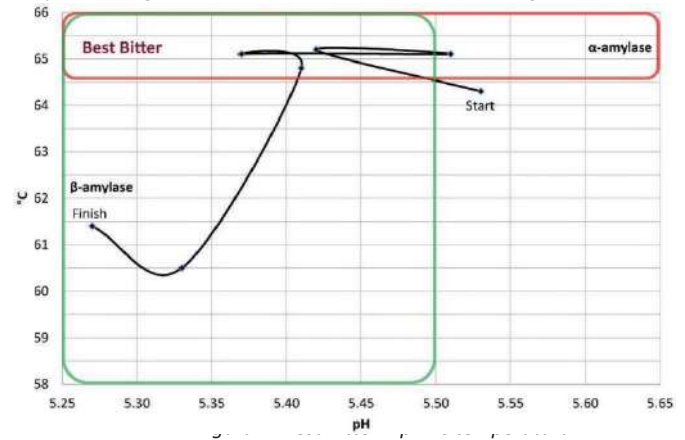


Figura 1: Best Bitter – zuccheri e amido vs tempo

Se lo scopo principale del processo di ammostamento fosse stato quello di convertire l'amido dei cereali in zuccheri fermentescibili, allora si potrebbe dire che l'ammestamento di questa birra è finito dopo soli 20 minuti.

Osservando l'ottima riuscita dell'ammestamento della Best Bitter, può essere semplice attribuire ciò al mantenimento delle condizioni pH-temperatura ideali per l'attività delle due amilasi. La Figura 2 mostra la temperatura e il pH dei campioni dall'inizio del processo dell'ammestamento al minuto 0 alla fine del processo al minuto 60. Nel grafico si osservano le regioni di attività dettate dalle condizioni pH-temperatura dei due enzimi ( $\alpha$  e  $\beta$ -amilasi) che sono fondamentali per la scissione dell'amido in zuccheri. Le condizioni pH-temperatura dell'ammestamento della Best Bitter rientrano per la maggior parte del tempo nelle regioni di attività delle amilasi mostrate nel grafico.



### Longe Blonde

Il secondo ammostamento analizzato è stato quello della birra Long Blonde, per la quale è stata seguita la stessa procedura di campionamento della birra Best Bitter - prelevando un campione ogni 10 minuti, con un campionamento al tempo 0, uno all'inizio dello sparging a 60 minuti e uno alla fine dello sparging.

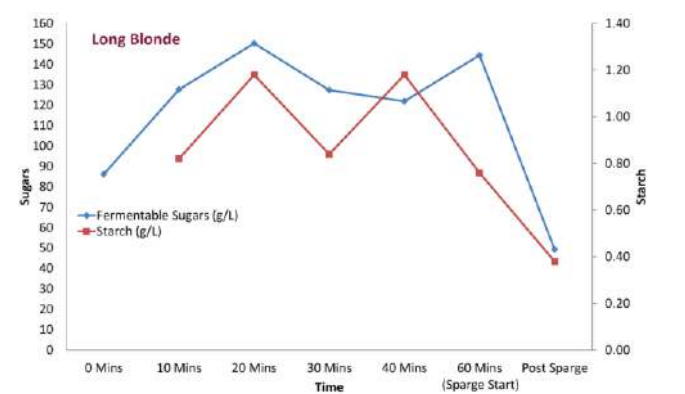


Figura 3: Longe Blonde – zuccheri e amido vs tempo



I risultati mostrati nella Figura 3 descrivono una chiara differenza tra l'ammestamento della Long Blonde rispetto a quello della Best Bitter. L'ammestamento della Long Blonde ha mostrato un aumento di zuccheri e amido simile a quello della Best Bitter, anche se quest'ultimo è stato seguito da un calo dell'amido (che è stato scomposto dagli enzimi). Ciò è stato accompagnato da un calo di zucchero e quindi da un successivo aumento dell'amido.

Nel giorno della produzione della Long Blonde, è importante notare che la temperatura del recipiente di ammostamento era particolarmente instabile, si nota infatti che parte da circa 65 °C ma scende molto rapidamente a 62 °C, prima di aumentare e stabilizzarsi a circa 63 °C. Ancora una volta, guardando alle condizioni pH/temperatura dell'ammestamento nella Figura 4, sembra che con la variazione della temperatura del recipiente di ammostamento, ci sia stato anche un aumento significativo del pH, che mantiene l'ammestamento al di fuori delle aree di attività enzimatica ottimali per gran parte del tempo.

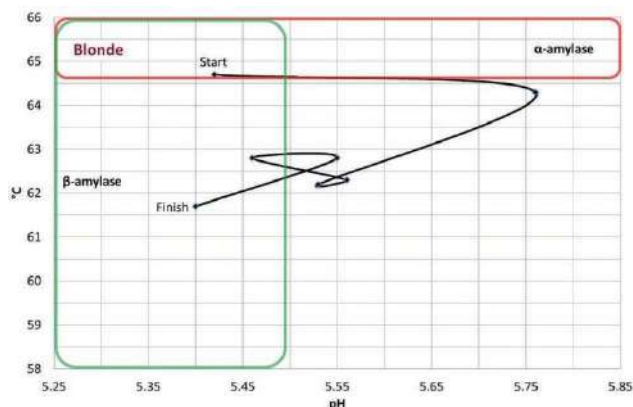


Figura 4: Long Blonde - pH vs Temperatura

Quando si confrontano le Figure 3 e 4, si nota che il tempo che il processo di ammostamento ha trascorso al di fuori dei parametri ottimali per l'attività enzimatica, coincide con un calo della concentrazione di zuccheri e un picco nella concentrazione di amido. Inoltre, l'ammestamento termina in maniera ottimale in condizioni di pH/temperatura favorevoli per la β-amilasi, riinnalzando la concentrazione di zuccheri al minuto 60 e diminuendo la concentrazione di amido.

#### APA

L'ultimo ammostamento analizzato è quello dell'APA Long Man, il quale è stato studiato, ancora una volta, seguendo la stessa procedura di campionamento: un campionamento ogni 10 minuti dal minuto 0 al minuto 60, all'inizio dello sparging e un alla fine dello sparging.

Questo ammostamento si è sviluppato similmente a quello della Best Bitter, come mostrato nella Figura 5, con la differenza che gli zuccheri fermentescibili impiegano un po' più di tempo per raggiungere la massima concentrazione per questa particolare ricetta. La concentrazione di amido, invece, è partita da un livello più alto rispetto ai precedenti 2 esempi; ciò può essere attribuito alla temperatura e al pH che inizialmente sono leggermente al di fuori delle aree di attività enzimatica ottimali, come si può osservare dalla Figura 6.

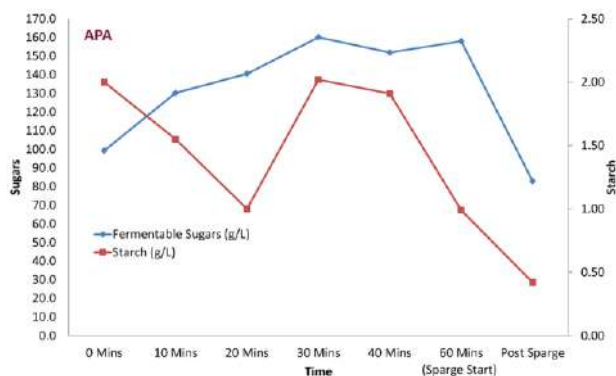


Figura 5: APA - Zuccheri e amido vs tempo

Successivamente, l'amido diminuisce quando viene scomposto dalla α-amilasi e β-amilasi e quindi aumenta quando lo zucchero raggiunge una concentrazione massima, come si vede anche nella Best Bitter, Figura 1.

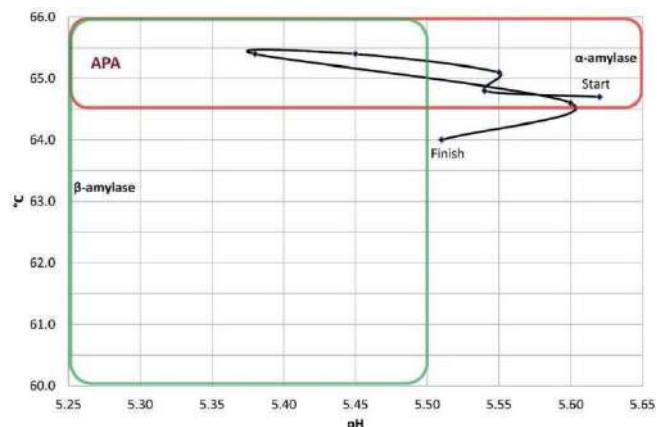


Figura 6: APA - pH vs Temperatura

#### Le conclusioni

Utilizzando il CDR BeerLab® è stato possibile analizzare il processo di ammostamento di 3 stili di birra in termini di zuccheri fermentescibili, amido, pH e FAN, ottenendo risultati in meno di un'ora con l'obiettivo di migliorare l'efficienza della fermentazione e riducendo il tempo di ammostamento. Il nostro studio ha mostrato una buona correlazione tra la produzione di zuccheri fermentescibili, il pH ottimale e la temperatura ideale degli enzimi digestivi dell'amido α e β-amilasi, responsabili della riduzione della concentrazione dell'amido.

Un campione di ogni birra è stato prelevato dopo la bollitura e sottoposto ad analisi del FAN, dimostrando che 2 birre su 3 avevano una concentrazione di azoto molto bassa per un'ottimale crescita del lievito. Conoscendo il contenuto di FAN di ogni birra, i nutrienti del lievito possono essere regolati per garantirne una crescita sana, evitando blocchi di fermentazioni, risparmiando tempo e lievito.

I risultati ottenuti su zuccheri fermentescibili e amido della birra Best Bitter forniscono un grande esempio di come sia possibile abbreviare il tempo di ammostamento, risparmiando circa 15 minuti per processo e migliorando l'efficienza del birrifico. Se, in aggiunta a questi dati, si eseguono ulteriori analisi di ogni cotta, utilizzando il CDR BeerLab®, si potranno seguire le eventuali variazioni giornaliere della produzione di zuccheri per ogni ammostamento, risparmiando ulteriormente tempo. Considerato che la birra Long Man viene ammostata due volte al giorno, questo studio potrebbe far risparmiare 30 minuti al giorno, tempo prezioso se si considera che la giornata lavorativa inizia alle 4 del mattino.

#### Bibliografia

- [The effects of Mashing Temperature and Mash Thickness on Wort Carbohydrate Composition], MULLER R., J. Inst. Brew., 1991, Vol. 97, pp. 85-92
- PALMER J. J., How to Brew: Everything You Need to Brew Beer Right The First Time, 3rd Edition, Brewers Publications, 2006.

Author: Dr Lee Walsh, QCL, Riverside, Forest Row Business Park, Forest Row, East Sussex, RH18 5DW, UK



## L'importanza silenziosa dell'acqua nella produzione della birra

Simone Bellassai Chimico - Enologo e esperto di analisi su alimenti e bevande presso CDR – Laura Giannelli Ricercatore del CDR Chemical Lab "Francesco Bonicolini"

### Introduzione

Sebbene l'influenza dell'acqua rispetto alle caratteristiche del prodotto finito possa sembrare di scarsa importanza per un consumatore inesperto, dal punto di vista della produzione, la scelta e il trattamento dell'acqua sono elementi di primaria importanza nella definizione delle caratteristiche organolettiche.

In effetti, la composizione chimica dell'acqua non solo influenza direttamente il gusto della bevanda, come il gusto più dolce o amaro, ma agisce anche in modo significativo sulla serie di reazioni biochimiche che si verificano durante il processo di birrificazione, coinvolgendo tutti gli altri ingredienti utilizzati.

Dopo tutto, non si potrebbe altrimenti considerare che l'acqua costituisce la matrice principale della birra, determinando in proporzione, dall'80 al 90% del prodotto finito.

### Il passato e il presente

Da un punto di vista storico, l'acqua ha determinato molte delle caratteristiche che gli stili di birra continuano ad avere, se non anche la possibilità per un luogo di produrre birra o meno.

Ogni città e ogni villaggio, nel passato come oggi, ha acque diverse, dure o dolce, con una diversa concentrazione di calcio e altre caratteristiche.

Queste caratteristiche hanno costretto i produttori di birra di diversi luoghi del mondo ad adattare le ricette e i processi di produzione a ciò che l'area poteva offrire.

In altre parole, l'acqua è uno dei principali legami che la birra ha avuto in passato con il suo territorio. A differenza del luppolo e dei malti che potevano viaggiare nel passato, l'acqua non poteva essere trasportata, rendendo obbligatoria la gestione delle sue caratteristiche a livello locale.

Ciò nonostante, anche se l'acqua non può essere trasportata, può spostarsi, quindi la presenza di importanti corsi d'acqua vicino ad alcuni birrifici ha permesso la rapida diffusione di molti stili in paesi diversi.



Al giorno d'oggi, le tecnologie per il trattamento dell'acqua e i più sviluppati metodi di controllo dell'intero processo di produzione, consentono ai produttori di ottenere sempre acqua con una composizione ideale. Questo è sicuramente un vantaggio in particolare per i birrifici che hanno più stabilimenti e che sono quindi in grado di produrre la stessa birra in ogni loro stabilimento.

Dal punto di vista del rapporto costo-efficacia, una qualità inadatta dell'acqua utilizzata per la produzione, non solo influenza il gusto, ma interferisce anche con il processo di birrificazione e quindi aumenta i costi di produzione.

### Aspetti normativi

La prerogativa obbligatoria per la produzione di birra è l'uso di acqua potabile, microbiologicamente pura, secondo le disposizioni della normativa vigente, come ingrediente per la produzione di birra.

Ciò non obbliga i produttori a utilizzare l'acqua degli acquedotti e non implica che non possa essere prelevata dell'acqua dalla fonte, come accade per le fabbriche di birra storiche, ma è necessario che l'acqua sia garantita come potabile attraverso periodiche analisi chimico-fisiche e microbiologiche, o attraverso l'uso di trattamenti di purificazione.

Attualmente il metodo più utilizzato per il trattamento delle acque è la sua demineralizzazione mediante l'uso di filtri chimici e quindi la reintroduzione graduale di ioni e sali nella proporzione desiderata.

## I principali parametri dell'acqua responsabili della qualità della birra

L'**alcalinità** dell'acqua è il parametro più importante che i produttori di birra devono considerare, in quanto direttamente coinvolta nella fase di miscelazione e in tutte quelle qualità sensoriali finali che caratterizzano una birra. Dal punto di vista chimico, l'alcalinità totale è definita come la concentrazione di acidi forti, misurata in milliequivalenti per litro, necessaria per convertire il bicarbonato o il carbonato nel campione in biossido di carbonio ad un pH di 4,3.

In generale, le direttive più comuni affermano che l'alcalinità dell'acqua dovrebbe essere il più bassa possibile.

Lo ione **calcio** è l'altro parametro principale che deve essere considerato per la produzione di birra. Agisce da cofattore per gli enzimi coinvolti nella fase di ammostamento e la sua aggiunta può essere necessaria per assicurare la corretta attività enzimatica per gli ammostamenti in acque naturalmente carenti di questo ione. Inoltre lo ione calcio abbassa il pH per ottenere un trub compatto alla fine della fase whirlpool e consentire la flocculazione del lievito al termine del processo di fermentazione. Una concentrazione troppo elevata di calcio, oltre ai 250 ppm, può inibire l'assorbimento del magnesio da parte del lievito e può compromettere l'esito della fermentazione.

È sorprendentemente insapore. È largamente approvato che il livello di calcio dovrebbe essere di almeno 50 ppm.

Un'elevata quantità di **bicarbonato** può influenzare il pH, evitando la sua diminuzione. Inoltre, poiché questo ione interagisce con gli iso- e alfa-acidi ottenuti dall'aggiunta di luppolo, la sua alta concentrazione può essere responsabile di una nota astringente indesiderata nella birra.

Il livello di **solforati** contribuisce al gusto amaro e secco di una birra. A concentrazioni superiori a 400 ppm l'amaro che ne risulta può diventare astringente e sgradevole, anche a causa dello sviluppo di anidride solforosa e acido solfidrico che possono creare odori sgradevoli nel prodotto.

Lo ione **magnesio** svolge un ruolo importante nella fermentazione, in particolare favorendo la riproduzione del lievito, essendo un importante nutriente per il metabolismo della piruvato decarbossilasi. Lo ione magnesio dovrebbe avere una concentrazione nel mosto di almeno 5 ppm. D'altra parte, quantità troppo elevate possono essere responsabili di un gusto acido e amaro spiacevole.

Lo ione **zinco** favorisce il metabolismo del lievito e può essere aggiunto come nutriente durante la fase di ebollizione del mosto, i suoi livelli raccomandati per una fermentazione ottimale sono 0,1-0,5 ppm. Al contrario, una maggiore concentrazione può causare iperattività e aromi indesiderati nella birra.

La pienezza e la stabilità di una birra beneficiano della presenza di **cloruri**, anche se i livelli superiori a 250 ppm nella maggior parte delle birre, danno un sapore pastoso o salato e livelli superiori a 300 ppm possono influire sulla salute del lievito.

Il **potassio** è un altro ione importante nel processo di produzione della birra. Il mosto e la birra hanno una concentrazione naturale relativamente elevata di potassio (300-500 ppm), fornita dal malto.

### Alcuni esempi

Come già detto, il gusto di alcune birre è unico e immediatamente riconoscibile, e uno dei principali responsabili è proprio l'acqua utilizzata per la produzione.

Se la birra Pilsner deve ringraziare l'acqua di Plzen per la sua famosa dolcezza, le birre Stout sono il risultato dell'acqua dura di Dublino, la Pale Ale è sicuramente legata all'acqua di Burton-on-Trent, ricca di calcio e solfato.

In questa tabella sono brevemente riassunti i diversi contenuti di ioni di alcuni dei luoghi più famosi per la produzione di birra in Europa.

Dati in mg/L	Calcio	Magnesio	Solfati	Bicarbonato	Cloruri
Burton	295	45	725	300	25
Dublino	115	4	55	200	19
Londra	90	5	40	125	20
Monaco	75	20	10	200	2

## Come il birrifico può monitorare i parametri dell'acqua durante il processo di produzione della birra

### Metodi convenzionali

Le analisi convenzionali sui parametri dell'acqua devono essere gestite da tecnici specializzati, responsabili dell'utilizzo, della calibrazione e della manutenzione di una serie di strumenti e materiali a loro dedicati.

Se solo i grandi stabilimenti possono avere laboratori interni, la maggior parte delle fabbriche di birra si affidano a laboratori esterni, i quali facilitano l'organizzazione interna del birrifico, ma solitamente il costo dell'analisi è elevato e, soprattutto, i risultati non sono in tempo reale, quando invece sarebbe fondamentale per il produttore di birre avere risultati immediati, per poter prendere la decisione migliore durante una specifica fase della produzione.



Considerando l'alcalinità totale dell'acqua e la sua importanza di cui si è già discusso, questa è convenzionalmente determinata attraverso titolazione potenziometrica.

Questo metodo deve essere eseguito da personale specializzato, con l'impiego di strumenti di laboratorio come vetreria, bilance e dispositivi di protezione individuale.

Il campione viene tipicamente titolato usando un indicatore di metilarancio, che ha un intervallo di colore di pH 3,2-4,4, e sebbene il suo viraggio sia ad un valore di pH di 4,3, si dice che sia sottile e difficile da osservare con precisione.

Ecco perché le attuali norme ISO specificano l'uso di una soluzione di due indicatori: rosso di metile e il verde di bromocresolo con il viraggio a pH 4,5.

Nel caso di ioni metallici, il loro rilevamento viene solitamente eseguito utilizzando tecniche complesse come AAS (spettroscopia di assorbimento atomico), ICP-MS (spettroscopia di massa ad emissione di plasma accoppiato induttivamente) o IPC-OES (spettroscopia di emissione ottica) e l'unica opzione per il birrifico è quella di fare riferimento a un laboratorio specializzato. In breve, anche se AAS è più economico e più accurato rispetto alle tecniche ICP che sono meno accurate, più costose ma più veloci e in grado di rilevare più parametri contemporaneamente, comunque entrambi i metodi rimangono molto dispendiosi in termini di tempo, hanno bisogno di personale specializzato per essere eseguiti e la loro applicazione in tempo reale durante le diverse fasi della produzione della birra è del tutto impossibile.

### Il metodo CDR BeerLab® e i principali vantaggi

Confrontando le misure effettuate con CDR BeerLab® a quelle effettuate con i metodi di riferimento, esse risultano evidentemente più facili e veloci, pur garantendo la stessa precisione perché perfettamente correlate ai rispettivi metodi di riferimento e ottimizzate per essere applicate su questo sistema. CDR BeerLab® è un sistema completo, composto da analizzatore e reagenti dedicati.

Il principio di lettura dello strumento è la tecnologia fotometrica, basata su emettitori LED, che non richiedono una calibrazione periodica; è un sistema ottico a lunga durata e ha un intervallo di misura 3 volte più ampio, il tutto rispetto alla fotometria standard.

Inoltre, sia le celle di incubazione che quelle di lettura dell'analizzatore sono termostatate a 37 °C, consentendo di ridurre i tempi di reazione.

Tutti i reagenti dedicati sono forniti in kit completi e in cuvette pre-infialate, permettendo così di ridurre possibili errori durante la loro preparazione e di accelerare l'intera procedura operativa.

In caso dell'alcalinità dell'acqua, la misurazione su CDR BeerLab® si basa sui componenti alcalini dell'acqua che reagiscono con un reagente specifico, portando alla formazione di un addotto che si assorbe alla lunghezza d'onda di 366 nm. L'assorbanza del campione è direttamente proporzionale al valore di alcalinità e la sua lettura è realizzata da un fotometro che utilizza emettitori LED. In termini di tempo, sono necessari solo 10 minuti per una misurazione.

L'ampio pannello di analisi di CDR BeerLab® prevede altri parametri già elencati, ma anche nel caso di ioni metallici, il loro rilevamento non richiede strumenti o strumenti aggiuntivi e richiede solo pochi minuti in tutti i casi.

Inoltre, CDR BeerLab® ti consente di determinare un ampio pannello di parametri sulla birra e sul mosto in ogni fase del processo di fermentazione, anche se non hai un laboratorio chimico o una cappa aspirante. Il suo utilizzo non richiede un laboratorio di supporto.

Quindi, con CDR BeerLab®, è possibile eseguire un controllo di qualità interno completo del processo di produzione della birra ottenendo risultati in tempo reale.

I principali vantaggi del nostro sistema sono:

- **affidabilità** - il metodo CDR BeerLab® viene confrontato con il metodo di riferimento;
- **tempi di analisi ridotti** - solo pochi minuti per una determinazione;
- **facilità**: i reagenti sono pre-infialati e lo strumento non necessita di procedure di calibrazione, manutenzione o pulizia all'inizio o alla fine della sessione di lavoro, non è richiesta alcuna competenza tecnica;
- **riproducibilità** - la possibilità di introdurre errori manuali lavorando con il sistema chiuso CDR è ridotta al minimo, se non esclusa;
- **flessibilità** - lo strumento è stato pensato per essere utilizzato in tempo reale nell'impianto di lavorazione.
- **versatilità** - I laboratori CDR sono produttori esclusivi sia della strumentazione che dei reagenti; siamo sempre alla ricerca di nuove applicazioni, che una volta rilasciate saranno disponibili su CDR BeerLab® semplicemente aggiornando il software dello strumento.

## Bibliografia

John Palmer and Colin Kaminski (2013). Water A Comprehensive Guide for Brewers.

## *Autori:*

**Simone Bellasai**, Chimico – Enologo ed esperto di analisi su alimenti e bevande presso CDR.

**Lisa Mearelli**, ricercatrice presso il laboratorio chimico CDR “Francesco Bonicolini”.

**Lee Walsh**, account manager QCL, Forest Row, East Sussex, UK.

**Emanuela Pascale**, , ricercatrice presso il Dipartimento di chimica, Università degli Studi di Firenze.

**Laura Giannelli**, ricercatrice presso il laboratorio chimico CDR “Francesco Bonicolini”.