

POLITECNICO DI TORINO

Collegio di Ingegneria Chimica e dei Materiali
Corso di Laurea Magistrale
in Ingegneria Chimica e dei Processi Sostenibili

Tesi di Laurea Magistrale

Implementazione della Gestione di Verifica e Taratura dei Sistemi di Controllo in Linea di un impianto di Produzione di Birra



Relatore

prof. Davide Fissore

Candidato

Anna Laura Alborghetti

Marzo 2022

Alla mia famiglia,

Sommario

1	Introduzione	1
1.1	Storia dello stabilimento Heineken di Assemini.....	1
1.2	Processo di Produzione della Birra.....	3
1.2.1	Ingredienti fondamentali.....	3
1.2.2	Fasi di produzione	7
1.2.3	Classificazione della birra	14
1.3	Controllo di Processo.....	15
1.4	Laboratory Star System in Line.....	16
1.5	Scopo della Tesi	17
2	Strumenti e Procedure di verifica.....	19
2.1	Parametri Monitorati in Linea nello Stabilimento Heineken di Assemini	20
2.2	Strumenti di Controllo e di misura in linea e principio di Funzionamento	23
2.2.1	Paar.....	23
2.2.2	Aber	30
2.2.3	Disposizione strumenti di misura nella linea di produzione	31
2.3	Procedura di Verifica Paar	36
2.3.1	Paar da Banco	36
2.3.2	Cbox.....	38
2.3.3	Procedura di Campionamento	39
2.3.4	Preparazione del Campione e Analisi	44
2.4	Procedura di Verifica Aber	48
2.4.1	Procedura di Montaggio e Taratura	49
2.4.2	Validazione	54
3	Risultati e Discussione	69
3.1	Procedura di Calibrazione dello strumento in linea secondo le linee guida del LSS.....	69
3.2	Paar.....	70
3.2.1	Risultati ottenuti e Discussione	71
3.2.2	Intervento sullo strumento	81
3.3	Aber	84
3.3.1	Risultati ottenuti e Discussione	84
4	Conclusioni	89
5	Bibliografia.....	91
6	Ringraziamenti.....	95

1 Introduzione

1.1 Storia dello stabilimento Heineken di Assemini

L'azienda in cui è stato svolto il tirocinio finalizzato al presente lavoro di Tesi è lo stabilimento Heineken di Assemini, dove avviene la produzione della birra Ichnusa, il cui sviluppo nel tempo è mostrato in Figura 1.

Il marchio "Ichnusa" prende il nome da un'antica denominazione di origine greca della Sardegna "χνοῦσσα".

Il primo stabilimento nacque nel 1912 nel centro di Cagliari dove venne fondata l'industria Birreria Ichnusa adibita alla produzione di birra e ghiaccio; nel 1915 venne creata una nuova società "Società Anonima Birreria Ichnusa" e a causa del grosso investimento iniziale e della scarsa disponibilità economica ci furono problemi nella gestione dell'azienda; infatti, intervenne Amsicora Capra principale imprenditore sardo nel settore viticolo e proprietario della Vinalcool, acquistando la società.

Con l'arrivo della Seconda Guerra Mondiale arrivò anche l'interruzione temporanea della produzione che riprese però nel 1945 immediatamente dopo la fine del conflitto, diventando un simbolo del rinnovato benessere in città.

Nel 1963 si costruì la nuova unità produttiva ad Assemini nella zona industriale di Macchiareddu-Grogastu, in una zona ricca di fonti acquifere, ovvero la sede odierna. Lo stabilimento venne inaugurato diventando operativo a partire dal 1967, e fu il primo in assoluto in Italia ad installare serbatoi di fermentazione cilindrico-conici verticali.

In questo periodo la Vinalcool prese a produrre anche bibite analcoliche come spuma, chinotto, ginger e aranciata, a marchio Ichnusa.

In pochi anni il birrificio crebbe:

- all'inizio degli anni Ottanta infatti la capacità produttiva raggiunse i 400.000 ettolitri l'anno.
- Nel 1986 raggiunse una capacità produttiva di 580.000 ettolitri di birra l'anno.

Nel 1986 il marchio Birra Ichnusa fu acquistato del gruppo Heineken Italia S.p.A, che mantenne, oltre alla ricetta, lo stabilimento ad Assemini, e cessò la produzione delle bibite analcoliche a marchio Ichnusa. Tutt'oggi la birra Ichnusa continua ad essere prodotta esclusivamente nello stabilimento di Assemini Macchiareddu a Cagliari. [1] [2]

In occasione del centenario è stata ideata e prodotta l'Ichnusa Cruda, birra chiara non pastorizzata dal sapore intenso.

I prodotti Marchio Ichnusa sono diversi:



- **Ichnusa anima Sarda:** birra di tipo Lager, prodotta con una bassa fermentazione, dalla moderata frizzantezza, con uno spiccato sentore di luppolo, un gusto moderatamente amaro e un colore dorato. Possiede una schiuma compatta e un corpo leggero. La sua gradazione alcolica è di 4,7 % vol e la sua gradazione saccarometrica è di 10,6° vol.
- **Ichnusa non filtrata:** birra di tipo Lager non filtrata, prodotta con una bassa fermentazione, dalla moderata frizzantezza con uno spiccato sentore fruttato e un leggero sentore di luppolo, un gusto moderatamente amaro e un colore dorato. Possiede una schiuma persistente e un corpo intenso e rotondo. La sua gradazione alcolica è di 5 % vol e la sua gradazione saccarometrica è di 11,2° vol.
- **Ichnusa Cruda:** birra di tipo Lager, prodotta con una bassa fermentazione, dalla moderata frizzantezza con aroma fine di luppolo, un gusto moderatamente amaro e un colore dorato. Possiede una schiuma compatta di grana fine e un corpo leggero. La sua gradazione alcolica è di 4,9 % vol e la sua gradazione saccarometrica è di 11,2° vol.
- **Ichnusa al Limone:** birra di tipo Radler, prodotta con una bassa fermentazione, dalla moderata frizzantezza con un leggero gusto di limone e impercettibili note amare date dalla luppolatura, e un colore paglierino. Possiede una schiuma compatta e aderente e un corpo scarno. La sua gradazione alcolica è di 2 % vol e la sua gradazione saccarometrica è di 10% p/p. [3]

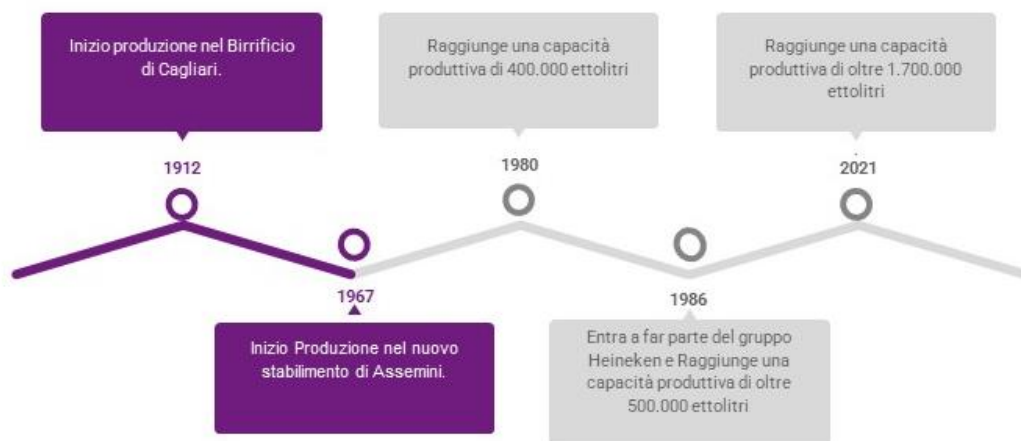


Figura 1-Linea Temporale di Sviluppo dello Stabilimento Heineken di Assemini

1.2 Processo di Produzione della Birra

Con il termine birra si intende il prodotto ottenuto dalla fermentazione alcolica con ceppi di *Saccharomyces Carlsbergensis* o di *Saccharomyces Cerevisiae* di un mosto di birra, ovvero una soluzione contenente zuccheri semplici ottenuti da malto e orzo di cui si nutrirà il lievito. Il mosto viene preparato con malto (anche torrefatto), orzo di frumento o di loro miscele, amaricato con luppolo o suoi derivati o con entrambi. Oltre a orzo e frumento possono essere aggiunti altri cereali: frantumati, macinati o sotto forma di fiocchi; nonché materie prime amidacee e zuccherine, in misura massima del 40% calcolato sull'estratto secco totale del mosto.

La birra è composta per circa il 95% da acqua; quindi, la birra è una soluzione acquosa che contiene modeste quantità di composti non fermentabili/non fermentati provenienti da malti e luppoli e composti originati dai lieviti durante la fermentazione alcolica; questi composti vengono misurati in *g/l* nel caso di alcol etilico, anidride carbonica ecc. o in *mg/l* per aromi prodotti dai lieviti e dagli *iso* – *α acidi* dei luppoli. [4]

1.2.1 Ingredienti fondamentali

1.2.1.1 Acqua

L'acqua è presente in diverse fasi del processo produttivo della birra, per questo i birrifici sorgono solitamente in prossimità di zone in cui c'è un'abbondante risorsa idrica. L'acqua per la produzione di birra non è solo quella utilizzata nella fase vera e propria di produzione, ma viene impiegata anche per la produzione di vapore, per il raffreddamento del mosto a fine bollitura e per tutte le operazioni di pulizia degli impianti. Durante tutte le fasi di lavorazione le peculiarità chimico-fisiche dell'acqua interagiscono con le altre materie prime influenzando le caratteristiche organolettiche finali della birra.

L'acqua utilizzata per la produzione della birra perciò deve essere caratterizzata da una bassa durezza, parametro, legato alla presenza in soluzione di ioni Ca^{++} e Mg^{++} .

Le sostanze che si trovano disciolte nell'acqua sono sali che provengono dal naturale processo di dissoluzione dei minerali costituenti le rocce ed i suoli attraversati dall'acqua di origine piovana.

Si possono individuare due diverse tipologie di durezza:

- Durezza permanente: legata a ioni nitrati, cloruri e solfati cioè agli ioni di sali disciolti; questi rimangono disciolti nell'acqua anche quando questa viene portata ad ebollizione.
- Durezza temporanea: legata alla presenza di altri sali come i bicarbonati, per esempio il bicarbonato di calcio. Questa viene così definita in quanto quando



dell'acqua, contenente questi sali, viene scaldata si ottiene la precipitazione del bicarbonato sotto forma di carbonato di calcio mentre l'anidride carbonica (CO_2) si allontana dalla massa. In questo modo si può separare il carbonato di calcio, insolubile, dall'acqua.

Nel processo di birrificazione si è interessati ad avere un'acqua con bassa durezza, in quanto, durante la fase di ammostamento, le reazioni che permettono la trasformazione degli zuccheri complessi, presenti in soluzione, in zuccheri semplici sono portate avanti da degli enzimi (amilasi) che necessitano di un pH compreso tra 5.2 e 5.4. I sali vanno ad influenzare il pH della soluzione rendendola leggermente basica, creando così problemi alla reazione portata avanti dalle amilasi. [5]

Quando l'acqua non raggiunge le caratteristiche desiderate deve essere trattata per ottenere:

- Riduzione dell'alcalinità totale;
- Riduzione della durezza totale attraverso la riduzione del contenuto di calcio e magnesio tramite un trattamento di addolcimento dell'acqua;
- Variazione dell'equilibrio ionico, aumentando il contenuti di solfati e/o cloruri, che però porta ad un aumento della durezza totale;
- Riduzione delle quantità dei singoli ioni presenti in quantità eccessive.

Possono essere fatti diversi trattamenti sull'acqua:

- Con acido solforico: porta alla riduzione dell'alcalinità e del pH dell'acqua, con un aumento del contenuto di solfati;
- Con aggiunta di sali;
- Con resine a scambio ionico: ottengo così un addolcimento dell'acqua;
- Con osmosi inversa: si ottiene così un'acqua neutra, privata dei sali.

L'addolcimento dell'acqua è una tecnica che favorisce la rimozione degli ioni che portano l'acqua ad essere dura, si ottiene attraverso la rimozione parziale di solidi disciolti in un solvente allo scopo di ridurre la durezza della soluzione tramite l'utilizzo di resine cationiche. [6]

1.2.1.2 Orzo-Frumento

I cereali rappresentano la fonte di zucchero; ovvero, il nutrimento dei lieviti che durante la fermentazione alcolica andranno a produrre etanolo e anidride carbonica. L'orzo è il cereale più utilizzato per la produzione della birra grazie al suo elevato contenuto in amido e al suo basso tenore proteico. In alternativa all'orzo si utilizza il mais, il grano tenero

maltato o il riso. L'amido è un composto organico della classe dei carboidrati, uno zucchero complesso (polisaccaride) non fermentescibile, caratterizzato da unità di glucosio polimerizzate unite tra loro da legame α -glicosidico, è costituito da 4/5 di amilopectina e da 1/5 di amilosio.

Per la produzione di birra si è interessati al chicco dell'orzo (il frutto secco della pianta dell'orzo). Il chicco è costituito da una parte esterna, una cuticola protettiva, costituita prevalentemente da proteine e fibre; vi è poi l'endosperma, riserva amidacea della pianta; e infine il germe che costituisce il 3-5% in massa del chicco. All'interno del germe, dal quale nasce la radichetta per la nuova pianta, vi è una frazione lipidica che causa qualche problema nel processo produttivo, soprattutto per il profilo aromatico.

1.2.1.3 Luppolo

Il luppolo viene usato soprattutto nel processo produttivo della birra, ed è l'ingrediente fondamentale per il profilo aromatico. Il luppolo è una sostanza estratta dall'infiorescenza femminile della pianta di luppolo. Le sue caratteristiche primarie sono:

- fornire una base amaricante per il bilanciamento della dolcezza apportata dal materiale fermentescibile (malto d'orzo, malto di frumento, ecc.);
- aumentare la stabilità microbiologica;
- concorrere nella stabilizzazione della schiuma;
- influenzare, a seconda degli stili in maniera minore o maggiore, il gusto e l'aroma.

Si possono distinguere due macrocategorie di luppolo: amaricanti e aromatici, con alcune varietà commercializzate con il doppio scopo. I luppoli amaricanti sono solitamente aggiunti al mosto all'inizio della fase di bollitura, mentre quelli aromatici (gusto e aroma) vengono aggiunti negli ultimi 30 minuti di bollitura. Il luppolo è caratterizzato dalla presenza di ghiandole luppoline, le quali secernono sostanze resinose che possono essere distinte in resine morbide e resine dure sulla base della loro solubilità in esano: α -acidi sono solubili in esano mentre i β -acidi non sono solubili in esano. Queste sostanze devono subire una reazione di isomerizzazione per conferire le caratteristiche aromatiche precedentemente citate; infatti, soltanto le forme isomerizzate cis e trans degli α -acidi e β -acidi conferiscono sapore alla birra. L'isomerizzazione avviene durante la fase di ebollizione, mediante il riscaldamento del mosto in cui è presente il luppolo.

Gli oli essenziali del luppolo sono invece responsabili del profilo aromatico, con caratteristiche che spaziano dal citrico al resinoso, dal fruttato al floreale, dal terroso all'erboso. Gli oli essenziali principali sono l'*humulene*, dall'aroma balsamico e legnoso; il *carophyllene*, dall'aroma di pepe nero; il *myrcene*, dall'aroma di geranio; e il *farnesane*,



dall'aroma di gardenia. Le ricerche attuali hanno identificato circa 300 oli diversi che contribuiscono al profilo aromatico della birra, alcuni di questi oli forniscono aromi piacevoli all'uomo come i già citati caratteri floreali, fruttati e speziati, ma altri impartiscono invece aromi più sgradevoli come l'aroma di formaggio, di rancido o di grasso. [7]

1.2.1.4 Lievito

Possono essere utilizzati due diversi ceppi di lievito: *Saccaromyces Cerevisiae* che lavora a 20°C di temperatura e il *Saccaromyces Carlsbergensis* che lavora bene attorno a 10-12 °C.

Sulla base della specie di lievito utilizzata, si distinguono due categorie di birra: ad alta fermentazione o bassa fermentazione.

Alto e basso si riferiscono non solo alla temperatura di lavoro, ma a dove si va a collocare il lievito durante la fermentazione, cosa strettamente correlata alla forma del lievito. Durante il processo di fermentazione si forma oltre all'alcool etilico la CO_2 ; quest'ultima influenza la posizione del lievito a seconda della struttura del lievito stesso. Per birre ad alta fermentazione si usa il *S. Cerevisiae* che oltre a lavorare ad una temperatura 'alta' (20°C) ha una forma bastoncellare compatta che gli permette di essere spinto verso l'alto dalla CO_2 che si forma durante la fermentazione. Per birre a bassa fermentazione viene utilizzato il *S. Carlsbergensis* ad una temperatura di 10 ÷ 12°C: questo ha una forma più ramificata rispetto al *S. Cerevisiae* e tende a formare degli agglomerati che essendo più grandi e pesanti cadono verso il basso. [8]

1.2.2 Fasi di produzione

Esistono due momenti di produzione, caratterizzati da diversi *step* (Figura 2):

- 1) Nelle malterie: Orzo e acqua portano alla formazione del malto di orzo;
- 2) Nei birrifici: Dal malto, con acqua, lievito e luppolo ottengo la birra.

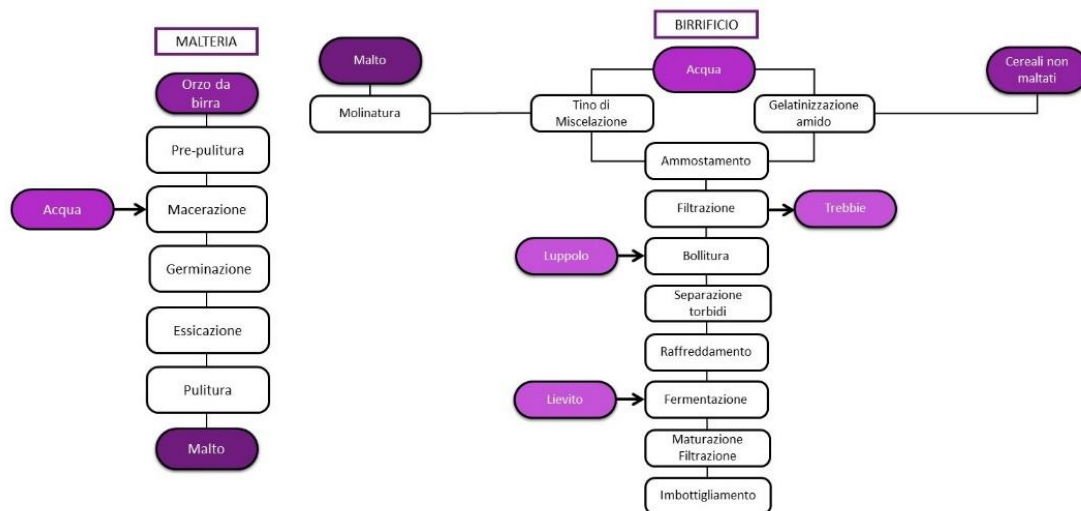


Figura 2-Flow Chart della Produzione della Birra

Il processo di birrificazione segue alcuni step fondamentali descritti nel seguito:

1.2.2.1 Prima fase di produzione

La produzione del malto avviene nelle malterie.

Il principio di ciò che accade in una malteria è basato su ciò che capita in natura: l'amido non può essere utilizzato immediatamente in quanto è un polisaccaride, e quindi uno zucchero complesso, però questo in presenza di umidità e temperature adeguate, viene trasformato in uno zucchero semplice utile al germe, il glucosio.

Questa trasformazione avviene grazie agli enzimi (amilasi), che vengono prodotti dalla pianta stessa; questi rompono le catene di amido rendendo disponibile il singolo monomero di glucosio al germe.

In ambito industriale si simula questo processo:

1. L'orzo una volta arrivato alla malteria subisce una fase di pulitura; successivamente avviene una calibratura che permette di selezionare solo i chicchi della dimensione adatta (calibrare la grandezza).

2. I semi vengono immersi in una vasca d'acqua per un giorno e mezzo; l'acqua è movimentata dal basso mediante insufflazione di aria. Durante questo processo l'umidità del chicco arriva fino al 45%, successivamente viene messo in una camera termostata a 20-25°C (si replica il riscaldamento del sole).
3. In questa fase il seme inizia a produrre le amilasi che trasformeranno l'amido in glucosio e proprio come accade in un naturale processo di germinazione, dal chicco esce la radichetta. A questo punto il germe si sarà attivato e si dovrà fermare la germinazione: l'orzo germinato viene definito malto verde.
4. Per arrestare il processo di germinazione si procede con un essiccamento in quanto è necessario rimuovere l'acqua per poter arrestare le reazioni. In questa fase si deve stare attenti a preservare i complessi enzimatici sviluppati durante la fase precedente. Oltre a fermare la germinazione, l'essiccamento, produce anche una leggera tostatura utile per formare sostanze colorate e aromatiche fondamentali per l'ottenimento di una birra con le caratteristiche organolettiche adeguate. La temperatura varia tra 80 ÷ 180°C; maggiore è la temperatura maggiore sarà il cambio di colorazione e la sintesi di prodotti attraverso le reazioni di Maillard. La temperatura, quindi, in questa fase dipende dal prodotto finale che si vuole ottenere (birra chiara o scura).

Alla fine di questa fase l'umidità del chicco diminuisce sino al 4% e, dopo una ultima fase di pulitura per eliminare la radichetta, abbiamo il chicco maltato, contenete gli enzimi che permettono di trasformare amido in glucosio

1.2.2.2 Seconda fase di produzione

La produzione del prodotto finito, la birra, avviene nei birrifici.

1. La prima fase che viene effettuata in birrificio è la miscelazione dei diversi malti nelle quantità definite dalla ricetta della birra che si vuole produrre. Una volta effettuata la miscela, questa viene convogliata al molino dove viene macinata.
2. Il processo di molinatura ha lo scopo di ridurre le dimensioni delle cariossidi per facilitare le successive fasi di estrazione e diluizione dei costituenti del mosto. Questo processo può essere svolto a secco o in umido:
 - nel processo a secco si opera con molini a cilindri e si ha un danneggiamento delle glume;
 - nel processo in umido il malto è miscelato con acqua e inviato alla molinatura, qua le glume divengono elastiche e resistenti.

Poi il tutto viene inviato ai tini di saccharificazione.

3. Una volta ottenuta la polvere, al malto macinato viene aggiunta una parte di cereali non maltati, con questa miscela si svolge l'operazione di saccarificazione (Figura 3), detta anche di ammostamento, nei tini di saccarificazione.

In questa fase di saccarificazione hanno un effetto determinante pH, temperatura, concentrazione del malto e tempo di trattamento. Nel mosto ottenuto, ricco di enzimi ed amidi, durante questa fase hanno luogo le reazioni che portano alla trasformazione dell'amido in zuccheri fermentescibili.

L'acqua viene aggiunta calda e leggermente acidula (pH 5.5). La temperatura a cui avviene questo processo è di circa 60°C.

In questa fase avviene la gelificazione dell'amido dei cereali maltati e non, ovvero l'incorporamento di acqua calda da parte delle cellule dei cereali che contengono l'amido, le quali si gonfiano con successiva rottura della parete cellulare; le molecole di amido perdono la loro struttura cristallina e divengono amorfe formando una soluzione altamente viscosa.

Lo scopo della gelificazione è proprio permettere la fuoriuscita dell'amido dal cereale; si ottiene così un sistema in cui l'amido è disperso e si trova in sospensione con gli enzimi che erano stati prodotti dal germe in malteria.

Ora può avvenire la reazione di idrolisi dell'amido, tramite gli enzimi disciolti in soluzione:

- α -amilasi: produce vari componenti; ha una temperatura ottimale di 70-74°C, si degrada ad 80°C ed il pH ottimale è di 5.4-5.6.
- β -amilasi: produce maltosio; ha una temperatura ottimale di 58-65°C, si inattiva oltre i 65°C ed il pH ottimale 5.2-5.5.

Questi due enzimi rompono la molecola dell'amido fino ad ottenere la singola molecola di glucosio o il maltosio (dimero del glucosio). Se la reazione avviene privilegiando le β -amilasi si ha la produzione di un quantitativo maggiore di maltosio se la reazione avviene a temperature più alte sono favorite le α -amilasi e si ottiene un quantitativo maggiore di glucosio.

Il pH ideale per entrambe è 5.4-5.5; se il pH si alza troppo le reazioni non proseguono. Per questa ragione, deve essere utilizzata acqua con caratteristiche particolari; inoltre se il pH fosse troppo alto occorrerebbe abbassarlo con acido lattico o solforico.

In questa fase avvengono anche altre reazioni:

- **idrolisi dei β -glucani**: i β -glucani sono caratterizzati da lunghe catene di glucosio che quando si trovano in soluzione si uniscono a formare strutture ramificate tridimensionali. Se queste molecole non vengono idrolizzate possono determinare dei problemi al prodotto finito. In questa fase la *endo - 1,4 - β - glucanasi* scinde i glucani, questo enzima ha una temperatura ottimale di circa 40-48°C quindi si disattiva



rapidamente; alle temperature di saccharificazione rimane solo un altro enzima con temperatura ottimale di 62°C che libera β -glucani.

Queste molecole possono essere scisse in molecole più piccole che si legano ad altri zuccheri o altre proteine con l'effetto di aumentare la viscosità del sistema. Per questo è importante utilizzare dei malti che presentano un'elevata concentrazione enzimatica, inoltre è necessario raffreddare il sistema lentamente ed evitare agitazioni eccessive.

- **Idrolisi delle proteine:** nella parete delle cellule sono presenti delle proteine che quando vengono idrolizzate generano dei composti che, a seconda della temperatura di lavoro, influenzano le caratteristiche organolettiche della birra. In particolare, è influenzata la consistenza della schiuma della birra e la sua stabilità.

Dopo la bollitura le proteine precipitano, questo fenomeno è influenzato principalmente dalla temperatura: a circa 50°C si formano dei composti a basso peso molecolare come peptidi e amminoacidi mentre ad una temperatura di circa 60-70°C si formano dei composti ad alto peso molecolare che sono appunto responsabili della torbidità, del corpo della birra, e soprattutto della stabilità della schiuma. È quindi fondamentale utilizzare un malto che possiede una bassa percentuale proteica.

- **Idrolisi dei grassi:** nei processi che avvengono a monte della saccharificazione le lipasi liberano acidi grassi, invece, durante la saccharificazione le lipossigenasi degradano questi acidi grassi portando alla formazione di composti carbonilici che generano un impatto olfattivo non gradevole.

La temperatura alla quale l'impianto lavora (e quindi a cui sono condotte le reazioni di idrolisi) è particolarmente importante e influenza tutte le caratteristiche del prodotto.

Ci sono due differenti modi in cui il serbatoio di saccharificazione può essere riscaldato:

- **Sistema inglese (infusione):** si procede facendo un primo impasto di malto con acqua a 38 – 40°C, si aggiunge poi altra acqua a 80°C e in circa mezzora si raggiunge la temperatura desiderata di 63 – 65°C alla quale avviene la saccharificazione.
- **Sistema tedesco (decozione):** prevede la bollitura di una parte del mosto, con la conseguente inattivazione degli enzimi. Prima di tutto il malto viene impastato con acqua fredda, successivamente si trasferisce circa ¼ della massa in un altro contenitore e lo si porta a ebollizione per poi riunirlo all'intera massa ed effettuare di nuovo il prelievo di una parte per ripetere il trattamento termico sino a che la temperatura non raggiunge il valore di interesse.

Questa fase influenza quindi sia il tenore alcolico futuro, sia il colore finale della birra. Al termine del processo di ammostamento, la temperatura viene portata a 77-80°C con lo scopo di inattivare tutti gli enzimi. [9]

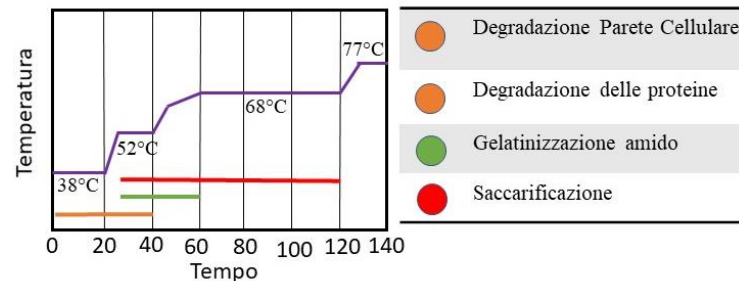


Figura 3- Processo di Saccharificazione, Figura tratta da [10] e riprodotta con modifiche

4. Dopo il processo di saccharificazione si ha ancora la frazione solida in sospensione: cereali, enzimi e cariossidi.

Si deve quindi separare la frazione liquida (mosto) dalla frazione solida (trebbie). La filtrazione può essere svolta in due differenti modi:

- Utilizzando una sorta di sedimentatore: la prima separazione viene fatta tramite drenaggio, la seconda si ottiene tramite il lavaggio delle trebbie con acqua calda. Maggiore sarà la quantità di acqua utilizzata, maggiore sarà l'estrazione e quindi la successiva evaporazione da effettuare durante la bollitura per rimuovere l'acqua. Le trebbie cadono sulla griglia, che le trattiene per la maggior parte e ciò che è passato dalla griglia viene rimandato in testa più volte. Le trebbie filtrate sono un sottoprodotto molto utilizzato in campo agricolo e zootecnico come mangime per animali.
- *Mash Filter*: è essenzialmente una filtropressa a piastre e telaio dotata di una serie di moduli ognuno dei quali ha un sottile foglio filtrante in propilene da un lato, una membrana flessibile dall'altro e una camera di raccolta al centro; sia le piastre filtranti che la membrana possono essere espanse mediante la pressione dell'aria. Il macinato viene mescolato con acqua calda a circa 65°C nel recipiente, il mosto viene aggiunto lungo la lunghezza del filtro, consentendo a ciascuna camera di essere allagata in modo uniforme dal basso verso l'alto. Una volta completata questa operazione, la membrana di ciascun modulo viene delicatamente espansa, spingendo il mosto attraverso il letto di solidi nelle uscite nelle parti superiore e inferiore del filtro stesso, lasciando su quest'ultimo i solidi. Il vantaggio di questa apparecchiatura è la produzione di un mosto molto chiaro. Lo svantaggio è che è costosa e richiede più manutenzione e pulizia, inoltre si hanno problemi di spazio in quanto sono necessari due recipienti. [11]

5. Nella fase successiva si ha la cottura del mosto: questa operazione viene fatta per diversi motivi, tutti necessari per poter ottenere un migliore prodotto finito. Ciò che avviene in questa fase è:

- la concentrazione del mosto che era stato diluito con i lavaggi delle trebbie;
- l'estrazione e isomerizzazione dei costituenti del luppolo che conferiscono sapore amarognolo alla birra in quanto gli α – *acidi* sono insolubili a freddo e necessitano appunto di essere isomerizzati;
- la precipitazione delle proteine: queste in bollitura precipitano spontaneamente o per reazione con i polifenoli;
- la sterilizzazione del mosto con la conseguente eliminazione di eventuali microrganismi che potrebbero interferire con la fermentazione;
- l'inattivazione degli enzimi (blocciamo quindi la saccharificazione) che potrebbero interferire con la fermentazione;
- attivazione reazioni di Maillard (imbrunimento);
- riduzione del pH: questo comporta una maggiore amarezza e una minor resistenza dei microrganismi, inoltre avviene una maggior isomerizzazione degli α – *acidi*;
- rimozione di eventuali sostanze volatili indesiderate formatesi durante l'idrolisi dei lipidi e delle proteine che porterebbero alla nota aromatica di cartone;
- la formazione di sostanze riducenti come le melanoidine che bloccano l'ossigeno e quindi le reazioni di ossidazione che portano ad un deterioramento organolettico della birra.

In questa fase viene aggiunto il luppolo la cui quantità dipende dall'intensità di amaro che si vuole ottenere nel prodotto finito; solitamente se ne aggiunge l'80% subito e il restante alla fine. [10]

6. Terminata la bollitura si devono eliminare i solidi sospesi che si sono formati durante il riscaldamento: si deve fare attenzione a non ottenere mosti troppo limpidi in quanto si potrebbero riscontrare dei problemi durante la fermentazione.

La filtrazione può essere svolta con diversi sistemi: per centrifugazione; con vasche di sfioramento; con vasche di decantazione; ma il metodo più usato prevede separatori detti Whirlpool (camere in cui il mosto torbido viene inserito tangenzialmente alla superficie interna così da farlo ruotare nel recipiente e far sedimentare i solidi). [10]

7. Per entrare nella fase fermentativa è necessario raffreddare il mosto, da circa 100°C ai 10 – 20°C a seconda del tipo di fermentazione che si vuole portare avanti.

Durante questa fase viene insufflato anche ossigeno oppure aria filtrata sterile così da facilitare la successiva fermentazione. Inoltre, possono formarsi torbidi che dovranno nuovamente essere separati tramite filtrazione o flottazione. [10]

8. Durante la fase di fermentazione il lievito trasforma lo zucchero del mosto in etanolo e anidride carbonica (che porta alla formazione della schiuma), la reazione che avviene è la seguente: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 + 24 kcal$.

Oltre all'etanolo si formano esteri ed alcoli superiori che portano ad avere una resa minore; inoltre la resa dipende dal ceppo di lievito utilizzato e dalle sue condizioni, dalla composizione del mosto e pH, dalle condizioni di fermentazione (temperatura e pressione).

È indispensabile l'inoculo del lievito, in quanto il mosto dopo la bollitura è semi-sterile: permangono alcuni batteri lattici, ma i lieviti presenti in origine non sono sopravvissuti a causa delle temperature elevate impiegate nel processo.

Dato che, oltre a un numero di cellule di lievito sufficiente, una buona fermentazione dipende anche dalla disponibilità di ossigeno per il microrganismo, è necessario aerare il mosto con aria sterile o con ossigeno.

Durante la fermentazione, il pH scende di circa un punto passando da 5.45-5 a 4.3-4.6 a causa della formazione di acidi organici volatili (acetico e formico) e non (piruvico e lattico). [10]

9. Dopo la fermentazione si ottiene la birra verde. Sulla birra verde è possibile effettuare una serie di trattamenti:

➤ stabilizzazione biologica (pastorizzazione o filtrazione sterile);

- La pastorizzazione è un processo termico che ha lo scopo di minimizzare i rischi per la salute che potrebbero essere causati da microrganismi patogeni sensibili al calore.

Questo trattamento porta ad un'alterazione delle caratteristiche chimiche, fisiche e organolettiche del prodotto ma permette di aumentare la *shelf life* del prodotto. Oltre ai batteri vengono uccisi anche i lieviti che potrebbero causare delle rifermentazioni indesiderate e produrre odori non gradevoli. Questa fase solitamente è preceduta da una fase di filtrazione in cui si cerca di eliminare sostanze indesiderate nel prodotto finale.



Con la microfiltrazione e la successiva pastorizzazione vengono rimosse molte sostanze che rendono la birra gustosa e più ricca dal punto di vista organolettico.

- Filtrazione sterile o microfiltrazione viene applicata nel caso di birra cruda dove non viene effettuata invece la pastorizzazione, questo step permette di rimuovere eventuali microrganismi patogeni non variando però le caratteristiche organolettiche del prodotto.

➤ Chiarificazione: utilizzata per allontanare i torbidi (filtrazioni, processi di chiarificazione).

Quando si ha una birra torbida le cause possono essere biologiche o non biologiche. Le prime sono dovute alla contaminazione del prodotto da lieviti selvaggi o batteri indesiderati. Nel secondo caso la torbidità può essere causata da grosse molecole proteiche che si legano a dei composti quali tannini o polifenoli, questo provoca un aumento di dimensione e la conseguente precipitazione come solidi. La limpidezza della birra viene ottenuta tramite microfiltrazione, o utilizzando dei separatori centrifughi o dei decanter. [12]

➤ Maturazione del prodotto: si utilizza per migliorare ed equilibrare le caratteristiche organolettiche della birra. Durante la maturazione della birra, infatti, hanno luogo diverse reazioni chimiche, che andranno a modificare importanti parametri organolettici e strutturali.

Il sapore dolce del malto si armonizza con l'amaro pungente del luppolo, mentre gli aromi principali si perfezionano e il lievito tende a depositarsi sul fondo del contenitore, migliorando di fatto l'aspetto della bevanda. In questa fase le birre sono stoccate a temperature prossime allo zero, ciò fa sì che le diverse reazioni chimiche negative rallentino e venga favorita la precipitazione delle sostanze fluttuanti sul fondo del contenitore, ottenendo così una birra limpida e delicata. [13]

10. A questo punto la birra può essere imbottigliata sotto pressione (aggiunta di CO_2) ed eventualmente pastorizzata.

1.2.3 Classificazione della birra

Si definisce titolo alcolometrico volumico la percentuale di alcool contenuto nella birra, in base a questo si classificano le birre. Il grado saccarometrico (o grado Plato), è la quantità in grammi di estratto secco contenuto in 100 grammi di mosto, anche questo è un parametro di classificazione. Come concetto, il grado di Plato, è legato al grado alcolometrico ma si riferiscono a due cose completamente diverse.

Si definiscono:

- La “birra analcolica”, avente grado Plato compreso tra 3 e 8 e titolo alcolometrico volumico inferiore a 1.2% vol;
- La “birra leggera” o “birra light”, avente grado Plato compreso tra 5 e 10.5 e titolo alcolometrico volumico tra 1.2% vol e 3.5% vol;
- La “birra”, avente grado Plato non inferiore a 10.5 e titolo alcolometrico volumico maggiore di 3.5%;
- La “birra speciale”, avente grado Plato non inferiore a 12.5 e titolo alcolometrico volumico maggiore di 3.5%;
- La “birra doppio malto” avente grado Plato non inferiore a 14.5 e titolo alcolometrico volumico maggiore di 3.5%.

1.3 Controllo di Processo

Il controllo della qualità del prodotto è realizzato attraverso la valutazione della qualità post-processo, ovvero dopo che un problema di qualità è stato identificato nel prodotto finito.

Dopo l’identificazione di un problema di questo tipo viene condotta un’analisi statistica in modo tale da individuare le operazioni correttive necessarie da apportare al processo di produzione perché non si ripeta più lo stesso errore.

Questo tipo di controllo è sempre necessario in un impianto di produzione alimentare, ma da solo è inefficiente in quanto non si interviene nelle fasi intermedie del processo, e inoltre, può passare un significativo quantitativo di tempo tra l’identificazione del problema, attraverso un’analisi, all’adozione dell’azione correttiva. Inoltre, è da considerare che durante questo lasso di tempo, gli stessi problemi possono presentarsi nei prodotti successivi [14].

L’automazione e il controllo di processo sono essenziali per un miglior funzionamento degli impianti industriali, in quanto garantiscono uno standard di produzione necessario, soprattutto, quando si tratta di un’azienda alimentare.

Il controllo di processo, al contrario del controllo di prodotto, permette di standardizzare il prodotto, effettuando modifiche durante le fasi di produzione ed evitando che questa proceda anche in presenza di errori nel processo. Se il prodotto, in una certa fase di produzione, presenta un parametro fuori specifica questo, se possibile, viene corretto intervenendo sul processo; altrimenti se irrimediabile il processo viene bloccato in quella stessa fase e il prodotto viene smaltito.

Le motivazioni principali per l’implementazione di un processo di controllo sono:



- Stabilizzazione del processo;
- Assicurare regolarità del processo (evitare condizioni operative indesiderate);
- Minimizzare l'impatto ambientale;
- Ottenere la qualità desiderata del prodotto (ridurre le disomogeneità nel livello di qualità);
- Ridurre i costi in quanto non si continua la produzione se il prodotto non è idoneo e si risparmia a valle delle fasi del prodotto non idoneo;
- Ottimizzare il funzionamento di processo;
- Evitare il funzionamento in modalità manuale. [15]

Per poter avere una buona affidabilità del controllo di processo tramite misurazioni è necessario procedere con una definizione e relativa gestione corretta dei processi per ottenere la qualità di questi ultimi.

La gestione di una rete di monitoraggio necessita quindi della definizione di un piano di qualità che si basa su:

- Assicurazione della qualità dei dati;
- Controllo di qualità sulla strumentazione (calibrazione e controllo); [16]

Il controllo di processo è la gestione degli input per garantire regolarità e ripetibilità del processo e un output uniforme, indipendentemente da quante volte un processo viene ripetuto.

Un metodo per analizzare le deviazioni dei parametri durante le fasi di processo è l'applicazione di analisi statistiche e relativi grafici tramite cui, i tecnici, valutano e determinano come prevenire tali deviazioni. [17]

1.4 Laboratory Star System in Line

Negli stabilimenti Heineken Italia viene utilizzato un documento (*Laboratory Star System*) introdotto nel 2006 per definire le linee guida di gestione e verifica degli strumenti di laboratorio e per garantire un controllo sulla qualità del prodotto finito. Questo controllo viene effettuato valutando in laboratorio che i parametri chimico-fisici del prodotto finito siano corrispondenti alle specifiche del prodotto stesso.

A seguito dell'avvento dell'implementazione dei sistemi di controllo, nella maggior parte dei birrifici il controllo di processo è diventato indispensabile per garantire la qualità del processo stesso prevenendo difetti sul prodotto.

È necessario, quindi, che la precisione e l'accuratezza delle misurazioni, ad opera degli strumenti in linea, siano verificate, poiché l'output delle apparecchiature in linea controlla il processo e la qualità del prodotto.

Il *Laboratory Star System (LSS) in line* descrive come garantire l'affidabilità dei risultati prodotti dalle apparecchiature in linea mediante un processo di verifica degli stessi. Questo processo di verifica, in generale, viene effettuato rispetto ad uno standard, o un riferimento, per confermare che uno strumento soddisfi le specifiche richieste fornite dal produttore. Per la verifica dei sensori in linea, i risultati del sensore in linea sono confrontati con i risultati di laboratorio. L'unità di produzione può decidere se il sensore in linea è ancora sotto controllo o quando è necessaria l'analisi dei guasti, tramite l'utilizzo di una carta di controllo.

1.5 Scopo della Tesi

Lo scopo di questo lavoro di Tesi è lo studio e la predisposizione per la realizzazione di un accurato sistema di gestione e monitoraggio dei parametri di produzione mediante l'utilizzo di strumenti di misura in linea, ovvero definire modalità, frequenza di verifica e calibrazione degli strumenti in linea destinati al controllo del processo.

Questo documento descriverà, pertanto, le modalità in grado di garantire l'affidabilità dei risultati prodotti dalle apparecchiature in linea mediante un processo di verifica, ovvero di confronto del campione prelevato in linea rispetto a uno standard o un riferimento per confermare che lo strumento di misura in linea soddisfi le specifiche richieste fornite dal produttore.

La misurazione dei parametri in linea gioca un ruolo importantissimo in quanto l'output degli strumenti di controllo in linea viene usato per il controllo di processo e infine la qualità del prodotto. Alla luce di quanto detto è pertanto di fondamentale importanza verificare la precisione e l'accuratezza di tali misurazioni. La procedura di verifica dei sensori in linea prevede che i risultati del sensore in linea vengano confrontati con i risultati ottenuti in laboratorio; in questo modo l'unità di produzione può determinare se il sensore è ancora sotto controllo o se è necessario effettuare un'analisi dei guasti. Attraverso questa operazione si verifica che l'apparecchiatura in esame risponda alle caratteristiche costruttive. In caso non rispetti i limiti imposti dal Tecnologo, si agisce effettuando un "*Adjustment*", con questo termine si indica la ricalibrazione del sensore di misura sulla base dei dati ottenuti in laboratorio.

La suddetta verifica o taratura non è però sufficiente a garantire la precisione e l'accuratezza analitica necessaria; pertanto è indispensabile integrare questa procedura con un controllo dell'affidabilità quotidiana del dato prodotto in laboratorio.



Nello stabilimento in cui è stato svolto il lavoro di Tesi è presente un documento in cui vengono descritte le linee guida per creare un sistema di gestione della qualità, che pianifica e controlla e migliora gli elementi che incidono sul raggiungimento dei risultati desiderati da parte del laboratorio e sulla soddisfazione dei consumatori.

Le posizioni in cui vengono misurati i parametri di controllo coincidono con i punti critici di controllo di processo per la garanzia della qualità e il monitoraggio dell'efficienza complessiva del birrifico: questo porta ad un risparmio in termini di tempo, ad un aumento della produzione e riduzione della perdita di prodotto finito.

In questo primo capitolo è stata fatta una descrizione generale dell'azienda, della differenza tra controllo di prodotto e controllo di processo evidenziando l'importanza e i vantaggi di avere un controllo di processo. Inoltre, è stato descritto brevemente il documento (*LSS*) che viene utilizzato in tutti gli stabilimenti Heineken Italia su cui si basa l'implementazione della gestione dei sensori di misura montati in linea.

Nel secondo capitolo verranno descritti i parametri che vengono controllati in linea nello stabilimento in cui si è sviluppato questo lavoro di Tesi; inoltre, dopo una prima definizione del flusso di processo e dei parametri di controllo nelle diverse fasi di produzione, è stata implementata la mappatura degli strumenti in linea di interesse, dal mosto al confezionamento. Nel secondo capitolo verranno descritti in particolare i più importanti strumenti di misura per l'ottenimento di un prodotto con delle caratteristiche organolettiche ottimali. Verranno esposte le procedure di verifica di corretto funzionamento degli strumenti in linea precedentemente descritti, e gli strumenti utilizzati per portare avanti tale verifica.

Nel terzo capitolo saranno descritti i risultati ottenuti, e verrà riportata la carta di controllo necessaria per l'implementazione della verifica e taratura degli strumenti in linea. Inoltre, in quest'ultimo capitolo verranno evidenziate le decisioni prese per la gestione della verifica degli strumenti e le conclusioni tratte durante questo percorso. [18]

2 Strumenti e Procedure di verifica

Per poter procedere con il lavoro di verifica e taratura degli strumenti in linea è necessario seguire le linee guida proposte dal LSS fornito da Heineken; per questo motivo esistono dei documenti locali propri di ogni stabilimento basati sul LSS in cui vengono descritte le istruzioni per effettuare le verifiche, la preparazione dei campioni e le procedure di analisi. È necessario che queste istruzioni siano disponibili, chiare e sufficientemente dettagliate per poter permettere al personale di eseguire in modo corretto le analisi. Infatti, nel documento che verrà implementato saranno descritti esattamente i procedimenti di calibrazione, manutenzione e verifica dei sensori in linea.

Il primo passo da fare è disporre di un piano di campionamento che descriva non solo il tipo di campione necessario per quella data analisi, ma anche la sua frequenza, il dipartimento responsabile, le istruzioni per poter raccogliere il campione, il punto di campionamento e il tipo di analisi da eseguire. Infatti, il campione prelevato dalla linea deve essere rappresentativo del prodotto misurato dal sensore in linea.

Il risultato di laboratorio deve rispecchiare il valore della misura di quel dato parametro valutata dallo strumento di misura in linea, e questo si può ottenere a condizione che:

- Il campione sia prelevato secondo le linee guida;
- La misura sia eseguita secondo le linee guida;
- Lo strumento di laboratorio venga mantenuto in modo adeguato, tarato e verificato nel tempo.

Il campione è una aliquota di liquido, in questo caso birra, del quale si conosce il valore della lettura *in-line* e sul quale verrà eseguita l'analisi utilizzando lo strumento da banco (laboratorio).

Invece, il campionamento è il prelievo di un'aliquota rappresentativa di una lettura stabile riferita ad uno strumento *in-line*.

Per effettuare un campionamento rappresentativo è fondamentale che questo avvenga quando si ha un flusso costante nella linea di produzione; inoltre, i parametri misurati dallo strumento devono essere stabili. Per poter raggiungere questi obiettivi si deve evitare il campionamento nelle fasi iniziali e conclusive, per esempio, di una filtrazione, o di un ciclo di riempimento.

2.1 Parametri Monitorati in Linea nello Stabilimento Heineken di Assemini

I parametri operativi principali che vengono monitorati in linea nello stabilimento Heineken di Assemini sono:

➤ **Grado Plato** che è un'unità di misura della densità di una soluzione che viene utilizzata nell'industria della birra. Viene controllato per limiti legali per la definizione commerciale del prodotto e standardizzazione prodotto.

La densità della soluzione misurata in gradi Plato è l'equivalente della densità misurata in percentuale peso/peso di una soluzione di saccarosio diluita in acqua [19]; infatti, il grado saccarometrico (Plato) corrisponde ai grammi di estratto presenti in 100 grammi di mosto a 20°C prima della fermentazione. La gradazione saccarometrica e il contenuto alcolico sono due grandezze distinte, questo perché durante la fermentazione non tutti gli zuccheri presenti sono trasformati in alcol.

Per valutare questa misura è utile definire 3 grandezze differenti:

- l'estratto originale in % massa/massa che corrisponde al %Plato, ovvero la massa di zuccheri presenti nella massa di mosto (quindi se si ha un grado Plato pari a 15 significa avere 15 grammi di zuccheri su 100 grammi di mosto) prima della fermentazione;
- Il contenuto alcolico nella birra in % massa/massa: A
- l'estratto reale, E_R , ovvero la % massa/massa residua di zuccheri dopo la fermentazione [20]; questo parametro può essere meglio descritto come il residuo di zuccheri presenti nella birra (prodotto già fermentato) privata di acqua e alcol.

Per valutare l'estratto originale partendo dal contenuto di estratto reale, che rappresenta il grado saccarometrico dopo la fermentazione, e dal contenuto di alcol in massa nella birra finale viene utilizzata la formula di Balling.

Questa formula è riconosciuta e utilizzata in tutto il mondo, e il suo uso è prescritto dalla Convenzione Europea della Birra. Sperimentando la fermentazione della birra nel 1843, Balling, partendo dal bilancio $C_6H_{12}O_6 = 2C_2H_5OH + 2CO_2$ ricavò l'equilibrio che descrisse come $Z = A + K$ dove Z rappresenta lo zucchero (glucosio), A rappresenta l'alcol e K anidride carbonica. [21]

Scoprì che 2,0665 g di estratto producevano 1,000 g di alcol; 0,9695 di CO_2 ; 0,11 g di sostanza secca di lievito nuovo. [22]

Quindi per 100 g di birra Balling calcolò:

$$\text{Estratto originale} = \frac{2.0665 \cdot A + E_R}{1.0665 \cdot A + 100} \cdot 100$$

➤ **Densità** è una misurazione secondaria legata al grado Plato, ha poco impatto sul processo, viene misurata utilizzando un densimetro. Dalla valutazione di questo parametro viene valutato il grado alcolico e l'estratto reale in gradi Plato.

➤ **Grado alcolico %v/v** è una misurazione secondaria legata al grado Plato, ha poco impatto sul processo e viene misurato in modo indiretto per mezzo della densità.

Infatti, un metodo ufficialmente riconosciuto per la determinazione delle concentrazioni di alcol nelle miscele alcol-acqua in peso (% p/p) o in volume (% v/v; ABV = alcol in volume) è la misurazione della densità seguita dalla conversione in concentrazione di alcol utilizzando tabelle ufficiali degli alcolici.

L'unità di misura utilizzata nel birrifico descritto, %v/v, è influenzata dalle variazioni di temperatura; pertanto, la temperatura deve essere sempre indicata insieme alla concentrazione di alcol (esempio: 41,90 %v/v a 20 °C corrisponde a 41,82 %v/v a 15 °C).

Ci sono diverse tabelle utilizzabili come per esempio la tabella OIML (*Organisation Internationale de Métrologie Légale*) che è la più utilizzata ed elenca la densità in %v/v o %p/p di alcol a una temperatura di 20 °C. [23]

➤ **Ossigeno:** viene misurato per la qualità e standardizzazione del prodotto.

Se l'ossigeno disciolto nel prodotto non è controllato, possiamo avere fenomeni di ossidazione di quest'ultimo con perdita di qualità (reclamo dal mercato) e riduzione della *shelf life*.

L'ossigeno è uno dei principali nemici della birra, in quanto l'ossigeno disciolto nella birra con il tempo porta a delle reazioni che variano gli aromi del prodotto (Figura 4):

- L'amaro e l'aroma del luppolo diminuiscono notevolmente;
- La componente dolce e maltata diventa preponderante portando all'aroma di pane cotto;
- Si riscontrano altri aromi come quello di carta e cartone; questi sono dovuti alla formazione dell'aldeide trans-2-nonenale che deriva dall'ossidazione degli acidi grassi;
- a causa dell'ossidazione delle melanoidine si possono individuare aromi di *sherry* soprattutto in prodotti che non hanno un'adeguata gradazione alcolica.



È quindi molto importante non sottoporre la birra all'ossigeno lungo le varie fasi del processo; inoltre, tempo, luce e la temperatura accelerano queste reazioni di ossidazione. [24]

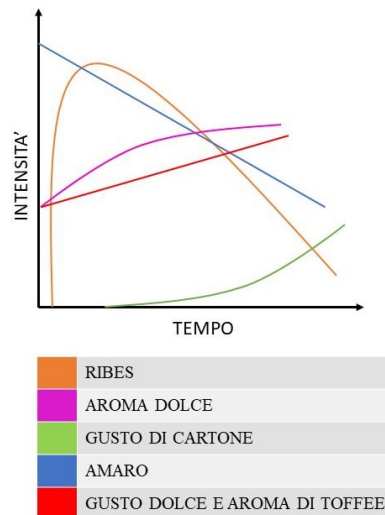


Figura 4- Immagine tratta da [25] e riportata con modifiche. Influenza dell'ossigeno nel tempo sulle caratteristiche organolettiche della birra

➤ **Anidride Carbonica:** è un parametro cosiddetto “*consumer sensitive*”, da garantire per avere un prodotto standard e secondo la qualità che si aspetta il consumatore.

Infatti, la birra è caratterizzata da effervescenza dovuta, appunto, alla presenza di anidride carbonica. Questo gas si origina durante la fermentazione grazie ai lieviti che consumano lo zucchero producendo alcol, anidride carbonica e tutta una serie di altri composti secondari, tra cui quelli aromatici.

L'anidride carbonica rimane disciolta all'interno della bottiglia grazie all'alta pressione presente nello spazio di testa della bottiglia. [26]

➤ **Torbidità:** è un parametro “*consumer sensitive*”, da garantire per avere un prodotto standard e secondo la qualità che si aspetta il consumatore.

Questa caratteristica della birra dipende essenzialmente da due fattori che sono il lievito e le proteine dei cereali. Questa caratteristica sarà diversa per esempio nel caso di un'Ichnusa anima sarda e nel caso di Ichnusa non filtrata, in quest'ultimo prodotto ovviamente avrà un valore più elevato. Questo parametro viene valutato attraverso l'utilizzo di un turbidimetro. [27] [28]

➤ **Colore:** è anche questo parametro “*consumer sensitive*”, da garantire per avere un prodotto standard e secondo la qualità che si aspetta il consumatore.

- **pH:** garantisce che il processo di fermentazione e filtrazione della birra sia sempre standardizzato (gestione del lievito e coagulazione delle proteine); inoltre, assicura che non ci siano contaminazioni dovute ad un ciclo CIP (*cleaning in place*). Il pH è una misura dell'acidità o basicità di una soluzione acquosa. Questo parametro viene misurato con il pH-metro. [29] [30]
- **Temperatura:** questo parametro di processo ci serve per gestire le fasi della fermentazione e per limitare i fenomeni di ossidazione e/o infezioni microbiche. È di fondamentale importanza in quanto influenza l'attività enzimatica del malto e le cellule del lievito. Inoltre, consente alle riempitrici di poter riempire le bottiglie senza fenomeni di schiumatura.
- **Conducibilità:** serve principalmente per assicurare che non ci siano contaminazioni dovute ad un ciclo CIP (*cleaning in place*); viene misurata tramite conduttivimetri.
- **Concentrazione di cellule vive di lievito:** questo parametro ci consente di avere sempre le stesse velocità di fermentazione, ovvero cicli di produzione sempre uguali e prodotto finale standard.

2.2 Strumenti di Controllo e di misura in linea e principio di

Funzionamento

2.2.1 Paar

Anton Paar sviluppa e produce strumenti analitici che consentono di raccogliere dati affidabili in modo da procedere nella gestione e controllo della qualità della produzione e nell'ottimizzazione del valore di misura ottenuto dal sensore.

Nell'impianto di produzione della Birra Ichnusa vengono utilizzati vari strumenti Anton Paar. Prima di descrivere i sensori utilizzati nel processo di produzione, introduciamo l'unità di valutazione per la misurazione continua di densità, velocità del suono, concentrazioni e altre proprietà, ovvero l'*mPDS5* (Figura 5).

Questa unità di valutazione riceve tramite dei trasduttori di processo il valore misurato dai sensori di misura in linea; infatti, i trasduttori effettuano la conversione della misura fisica valutata dal sensore di misura in un segnale di tipo elettrico, che viene inviato, appunto, al *mPDS 5*. Quindi l'*mPDS 5* calcola continuamente la densità e la concentrazione di liquidi e gas in base ai valori forniti dal sensore attraverso i trasduttori in modo continuo.

Possono essere visualizzati a schermo diversi parametri, tra cui quelli di interesse per questo lavoro di Tesi:

- *Original Extract* (Grado Plato);



- Alcol;
- Concentrazione di CO_2 e O_2 .

Nel mPDS5 è integrato un programma chiamato “Davis 5”, un software che viene utilizzato per l’acquisizione e visualizzazione dei dati di Anton Paar. I valori possono essere controllati, le configurazioni modificate e la produzione può essere interrotta, quando necessario, direttamente dal desktop. [31]

Inoltre, è possibile convertire i valori di misurazione grezzi come densità, velocità del suono e temperatura in risultati di concentrazione utilizzando un'ampia gamma di formule ben approvate, accurate e affidabili proprie dell’unità di valutazione; questo è un aspetto molto utile in quanto si è interessati per esempio alla concentrazione di alcol. [32]



Figura 5-mPDS 5 Linea di Riempimento

I vari strumenti di misura sono di seguito elencati e descritti:

2.2.1.1 Carbo

La carbonatazione è un elemento chiave nel gusto e nella freschezza percepita di una bevanda: avere la giusta concentrazione di CO_2 disciolta nella bevanda è quindi fondamentale. Per garantire gusto e qualità grazie al corretto contenuto di anidride carbonica nella birra, è necessario un accurato sistema di monitoraggio durante tutta la produzione e per il prodotto finale.

Lo strumento di misura “Carbo 5100” mantiene la qualità della birra in linea con il monitoraggio continuo del contenuto di CO_2 . Con questo sensore si può fare affidamento su una precisione di 0,05 g/L e misurazioni prive di deriva in pochi secondi; l'intervallo di misurazione di 4 secondi permette un controllo affidabile e stabile dei carbonatori.

Il principio di misurazione del sensore si basa sul metodo *Multiple Volume Expansion* che porta ad un'ottima precisione e ripetibilità, anche in condizioni di *stop-go* e subito dopo l'inizio della produzione e la pulizia. Questo strumento non ha bisogno di nessuna manutenzione. [31] [33]

2.2.1.1.1 Principio di funzionamento

Il metodo *Multiple Volume Expansion* sfrutta il fatto che la solubilità dell'aria nelle bevande è molto inferiore a quella della CO_2 . A causa della differenza di solubilità, quando si espande il volume della camera di misurazione, la pressione parziale dell'aria diminuisce molto più di quella della CO_2 .

1. La camera di misura viene riempita del campione che si vuole misurare e chiusa meccanicamente da valvole.
2. Il volume della camera di misura viene ampliato e si raggiunge l'equilibrio di pressione e temperatura; vengono quindi misurate la pressione e la temperatura di equilibrio.
3. A questo punto il volume della camera di misurazione viene ulteriormente ampliato, e questo porta all'instaurarsi di un nuovo equilibrio e vengono misurate nuovamente la pressione e la temperatura.
4. La differenza tra i risultati della pressione e della temperatura di equilibrio misurati alla prima e alla seconda espansione di volume della camera di misurazione viene utilizzata per determinare la quantità di aria disciolta; il risultato è la vera concentrazione di CO_2 nella bevanda.

Il calcolo implementato dallo strumento di misura non è noto ma si basa su tre leggi fondamentali:

- *La legge di Henry* che afferma che la concentrazione di gas disciolto in un liquido, all'equilibrio, è proporzionale alla pressione parziale di quel gas. [34]
- *La legge di Dalton* che dice che la pressione totale misurata in una fase gassosa è la somma delle pressioni parziali di tutti i gas presenti nella fase gassosa; in questo caso le pressioni parziali di anidride carbonica, ossigeno, azoto e pressione di vapore dell'acqua. [34]



- *La legge dei gas reali* che descrive il comportamento di un gas reale, come la CO_2 , che devia appunto dal comportamento ideale. Si parte, quindi, dalla legge del gas ideale effettuando delle variazioni [34]:

$$pV = nRT \rightarrow \left(p + a \frac{n^2}{V^2} \right) (V - nb) = nRT$$

dove "a" e "b" sono le costanti di Van der Waals che dipendono dalla sostanza in esame; "p" è la pressione del gas; "V" è il volume occupato dal gas; "R" la costante universale dei gas; e "T" la temperatura assoluta [35].

2.2.1.2 Oxy

"Oxy 510" è un sensore di ossigeno in linea che misura l'ossigeno disciolto (DO) in tempo reale.

Caratteristiche:

- Idoneo per applicazioni igieniche nell'industria delle bevande;
- Manutenzione minima;
- Misurazioni in tempo reale, accurate e prive di deriva

La determinazione della concentrazione di DO si basa sul principio ottico dello sfasamento della fluorescenza. [31] [36]

2.2.1.2.1 Principio di funzionamento

Lo strato sensibile all'ossigeno del sensore di misura è costituito da un colorante luminescente che è incorporato in una matrice polimerica permeabile ai gas, a diretto contatto con il campione.

Un LED di opportuna lunghezza d'onda illumina lo strato luminescente, il colorante assorbe la luce emessa e di conseguenza viene trasferita in uno stato eccitato. Quando ritorna allo stato fondamentale, il colorante emette luce di una lunghezza d'onda diversa e meno energetica, che viene rilevata da un foto rilevatore e amplificata.

In un'atmosfera priva di ossigeno (es azoto puro), l'energia emessa sarà elevata; più ossigeno è presente, più energia sarà trasferita dal colorante eccitato alle molecole di ossigeno. Poiché l'ossigeno, pur assorbendo energia, non emette luce, quando questo è assente, la quantità di luce emessa dal colorante sarà inferiore (Figura 6). [37]

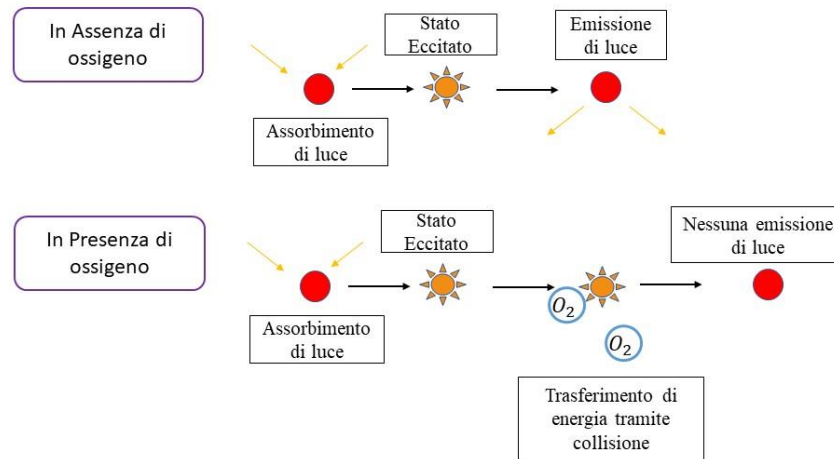


Figura 6- Principio di Misurazione della concentrazione di Ossigeno. Immagine tratta da [37] riportata con modifiche

2.2.1.3 L-Dens

Questo sensore di misura Anton Paar sfrutta il principio del tubo a U oscillante per misurazioni di densità ad alta precisione.

Il campione scorre attraverso un tubo a forma di U che oscilla alla sua frequenza naturale, che dipende dalla densità del campione. La densità può essere calcolata dal periodo di oscillazione e dalla temperatura utilizzando alcune formule proprie di questo strumento che dipendono da:

- Costante di regolazione per il calcolo della densità con compensazione della temperatura;
- Periodo di oscillazione;
- Temperatura.

La densità è direttamente proporzionale alla concentrazione, quindi misurando la densità si è in grado di valutare la concentrazione della sostanza disciolta in soluzione. [31]

Questa conversione può essere fatta utilizzando un'opportuna tabella, che può provenire dalla letteratura o da dati sperimentali, oppure mediante l'utilizzo di una formula di conversione. Quasi tutte le soluzioni binarie possono essere caratterizzate utilizzando funzioni relative alla densità e tabelle di concentrazione.

La concentrazione delle soluzioni o miscele è spesso espressa in termini di composizione percentuale della soluzione in base al peso o al volume. [38]

2.2.1.4 L-Sonic

I sensori L-Sonic sono dei robusti sensori di velocità del suono utilizzati per una rapida determinazione della concentrazione tramite la valutazione della velocità del suono nel mezzo.

La misurazione della velocità del suono viene fatta valutando la velocità di propagazione degli impulsi sonori nel campione liquido tra un trasmettitore ad azione piezoelettrica e un ricevitore. La geometria, quindi la distanza tra trasmettitore e ricevitore, è costante; ne consegue che il tempo di propagazione è proporzionale alla velocità del suono.

Viene utilizzata una formula propria del sensore per calcolare la velocità del suono a partire dal tempo di propagazione e temperatura. Questa dipende da:

- Temperatura;
- Tempo;
- Costante di regolazione del sensore di velocità del suono

I sensori L-Sonic sono praticamente insensibili alle fluttuazioni di temperatura, portate, viscosità e pressione. Rilevano i più piccoli cambiamenti nel liquido di processo e hanno un'elevata tolleranza alle bolle. [31] [39]

Dalla valutazione della velocità del suono si risale tramite equazioni proprie dello strumento alla concentrazione del mezzo in cui è posto il sensore.

2.2.1.5 L-Com

Il sensore di misura *L-Com* viene solitamente utilizzato per la misura della concentrazione di miscele a 3 componenti.

Questo sensore risulta essere la combinazione dei sensori di densità e velocità del suono.

È costituito da un tubo di vetro a U piezoeccitato (Figura 7) in cui viene introdotto il campione da analizzare; il tubo viene fatto vibrare con una certa frequenza caratteristica che cambia a seconda della densità del campione: attraverso la determinazione della frequenza caratteristica utilizzando una conversione matematica è possibile determinare la densità del campione. Per quando riguarda la valutazione della concentrazione, questa è legata alla densità; infatti, quest'ultima, nel caso di miscela binaria, è funzione della composizione. Lo stesso ragionamento può essere fatto per miscele quasi binarie, come la birra, ovvero delle miscele contenenti principalmente due componenti e altri componenti aggiuntivi in concentrazione molto bassa.

I valori di densità e velocità del suono sono determinati in un ciclo di misura e nelle stesse condizioni del fluido di processo, ma la velocità del suono nel campione e le caratteristiche del sensore cambiano con la temperatura: è quindi necessario considerare la temperatura del campione.

Si ottiene una precisione di $5 \cdot 10^{-5} \text{ g/cm}^3$ per la densità e 0,1 m/s per la velocità del suono.

Questo strumento ci permette di ottenere:

- Il vero valore di densità;
- Velocità del suono;
- Valutazione della densità e della velocità del suono con compensazione della temperatura per evitare l'influenza della temperatura di processo;
- Concentrazione del mezzo a contatto con il sensore;
- Il Tubo a U è a tenuta ermetica, ed è quindi in grado di resistere alla condensa di umidità dovuta alla differenza di temperatura tra processo e ambiente. [31]

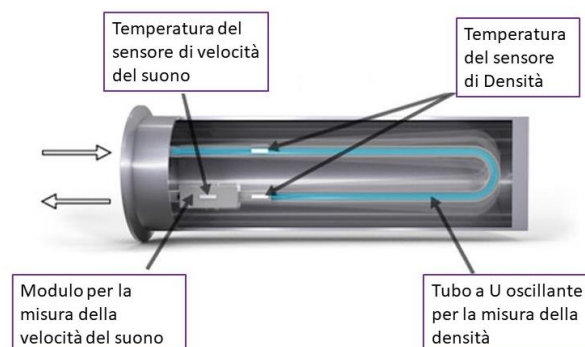


Figura 7-Principio funzionamento L-Com tratto da [31] e riportato con modifiche

2.2.2 Aber

L'Aber è uno strumento in grado di misurare la concentrazione di lievito vivo in linea, fornendo il dato *Viable Concentration* (VC) in % che tiene direttamente conto del numero di cellule vive nel campione in linea:

$$\text{Concentrazione} = \frac{\text{Numero totale di Cellule}}{\text{Volume totale}} \cdot 100$$

$$\text{Vitalità Cellule} = \frac{\text{Cellule Vive}}{\text{Cellule Totali}} \cdot 100$$

$$VC = \text{Concentrazione} \cdot \text{Vitalità delle cellule}$$

L'obiettivo primario dell'utilizzo del "conta cellule" è ottimizzare il dosaggio del lievito in termini quantitativi, calcolando "in line" quanto lievito dosare senza affidarsi a dati statistici o ad analisi di laboratorio per la determinazione delle cellule morte nel lievito.

Lo strumento funziona misurando la capacità elettrica della sospensione cellulare a basse frequenze radio che è fortemente influenzata dalla presenza di cellule vitali; queste, infatti, posseggono una membrana cellulare esterna intatta che risulta essere elettricamente isolante. La parete cellulare permette che la cellula si comporti come un condensatore, e come tale che sia in grado di caricarsi elettricamente.

Le cellule morte, che non hanno più la membrana, e altri solidi non cellulari hanno influenza trascurabile sulla capacità elettrica della sospensione.

Questo principio viene utilizzato per rilevare e misurare la presenza di cellule vitali.

Se le condizioni di misurazione sono soddisfatte, il sistema di monitoraggio del lievito fornisce una lettura proporzionale al volume totale di cellule vitali (intatte) nel volume di rilevamento della sonda; mentre le cellule morte non vengono rilevate.

Le letture sono scalate per tradurre il valore della misura della capacità elettrica in % di solidi sospesi (%*Spun Solids* o %SS).

La sonda dello strumento ha quattro elettrodi, due esterni e due interni, in platino che entrano in contatto con la sospensione delle cellule. Un'onda sinusoidale a radiofrequenza viene applicata ai due elettrodi esterni generando un campo elettrico che si estende per circa 20 mm dalla sonda; questo colpisce tutte le cellule vicine con membrana plasmatica intatta. Gli ioni all'interno e all'esterno di queste cellule si spostano verso le membrane plasmatiche, polarizzandole.

Il campo elettrico applicato viene monitorato dai due elettrodi interni alla sonda, e, insieme a una misura di corrente viene utilizzato per determinare il valore della capacità elettrica che risulta essere direttamente proporzionale alla quantità di cellule vive presenti.

La lettura delle capacità fornita dal sistema per la sospensione del lievito non sarà solo dovuta alla presenza di cellule vive ma anche dal mezzo di sospensione (mosto) che è caratterizzata da una sua capacità elettrica; inoltre, la sonda stessa influenzerà la capacità elettrica con un contributo costante.

Il contributo capacitivo della sonda e del mezzo sono facilmente isolati da quello delle cellule vive azzerando lo strumento mentre la sonda è immersa in un mezzo privo di cellule (acqua); così facendo la capacità misurata al di sopra di questo livello di fondo è proporzionale alla frazione in volume di cellule vive in sospensione.

La densità di un particolare tipo di cellula biologica non varia molto con il suo stato fisiologico; quindi, per un dato tipo di cellula, la biomassa sarà direttamente proporzionale al biovolume, ovvero la frazione volumica della sospensione racchiusa dalla membrana plasmatica delle cellule che è direttamente proporzionale alla concentrazione di biomassa.

Oltre alla misura della capacità il sistema fornisce anche una misura della conduttanza elettrica, che viene convertita in conducibilità (mS/cm) utilizzando una costante. Lo strumento può essere calibrato in base alle esigenze.

La presenza di bolle di gas influisce sulla capacità misurata perché spostano parte della sospensione di lievito dalla regione di rilevamento degli elettrodi della sonda anche se la concentrazione rimane la stessa. Nella tubazione deve essere mantenuta una pressione sufficiente per mantenere il gas disciolto nell'impasto di lievito. [40]

2.2.3 Disposizione strumenti di misura nella linea di produzione

In ogni zona del birrificio vengono misurati e controllati diversi parametri (Figura 10) per scopi differenti.

SALA COTTURA:

In questa zona dell'azienda avviene la concentrazione del mosto attraverso l'evaporazione dell'acqua e il successivo raffreddamento.

Il volume diminuisce per evaporazione, ottenendo così l'estratto originale. Di conseguenza, sono garantite le caratteristiche del prodotto desiderate e i requisiti legali. Al termine della bollitura, il mosto luppolato viene trasferito in un separatore a vortice, dove vengono trattenute le particelle solide come il luppolo e le proteine coagulate. Successivamente avviene il raffreddamento del mosto.



Il monitoraggio dell'**Original Extract** (estratto originale) durante l'ebollizione ha lo scopo di:

- Monitorare il tasso di evaporazione e l'efficienza dell'ebollitore;
- Automatizzare ulteriormente il processo e aumentare la produzione del birrificio;
- Garantire un tempo di ebollizione ridotto;
- Notevole risparmio energetico;
- Maggiore efficienza del birrificio;
- Corretto svolgimento del processo di birrificazione.

Questo monitoraggio avviene mediante la misura di densità o la misura della velocità del suono del prodotto in linea. Questi due parametri, densità e velocità del suono nel mezzo, vengono misurati tramite l'utilizzo di due tra gli strumenti di misura precedentemente descritti: *L-Dens* e *L-Sonic*. [41]

CANTINA:

In questa zona dell'impianto avviene l'inoculo di lievito per far sì che avvenga la fermentazione, questo processo viene chiamato "semina". Per controllare questo processo, da marzo, si utilizzerà un sensore di misura in grado di valutare l'effettivo numero di cellule vive di lievito presenti nell'impasto di lievito a contatto con il sensore; lo strumento di misura in questione è l'*Aber*.

Dopo la fermentazione, la birra appena prodotta viene filtrata. La filtrazione non viene eseguita solo per ottenere una birra più limpida, o completamente limpida senza particelle sospese al suo interno, ma anche per stabilizzare la birra rimuovendo eventuali sostanze che potrebbero causare torbidità.

La misurazione di tutti i parametri di qualità è fondamentale durante questa fase di produzione quali ad esempio alcol, estratto, concentrazione di CO_2 e O_2 , colore, pH e torbidità; questi, nella birra, forniscono informazioni immediate sulla qualità del prodotto, la consistenza e l'efficienza produttiva.

Se si effettuano misurazioni accurate possiamo ottenere:

- Qualità della birra sempre elevata;
- Un prodotto che soddisfa sempre le specifiche richieste per l'imbottigliamento;
- Un'azione tempestiva per correggere l'eventuale problema e ottenere quindi un valore dello strumento in output che rientri nelle specifiche di quel dato prodotto;
- Efficienza ottimizzata durante l'intero processo di birrificazione. [41]

Anche in questa zona, dove è sempre molto importante la valutazione del Grado Plato, viene utilizzato lo strumento di misura *L-Com*.

Per quanto riguarda la valutazione della concentrazione di ossigeno e di anidride carbonica vengono utilizzati due differenti strumenti di misura che sono rispettivamente “*Oxy*” e “*Carbo*”.

CONFEZIONAMENTO:

Il controllo di qualità finale prima che il prodotto lasci lo stabilimento garantisce la continua soddisfazione del consumatore. In questa fase le misurazioni assicurano che solo un prodotto di alta qualità venga consegnato alla destinazione finale.

La misurazione dell'ossigeno disciolto è molto importante nella birra e nello spazio di testa: la presenza di ossigeno nella birra riduce la durata di conservazione e può avere effetti dannosi sul gusto e sul colore.

La determinazione dell'anidride carbonica disciolta garantisce che i livelli di carbonatazione siano conformi alle specifiche, soddisfacendo così i requisiti di gusto.

La misurazione dell'alcol conferma se la concentrazione di alcol soddisfa le specifiche.

Le misurazioni del colore e della torbidità assicurano che la birra soddisfi gli standard. [41]

Sono quindi presenti gli strumenti di misura *L-Dens*, *Oxy* e *Carbo*.

Questo lavoro di Tesi si concentra sulla valutazione di alcuni tra i parametri precedentemente elencati, quali:

- Grado Plato
- Densità
- Grado alcolico %v/v
- Concentrazione di ossigeno
- Concentrazione di anidride carbonica
- Concentrazione di cellule vive

La misura di tutti questi parametri può essere ricondotta essenzialmente agli strumenti di misura presenti sulla linea di produzione:

1. Paar: attraverso l'utilizzo di mPDS5 (interfaccia utente) possono essere valutati i primi cinque parametri grazie al suo collegamento con tre strumenti di misura differenti:

- *L-Com* oppure *L-Dens* oppure *L-Sonic*.



- *Oxy*
- *Carbo*

In alcune zone dell'azienda è presente un twin Paar, caratterizzato da un doppio strumento di misura; avremo quindi in questa configurazione due *L-Com*, due *Oxy* e due *Carbo* posti l'uno in serie all'altro (Figura 8) e di conseguenza due mPDS 5 per la visualizzazione delle misure dei diversi sensori (Figura 9).

Il primo strumento di misura effettua la misura del mezzo con cui è a contatto, mentre il secondo strumento di misura effettua un controllo sul primo strumento di misura. Questo tipo di controllo permette di considerare il sistema a prova di «deriva» garantendo il blocco automatico della filtrazione nel caso di errore dovuto a malfunzionamento di uno dei due strumenti; infatti, viene valutata la differenza tra la misura del primo e del secondo sensore.

Questo assicura:

- un miglior controllo di processo;
- eliminazione dei controlli periodici di validazione dello strumento e di eventuali errori durante le fasi di verifica e taratura degli strumenti;
- zero difetti sul prodotto filtrato;
- Risparmio di tempo: eliminati controlli e analisi
- Riscontro immediato del malfunzionamento dello strumento
- In caso di guasto di uno strumento è presente un *backup*, non c'è quindi bisogno di interrompere il processo di filtrazione.



Figura 8-Due sensori di misura L-Com posti in serie nella linea di Filtrazione



Figura 9-Twin Paar

2. *Aber*: questo strumento di misura in linea è in grado di valutare la concentrazione e il numero effettivo di cellule vive di lievito.

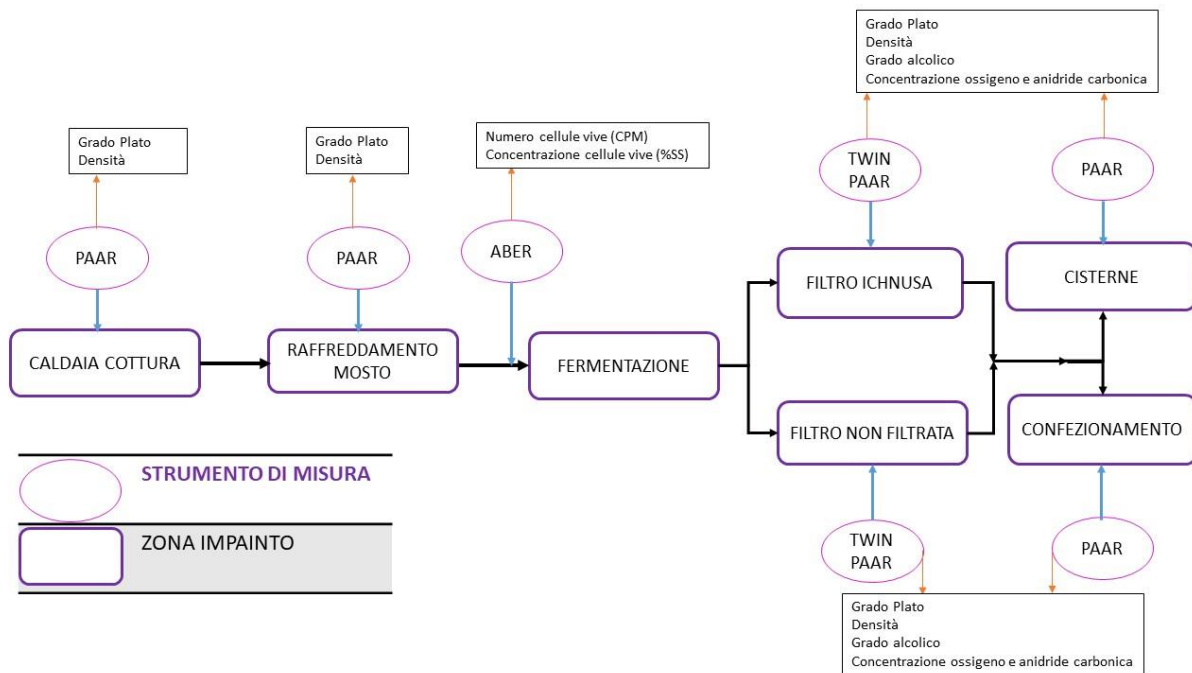


Figura 10-Mappatura strumenti di controllo in linea nel birrificio Heineken di Assemini

2.3 Procedura di Verifica Paar

Per la verifica del corretto funzionamento degli strumenti di controllo “Paar” sono necessari due differenti strumenti di laboratorio, uno relativo alla valutazione del Grado Plato, Densità e Grado Alcolico (*Paar da Banco*) e uno per la valutazione delle concentrazioni di Ossigeno e Anidride Carbonica (*Cbox*). [31]

2.3.1 Paar da Banco

Questo strumento da laboratorio (Figura 11) è in grado di valutare Grado Plato, Grado Alcolico, Densità, Colore, pH e Temperatura (Figura 12).

Il suo principio di funzionamento è equivalente a quello dello strumento di misura in linea *L-Com*: vi è un tubo di vetro a forma di U in cui viene introdotto il campione da analizzare; il tubo viene fatto vibrare con una certa frequenza caratteristica che cambia a seconda della densità del campione. Attraverso la determinazione della frequenza caratteristica utilizzando un’espressione matematica è possibile misurare la densità del campione.

Per quanto riguarda la valutazione della concentrazione, questa è legata alla densità; infatti, quest’ultima è funzione della composizione.

Inoltre, sono presenti due termometri al platino che forniscono una termostatazione precisa del campione. Viene inoltre integrato un pH-metro per la valutazione del pH del campione. [31]

La gradazione alcolica è calcolata dai valori di densità utilizzando le tabelle di densità alcol/acqua. È necessario applicare una correzione alla concentrazione di alcol per compensare l'influenza dell'estratto sulla densità. [42]

Il Paar da Banco (Figura 11), inoltre, è dotato di una ruota in cui possono essere inserite sino a 24 provette contenenti i campioni da analizzare.

Sono presenti delle funzioni di controllo per valutare che lo strumento stia funzionando in modo adeguato, come per esempio "Water check": in questo caso viene inserita nella ruota una provetta di acqua distillata, viene effettuata l'analisi, e lo strumento è in grado di valutare se è necessario intervenire con una calibrazione oppure no.

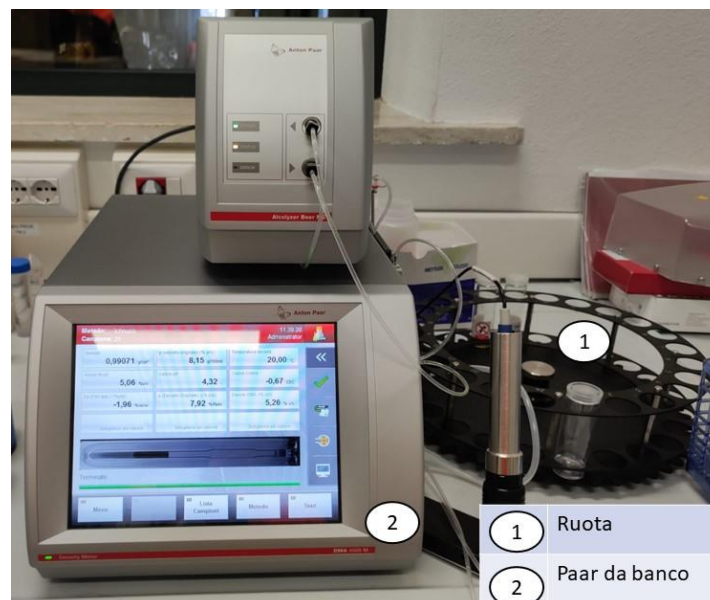


Figura 11-Paar da banco

✓ 1 nf cisterne	
▶ Unique Sample Id:	17015
▶ Date:	15/02/2022
▶ Time:	11.07.00
▶ Sample Name:	nf cisterne
▶ p (original extract) (% w/w):	11,77 %Plato
▶ p (original extract) (% w/w):	11,8 %Plato
▶ Alcohol (% v/v):	5,27 %v/v
▶ Ea (app. extract) (% w/w):	1,83 %w/w
▶ Alcohol (% w/w):	4,14 %w/w
▶ Density:	1,00531 g/cm ³
▶ Color Value:	12,3 EBC
▶ pH Value:	4,75

Figura 12-OutPut Paar da Banco di un campione di Birra Non Filtrata

2.3.2 Cbox

Il Cbox è un analizzatore combinato di Anidride Carbonica e Ossigeno che permette un controllo di qualità affidabile. La misura di CO_2 avviene grazie al metodo di espansione volumetrica multipla, mentre la misura dell' O_2 disciolto avviene mediante un sensore optochimico.

Questi principi di funzionamento sono stati descritti precedentemente. È composto da una camera di misurazione in cui avviene l'espansione del volume, un tubicino di scarico comandato da una valvola e da un sensore optochimico (Figura 13).



Figura 13-Cbox tratto da [31] riportato con modifiche

2.3.3 Procedura di Campionamento

Per effettuare un campionamento adeguato è necessario evitare la fase iniziale e finale dei processi e attendere la stabilizzazione dei parametri letti in linea direttamente sul *mPDS5*.

2.3.3.1 Valutazione Concentrazione Ossigeno e Anidride Carbonica

Per la valutazione di anidride carbonica e ossigeno non è necessario prelevare un campione e portarlo in laboratorio: il *Cbox* è uno strumento di misura portatile, quindi, la valutazione di questi parametri può essere effettuata direttamente in campo (Figura 14).

- La prima cosa da fare è collegare lo strumento di misura alla presa campione tramite la serpentina (necessaria per non avere formazione di schiuma) collegata precedentemente allo strumento.
- Aprire la presa campione, aprire la valvola presente dietro il *Cbox* e premere il tasto di risciacquo.

In questa fase verrà riempita la camera di espansione volumica e svuotata tramite la valvola di sfogo lasciata aperta. Questo procedimento viene effettuato per evitare di avere un campione contaminato da misure precedenti. Le contaminazioni possono essere dovute alla presenza di acqua o di altri prodotti (altre tipologie di birra).

- Una volta che lo strumento ha concluso la modalità di risciacquo automatico la valvola si chiude automaticamente; questo accade quando il valore della concentrazione di ossigeno è diventato stabile. Si può iniziare la misura premendo il tasto “*Start*”, il processo di misurazione è indicato da una barra di avanzamento rossa nella barra di stato in basso.
- Una volta finita la misura (Figura 15), la barra di stato diventa verde; è necessario segnare il valore mostrato dallo strumento per poterlo poi confrontare con quello letto sul *mPDS 5*, ovvero quello valutato dal sensore in linea.
- Chiudere la valvola della presa a campione e staccare lo strumento dalla presa a campione.



- 1 Collegamento alla presa a campione
- 2 Tubicino di collegamento alla presa a campione
- 3 Tubicino di scarico
- 4 Pulsante Start
- 5 Pulsante Risciacquo

Figura 14-Campionamento con Cbox per la valutazione di Anidride Carbonica e Ossigeno



Figura 15-OutPut Cbox

2.3.3.2 Campionamento per la misurazione del Grado Plato

La metodica per la valutazione della densità e grado alcolico, e di conseguenza del Grado Plato, prevede il prelievo di un campione in una bottiglia da 66 centilitri riempita in prossimità dello strumento di misura in linea, con l'apposita presa a campione.

È molto importante mettere un'etichetta su questa bottiglia per identificare la linea in cui viene preso il campione e il *brand* del campione prelevato (NF se Non Filtrata o ICH per Ichnusa Anima Sarda).

È inoltre necessario utilizzare una serpentina che viene direttamente collegata alla presa campione per evitare la formazione di un'eccessiva quantità di schiuma.

1. Collegare la serpentina alla presa campione (Figura 16).
2. Aprire la presa a campione e lasciar fluire il prodotto per qualche secondo in modo da non avere contaminazioni di altre sostanze nel nostro campione, in quanto la serpentina potrebbe essere stata utilizzata per il prelievo di altri campioni (Figura 17).
3. Avvinare la bottiglia, ovvero bagnare con il campione tutta la superficie interna della bottiglia e poi svuotare prima di prendere il campione da analizzare (Figura 18).
4. Fotografare il valore letto sullo strumento in linea (mPDS5 Figura 19).
5. Prendere il campione riempiendo la bottiglia assicurandosi di non avere schiuma all'interno (Figura 20).
6. Chiudere la presa campione per evitare ulteriore fuoriuscita del prodotto dalla linea di produzione.
7. Tappare la bottiglia.



Figura 16- Procedura Campionamento Paar Fase 1



Figura 17- Procedura Campionamento Paar Fase 2



Figura 18- Procedura Campionamento Paar Fase 3



Figura 19- Procedura Campionamento Paar Fase 4



Figura 20- Procedura Campionamento Paar Fase 5

2.3.4 Preparazione del Campione e Analisi

Una volta prelevato il campione e portato in laboratorio, questo deve essere preparato per l'analisi che verrà effettuata nel Paar da Banco precedentemente descritto.

La prima cosa da fare è inserire la bottiglia in un bagno termostatico a 20°C, in quanto l'analisi deve essere effettuata a temperatura ambiente.

Per preparare il campione alla misura è necessario munirsi di due beute, un imbuto, un filtro a pieghe, ARBOCEL (farina di fibre di cellulosa), siringa, micro-filtro per siringa da 0.45 μm , provetta e tappino (Figura 22).

1. Avvinare la prima beuta con il campione da analizzare;
 2. Versare il campione nella beuta appena avvinata e degassarla agitando la beuta: è necessario effettuare questo procedimento in quanto la misura può essere influenzata dalla presenza di anidride carbonica;
 3. Mettere l'imbuto nella seconda beuta e inserire il filtro a pieghe (NB se non si sta esaminando un prodotto finito come quello prelevato in confezionamento o se si sta esaminando un prodotto con elevata torbidità come nel caso di birra non filtrata, mettere ARBOCEL nel filtro prima di versare il campione degassato);
 4. Versare il campione nell'imbuto e avvinare velocemente la beuta prima di lasciar filtrare tutto il campione;
- Se si sta esaminando un prodotto con elevata torbidità (es. birra Non Filtrata), o un prodotto non ancora filtrato:
- prendere un becker e avvinarlo con il campione filtrato con filtro a pieghe e Arbocel;
 - versare il prodotto filtrato nel becker;
 - prendere una siringa e avvinarla;
 - filtrare la birra con un filtro da 0,45 micrometri direttamente nella provetta, avvinarla e poi riempirla.
- Se si sta esaminando un prodotto meno torbido (es. Ichnusa Anima Sarda):
- Versare il campione filtrato direttamente nella provetta, dopo averla avvinata.

A questo punto il campione è pronto per essere analizzato.

Prima di effettuare la misura è necessario assicurarsi che siano già stati eseguiti i controlli giornalieri sullo strumento di misura da laboratorio:

- il *water check* del Paar da banco, ovvero un controllo che viene fatto con acqua distillata per valutare che lo strumento in laboratorio sia adeguatamente calibrato;
- l'analisi dei riferimenti (Figura 23), in questo caso i riferimenti sono dei prodotti finiti del *brand* Heineken di cui si conoscono le caratteristiche chimico-fisiche: questa analisi viene effettuata per assicurarsi che lo strumento in laboratorio effettui una valutazione corretta dei parametri del campione.

È molto importante prima di dare il via all'inizio dell'analisi inserire nella "*Sample List*" (Figura 24) dello strumento da banco il nome del campione che si andrà ad analizzare, in quanto nel momento in cui si andranno ad estrarre i dati dallo strumento è necessario che ai valori misurati corrisponda l'identificazione del campione valutato.

La provetta da analizzare viene inserita nella ruota del Paar, in posizione "1", e due provette di acqua distillata per il risciacquo finale dello strumento di misura vengono inserite nelle posizioni adiacenti a quella dell'ultimo campione da analizzare (Figura 25).

Infine, si avvia l'analisi e si aspetta che lo strumento finisca; i dati potranno essere visualizzati direttamente sullo strumento come si può vedere in Figura 12; oppure possono essere scaricati nell'apposita pennina che viene collegata direttamente allo strumento.

I risultati ottenuti vengono raccolti in un file Excel in cui si confrontano con i valori misurati dallo strumento in linea, vengono poi costruiti dei grafici per valutare l'andamento delle misure e decidere come e se intervenire sullo strumento. Sono state effettuate un numero differente di misure per ogni Paar presente nell'impianto, questo perché non tutte le linee erano sempre in funzione. Sono stati analizzati 52 campioni differenti per la valutazione del grado Plato.

I grafici utilizzati per la valutazione possono essere delle carte di controllo o dei grafici basati su dati imposti dal tecnologo di processo.

Le carte di controllo vengono costruite su basi statistiche.

Dopo aver raccolto i Delta, ovvero la differenza calcolata tra la misura valutata dallo strumento in linea e la misura valutata con lo strumento in laboratorio, vengono calcolate su Excel la media e la deviazione standard dei Delta, con le funzioni adeguate.

Vengono poi calcolati quelli che sono i limiti di interesse, nominando M la media calcolata e S la deviazione standard:

- $M + S$
- $M + 2 \cdot S$
- $M + 3 \cdot S$
- $M - S$
- $M - 2 \cdot S$
- $M - 3 \cdot S$

Questi limiti vengono riportati su un grafico insieme alle misure dei Delta.

Come si può vedere, per esempio, in Figura 21, ci sono un totale di 6 righe orizzontali rappresentanti i limiti calcolati. I colori delle righe orizzontali, rappresentanti i limiti, sono uguali a due a due:

- Le linee verdi, corrispondenti al $M + S$ e $M - S$ rappresentano il primo limite, il quale è accettabile e non si ha necessità di intervenire sullo strumento;
- Le linee arancioni, corrispondenti al $M + 2 \cdot S$ e $M - 2 \cdot S$ rappresentano il secondo limite, il quale risulta essere ancora accettabile e non si ha necessità di intervenire sullo strumento, ma è necessario tenerlo sotto controllo;
- Le linee rosse corrispondenti al $M + 3 \cdot S$ e $M - 3 \cdot S$ rappresentano il terzo limite, il quale risulta essere non accettabile e si ha quindi necessità di intervenire sullo strumento effettuando un adjustment.

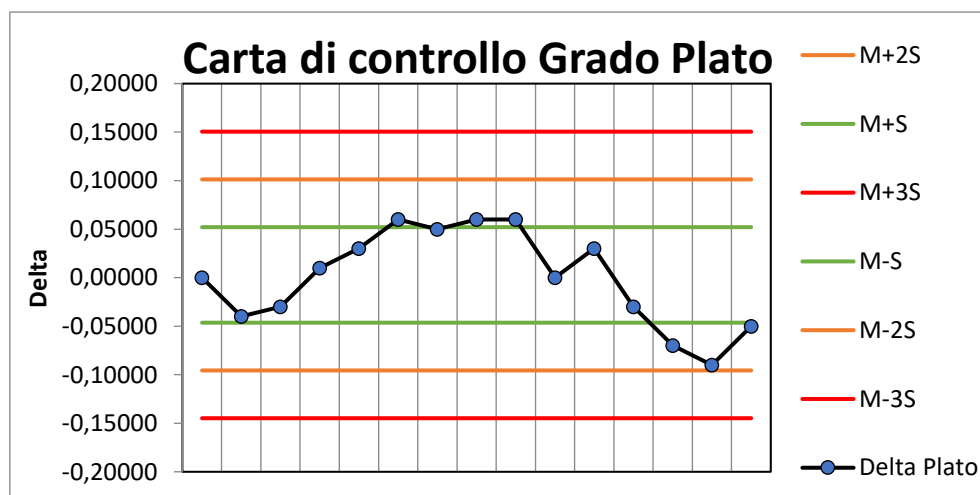


Figura 21-Carta di Controllo relativa al Grado Plato in confezionamento



1	Bottiglia contenente il campione da analizzare
2	Beuta per degasare il campione
3	Beuta contenente il campione filtrato
4	Imbuto
5	Filtro a pieghe
6	Arbocel (coadiuvante di filtrazione)
7	Becker
8	Siringa
9	Filtro per siringa da $0.45\mu\text{m}$
10	Provetta da inserire nel Paar

Figura 22-Attrezzatura preparazione del campione per il Paar da banco



Figura 23-Preparazione dei riferimenti

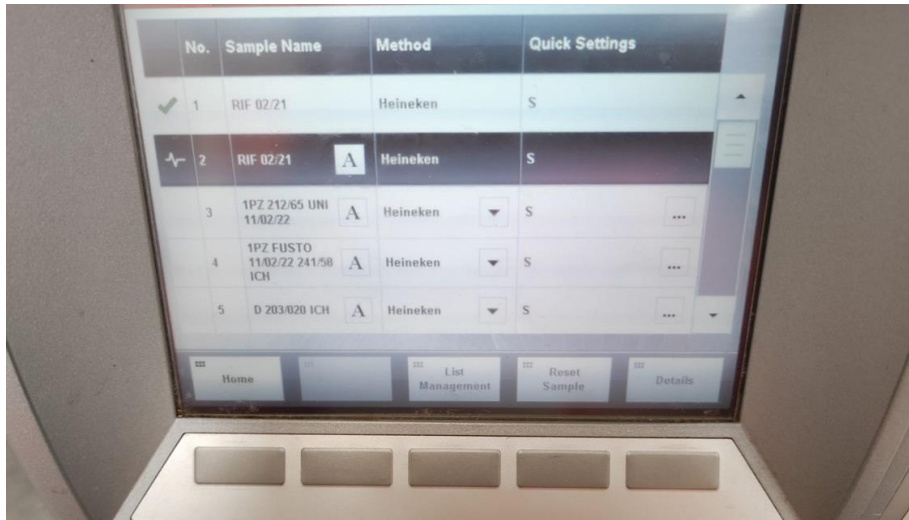


Figura 24-Sample list, i primi due sono i riferimenti



Figura 25-Ruota Paar da banco con 7 campioni da analizzare più le due provette di acqua distillata per il risciacquo finale

2.4 Procedura di Verifica Aber

L'Aber, ovvero il contatore di cellule vitali nel lievito, è stato installato durante l'esperienza in azienda descritta in questa Tesi.

Si è partiti, quindi, da una fase di calibrazione del sensore e si è poi passati all'inserimento di quest'ultimo nella linea di produzione (Figura 26) ed infine alla validazione dello strumento stesso.

Lo strumento è stato definitivamente messo in funzione nel Marzo 2022.

Per la validazione dello strumento è stato necessario prelevare una serie di campioni e confrontare il valore misurato dal sensore in linea con la misura effettuata in laboratorio, per verificare che lo strumento in linea stesse effettuando delle misure corrette e quindi

potesse essere messo in funzione per dosare il lievito necessario alla fermentazione; quindi passare da un dosaggio manuale ad un dosaggio automatico.



Figura 26-Strumento di misura Aber

2.4.1 Procedura di Montaggio e Taratura

Esistono due differenti tipologie di procedure per la taratura dell'Aber: "Online Zero Procedure" e "Offline Zero Procedure", si è utilizzata la seconda.

Il primo passaggio è quello di calibrare lo strumento con acqua per eliminare il rumore di fondo come spiegato nella descrizione del principio di funzionamento dello strumento:

1. Posizionare il *Compact Calibration Port* su un agitatore magnetico con la sonda inserita orizzontalmente (Figura 27);
2. Collegare l'unità Compact al V350, ovvero il *display touch screen* montabile su pannello autonomo (Figura 28);
3. Riempire il Compact Calibration Port con 300 ml di acqua fredda. Aggiungere sale per aumentare la conducibilità della soluzione sino a 1,2 mS/cm e avviare l'agitatore. Questo valore viene mostrato sullo schermo.

Dopo alcuni minuti, premere il pulsante "Zero Now" sullo schermo del V350:

Menu → Zero function → Zero now → Are you sure? Yes

- Lo strumento rimuoverà la capacità di fondo e mostrerà come offset nella casella “Zero Value” un valore (i valori normali sono circa $7 \pm 5 \text{ pF/cm}$), insieme alla data e all’ora in cui lo strumento è stato azzerato.
- Rimuovere la soluzione acquosa e rimuovere con cautela la Compact Calibration Port dall'unità Compact.



Figura 27- Compact Calibration Port durante il processo di taratura. Immagine tratta da [40] riportata con modifiche



Figura 28- Schermo V350 Aber misura CPM vs misura %SS

Poiché ogni ceppo di lievito ha le sue caratteristiche in termini di dimensione, forma delle cellule, flocculazione e capacità di essere polarizzato da un campo elettrico, lo strumento dovrà essere impostato per tenere conto di queste differenze.

Ci sono due parametri di base che sono essenziali da determinare per ogni ceppo di lievito al momento della messa in servizio:

- il valore RCm , ovvero il raggio moltiplicato per la capacità della membrana cellulare di caricarsi elettricamente.

Questo parametro dipende da quelle caratteristiche precedentemente elencate tipiche di ogni ceppo di lievito. È una costante che tiene conto dell'effetto della

bassa conduttività elettrica del lievito in soluzione ed è utilizzata, quindi, per la lettura della capacità elettrica dallo strumento.

- *%SS Factor* che è un fattore che converte la capacità elettrica misurata in pF/cm del lievito nella concentrazione *%SS (Spun Solid)* ovvero la frazione in volume di cellule vive in soluzione.

NB:

- L'aspetto più importante della taratura è preparare un campione di lievito che sia privo di bolle di gas e che possa essere facilmente miscelato utilizzando un agitatore magnetico. L'impasto di lievito deve avere una concentrazione intorno al 25% per la taratura.
- La procedura di taratura dovrebbe essere completata il più rapidamente possibile per ridurre al minimo gli errori dovuti al graduale cambiamento del numero di cellule vive.
- Una velocità di agitazione troppo elevata può causare un vortice attraverso gli elettrodi della sonda e causare letture instabili. Una velocità di agitazione troppo bassa consentirà al lievito di depositarsi e fornire una lettura imprecisa.

Il primo passo per poter tarare questo strumento di misura è individuare il valore RCm che identifica il tipo di lievito utilizzato. È necessario assicurarsi che non ci siano bolle d'aria intrappolate sugli elettrodi e che *%SS Factor* sia 1 prima di iniziare la procedura.

1. Immergere la sonda nell'impasto di lievito precedentemente inserito nella *Compact Calibration Port* e garantire la corretta miscelazione utilizzando un agitatore magnetico. (Se l'impasto è troppo denso per essere miscelato in modo efficiente, diluire 1:1 in peso con acqua). In questo caso la conduttività dovrebbe essere bassa intorno a $1ms/cm$, tipica dell'impasto di lievito.
2. Sullo schermo andare su *Menu* → *Strain Setup*
3. Inserire *Strain's Name* e scegliere *Set*.
4. Nello schermo inserire 1 per *%SS Factor* e scegli *Set*.
5. Ora inserire nello schermo V350 un nuovo valore RCm pari a 3, premere *Set* e registrare in una tabella la misura di concentrazione rilevata dallo strumento.
6. Inserire un nuovo valore di RCm , che deve avere un incremento di 0.5 rispetto al precedente, quindi risulterà essere pari a 3.5; scegliere nuovamente *Set* e registrare nuovamente la misura ottenuta dallo strumento.
7. Ripetere questo procedimento di variazione di RCm con incremento di 0.5 tra un valore e l'altro, sino ad arrivare ad un RCm pari a 9.



8. Dopo aver registrato in Tabella 1 le 13 Misure di concentrazione, una per ogni valore di RCm , si dovrà effettuare lo stesso procedimento variando la conduttività dell'impasto di lievito analizzato.
9. Aggiungere, quindi, del sale all'impasto di lievito fino a quando la conduttività raggiunge circa 5 mS/cm e ripetere la stessa procedura cambiando il numero di RCm da 3 a 9 e registrando la concentrazione nella tabella (Tabella 1).

Tabella 1-Valori RCm per la taratura dell'Aber

RCm	Low conducibility ($\frac{mS}{cm}$)	Concentrazione (%SS) Low Conducibility	High conducibility ($\frac{mS}{cm}$)	Concentrazione (%SS) High conducibility	Delta
3	1.4	33.17	4.93	32.37	0.8
3.5	"	29.37	4.96	27.57	1.8
4	1.45	26.79	5	24.22	2.57
4.5	"	25.07	"	21.88	3.19
5	1.48	23.8	"	20.14	3.66
5.5	"	22.88	"	18.82	4.06
6	1.5	22.28	"	17.85	4.43
6.5	"	21.89	"	17.07	4.82
7	1.54	21.62	"	16.5	5.12
7.5	"	21.54	"	16.05	5.49
8	1.55	21.51	"	15.7	5.81
8.5	"	21.58	"	15.52	6.06
9	1.58	21.72	"	15.36	6.36

Studiando i risultati si può vedere che nelle colonne del %SS (concentrazione) corrispondenti rispettivamente a bassa e alta conduttività vi è una lettura relativa allo stesso RCm che è circa la stessa in entrambi i casi, ovvero ha un Delta (differenza tra la misura di %SS a bassa conduttività e la misura di %SS ad alta conduttività) più piccolo. Il valore di RCm relativo al Delta più piccolo è quello rappresentativo della tipologia di lievito utilizzata per il campione.

Nel caso in questione, relativo al lievito utilizzato nell'impianto di produzione della Birra Ichnusa, il valore di RCm rappresentativo è 3. Quindi, questo è il valore inserito nel campo RCm presente sullo schermo V350.

10. Ora che il valore RCm è stato inserito nei parametri del ceppo di lievito, può essere determinato %SS Factor necessario per un'adequata misura. Questa valutazione viene fatta confrontando %SS Factor inserito nello strumento di controllo con

l'errore tra la concentrazione di cellule vive calcolate in laboratorio e quelle misurate dallo strumento di controllo (%SS):

- 1) Calcolare l'errore tra i risultati ottenuti in laboratorio (tramite centrifugazione, procedura che verrà successivamente descritta) e i risultati ottenuti dalla lettura del sistema Compact:

$$\%Errorre = \frac{\%SS \text{ lievito nel monitor} - \%SS \text{ del laboratorio}}{\%SS \text{ del laboratorio}}$$

- 2) Usare l'errore calcolato per calcolare il nuovo *%SS Factor* da inserire nello strumento, per avere una calibrazione corretta:

$$\text{Nuovo \% Factor} = \frac{\text{Vecchio \%SS Factor} \cdot 100}{(\%errore + 100)}$$

Se il birrifico, come in questo caso, preferisce valutare il numero di cellule vitali per ml, quindi il CPM, è necessario valutare il CPM Factor. Il valore di primo tentativo di questo fattore viene così valutato:

$$\text{CPM Factor} = \frac{\text{Numero di cellule vitali ottenute in laboratorio}}{\% \text{ SS letta nello strumento in linea}}$$

Successivamente è necessario valutare l'errore sulla misura del CPM, ovvero l'errore tra la concentrazione di cellule vitali valutate dallo strumento di misura in linea e la concentrazione di cellule vitali valutate con il Nucleocounter (procedura che verrà successivamente descritta):

$$\%Errorre = \frac{\text{CPM lievito nel monitor} - \frac{\text{cellule vive}}{\text{ml}} \text{ valuate in laboratorio}}{\frac{\text{cellule vive}}{\text{ml}} \text{ valuate in laboratorio}}$$

Dopo aver valutato l'errore, se questo risulta essere maggiore del 10% è necessario calcolare il nuovo CPM Factor:

$$\text{Nuovo CPM Factor} = \frac{\text{Vecchio CPM Factor} \cdot 100}{(\%errore + 100)}$$



2.4.2 Validazione

Dopo la prima fase di taratura del sensore e successivo montaggio dello strumento in linea, si è reso necessario validare lo strumento per poterlo effettivamente mettere in funzione; ovvero per far sì che il dosaggio del lievito sia effettivamente regolato dallo strumento in linea.

Per raggiungere questo obiettivo si necessita di un minimo di 10 valori con un errore relativo minore del 10% tra la misura del sensore e quella del laboratorio, se vi è un errore maggiore del 10% si rende necessario variare nuovamente il *SS Factor* e *CPM Factor*.

2.4.2.1 Nucleocounter

Lo strumento utilizzato in laboratorio per la misura della concentrazione delle cellule morte in una sospensione è il *Nucleocounter* (Figura 29).

Questo strumento di misura è in grado di identificare e contare le singole cellule contenenti DNA colorato. Il pretrattamento del campione ha lo scopo di consentire l'efficace colorazione delle cellule e del campione; potrebbe essere necessario uno sforzo aggiuntivo per dissolvere gli aggregati cellulari.

Questo strumento viene utilizzato insieme alle Nucleocassette, per la manipolazione dei campioni, ad una soluzione chiamata *Lysis Buffer*, che porta alla lisi delle cellule e a una *Dilution Buffer*.

All'interno di questo strumento di misura è integrato:

1. un microscopio a fluorescenza compatto;
2. dei *LED* in grado di emettere una sorgente luminosa di eccitazione;
3. dei filtri di eccitazione ed emissione;
4. delle lenti ottiche;
5. un dispositivo ad accoppiamento di carica CCD (*charged coupled device*) che consiste in un circuito di elementi semiconduttori in grado di accumulare una carica elettrica proporzionale all'intensità della radiazione elettromagnetica che li colpisce. [43]



Figura 29-NucleoCounter

2.4.2.1.1 Nucleocassette

La nucleocassetta (Figura 30) è un dispositivo di plastica monouso su misura progettato per una gestione ottimale del campione.

È composta da un pistone, da un sistema di flusso contenente il colorante fluorescente (ioduro di propidio, PI, ovvero un agente intercalante fluorescente che può essere utilizzato per colorare cellule e acidi nucleici) e dalla camera di misura.

La nucleocassetta viene caricata con la soluzione da analizzare premendo leggermente il pistone bianco, che crea un vuoto parziale nel sistema di flusso. La punta della Nucleocassetta deve essere immersa nella miscela da analizzare quando si preme il pistone, con conseguente caricamento del campione nel sistema di flusso.

Il colorante fluorescente è immobilizzato nella prima parte del sistema di flusso e quando il campione viene caricato, lo ioduro di propidio immobilizzato viene sciolto immediatamente e miscelato con il campione. Il colorante si intercala con il DNA e forma una colorazione fluorescente, assorbendo la luce verde ed emettendo luce rossa, che viene utilizzata per il rilevamento delle cellule colorate. Nella camera viene eseguito il conteggio cellulare. [43]

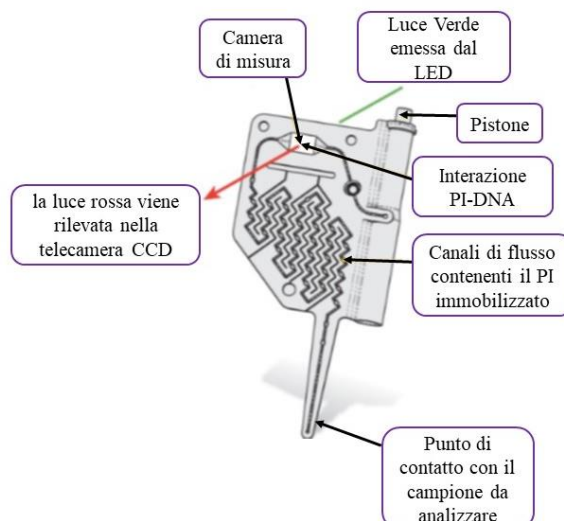


Figura 30-Nucleocassetta, figura tratta da [44] riportata con modifiche

2.4.2.1.2 Lysis Buffer

La Lysis Buffer è una soluzione tampone utilizzata per ottenere la lisi delle cellule di lievito, è altamente efficace e generalmente raggiunge la lisi istantanea delle cellule di lievito in sospensione. Questa soluzione viene utilizzata in quanto si è interessati alla valutazione del numero totale di cellule presenti in sospensione, ed essendo il Nucleocounter in grado di rilevare le cellule morte, è necessario utilizzare questa soluzione che porta alla morte di tutte le cellule. [43]

2.4.2.1.3 Dilution Buffer

La *Dilution Buffer* è un buffer di diluizione che viene utilizzato per diluire il campione da analizzare, per evitare l'aggregazione delle cellule di lievito. È una soluzione che viene preparata direttamente in laboratorio ed è composta da soluzione fisiologica, cloruro di sodio e acido etilendiamminotetraacetico (EDTA). Questa soluzione deve essere preparata il giorno antecedente alla misura in quanto dopo la preparazione deve stare in autoclave per 24 ore, ha poi una validità di 7 giorni dalla data di preparazione. [43]

2.4.2.1.4 Principio di funzionamento del Nucleocounter

Dopo aver inserito la nucleocassetta, caricata con il campione da analizzare, nello strumento di misura viene schiacciato il pulsante "Run". A questo punto l'attuatore presente nello strumento sposta lo stelo del pistone verso il basso così la miscela colorata viene trasportata attraverso il sistema grazie alla forma e la dimensione dei canali di flusso che facilitano un'efficace miscelazione della miscela e del colorante. Vi sono poi dei sensori in grado di controllare il flusso del liquido e quando la miscela mischiata con il PI raggiunge la camera di misurazione della cassetta, l'attuatore interrompe il movimento del pistone.

La camera di misurazione viene illuminata dalla luce di eccitazione verde, proveniente dalla sorgente luminosa, che viene fatta passare attraverso un filtro di eccitazione prima che raggiunga la camera di misurazione; questo filtro consente il passaggio solo della luce verde con lunghezze d'onda appropriate per l'eccitazione di PI.

Quando il PI viene eccitato si lega al DNA ed emetterà una luce rossa di fluorescenza. Parte della luce verde passerà attraverso la camera di misurazione insieme alla luce rossa a fluorescenza, per questo vi è un filtro di emissione, che consente il passaggio della sola luce rossa.

Utilizzando un sistema di lenti ottiche, la luce rossa viene infine focalizzata sul chip CCD della telecamera.

Il Nucleocounter rileva i segnali fluorescenti dallo ioduro di propidio (PI) quando è legato al DNA a doppio filamento (*dsDNA*). Per avere la colorazione del *dsDNA* è necessario che il PI possa penetrare nella membrana cellulare, ma la membrana cellulare delle cellule viventi è impermeabile al PI mentre le cellule morte o danneggiate vengono prontamente penetrate con il PI. Per questo motivo il Nucleocounter è in grado di valutare il numero di cellule morte, perché soltanto in questa situazione si avrà l'emissione di luce rossa.

Per determinare la concentrazione cellulare totale è necessario sottoporre le cellule ad un trattamento che renda la membrana cellulare permeabile al PI, ovvero un trattamento che porti alla lisi cellulare, e questo viene fatto utilizzando la *Lysis Buffer*. [43]

2.4.2.2 Procedura di Campionamento

Per prelevare il campione è necessario munirsi di una provetta e aspettare il momento della semina del lievito nel mosto di birra.

Una volta che la misura del sensore in linea si è stabilizzata (circa 2 minuti) prendere, dall'apposita presa campione posta sopra lo strumento di misura (Figura 26), con la provetta, il campione di lievito da analizzare.

Inoltre, si deve controllare il valore valutato dallo strumento di misura in linea in quell'istante (Figura 28) e segnarselo per poterlo poi confrontare con la misura che si otterrà in laboratorio. È necessario segnare entrambe le misure di %SS e CPM.

2.4.2.3 Preparazione del campione e Analisi per la determinazione del numero di cellule vive in soluzione (CPM)

Questa procedura porterà all'ottenimento del numero di cellule vive presenti in un millilitro di soluzione.

1. Una volta raggiunto il laboratorio munirsi di pipetatrice e un matraccio da 25 ml;
 - In una bilancia effettuare la doppia pesata (Figura 31), ovvero pesare il matraccio vuoto, inserire 1 grammo del campione di lievito (Figura 32), e il peso finale dovrà risultare il peso del matraccio più uno;
 - Diluire il campione sino a raggiungere un volume di 25 ml con la *Dilution Buffer* (Figura 33);
 - Agitare brevemente, utilizzando un agitatore vibrante, il matraccio in modo che il campione di lievito si dissolva nella *Dilution Buffer*;
2. Munirsi di due provette, una micropipetta da 100 microlitri e una da 1000 microlitri, e di due micropuntali appropriati (uno per ogni micropipetta) (Figura 34).
 - Impostare la micropipetta da 100 microlitri a 50 microlitri e prelevare il campione di lievito diluito con la *Dilution Buffer* e inserirlo nella provetta;
 - Con la micropipetta da 1000 microlitri, impostata a 450 microlitri, e adeguato puntale prelevare la *Dilution Buffer* e inserirla nella provetta contenente i 50 microlitri di soluzione.
 - Utilizzare una nucleocassetta per prelevare il campione preparato (Figura 35) e inseriamo la nucleocassetta nel Nucleocounter; il coperchio viene chiuso per evitare che la luce esterna interferisca con l'analisi. La misura viene avviata, premendo il pulsante *Run*.
 - la misura ottenuta sarà relativa alla concentrazione di cellule morte in sospensione;

3. Prendere 50 microlitri del campione nella provetta:
 - Inserire nella seconda provetta, i 50 microlitri prelevati e 450 microlitri di *Lysis Buffer* per portare alla lisi cellulare di tutte le cellule presenti in sospensione;
 - agitare la provetta con l'agitatore magnetico per almeno 5 secondi, per portare alla lisi di eventuali particelle ancora intatte;
 - Prelevare il campione con una nuova nucleocassetta, e inserire nel Nucleocounter, il coperchio viene chiuso per evitare che la luce esterna interferisca con l'analisi. La misura viene avviata, premendo il pulsante *Run*.
 - La misura ottenuta sarà relativa alla concentrazione di cellule totali in sospensione.

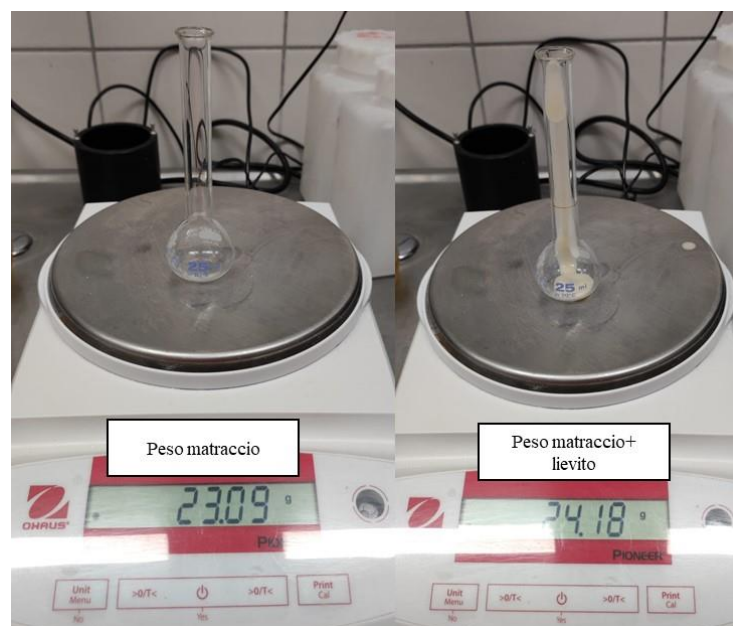


Figura 31-Doppia pesata



Figura 32-Matraccio da 25 ml contenente 1 grammo di campione di lievito



Figura 33-Matraccio da 25 ml contenete 1 grammo di campione di lievito e portato a volume

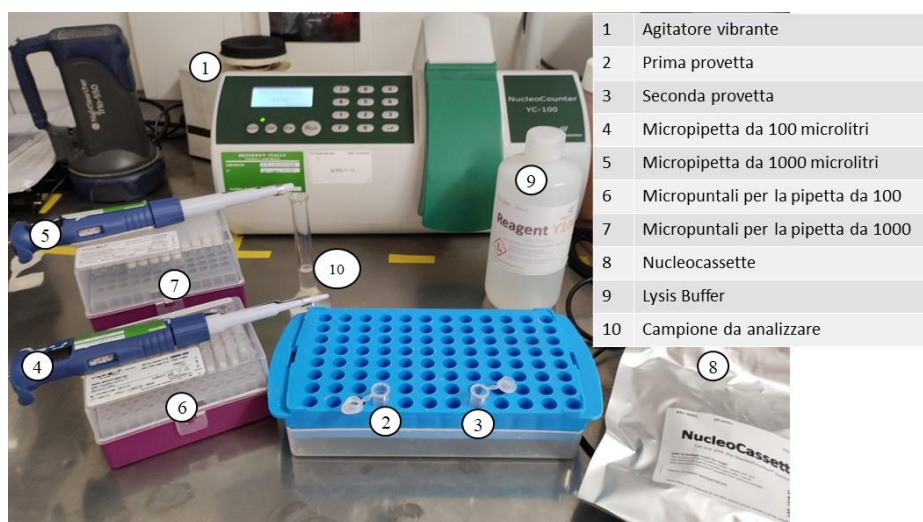


Figura 34-Strumenti necessari per la valutazione del campione nel NucleoCounter



Figura 35-Prelievo del campione con la Nucleocassetta

I valori numerici ottenuti dal Nucleocounter devono essere inseriti in una tabella Excel propria del Birrificio. In questa tabella Excel, Tabella 2, vengono utilizzate delle formule che considerano il fattore di diluizione del campione di lievito, la concentrazione dell'impasto di lievito utilizzato per quella data semina e il peso del campione di lievito inserito nel matraccio all'inizio della procedura di preparazione del campione. Tramite queste formule il valore ottenuto dalla misura effettuata nel Nucleocounter viene trasformato nel reale valore di cellule morte. Il numero di cellule vitali viene calcolato effettuando la sottrazione tra le cellule totali e le cellule morte.



Tabella 2-Calcolo cellule vive

CALCOLO CELLULE MORTE, TOTALI E VIVE

DATA	Tank	NUCLEOCO UNTER cellule MORTE/ml	NUCLEO COUNT R cellule TOT/ml	Volum e Flask	Peso lievit o	Fattore di Diluizio ne	Cellule Morte Effettive/ ml	Cellule Totali Effettive/ ml	% cellule morte	Cellule vive/ml
18/11/2021	31	1620000	658000	25	0,98	25	4,05E+07	1,645E+09	2,46%	1,6045E+09
23/11/2021	34	349000	486000	25	1,1	25	8,73E+07	1,215E+09	7,19%	1,1277E+09
23/11/2021	34	281000	442000	25	1,4	25	7,03E+07	1,105E+09	6,36%	1,0347E+09
30/11/2021	33	371000	495000	25	1,02	25	9,28E+07	1,238E+09	7,50%	1,1447E+09
30/11/2021	33	354000	446000	25	1,15	25	8,85E+07	1,115E+09	7,94%	1,0265E+09
01/12/2021	31	223000	504000	25	1	25	5,58E+07	1,260E+09	4,43%	1,2042E+09
01/12/2021	31	245000	511000	25	1	25	6,13E+07	1,278E+09	4,80%	1,2162E+09
01/12/2021	32	326000	678000	25	1,34	25	8,15E+07	1,695E+09	4,81%	1,6135E+09
01/12/2021	32	252000	446000	25	1,01	25	6,30E+07	1,115E+09	5,65%	1,0520E+09
02/12/2022	35	162000	415000	25	0,9	25	4,05E+07	1,038E+09	3,90%	9,9700E+08
02/12/2022	35	123000	289000	25	1,07	25	3,08E+07	7,225E+08	4,26%	6,9170E+08
20/12/2021	31	252000	345000	25	1,03	25	6,30E+07	8,850E+08	7,12%	8,2200E+08
20/12/2021	31	245000	386000	25	1,01	25	6,13E+07	9,650E+08	6,35%	9,0370E+08
20/12/2021	35	271000	501000	25	1,02	25	6,78E+07	1,255E+09	5,40%	1,1872E+09
20/12/2021	35	291000	382000	25	1,01	25	7,28E+07	9,550E+08	7,62%	8,8220E+08
25/01/2022	35	203000	275000	25	1,01	25	5,08E+07	6,875E+08	7,39%	6,3670E+08
27/01/2022	35	125000	170000	25	1,01	25	3,13E+07	4,250E+08	7,36%	3,9370E+08
01/02/2022	35	83000	96000	25	1,19	25	2,08E+07	2,400E+08	8,67%	2,1920E+08
09/02/2022	31	126000	116000	25	1	25	3,15E+07	2,900E+08	10,86%	2,5850E+08
09/02/2022	31	59000	47000	25	1,02	25	1,48E+07	1,180E+08	12,54%	1,0320E+08
09/02/2022	31	33000	28000	25	1,03	25	8,25E+06	7,000E+07	11,79%	6,1750E+07
10/02/2022	35	786000	1070000	25	1,14	25	8,25E+06	7,000E+07	11,79%	6,1750E+07
10/02/2022	35	517000	663000	25	1,08	25	1,29E+08	1,660E+09	7,77%	1,5310E+09
10/02/2022	35	361000	362000	25	1,04	25	9,03E+07	9,050E+08	9,98%	8,1470E+08
11/02/2022	35	262000	323000	25	1,03	25	6,550E+07	8,08E+08	8,11%	7,4250E+08
11/02/2022	35	277000	354000	25	0,99	25	6,930E+07	8,85E+08	7,83%	8,1570E+08
11/02/2022	35	249000	364000	25	0,99	25	6,230E+07	9,10E+08	6,85%	8,4770E+08
11/02/2022	31	534000	578000	25	1,16	25	1,340E+08	1,45E+09	9,24%	1,3160E+09
15/02/2022	34	364000	552000	25	1,08	25	9,100E+07	1,38E+09	6,59%	1,2890E+09
15/02/2022	34	375000	667000	25	1,02	25	9,380E+07	1,67E+09	5,62%	1,5762E+09
15/02/2022	34	391000	748000	25	1	25	9,780E+07	1,87E+09	5,23%	1,7722E+09
15/02/2022	34	350000	796000	25	1,13	25	8,750E+07	1,99E+09	4,40%	1,9025E+09
16/02/2022	35	399000	481000	25	1,08	25	9,98E+07	1,20E+09	8,30%	1,1028E+09
16/02/2022	35	452000	529000	25	1	25	1,13E+08	1,32E+09	8,54%	1,2095E+09
16/02/2022	35	295000	367000	25	1,01	25	7,38E+07	9,18E+08	8,04%	8,4375E+08
16/02/2022	35	282000	459000	25	1,01	25	7,05E+07	1,15E+09	6,14%	1,0770E+09
16/02/2022	35	395000	533000	25	1,02	25	9,88E+07	1,33E+09	7,41%	1,2338E+09
16/02/2022	35	507000	585000	25	1,01	25	1,27E+08	1,46E+09	8,67%	1,3358E+09

Un altro modo per calcolare la vitalità ("% di vitalità") delle cellule o la concentrazione di cellule vitali, quando si conoscono sia la concentrazione di cellule non vitali che la concentrazione totale di cellule, consiste nell'utilizzo di questa equazione:

$$\% \text{ viability} = \frac{C_t \cdot M_t - C_{nv} \cdot M_{nv}}{C_t \cdot M_t} \cdot 100$$

- C_t è la concentrazione totale di cellule nella Nucleocassette, ovvero il valore letto sul Nucleocounter durante il conteggio delle cellule totali;
- C_{nv} è la concentrazione totale di cellule non vitali nella Nucleocassette, ovvero il valore letto sul Nucleocounter durante il conteggio delle cellule morte;
- M_t è il fattore di moltiplicazione utilizzato per il conteggio totale delle cellule che considera la diluizione del campione con la *Dilution buffer* e *Lysis Buffer*;
- M_{nv} è il fattore di moltiplicazione utilizzato per il conteggio delle cellule morte che considera la diluizione del campione con la *Dilution buffer*

Una volta ottenuto il numero effettivo di cellule vitali, questo viene confrontato con il valore che era stato misurato dallo strumento in linea, e si decide come procedere. [43]

2.4.2.4 Preparazione del campione e Analisi per la determinazione della concentrazione di cellule vive in soluzione (%SS)

Questa procedura porterà all'ottenimento della concentrazione di lievito nel campione prelevato in linea. Questa misura viene effettuata utilizzando una centrifuga, ovvero apparecchiatura utilizzata per promuovere la separazione tra corpi aventi differente densità; questo viene fatto sfruttando l'accelerazione centrifuga.

Utilizzando questo strumento si ottiene la sedimentazione della parte solida, ad alta densità, presente in una soluzione, a bassa densità. In questo tipo di centrifughe da laboratorio viene posizionata una provetta nell'apposito contenitore e la frazione solida viene fatta sedimentare nella provetta stessa.

1. Prelevare dalla linea almeno quattro campioni;
2. Arrivati in laboratorio pesare tutti i campioni e fare in modo che abbiamo tutti circa lo stesso peso (± 2 grammi di differenza l'uno dall'altro). Questo perché se avessimo uno sbilanciamento all'interno dello strumento di misura si avrebbero delle vibrazioni durante il funzionamento che influiscono negativamente sul sistema di trasmissione,

causando danni allo strumento stesso, e un'influenza negativa sulla separazione stessa dovuta allo spostamento dei componenti già separati.

Quindi per avere una separazione accurata è necessario che i campioni all'interno dello strumento siano ben bilanciati.

3. Segnarsi il peso di ogni campione, composto da una soluzione di mosto e lievito (Figura 36);
4. Posizionare i campioni nella centrifuga, e tapparli (Figura 38);
5. Chiudere la centrifuga e impostare un numero di giri pari a 3500 rpm, un tempo di 15 minuti, e una temperatura di 3°C (Figura 37).
6. Aspettare che lo strumento finisca di effettuare la separazione, rimuovere i campioni dalla centrifuga (Figura 39).
7. Eliminare la parte liquida dal campione centrifugato, e pesare nuovamente la provetta. Otterremo la quantità effettiva di lievito che era presente in soluzione (Figura 40).

Utilizzando un file Excel contenente delle equazioni specifiche dello stabilimento viene ottenuta la concentrazione di lievito effettiva presente in soluzione (Figura 41).

A questo punto valutando anche la % di cellule morte presenti nel campione con il procedimento precedentemente descritto, utilizzando la misura ottenuta nel NucleoCounter, e le tabelle di conversione del birrificio, si è in grado di valutare la concentrazione di cellule vive in sospensione (Tabella 3); questa misura sarà poi confrontata con la %SS misurata dallo strumento in linea.



Figura 36-Peso campione di lievito prima della centrifugazione



Figura 37-Centrifuga



Figura 38-Campioni da Centrifugare



Figura 39-Soluzione di lievito dopo il processo centrifugazione



Figura 40-Peso del lievito

Calcolo lievito		
Lordo	95,63	96,55
Tara	64,58	65,35
% lievito	60,10536	60,38095



Figura 41-Calcolo concentrazione lievito per due campioni differenti (uno a destra e uno a sinistra) presi durante la stessa semina

Tabella 3-Calcolo concentrazione cellule vive

Data	Concentrazione (metodo centrifugo)	Cellule morte	Concentrazione cellule vive (lab) al netto
25 gennaio 2022	45,64%	7,38%	42,27%
27 gennaio 2022	29,90%	7,35%	27,70%
1 febbraio 2022	31,00%	8,65%	28,32%
9 febbraio 2022	38,87%	10,86%	34,65%
9 febbraio 2022	40,18%	12,55%	35,14%
9 febbraio 2022	40,75%	11,79%	35,95%
10 febbraio 2022	59,40%	7,35%	55,03%
10 febbraio 2022	59,11%	7,35%	54,77%
10 febbraio 2022	59,90%	7,80%	55,23%
10 febbraio 2022	59,11%	7,80%	54,50%
10 febbraio 2022	59,36%	9,97%	53,44%
10 febbraio 2022	59,21%	9,97%	53,31%
11 febbraio 2022	39,75%	8,11%	36,53%
11 febbraio 2022	38,98%	7,82%	35,93%
11 febbraio 2022	38,29%	6,84%	35,67%
11 febbraio 2022	59,35%	9,24%	53,87%
15 febbraio 2022	60,10%	6,59%	56,14%
15 febbraio 2022	60,38%	5,62%	56,99%
15 febbraio 2022	60,57%	5,23%	57,40%
15 febbraio 2022	60,56%	4,40%	57,90%
16 febbraio 2022	54,64%	8,30%	50,10%
16 febbraio 2022	55,13%	8,54%	50,42%
16 febbraio 2022	55,12%	8,04%	50,69%
16 febbraio 2022	55,17%	6,14%	51,78%
16 febbraio 2022	53,60%	7,41%	49,63%
16 febbraio 2022	53,70%	8,67%	49,04%



3 Risultati e Discussione

3.1 Procedura di Calibrazione dello strumento in linea secondo le linee guida del LSS

Per poter valutare quando intervenire nella calibrazione di uno strumento in linea viene utilizzata una carta di controllo, questa viene utilizzata per tracciare la differenza dei risultati tra lo strumento in linea e fuori linea (laboratorio).

Se l'analisi della carta di controllo indica che non sono necessarie correzioni o modifiche non verrà intrapresa alcuna azione. In caso contrario, deve essere prima confermato che la misurazione effettuata in laboratorio sia corretta e, successivamente, verranno messe in atto delle azioni correttive sullo strumento di misura in linea come per esempio la calibrazione o un *Adjustment*.

È utile introdurre alcune definizioni:

- **VERIFICA:** è l'attività manuale effettuata da un tecnico/analista Heineken, necessaria per verificare che la risposta della strumentazione in-line sia equivalente alla risposta fornita da uno strumento da banco.
- **ADJUSTMENT:** è l'attività manuale effettuata da un tecnico/analista Heineken, necessaria ad allineare le due risposte strumentali in conseguenza di una verifica non andata a buon fine, ovvero quando la differenza tra le due letture risulta maggiore di un valore prestabilito (trigger), oppure se si utilizzano le carte di controllo, quando la differenza tra le due letture è maggiore di 3 volte la deviazione standard dei dati raccolti
- **CALIBRAZIONE:** è l'attività manuale effettuata da un tecnico/analista Heineken o tecnico esterno, necessaria ad allineare la risposta strumentale dello strumento in linea rispetto uno standard esterno utilizzato come test.
- **CATENA DELLA VERIFICA:** è una regola generale da seguire prima di ogni attività di verifica dello strumento di misura in linea.
 1. Evitare testa e coda dei processi;
 2. Attendere la stabilizzazione dei parametri letti in linea;
 3. Analizzare sul posto se possibile o prelevare un campione per effettuare poi l'analisi in laboratorio;
 4. Registrare e confrontare i valori e la differenza (Delta) tra le letture. Il Delta verrà diagrammato per confrontarlo con il trigger o analizzato statisticamente creando una carta di controllo come descritto nel precedente capitolo;



5. Se il delta delle letture è conforme, non è necessaria alcuna azione e si deve solamente registrare il valore ottenuto in una tabella di raccolta dati;
6. Se il delta tra le letture non è conforme è necessario effettuare un Adjustment, e successivamente ripetere le misure per assicurarsi che lo strumento di misura funzioni correttamente.

La frequenza di verifica degli strumenti dipende da:

- volumi prodotti dal Sito (maggiori volumi- maggiori frequenze);
- stabilità del prodotto;
- complessità brand prodotti (radler, birre non filtrate).

e può essere determinata in funzione della stabilità riscontrata nella verifica dei singoli canali:

- allungare troppo i tempi determina il dover effettuare Adjustment con elevata frequenza, ma anche rischiare di produrre non rispettando la specifica;
- verificare molto di frequente potrebbe ridurre la numerosità degli Adjustment, e avere un prodotto che rispetta le specifiche tecniche.

3.2 Paar

Per ottenere i dati di interesse per gli strumenti di controllo Paar è stato necessario che la linea di produzione in cui era presente lo strumento fosse in funzione; questo ha portato ad avere un differente numero di dati per ogni Paar presente in azienda.

La disposizione dei vari strumenti di controllo è di seguito riportata in base a quelle che sono le macroaree dell'impianto di produzione:

Sala Cottura:

1. Caldaia cottura
2. Mosto freddo

Cantina:

3. Filtro Non Filtrata
4. Filtro Ichnusa
5. Cisterne

Confezionamento:

6. Linea OW1

3.2.1 Risultati ottenuti e Discussione

La procedura consigliata da Heineken prevede la creazione di carte di controllo, ovvero dei grafici costruiti sulla base della differenza tra il valore misurato in linea e quello misurato in laboratorio (Delta).

Queste carte di controllo dovrebbero essere costruite per ogni strumento di controllo e per ogni grandezza valutata da quello strumento di controllo. Nel caso sviluppato in questa Tesi, quindi, è necessario avere una carta di controllo per i Delta relativi a Grado Plato, Densità, Grado alcolico, Ossigeno e Anidride Carbonica.

Verranno riportate in questo lavoro solo le carte di controllo create per il Paar presente in confezionamento nella linea "OW1" in quanto è lo strumento per il quale si sono raccolti più dati e quindi si ottiene una carta di controllo è più accurata.

Dopo un'accurata analisi dei parametri misurati si è deciso con il Tecnologo del birrificio di basare l'intervento sullo strumento su un limite da lui imposto:

- Quando il delta del grado Plato tra la misura dello strumento e quella in laboratorio risulta essere maggiore di 0.05 e minore di -0.05 si interverrà sullo strumento per effettuare un Adjustment;
- Quando il delta del grado Plato tra la misura dello strumento e quella in laboratorio risulta essere maggiore di 0.1 e minore di -0.1 si bloccherà la produzione perché il prodotto potrebbe non rispecchiare i limiti tecnologici.
- Quando il delta della concentrazione di Ossigeno tra la misura dello strumento e quella in laboratorio risulta essere maggiore di 0.01 e minore di -0.01 si interverrà sullo strumento per effettuare un Adjustment.
- Quando il delta della concentrazione di anidride carbonica tra la misura dello strumento e quella in laboratorio risulta essere maggiore di 0.01 e minore di -0.01 si interverrà sullo strumento per effettuare un Adjustment.

I valori che si trovano in rosso nelle tabelle riportate di seguito corrispondono ai delta per cui si superano i limiti imposti dal tecnologo.

Per la valutazione di quando e come intervenire sullo strumento è stato creato un albero decisionale (Figura 42) e una Procedura Operativa Standard (Figura 43), SOP, che deve essere seguita dal tecnico di turno.

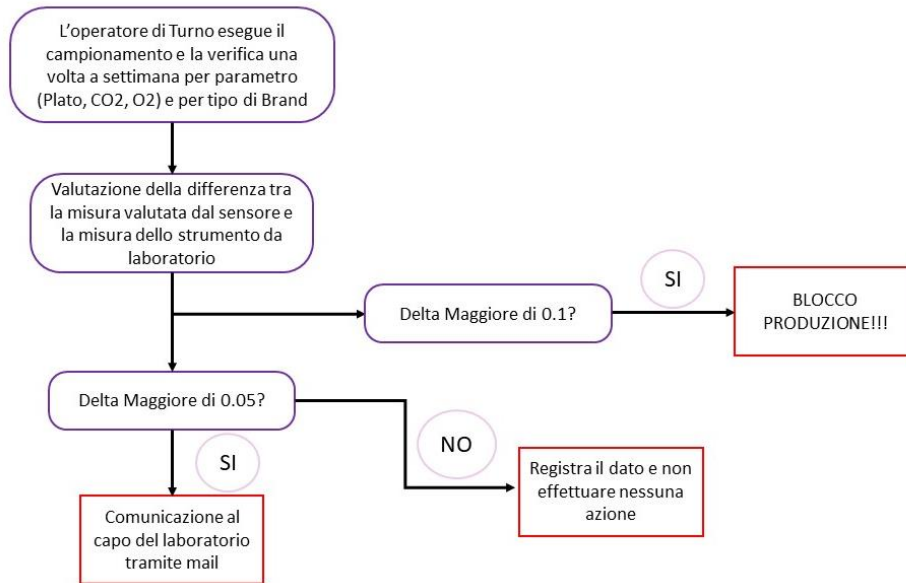


Figura 42-Albero decisionale intervento Paar

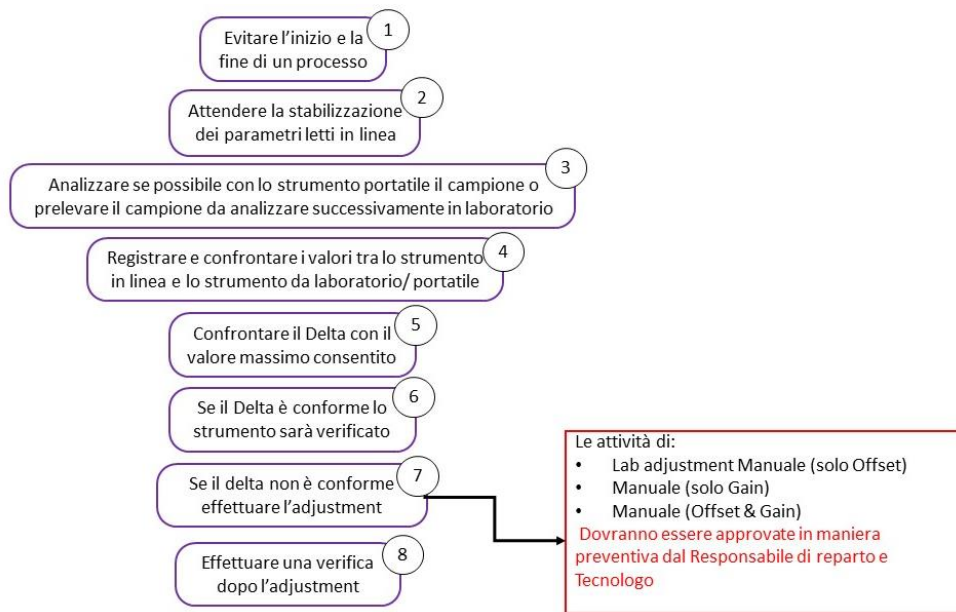


Figura 43-SOP Paar

3.2.1.1 Sala Cottura

In sala Cottura, valutando il mosto in ebollizione e il mosto freddo, si sono raccolti dati solo relativi al Grado Plato e alla densità, in quanto in questa fase non è ancora avvenuta la fermentazione, ciò implica non avere alcol in soluzione. Inoltre, non vengono valutati nemmeno ossigeno e anidride carbonica. Sono stati raccolti 8 dati per il Paar presente nella caldaia cottura e 5 dati per il Paar presente dopo il raffreddamento del mosto.

1. Dati raccolti per la verifica del Paar presente in caldaia cottura:

Tabella 4-Dati raccolti Paar Caldaia cottura per grado Plato

MISURA GRADO PLATO E DENSITÀ								
N° Misure	Data	Brand	Plato in-line	Plato PAAR Banco	Delta Plato	Densità in-line	Densità PAAR Banco	Delta Densità
1	26/11/2022	ICH	18,0700	17,7200	0,3500	1,02989	1,07108	-0,0412
2	02/12/2021	ICH	19,67	20,37	-0,70	1,03600	1,08236	-0,0464
3	21/12/2021	ICH	19,4700	20,1600	-0,6900	1,03509	1,08160	-0,0465
4	25/01/2022	NF	17,4000	17,4800	-0,0800	1,02638	1,06978	-0,0434
5	25/01/2022	NF	18,0400	18,1700	-0,1300	1,02915	1,07280	-0,0437
6	26/01/2022	NF	17,9900	17,8300	0,1600	1,02870	1,07139	-0,0427
7	27/01/2022	NF	18,2900	18,0800	0,2100	1,02999	1,07246	-0,0425
8	09/02/2022	NF	19,0000	19,7300	-0,7300	1,03291	1,07990	-0,0470

2. Dati raccolti per la verifica del Paar presente all'uscita del raffreddamento del mosto:

Tabella 5-Dati raccolti Paar mosto freddo per grado Plato

MISURA GRADO PLATO E DENSITÀ								
N° Misure	Data	Brand	Plato in-line	Plato PAAR Banco	Delta Plato	Densità in-line	Densità PAAR Banco	Delta Densità
1	25/01/2022	NF	18,2000	17,7900	0,4100	1,07538	1,07114	0,0042
2	27/01/2022	NF	18,5100	18,1100	0,4000	1,07808	1,07262	0,0055
3	28/01/2022	ICH	18,2000	18,0000	0,2000	1,07663	1,07217	0,0045
4	03/02/2022	NF	18,2300	18,0400	0,1900	1,07665	1,07230	0,0044
5	09/02/2022	NF	17,9500	17,8400	0,1100	1,07578	1,07180	0,0040

Come si può vedere dalle Tabella 4 e Tabella 5 si ha una variazione elevata tra la misura valutata dallo strumento in linea e quella valutata con il Paar da banco. Sarà quindi necessario intervenire con un Adjustment per riportare lo strumento di misura in linea ad un corretto funzionamento.

3.2.1.2 Cantina

In cantina viene valutata la birra filtrata, la birra non filtrata e la birra che viene inviata alle cisterne. In questa zona dell'impianto, avendo un prodotto fermentato, è necessario valutare Grado Plato, ossigeno e anidride carbonica; ed essendo il grado Plato influenzato da densità e grado alcolico è necessario valutare anche questi due parametri. È molto importante sottolineare che si interverrà sullo strumento soltanto quando si avrà una variazione tra la misura in linea e in laboratorio, relativa al grado Plato, maggiore di 0.05 o inferiore a 0.05.

Si può quindi dedurre che non si andranno a considerare le differenze tra le misure relative alla densità e al grado alcolico; rimane comunque molto importante raccogliere questi dati per avere uno storico e in quanto per effettuare un Adjustment sullo strumento si interverrà solo ed esclusivamente su questi due parametri, che avranno poi una conseguenza diretta sul grado Plato.

3. Dati raccolti per la verifica del Paar presente al filtro Non Filtrata:

Per il Paar presente sulla linea della birra brand Non Filtrata sono stati raccolti 10 dati, relativi al grado Plato (Tabella 6), e 6 dati relativi alla concentrazione di ossigeno e anidride carbonica (Tabella 7).

Tabella 6-Dati raccolti Paar Non Filtrata per grado Plato

MISURA GRADO PLATO, DENSITÀ E %V/V												
N° Misura	Data	Brand	Strumento	Plato in-line	Plato PAAR Banco	Delta Plato	Densità in-line	Densità PAAR Banco	Delta Densità	%v/v in-line	%v/v PAAR Banco	Delta %v/v
1	16/12/2021	NF	Main	11,31	11,46	0,15	1,00600	1,00547	0,0005	4,927	3,98	0,947
2	17/12/2021	NF	Main	11,45	11,51	0,06	1,00600	1,00558	0,0004	5,015	5,09	0,075
3	20/12/2021	NF	Main	11,20	11,08	0,12	1,00617	1,00530	0,0009	4,889	4,88	0,009
4	21/12/2021	NF	Main	11,50	11,35	0,15	1,00614	1,00520	0,0009	5,064	5,04	0,024
5	03/02/2022	NF	Main	11,18	11,12	0,06	1,00580	1,00510	0,0007	4,876	4,93	0,054
6	07/02/2022	NF	Main	11,27	11,23	0,04	1,00576	1,00500	0,0008	4,967	5,01	0,043
7	20/12/2021	NF	Check	11,33	11,08	0,25	1,00610	1,00530	0,0008	4,936	4,88	0,056
8	21/12/2021	NF	Check	11,56	11,35	0,21	1,00000	1,00520	0,0052	5,071	5,04	0,031
9	03/02/2022	NF	Check	10,93	11,12	0,19	1,05540	1,00510	0,0503	4,773	4,93	0,157
10	07/02/2022	NF	Check	11,14	11,23	0,09	1,00548	1,00500	0,0005	4,898	5,01	0,112

Tabella 7-Dati raccolti da Paar Non Filtrata per Ossigeno e Anidride Carbonica

MISURA OSSIGENO E ANIDRIDE CARBONICA							
N° Misure	Data	PAAR O2	Cbox O2	Delta	PAAR CO2	Cbox CO2	Delta
1	16/12/2021	0,0733	0,1270	-0,0537	0,5430	0,5269	0,0161
2	17/12/2021	0,0469	0,0680	-0,0211	0,5430	0,5160	0,0270
3	20/12/2021	0,1130	0,1100	0,0030	0,5650	0,5440	0,0210
4	21/12/2021	0,0520	0,0460	0,0060	0,5740	0,5650	0,0090
5	03/02/2022	0,0100	0,0200	-0,0100	0,4030	0,5330	-0,1300
6	07/02/2022	0,0200	0,0700	-0,0500	0,3910	0,5380	-0,1470

Come si evince dai dati raccolti in Tabella 6 **Errore. L'origine riferimento non è stata trovata.** sarebbe necessario effettuare un adjustment in quanto lo strumento di misura in linea rileva un valore del Grado Plato che differisce del ± 0.05 rispetto a quello calcolato in laboratorio. Per quanto riguarda invece i dati relativi alla concentrazione di ossigeno e di anidride carbonica riportati in Tabella 7, anche in questo caso sarebbe necessario effettuare un adjustment degli strumenti di misura in linea.

Ma considerando che è presente un twin Paar, e che quindi, il secondo Paar "Check" svolge un ruolo di controllo del primo Paar "Main" non si interverrà con l'adjustment come in tutti gli altri casi; bensì il sistema di controllo bloccherà la produzione se ci dovesse essere una differenza tra il Paar "Main" e il Paar "Check" di ± 0.05 .

Se ciò dovesse accadere sarebbe necessario prelevare un campione per valutare quale dei due Paar, tra Main e Check, necessità di un adjustment.

4. Dati raccolti per la verifica del Paar presente al filtro Ichnusa:

Per il Paar presente sulla linea della birra filtrata brand Ichnusa sono stati raccolti 8 dati relativi al grado Plato (Tabella 8), e non sono stati raccolti dati relativi alla concentrazione di ossigeno e anidride carbonica. In questa zona dell'impianto è molto complicato prelevare un campione rappresentativo, in quanto vi sono molte fluttuazioni della misura in linea.

Tabella 8-Dati raccolti Paar Filtro Ichnusa per grado Plato

MISURA GRADO PLATO, DENSITÀ E %V/V												
N° Misura	Data	Brand	Strumento	Plato in-line	Plato PAAR Banco	Delta PAA R	Densità in-line	Densità PAAR Banco	Delta Densità	%v/v in-line	%v/v PAAR Banco	Delta %v/v
1	02/12/2021	ICH	Main	10,66	10,54	0,12	1,00549	1,00543	0,0001	4,620	4,57	0,050
2	03/12/2021	ICH	Main	11,01	10,33	0,68	1,00578	1,00525	0,0005	4,782	4,48	0,302
3	21/12/2021	ICH	Main	10,62	10,51	0,11	1,00580	1,00566	0,0001	4,564	4,52	0,044
4	20/01/2022	ICH	Main	10,68	10,59	0,09	1,00570	1,00555	0,0002	4,610	4,57	0,040
5	26/01/2022	ICH	Main	10,63	10,60	0,03	1,00516	1,00524	0,0001	4,656	4,63	0,026
6	21/12/2021	ICH	Check	10,61	10,51	0,10	1,00579	1,00566	0,0001	4,555	4,52	0,035
7	20/01/2022	ICH	Check	10,64	10,59	0,05	1,00569	1,00555	0,0001	4,584	4,57	0,014
8	26/01/2022	ICH	Check	10,64	10,60	0,04	1,00514	1,00524	0,0001	4,657	4,60	0,057

In questa zona dell'impianto sarà difficile effettuare un adjustment perché è necessario avere la stabilità del valore di interesse. In ogni caso essendoci un twin Paar, come per la linea della Non Filtrata, si interverrà sullo strumento Main o Check, solo quando ci sarà uno scostamento tra le misure dei sensori collegati al *Paar Main* e le misure dei sensori ottenute dai *Paar Check* ± 0.05 .

5. Dati raccolti per la verifica del Paar presente nella linea di riempimento delle cisterne: Per il Paar presente sulla linea di carico delle cisterne sono stati raccolti 6 dati relativi al grado Plato (Tabella 9), e 6 dati relativi alla concentrazione di ossigeno e anidride carbonica (Tabella 10).

Questa linea dell'impianto non è spesso in funzione in quanto non sempre ci sono delle cisterne da caricare.

Tabella 9-Dati raccolti Paar Cisterne per grado Plato

MISURA GRADO PLATO, DENSITÀ E %V/V												
N° Misura	Data	Brand	Plato in-line	Plato PAAR Banco	Delta Plato	Densità in-line	Densità PAAR Banco	Delta Densità	%v/v in-line	%v/v PAAR Banco	Delta %v/v	
1	02/12/2021	ICH	11,64	11,67	-0,030	1,00810	1,00687	0,0012	4,841	5,01	-0,169	
2	03/12/2021	ICH	12,01	11,68	0,330	1,00798	1,00653	0,0015	5,066	5,06	0,006	
3	03/12/2021	ICH	11,97	11,73	0,240	1,00790	1,00659	0,0013	5,050	5,08	-0,030	
4	03/12/2021	ICH	11,99	11,72	0,270	1,00795	1,00666	0,0013	5,057	5,07	-0,013	
5	18/01/2022	ICH	11,69	11,70	-0,010	1,00757	1,06350	0,0559	4,963	5,09	-0,127	
6	19/01/2022	ICH	11,67	11,75	-0,080	1,00800	1,00699	0,0010	4,873	5,04	-0,167	

Tabella 10-Dati raccolti da Paar Cisterne per Ossigeno e Anidride Carbonica

MISURA OSSIGENO E ANIDRIDE CARBONICA								
N° Misure	Data	Brand	PAAR O2	Cbox O2	Delta	PAAR CO2	Cbox CO2	Delta
1	02/12/2021	ICH	0,0176	0,0250	-0,0074	3,2300	3,2600	-0,0300
2	03/12/2021	ICH	0,0187	0,0350	-0,0163	3,2600	3,2350	0,0250
3	03/12/2021	ICH	0,0170	0,0320	-0,0150	3,1300	3,1960	-0,0660
4	03/12/2021	ICH	0,0535	0,0250	0,0285	3,1600	3,1730	-0,0130
5	18/01/2022	ICH	Inattivo	0,1000	GUASTO	0,4020	0,4070	-0,0050
6	19/01/2022	ICH	0,0300	0,0600	-0,0300	0,3490	0,3540	-0,0050

Come si evince dai dati raccolti in Tabella 9 è necessario effettuare un adjustment in quanto lo strumento di misura in linea rileva un valore del Grado Plato che differisce del ± 0.05 rispetto a quello calcolato in laboratorio. Per quanto riguarda invece i dati relativi alla concentrazione di ossigeno e di anidride carbonica riportati in Tabella 10, anche in questo caso è necessario effettuare un adjustment degli strumenti di misura in linea.

3.2.1.3 Confezionamento

In confezionamento viene valutato il prodotto finito prima di essere imbottigliato; in questa zona dell'impianto si effettua l'ultimo controllo del prodotto prima di essere spedito al consumatore. Con questo controllo si assicura, quindi, che il prodotto abbia le specifiche che saranno poi riportate in etichetta e che rispetti tutte le caratteristiche organolettiche, fisiche e chimiche richieste dal consumatore.

Per questa linea dell'impianto si sono raccolte 15 misure relative al grado Plato (Tabella 11) e 15 misure relative alla concentrazione di ossigeno e anidride carbonica (Tabella 12). Inoltre, sono riportate le carte di controllo relative a grado Plato (Figura 44); concentrazione di ossigeno (Figura 45); concentrazione di anidride carbonica (Figura 46) che sono state create per valutare quando intervenire sullo strumento per riportarlo ad un funzionamento adeguato alle specifiche.

6. Dati raccolti per la verifica del Paar presente nella linea di confezionamento:

Tabella 11-Dati raccolti Paar Confezionamento per grado Plato

MISURA GRADO PLATO, DENSITÀ E %V/V											
N° Misure	Data	Brand	Plato in-line	Plato PAAR Banco	Delta Plato	Densità in-line	Densità PAAR Banco	Delta Densità	%v/v in-line	%v/v PAAR Banco	Delta %v/v
1	02/12/2021	NF	11,23	11,23	0,000	1,010	1,00716	0,0028	4,642	4,72	-0,078
2	03/12/2021	NF	11,07	11,11	-0,040	1,010	1,00485	0,0051	4,910	4,96	-0,050
3	03/12/2021	NF	11,12	11,15	-0,030	1,010	1,00490	0,0051	4,938	4,97	-0,032
4	03/12/2021	NF	11,11	11,10	0,010	1,010	1,00528	0,0047	3,760	4,90	-1,140
5	20/12/2021	NF	11,15	11,12	0,030	1,010	1,00529	0,0047	4,895	4,91	-0,015
6	22/12/2021	NF	11,09	11,03	0,060	1,010	1,00508	0,0049	4,895	4,89	0,005
7	25/01/2022	ICH	10,65	10,60	0,050	1,010	1,00575	0,0043	4,441	4,56	-0,119
8	28/01/2022	ICH	10,59	10,53	0,060	1,010	1,00520	0,0048	4,505	4,60	-0,095
9	30/01/2022	ICH	10,66	10,60	0,060	1,010	1,00530	0,0047	4,510	4,62	-0,110
10	30/01/2022	ICH	10,61	10,61	0,000	1,010	1,00530	0,0047	4,514	4,62	-0,106
11	04/02/2022	ICH	10,64	10,61	0,030	1,010	1,00540	0,0046	4,511	4,61	-0,099
12	07/02/2022	NF	11,12	11,15	-0,030	1,010	1,00490	0,0051	4,935	4,97	-0,035
13	08/02/2022	NF	11,18	11,25	-0,070	1,010	1,00490	0,0051	4,978	5,030	-0,052
14	08/02/2022	NF	11,18	11,27	-0,090	1,010	1,00490	0,0051	4,976	5,040	-0,064
15	09/02/2022	NF	11,03	11,08	-0,050	1,010	1,00500	0,0050	4,885	4,930	-0,045

Tabella 12-Dati raccolti da Paar Confezionamento per Ossigeno e Anidride Carbonica

Misura Ossigeno e Anidride Carbonica							
N° Misure	Data	PAAR O2	Cbox O2	Delta Ossigeno	PAAR CO2	Cbox CO2	Delta CO2
1	02/12/2021	0,0412	0,0100	0,0312	0,5400	0,5420	-0,0020
2	03/12/2021	0,1327	0,0040	0,1287	0,5200	0,5231	-0,0031
3	03/12/2021	0,1340	0,0090	0,1250	0,5100	0,5246	-0,0146
4	03/12/2021	0,1361	0,0180	0,1181	0,5150	0,5323	-0,0173
5	20/12/2021	0,1396	0,1086	0,0310	0,5306	0,5606	-0,0300
6	22/12/2021	0,1370	0,0010	0,1360	0,5300	0,5390	-0,0090
7	25/01/2022	0,0900	0,0500	0,0400	0,5250	0,5360	-0,0110
8	28/01/2022	0,0900	0,0100	0,0800	0,5210	0,5310	-0,0100
9	30/01/2022	0,1000	0,0300	0,0700	0,5370	0,5500	-0,0130
10	30/01/2022			0,0000			0,0000
11	04/02/2022	0,1000	0,0200	0,0800	0,5390	0,5490	-0,0100
12	07/02/2022	0,1200	0,0100	0,1100	0,5070	0,5250	-0,0180
13	08/02/2022	0,1200	0,0100	0,1100	0,5160	0,5350	-0,0190
14	08/02/2022	0,1100	0,0100	0,1000	0,5190	0,5390	-0,0200
15	09/02/2022	0,1300	0,0000	0,1300	0,5200	0,5400	-0,0200

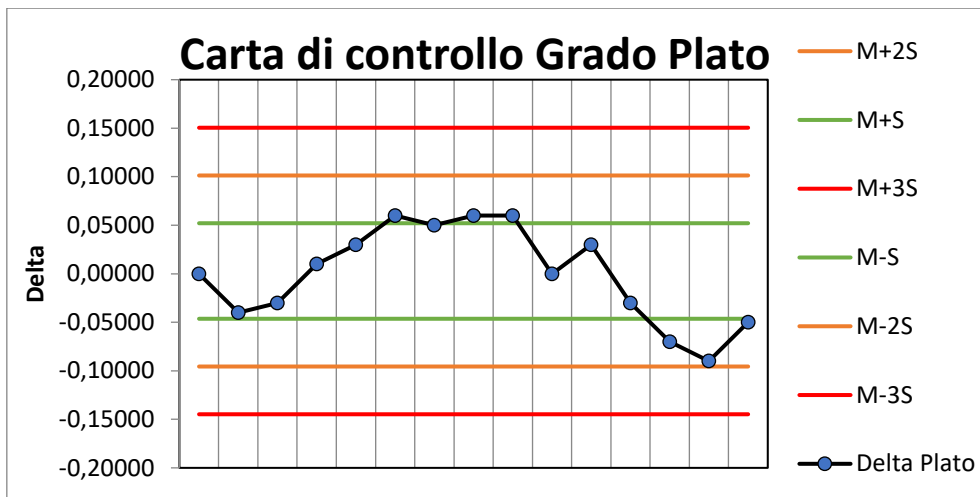


Figura 44-Carta di Controllo Grado Plato

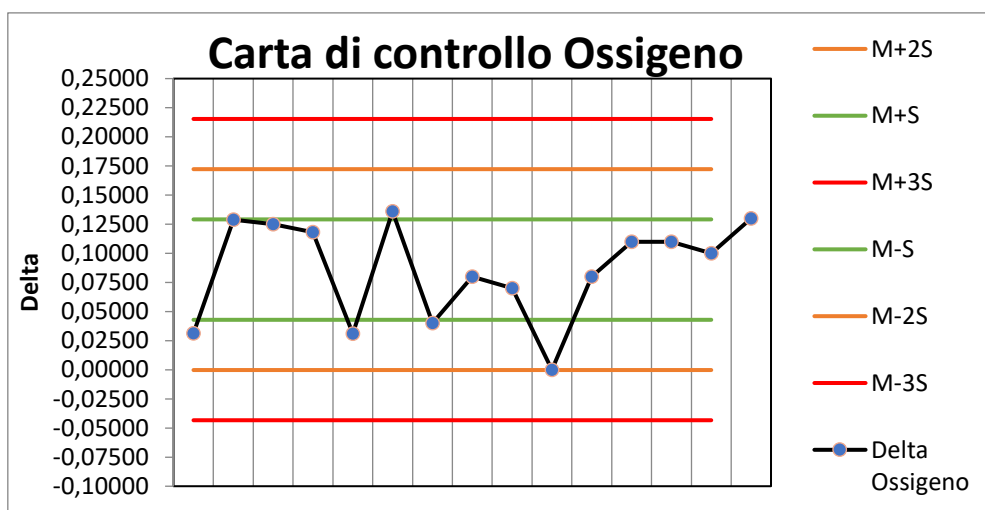


Figura 45-Carta di Controllo Ossigeno

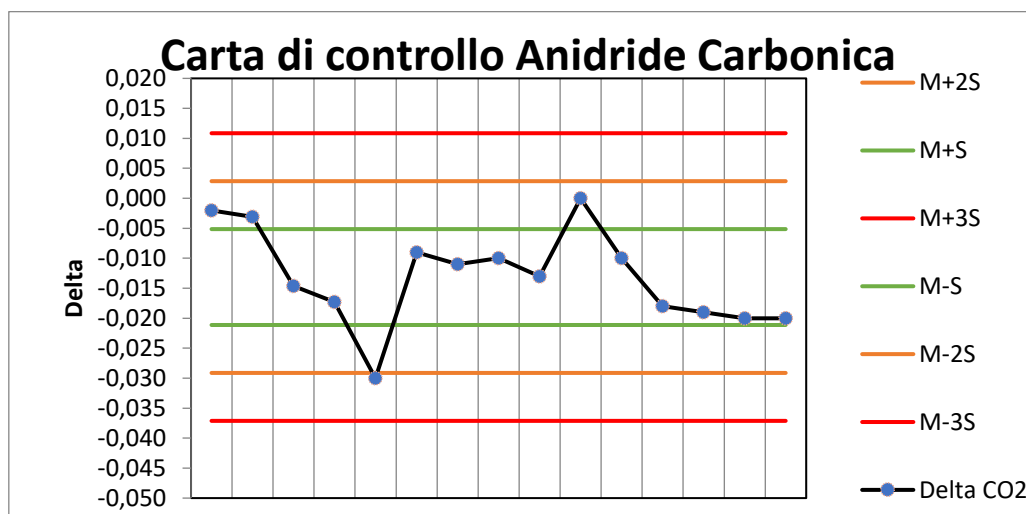


Figura 46-Carta di Controllo Anidride carbonica

Come si deduce dalle carte di controllo rappresentate in Figura 44, Figura 45 e Figura 46 non sarebbe mai necessario effettuare un adjustment per i delta rilevati dalle analisi; perché queste carte di controllo sono state costruite su quelli che sono i dati ottenuti da uno strumento sul quale non era ancora stata eseguita nessuna verifica, per cui nessun adjustment o calibrazione.

Come già detto in precedenza si è deciso, in accordo con il tecnologo del birrificio, di intervenire sullo strumento ogni qual volta si presenti una variazione tra la misura valutata in laboratorio e quella rilevata dallo strumento ± 0.05 per quanto concerne il grado Plato e ± 0.01 per quanto concerne concentrazione di ossigeno e anidride carbonica.

Si sono dunque costruiti dei grafici (Figura 47, Figura 48, Figura 49) che mostrano quando è necessario intervenire sullo strumento per effettuare un adjustment.

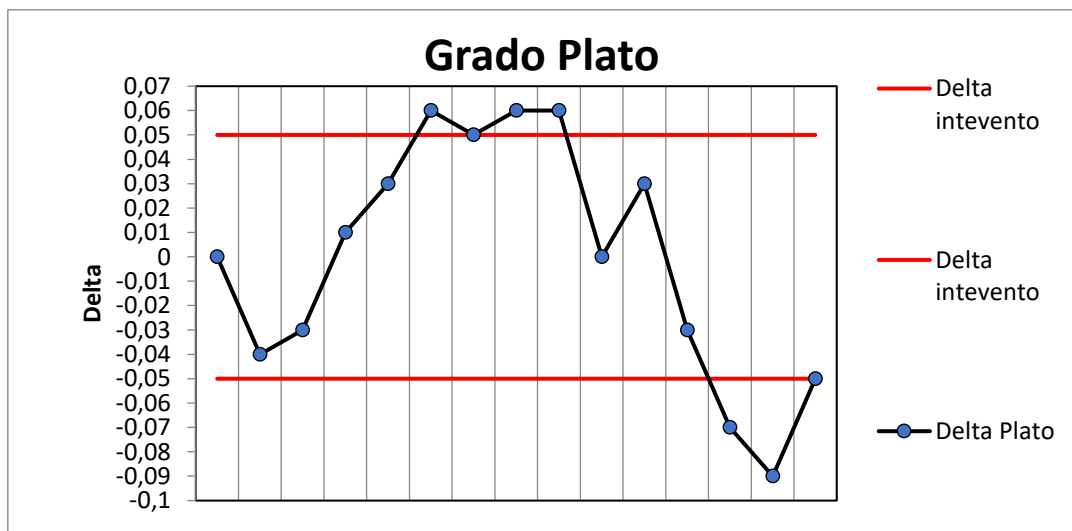


Figura 47-Andamento Delta Plato e limiti stabiliti

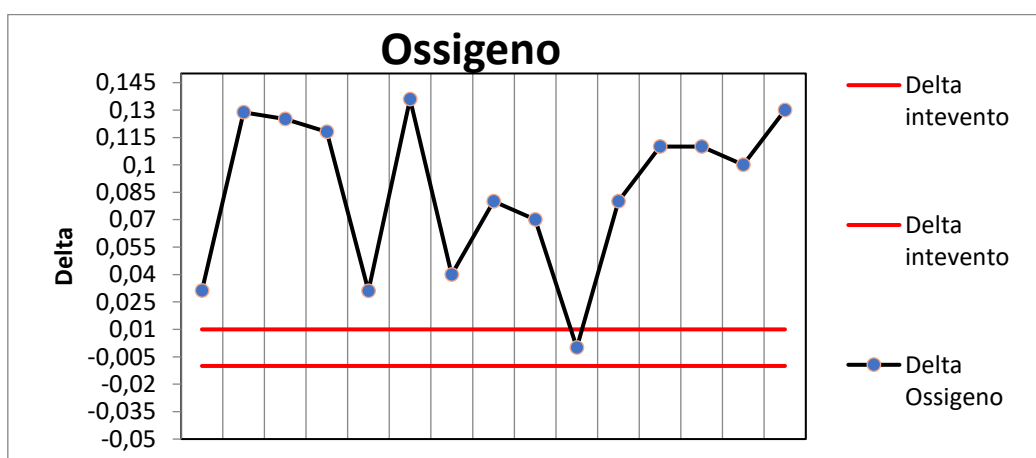


Figura 48-Andamento Delta Ossigeno e limiti stabiliti

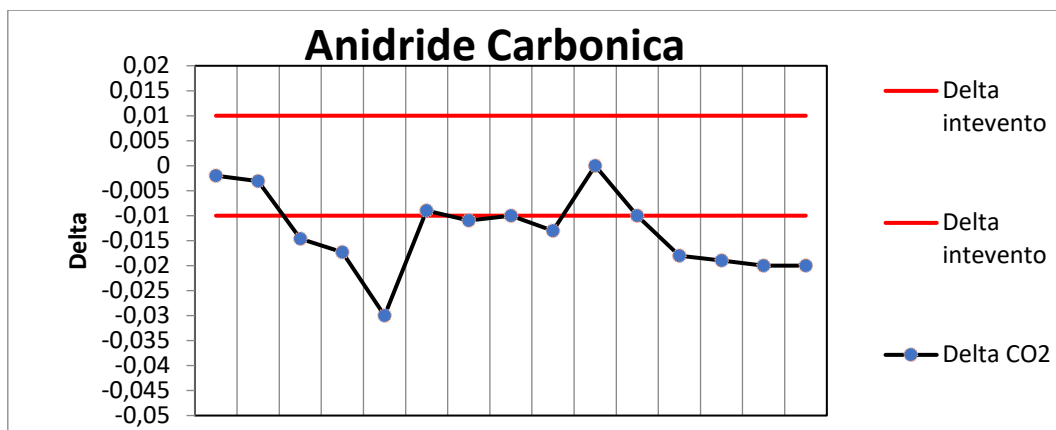


Figura 49-Andamento Delta anidride carbonica e limiti stabiliti

Come si evince dalle Figura 47, che rappresenta il grafico costruito partendo dai dati presenti in Tabella 11, è necessario un adjustment. In questo strumento di misura al momento non è possibile effettuare adjustment adeguati, ovvero agire su densità e grado alcolico, in quanto c'è un problema legato alla visualizzazione della misura di densità sul mPDS5. Per questo motivo durante la fermata dell'impianto per manutenzione prevista l'ultima settimana di febbraio, verrà sistemato questo problema legato alla densità dal tecnico specializzato, che successivamente effettuerà una calibrazione dello strumento stesso.

Come si evince dalla Figura 47, Figura 48 e Figura 49, ottenute dalla Tabella 12, anche in questo caso è necessario intervenire sugli strumenti di misura effettuando degli adjustment.

3.2.2 Intervento sullo strumento

Come anticipato, dopo aver effettuato la verifica mediante confronto tra valore letto dallo strumento in linea e valore ottenuto dalla misura con lo strumento di laboratorio, se necessario si deve intervenire sullo strumento di misura per effettuare un adjustment in modo da avere uno strumento di misura in linea che funziona correttamente.

3.2.2.1 Grado Plato

Per effettuare l'adjustment del grado Plato, è necessario agire sui parametri densità e grado alcolico. Una volta valutata la necessità di intervento sullo strumento, è necessario andare sul campo e aspettare lo stabilizzarsi della lettura delle misure. A questo punto dal mPDS5 partendo dalla schermata "Home" si va alla voce "laboratory adjustment" e si salva il dato che legge in quel momento lo strumento, ovvero si blocca quel valore in modo che

poi possa essere confrontato con quello ottenuto in laboratorio. Subito dopo si prende il campione dalla linea per poter poi analizzarlo in laboratorio. Con questa modalità di adjustment, dal mPDS5 in linea, è sufficiente inserire il valore ottenuto in laboratorio nell'apposito spazio chiamato "Reference" a fianco al valore letto dallo strumento in linea nel momento in cui era stato prelevato il campione "Current Value" come si può vedere in Figura 50.

Si inserisce quindi il valore della densità e del grado alcolico misurati in laboratorio, e lo strumento di misura in automatico effettua una correzione sulla lettura del sensore in linea calcolando un nuovo *Gain*, ovvero il rapporto tra la misura ottenuta in laboratorio e quella letta nello strumento di misura.

Questo tipo di regolazione (Figura 51, dove la retta arancione rappresenta la situazione prima dell'adjustment, e la retta verde la situazione dopo l'adjustment) corregge il valore misurato in percentuale, ovvero il valore di misurazione viene moltiplicato per il fattore *Gain*: $Valore\ misurato \cdot Gain = valore\ aggiustato$

Successivamente si preleva un altro campione da analizzare in laboratorio da confrontare con lo strumento in linea, per assicurarsi che l'adjustment sia andato a buon fine.

Do the adjustment in the following order.
 1.) Save measurement values and take the sample.
 2.) Enter reference values.
 3.) Finish adjustment

Quantity name	Unit	Current Value	Reference	Offset	Gain
Alcohol 20 °C	% v/v	4.038		0.000	1.03036
Original Extract	°Plato	9.25		0.00	1.00133
Real Extract	°Plato	3.02		0.00	1.01279
Density 20 °C	kg/m ³	1004.01		0.00	0.99931

Home Back Save values Finish adjustment

Figura 50-Laboratory Adjustment

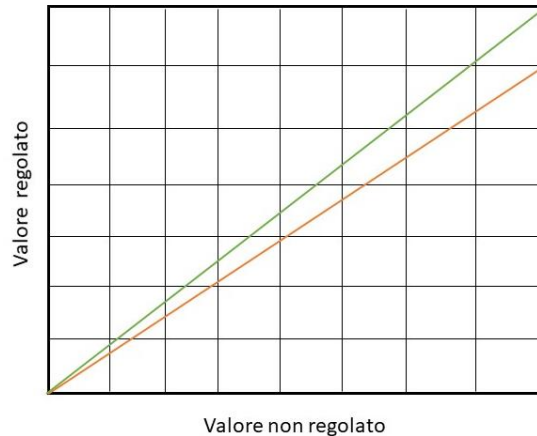


Figura 51-Gain Adjustment

3.2.2.2 Ossigeno

Per effettuare l'adjustment dell'ossigeno, è necessario effettuare non il *laboratory adjustment*, ma il *manual adjustment*.

Una volta valutata la necessità di intervento sullo strumento, è necessario calcolare la differenza tra il valore ottenuto in laboratorio e quello misurato dallo strumento, questo valore rappresenterà il nuovo *offset* dello strumento.

Il risultato di questa procedura può essere visto in Figura 52, dove la retta arancione rappresenta la situazione prima dell'adjustment, e la retta verde la situazione dopo l'adjustment. La regolazione dell'offset serve a modificare il valore di processo di un valore costante, ovvero aggiunge un valore positivo o negativo costante al valore misurato: $Valore\ misurato + offset = valore\ aggiustato$.

Successivamente si preleva un altro campione da analizzare in laboratorio da confrontare con lo strumento in linea, per assicurarsi che l'adjustment sia andato a buon fine.

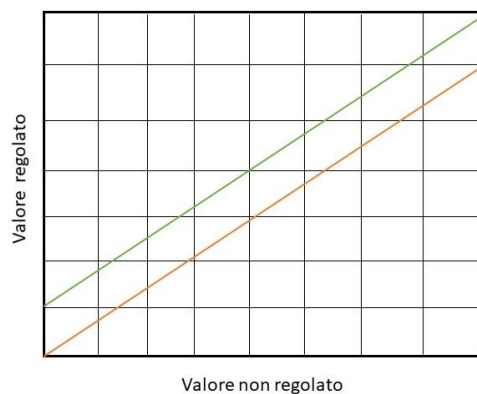


Figura 52-Offset adjustment

3.2.2.3 Anidride carbonica

Il procedimento per effettuare l'adjustment sulla concentrazione di anidride carbonica è identico a quello descritto per il grado Plato ma in questo caso il parametro sul quale si agisce è l'anidride carbonica.

3.3 Aber

L'obiettivo di questo strumento di misura in linea è quello del dosaggio automatico del lievito per avere una buona fermentazione. Nelle linee guida del birrificio viene definito il numero di cellule vive per millilitro di mosto necessarie a raggiungere il grado di fermentazione desiderato.

Quello che andrà a fare lo strumento, è una valutazione istantanea delle cellule vitali presenti nella camera di misura durante la semina e sarà in grado di dosare il numero di cellule impostate sullo strumento di controllo.

Questo permetterà di ottenere sempre una fermentazione ottimale; infatti, ad oggi, il calcolo del quantitativo di lievito necessario alla fermentazione si basa su quella che è la concentrazione di lievito nel tank dove si trova, e su un numero di cellule morte non del tutto rappresentativo: la concentrazione di lievito non è infatti costante in tutto il *tank* e durante il dosaggio, a causa delle pressioni raggiunte e dalle elevate velocità di flusso del lievito nelle tubazioni, la percentuale di cellule morte aumenta, e di conseguenza diminuisce il numero di cellule vive sul quale si era basato il dosaggio.

Questo strumento di misura è stato validato a seguito di varie misure e di alcune modifiche sui fattori di correzioni descritti nel precedente capitolo.

3.3.1 Risultati ottenuti e Discussione

Quando si è montato lo strumento di misura in linea è stata effettuata una correzione del *SS Factor*, portandolo da 1 a 0.97, mentre non si è impostato il *CPM Factor* di primo tentativo che sarebbe dovuto essere funzione del numero di cellule vive misurate in laboratorio e del %SS valutato dallo strumento di misura in linea.

Inoltre, essendo interessati, per il dosaggio, al numero di cellule vive presenti in soluzione non si sono raccolti i dati relativi alla concentrazione di cellule vive di lievito (valore confrontabile con la %SS).

Come si può vedere in Tabella 13 da Novembre sino a Dicembre si sono raccolti e confrontati solo i dati relativi al numero di cellule vive. Non avendo però inserito nello strumento di misura un corretto valore del *CPM Factor*, l'errore relativo tra ciò che

misurava lo strumento e ciò che veniva misurato in laboratorio, era molto elevato con una media del 110%.

A seguito dell'analisi di questi risultati era quindi impossibile poter mettere in funzione questo strumento.

Tabella 13-Dati raccolti Aber vs Nucleocounter all'inizio della validazione

DATA	Tank	MISURE LABORATORIO NUCLEOCOUNTER		ABER		ERRORE RELATIVO MISURE tra Nucleocounter e Aber
		Cellule vive	% cellule morte	Cellule vive	%SS	Errore cellule vive
18/11/2021	31	1,6045E+09	2,46%	2,40E+09	non segnato	49,58%
23/11/2021	34	1,1277E+09	7,19%	2,01E+09	non segnato	78,24%
23/11/2021	34	1,0347E+09	6,36%	2,38E+09	39,92	130,02%
30/11/2021	33	1,1447E+09	7,50%	1,85E+09	37,02	61,61%
30/11/2021	33	1,0265E+09	7,94%	1,85E+09	37,02	80,22%
01/12/2021	31	1,2042E+09	4,43%	2,34E+09	47,05	94,32%
01/12/2021	31	1,2162E+09	4,80%	2,35E+09	47,09	93,22%
01/12/2021	32	1,6135E+09	4,81%	2,35E+09	47,09	45,65%
01/12/2021	32	1,0520E+09	5,65%	2,10E+09	42,07	99,62%
02/12/2022	35	9,9700E+08	3,90%	2,17E+09	43,26	117,65%
02/12/2022	35	6,9170E+08	4,26%	2,15E+09	43,05	210,83%
20/12/2021	31	8,2200E+08	7,12%	2,27E+09	47,28	176,16%
20/12/2021	31	9,0370E+08	6,35%	2,36E+09	47,28	161,15%
20/12/2021	35	1,1872E+09	5,40%	2,45E+09	50,85	106,37%
20/12/2021	35	8,8220E+08	7,62%	2,45E+09	50,85	177,71%

A gennaio si è iniziato a valutare anche l'errore relativo tra la misura della concentrazione di cellule vive e la %SS misurata dall'Aber; questo perché essendo gli errori relativi del numero di cellule vive troppo elevati si è valutata l'ipotesi di impostare un dosaggio basato sulla concentrazione di cellule vive, e quindi sulla %SS.

Per calcolare la concentrazione di cellule vive presente nell'impasto di lievito, viene calcolata la concentrazione totale di lievito del campione come descritto nel paragrafo 2.4.2.4 e si tiene conto della percentuale di cellule morte valutata come descritto nel paragrafo 2.4.2.3.

Tabella 14-Dati Aber e valutazione errori relativi sino al 10 Febbraio

Data	Ora prelievo	Brand	MISURE LABORATORIO		MISURE ABER		ERRORE RELATIVO	
			Concentrazione cellule vive	Cell/ml vive	%SS	CPM (Cell/ml)	valori CPM	valori % SS
25 gennaio 2022	15:00	NF	42,27%	6,37,E+08	43,03%	2,32,E+09	264,4%	1,79%
27 gennaio 2022	11:00	NF	27,70%	3,94,E+08	19,25%	9,66,E+08	145,4%	30,51%
1 febbraio 2022	12:30	NF	28,32%	2,19,E+08	26,65%	9,66,E+08	340,6%	5,89%
9 febbraio 2022	14:00	ICH	34,65%	2,58,E+08	31,54%	1,62,E+09	527,9%	8,97%
9 febbraio 2022	14:00	ICH	35,14%	1,02,E+08	32,76%	1,63,E+09	1498,0%	6,77%
9 febbraio 2022	14:00	ICH	35,95%	6,17,E+07	33,10%	1,64,E+07	73,4%	7,92%
10 febbraio 2022	09:30	ICH	55,03%	2,48,E+09	54,36%	2,72,E+09	9,7%	1,22%
10 febbraio 2022	09:30	ICH	54,77%	2,48,E+09	54,18%	2,71,E+09	9,3%	1,07%
10 febbraio 2022	09:30	ICH	55,23%	1,53,E+09	54,24%	2,71,E+09	77,1%	1,79%
10 febbraio 2022	09:30	ICH	54,50%	1,53,E+09	54,27%	2,72,E+09	77,8%	0,42%
10 febbraio 2022	09:30	ICH	53,44%	8,15,E+09	54,33%	2,72,E+09	66,6%	1,66%
10 febbraio 2022	09:30	ICH	53,31%	8,15,E+09	54,29%	2,72,E+09	66,6%	1,84%

Come si evince dalla Tabella 14 gli errori relativi sulla valutazione della concentrazione di cellule vive, ovvero il confronto tra la misura ottenuta in laboratorio e la %SS, risultava accettabile in quanto si sono ottenuti errori relativi minori del 10%. Al contrario gli errori relativi sulla valutazione del numero di cellule vitali calcolate in laboratorio e quelle valutate dall'Aber (CPM) risultavano essere ancora molto elevati.

Per questa motivazione si è deciso di modificare il *CPM Factor* considerando un errore relativo del 100%. Il *CPM Factor* impostato sullo strumento di misura era $5 \cdot 10^7$ si è quindi calcolato il nuovo valore con le formule riportate nel paragrafo 2.4.1 e si è quindi inserito il nuovo CPM Factor pari a $2,5 \cdot 10^7$ nello strumento di misura.

Con questa variazione si sono ottenuti i risultati mostrati in Tabella 15.

Come si può osservare si è passati da un errore medio del 110% ad un errore medio del 11%. Per ottenere un risultato più preciso si è deciso di variare nuovamente il *CPM Factor* utilizzando le formule appropriate si è ottenuto $2,05 \cdot 10^7$ e lo si è inserito nello strumento di misura.

Tabella 15-Dati Aber e valutazione errori relativi sino al 15 Febbraio

Data	Ora prelievo	Brand mosto	MISURE LABORATORIO		MISURE ABER		ERRORE RELATIVO	
			Concentrazione (lab) al netto	Cell/ml vive laboratorio	Concentrazione Aber istantanea	CPM (Cell/ml Aber)	Delta valori CPM	Delta valori % SS (Aber - lab)
11 febbraio 2022	12:02	ICH	36,53%	7,42,E+08	29,65%	7,49,E+08	0,9%	18,83%
11 febbraio 2022	12:02	ICH	35,93%	8,16,E+08	29,77%	7,51,E+08	7,9%	17,15%
11 febbraio 2022	12:02	ICH	35,67%	8,48,E+08	29,45%	7,58,E+08	10,6%	17,44%
11 febbraio 2022	12:02	ICH	53,87%	1,31,E+09	51,09%	1,26,E+09	3,9%	5,15%
15 febbraio 2022	12:00	ICH	56,14%	1,29,E+09	55,79%	1,40,E+09	8,6%	0,62%
15 febbraio 2022	12:00	ICH	56,99%	1,57,E+09	55,88%	1,40,E+09	11,0%	1,94%
15 febbraio 2022	12:00	ICH	57,40%	1,77,E+09	56,00%	1,40,E+09	21,0%	2,44%
15 febbraio 2022	12:00	ICH	57,90%	1,90,E+09	56,09%	1,40,E+09	26,4%	3,12%

L'Aber potrà quindi essere messo in funzione a Marzo: verrà inoltre effettuato un controllo settimanale per il primo periodo di funzionamento per valutare che lo strumento di misura stia misurando correttamente il numero di cellule vive.



4 Conclusioni

In questo lavoro di Tesi è stato analizzato il controllo di processo e la sua importanza in un'azienda alimentare; in particolare è stato evidenziato quanto sia fondamentale il corretto funzionamento dei sensori di misura in linea per avere un corretto controllo dei parametri operativi durante il processo di produzione. Per avere la sicurezza del corretto funzionamento degli strumenti di misura in linea è necessario definire un piano di verifica di questi ultimi e definire le modalità di intervento sullo strumento di misura se necessario.

Sono stati studiati principalmente 4 parametri operativi fondamentali nel processo di produzione della birra: Grado Plato, Concentrazione di ossigeno, concentrazione di anidride carbonica e numero di cellule vive; per ogni parametro sono stati valutati gli errori tra la misura rilevata dallo strumento di misura in linea e lo strumento da laboratorio (precedentemente calibrato e verificato); si sono valutati i dati raccolti e si è deciso come e quando intervenire su ogni strumento di controllo studiato presente nel birrificio Heineken di Assemini.

Quasi tutti gli strumenti di misura Paar necessitano di un adjustment: non si è intervenuti in quanto a Febbraio c'è stato il fermo dell'impianto per la calibrazione e revisione di tutti gli strumenti di misura in linea.

Per quanto riguarda, invece, l'Aber questo entrerà in funzione alla ripresa della produzione a Marzo in quanto i risultati ottenuti sono nel range accettabili dal birrificio.





5 Bibliografia

- [1] [Online]. Available: https://it.wikipedia.org/wiki/Birra_Ichnusa. [Consultato il giorno 4 Febbraio 2022].
- [2] [Online]. Available: <https://cagliari.italiani.it/il-birrificio-ichnusa-storia-della-birra-piu-amata-dai-sardi/>. [Consultato il giorno 3 Febbraio 2022].
- [3] [Online]. Available: <https://www.birraichnusa.it/>. [Consultato il giorno 3 Febbraio 2022].
- [4] [Online]. Available: http://www.onabitalia.it/public/news/314_1_Tecnologia_Zeppa.pdf. [Consultato il giorno 25 Gennaio 2022].
- [5] [Online]. Available: https://www.carboplantsrl.it/impianti-filtrazione-acqua/?gclid=CjwKCAiAp8iMBhAqEiwAJb94zyGMZFymSSDbQXpRarrCi2GMuVq2jWs_1PO2FPam8eleMsl4vagf_RoCLFYQAvD_BwE. [Consultato il giorno 18 Gennaio 2022].
- [6] [Online]. Available: <https://birracarru.it/acqua-per-birra-i-parametri-da-analizzare/>. [Consultato il giorno 22 Gennaio 2022].
- [7] [Online]. Available: https://wp-it.wikideck.com/Humulus_lupulus. [Consultato il giorno 15 Febbraio 2022].
- [8] A. B. D. E. D.-G. C. L. Remedios Castro, «Influence of different fermentation conditions on the analytical and sensory properties of craft beers: Hopping, fermentation temperature and yeast strain,» *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 106, 2022.
- [9] P. C. A. L. C. C.F.De Schepper, «Starch hydrolysis during mashing: A study of the activity and thermal inactivation kinetics of barley malt α -amylase and β -amylase,» *Carbohydrate Polymers*, vol. 255, 2021.
- [10] [Online]. Available: http://www.onabitalia.it/public/news/314_1_Tecnologia_Zeppa.pdf. [Consultato il giorno 5 Febbraio 2022].
- [11] [Online]. Available: <https://beerandbrewing.com/dictionary/7dDxmmoC7W/>. [Consultato il giorno 30 Gennaio 2022].
- [12] K. V. Somwang Lekjing, «Quality changes of HomChaiya rice beer during storage at two alternative temperatures,» *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2022.
- [13] [Online]. Available: <https://www.ilbirraiomatto.it/la-maturazione-della-birra/>. [Consultato il giorno 7 Febbraio 2022].
- [14] J. Y. ZhengLiu, «Proactive product quality control: An integrated product and process control approach to MIMO systems,» *Chemical Engineering Journal*, 2009.
- [15] [Online]. Available: https://www.treccani.it/export/sites/default/Portale/sito/altre_aree/Tecnologia_e_Sienze

- _applicare/enciclopedia/italiano_vol_5/389_412__x6_5_Controllo_x_ita.pdf. [Consultato il giorno 7 Gennaio 2022].
- [16] [Online]. Available: <http://www.cmservizi.it/monitoraggio/>. [Consultato il giorno 23 Gennaio 2022].
- [17] [Online]. Available: <https://spiegato.com/cose-il-controllo-di-processo>. [Consultato il giorno 27 Gennaio 2022].
- [18] H. I. Spa, «Laboratory Star System,» 2020.
- [19] [Online]. Available: https://it.wikipedia.org/wiki/Gradi_Plato. [Consultato il giorno 7 Febbraio 2022].
- [20] Heineken, «Yeast Growth and influences on extract losses,» 2008.
- [21] P. K. A. B. J. V. Jan Šavel1*, «Interpolation formulas for Balling's alcohol factors,» 2020.
- [22] H. N. a. K. Laurents, «Balling's Formula, when used at Faxe Brewery,» *Scandinavian Brewers' review*, vol. 61, n. 6, 2004.
- [23] J. G. S. E. P. R. John Entwisle, «Investigations into the effect of selected storage conditions on the alcohol content and original gravity of beers samples,» *Food Control*, vol. 19, n. 5, pp. 461-464, 2008.
- [24] [Online]. Available: <https://www.hyperboreabrewing.com/lossigeno-nella-birra-parte-prim/>. [Consultato il giorno 24 Gennaio 2022].
- [25] P. Muredzi, «A Comparative Analysis of Different Pitching Rates on Castle Lager Beer Flavour Stability: A Case Study of Delta Lagers Manufacturing Company Harare, Zimbabwe,» *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 2014.
- [26] [Online]. Available: <https://www.giornaledellabirra.it/produzione/le-bollicine-della-birra-cosa-sono-da-dove-vengono-e-dove-vanno/#:~:text=La%20birra%20%C3%A8%20una%20bevanda,ossigeno%20ed%20uno%20di%20carbonio>. [Consultato il giorno 27 Gennaio 2022].
- [27] [Online]. Available: <https://www.bavsrl.it/neipa-birre-torbide-o-juicy/#:~:text=La%20torbidit%C3%A0%20dipende%20da%20diversi,pensare%20a%20blanche%20e%20weizen>. [Consultato il giorno 28 Gennaio 2022].
- [28] [Online]. Available: <https://www.fermentobirra.com/cosa-rende-birra-torbida/>. [Consultato il giorno 22 Gennaio 2022].
- [29] [Online]. Available: <http://www.trenovehb.it/?p=521#:~:text=Il%20pH%20e%20la%20bollitura&text=Avere%20sotto%20controllo%20l'acidit%C3%A0,%2C2%20a%205%2C5>. [Consultato il giorno 26 Gennaio 2022].
- [30] [Online]. Available: <https://www.fermentobirra.com/homebrewing/la-birra-con-metodo-all-grain-il-ruolo-del-ph/>. [Consultato il giorno 25 Gennaio 2022].

- [31] [Online]. Available: <https://www.anton-paar.com/it-it/servizio-e-supporto/documenti/unita-valutazione-con-display-grafico-a-colori-e-touchscreen-mpds-5/>. [Consultato il giorno 12 Febbraio 2022].
- [32] Anton Paar, «Instruction Manual and Safety Information mPDS 5,» 2019.
- [33] Anton Paar, «Instruction Manual and Safety Information Carbo 5100/6100,» 2019.
- [34] [Online]. Available: <https://wiki.anton-paar.com/it-it/metodo-dellespansione-multipla-di-volume/>. [Consultato il giorno 8 Febbraio 2022].
- [35] [Online]. Available: https://it.wikipedia.org/wiki/Legge_di_van_der_Waals#:~:text=La%20legge%20di%20van%20Oder,prossimit%C3%A0%20del%20punto%20di%20liquefazione.. [Consultato il giorno 6 Febbraio 2022].
- [36] Anton Paar, «Instruction Manual and Safety Information Oxy 510,» 2019.
- [37] [Online]. Available: <https://wiki.anton-paar.com/it-it/sensore-optochimico-dellossigeno/>. [Consultato il giorno 6 Febbraio 2022].
- [38] Anton Paar, «Instruction Manual and Safety Information L-Dens,» 2018.
- [39] Anton Paar, «Instruction Manual and Safety Information L-sonic 5100/6100,» 2018.
- [40] Aber, «Yeast Pitching Manual».
- [41] A. Paar, «Complete your beer analysis».
- [42] [Online]. Available: <https://wiki.anton-paar.com/it-it/misura-della-densita-e-della-concentrazione/measuring-the-density-of-spirits-to-calculate-their-alcohol-content/>. [Consultato il giorno 7 Febbraio 2022].
- [43] ChemoMetec, «Manuale Nucleocounter».
- [44] [Online]. Available: <https://aquaanalytics-tekhnika.ru/en/chemometec-941-0008-kassety-scc-cassette-upakovka-100-shtuk/>. [Consultato il giorno 9 Febbraio 2022].
- [45] [Online]. Available: <https://wiki.anton-paar.com/it-it/tecnologia-a-tubo-a-u-nei-densimetri-digitali-da-laboratorio/>. [Consultato il giorno 6 Febbraio 2022].



6 Ringraziamenti

Ringrazio il mio relatore Davide Fissore, per avermi accompagnato alla fine di questo percorso e per il supporto durante la realizzazione della tesi.

Un ringraziamento particolare va ai miei Tutor Mariano De Lisi, Valeria Soro e Salvatore Zeddone dello stabilimento Heineken di Assemini per avermi dato la possibilità di svolgere il mio lavoro di tesi su un argomento interessante e dinamico, che mi ha permesso di mettermi in gioco e fare un'esperienza che sarà preziosa per il mio futuro.

Ringrazio mia madre e mia sorella Raffaella che mi sono sempre state accanto e che mi hanno sempre supportato incondizionatamente.

Ringrazio mia nipote Rebecca di soli 7 anni per aver creduto in me e nelle mie capacità più di chiunque altro, sostenendomi prima di ogni esame e preoccupandosi insieme a me.

Ringrazio mio fratello Francesco, Marta, Massimo, Carlo e Benedetta, Anna e Maria per avermi sostenuto in questo lungo percorso.

Ringrazio mie zie Dolores e Adriana per il loro affetto e senza le quali non avrei potuto intraprendere questo percorso di studi.

Ringrazio mie zie Patrizia e Donatella e tutto il resto della famiglia per il loro affetto e per il loro sostegno.

Ringrazio il mio fidanzato Giovanni per aver creduto in me e per avermi spronato e incoraggiata a dare sempre il massimo; per avermi sempre sostenuta nei momenti più critici, ed essermi sempre stato vicino.

Ringrazio, per ultimi ma non per meno importanza, tutte le mie amiche, Michela, Francesca, Margherita ed Eleonora che nonostante la distanza sono rimaste al mio fianco e per avermi sostenuto durante tutto questo lungo percorso.



