



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

AGRONOMIA ANIMALI ALIMENTI RISORSE NATURALI E AMBIENTE

CORSO DI LAUREA IN SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

**TECNOLOGIE FISICHE, CHIMICHE E BIOLOGICHE PER LA
MITIGAZIONE DELLA CONTAMINAZIONE DA FUSARIUM E
DEOSSINIVALENOLO NELLA FILIERA BIRRARIA**

Relatore:

Prof. Luca Sella

Laureando:

Francesco Sturaro

Matricola n. 2077004

ANNO ACCADEMICO 2025-2026

SOMMARIO

RIASSUNTO	4
ABSTRACT	5
INTRODUZIONE	6
CONTESTO E PROBLEMATICIA	6
EFFETTO DEL DON DURANTE LA BIRRIFICAZIONE	7
NECESSITÀ DI NUOVE TECNOLOGIE	8
SCOPO DELL'ELABORATO FINALE	9
1. APPROCCIO FISICO: Adsorbimento mediante pareti cellulari di <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10
ABSTRACT	10
CONTRIBUTO ALLA RISOLUZIONE DEL PROBLEMA	10
VANTAGGI RISPETTO AGLI ADSORBENTI CONVENZIONALI	11
LIMITI E PROSPETTIVE	12
2. APPROCCIO CHIMICO: Trattamento con ozono gassoso	13
ABSTRACT	13
CONTRIBUTO ALLA RISOLUZIONE DEL PROBLEMA	13
EFFICACIA E PARAMETRI OPERATIVI	13
VANTAGGI APPLICATIVI	14
LIMITI E CONSIDERAZIONI	15
3. APPROCCIO BIOLOGICO: Biocontrollo con <i>Pythium oligandrum</i>	16
ABSTRACT	16
CONTRIBUTO ALLA RISOLUZIONE DEL PROBLEMA	16
EFFICACIA E PARAMETRI OPERATIVI	16
IMPATTO SULLA BIRRA FINALE	17
VANTAGGI E LIMITI	17
CONCLUSIONI	19
BIBLIOGRAFIA	21
REFERENCES	22

RIASSUNTO

Lo studio si propone di analizzare e proporre soluzioni innovative alla problematica della contaminazione da *Fusarium* e deossivalenolo (DON) nella filiera produttiva della birra, un collo di bottiglia per l'industria birraria che comporta significative perdite economiche e rischi per la sicurezza alimentare. La contaminazione fungina dell'orzo da malto da parte di specie di *Fusarium*, in particolare *F. graminearum* e *F. culmorum*, rappresenta una minaccia multiforme: causa perdite di resa, riduzione della qualità del malto e fenomeni di gushing nella birra finale. Durante l'infezione in campo e la successiva fase di maltazione, questi funghi producono micotossine, principalmente DON, pericolose per la salute umana. Il DON persiste attraverso le fasi di maltazione e produzione grazie alla sua stabilità termica e solubilità in acqua, raggiungendo concentrazioni preoccupanti nel prodotto finale. I cambiamenti climatici stanno inoltre aggravando il problema: condizioni di maggiore umidità e temperature più elevate favoriscono sia l'infezione fungina dell'orzo che la conseguente produzione di micotossine. Le attuali strategie di controllo presentano limitazioni significative in termini di efficacia, costi, impatto ambientale e sostenibilità. Il presente elaborato analizza tre metodologie innovative per superare queste criticità: un approccio fisico basato sull'utilizzo di pareti cellulari di scarto di *Saccharomyces cerevisiae* derivanti dalla lavorazione industriale come bioadsorbenti da aggiungere al mosto, capaci di rimuovere fino al 45% del DON senza alterare i parametri qualitativi; un trattamento chimico mediante ozono gassoso durante la maltazione, che riduce del 98% circa l'incidenza di *Fusarium*, preservando la germinazione dell'orzo; un metodo microbiologico a base di *Pythium oligandrum* come agente di biocontrollo, che riduce fino al 60% della crescita di *F. culmorum* e del 37% la produzione di DON. Queste tecnologie rappresentano alternative sostenibili ed efficaci rispetto ai metodi convenzionali, e ciascuna affronta il problema della contaminazione con meccanismi d'azione complementari. L'adozione di tali approcci garantirebbe la sicurezza alimentare preservando la qualità organolettica della birra, evitando l'uso di fungicidi chimici di sintesi e valorizzando sottoprodotti dell'industria birraria.

ABSTRACT

The study aims to analyze and propose innovative solutions to the problem of *Fusarium* and deoxynivalenol (DON) contamination in the beer production chain, a bottleneck for the brewing industry that causes significant economic losses and food safety risks. Fungal contamination of malting barley by *Fusarium* species, particularly *F. graminearum* and *F. culmorum*, poses a multifaceted threat: it causes yield losses, reduced malt quality, and gushing in the final beer. During infection in the field and the subsequent malting phase, these fungi produce mycotoxins, primarily DON, which are hazardous to human health. DON persists throughout the malting and brewing phases due to its thermal stability and water solubility, reaching worrying concentrations in the final product. Climate change is also exacerbating the problem: higher humidity and higher temperatures favor both fungal infection of barley and the resulting production of mycotoxins. Current control strategies present significant limitations in terms of effectiveness, costs, environmental impact, and sustainability. This paper analyzes three innovative methodologies to overcome these critical issues: a physical approach based on the use of *Saccharomyces cerevisiae* cell walls derived from industrial processing as bioadsorbents added to the must, capable of removing up to 45% of DON without altering quality parameters; a chemical treatment using gaseous ozone during malting, which reduces *Fusarium* incidence by approximately 98% while preserving barley germination; and a microbiological method based on *Pythium oligandrum* as a biocontrol agent, which reduces *F. culmorum* growth by up to 60% and DON production by 37%. These technologies represent sustainable and effective alternatives to conventional methods, and each addresses the contamination problem with complementary mechanisms of action. The adoption of these approaches would guarantee food safety by preserving the organoleptic quality of beer, avoiding the use of synthetic chemical fungicides and valorising by-products of the brewing industry.

INTRODUZIONE

CONTESTO E PROBLEMATICITÀ

La birra è una bevanda fermentata ottenuta da cereali maltati, principalmente orzo, che rappresenta uno degli alimenti più consumati a livello globale. Il processo produttivo prevede diverse fasi critiche: maltazione (macerazione, germinazione, essiccazione), ammostamento, bollitura, fermentazione e maturazione, durante le quali le caratteristiche qualitative e la sicurezza del prodotto possono essere compromesse dalla presenza di contaminazioni microbiche.

Tra queste, la contaminazione da specie del genere *Fusarium* rappresenta una delle principali criticità per la filiera birraria. *Fusarium graminearum* e *Fusarium culmorum* sono i patogeni più diffusi nell'orzo da malto e sono responsabili della fusariosi della spiga (Fusarium Head Blight, FHB), una malattia che causa notevoli perdite di resa e compromette la qualità dei cereali. Oltre al danno diretto alle colture, queste specie fungine producono infatti micotossine, in particolare il tricotecene deossinivalenolo (DON), che possono persistere lungo tutta la filiera produttiva fino al prodotto finito. Il DON, noto anche come vomitossina, è un tricotecene di tipo B caratterizzato da elevata stabilità termica e solubilità in acqua. Queste proprietà chimico-fisiche ne rendono difficile la rimozione durante i processi tecnologici tradizionali e favoriscono il suo trasferimento dal malto alla birra. Dal punto di vista tossicologico, il DON agisce come inibitore della sintesi proteica, provocando effetti gastrointestinali acuti (nausea, vomito, diarrea) e immunotossicità in caso di esposizione cronica (Long et al., 2025; Vitalini et al., 2025).

La contaminazione da *Fusarium* compromette significativamente la qualità tecnologica dell'orzo, riducendo la capacità germinativa, parametro fondamentale per la maltazione, e alterando le caratteristiche del mosto. Durante la fermentazione, la presenza del fungo e dei suoi metaboliti può causare flocculazione anomala del lievito, formazione di composti responsabili di difetti sensoriali e il fenomeno del “gushing” (fuoriuscita improvvisa di schiuma), causato da proteine fungine chiamate idrofobine. Dal punto di vista della sicurezza alimentare, diversi studi hanno evidenziato che, in scenari di elevato consumo di birra, l'esposizione al DON può avvicinarsi o superare i valori di riferimento tossicologici: dati recenti indicano che il consumo medio di birra in Europa è pari a circa 67 L pro capite all'anno, con diversi Paesi che superano i 70–100 L, confermando la presenza di contesti ad elevato consumo (AssoBirra, 2024).

EFFETTO DEL DON DURANTE LA BIRRIFICAZIONE

Il destino del DON e delle sue forme modificate lungo il processo produttivo è complesso e non completamente prevedibile. Durante la macerazione, il DON viene parzialmente rimosso (10–85%) per solubilizzazione in acqua (Pascari et al., 2018; Pascari et al., 2022) ma l'elevata umidità favorisce contemporaneamente la diffusione della contaminazione fungina nell'intero lotto (15–90%) (Pascari et al., 2018). La germinazione rappresenta la fase più critica: le condizioni ottimali per lo sviluppo del chicco (temperatura 25–28 °C, umidità >0,90 aw) favoriscono anche la crescita fungina, con aumenti di DON fino al 114% (Charlene et al., 2007) e formazione significativa di deossinivalenolo-3-glucoside (D3G), forma mascherata generata dal metabolismo vegetale come meccanismo di detossificazione (Prusova et al., 2022).

Le micotossine mascherate rappresentano una problematica emergente: sebbene presentino tossicità apparentemente inferiore, possono essere idrolizzate nel tratto gastrointestinale riconvertendosi in DON libero, contribuendo all'esposizione complessiva. Inoltre, eludono le analisi convenzionali, portando a una sottostima del rischio reale (Ng C.A., 2021). L'essiccazione/tostatura non produce effetti distruttivi significativi a causa della termostabilità del DON fino a 120 °C, mentre temperature >150 °C, sebbene efficaci, compromettono le caratteristiche organolettiche del malto (Biehl E.M., 2025).

Durante l'ammestamento, fase definita come la più critica per il trasferimento delle micotossine, l'intensa attività enzimatica, da parte di proteasi e amilasi, favorisce il rilascio di DON e D3G dalla matrice (Pascari X., 2018). Tuttavia, alcuni studi riportano diminuzioni di D3G non accompagnate da corrispondenti aumenti di DON, suggerendo trasformazioni in altri derivati non sempre identificabili (Nela Prusova, 2022). Queste evidenze sottolineano l'imprevedibilità del comportamento delle micotossine e le difficoltà nel controllarne l'evoluzione attraverso i soli parametri di processo.

La bollitura riduce significativamente diverse micotossine (90–100%), ma il DON mostra marcata termostabilità, persistendo a livelli del 30–60% rispetto alla contaminazione iniziale anche dopo 90 minuti (Pascari et al., 2019).

Durante la fermentazione, i lieviti rimuovono solo il 5–15% del DON tramite adsorbimento alle pareti cellulari e limitata metabolizzazione, risultando complessivamente inefficaci per la sua eliminazione. Il DON viene quindi in gran parte trasferito nella birra (Pascari et al., 2022).

NECESSITÀ DI NUOVE TECNOLOGIE

Le limitazioni degli approcci convenzionali, l'aggravarsi del problema dovuto ai cambiamenti climatici e le significative conseguenze economiche e sanitarie rendono evidente l'urgenza di sviluppare strategie innovative di mitigazione.

I cambiamenti climatici amplificano significativamente la problematica: si prevede che le variazioni di temperatura, umidità e precipitazioni aumenteranno le infezioni da *Fusarium* nei cereali. Il Nord Europa avrà un clima più mite e umido verso il 2050, condizioni ideali per la diffusione di FHB (Ng C.A. et al., 2021).

Le perdite economiche sono considerevoli: negli USA, il danno annuale causato dal DON è stato stimato in 406 milioni di dollari (1993–1998); nell'UE, il 37% dei lotti contaminati viene ritirato per controlli ufficiali e il 19% per reclami dei consumatori (Pascari et al., 2018).

I mezzi tecnologici disponibili per influenzare la crescita fungina durante la maltazione sono limitati; ad esempio abbassare la temperatura di maltazione riduce la contaminazione ma compromette germinazione e qualità del malto. La selezione di varietà di orzo resistenti rappresenta uno dei pochi parametri controllabili, ma da sola è insufficiente a garantire la sicurezza del prodotto finale.

È quindi necessario lo sviluppo di tecnologie innovative, fisiche, chimiche e biologiche, applicabili in diversi punti critici della filiera produttiva, capaci di superare i limiti intrinseci degli approcci tradizionali e di garantire sicurezza, efficacia, sostenibilità ambientale ed economicità.

SCOPO DELL'ELABORATO FINALE

L'aumento della contaminazione da *Fusarium* e deossivalenolo (DON) nella filiera dell'orzo e della birra rappresenta una criticità crescente, con implicazioni sulla sicurezza alimentare, sulla qualità del prodotto e sulla sostenibilità economica del processo. Le strategie di controllo attualmente disponibili presentano infatti importanti limitazioni in termini di efficacia, applicabilità tecnologica, costi o possibili effetti sulle caratteristiche qualitative delle materie prime e del prodotto finale.

Il presente elaborato ha l'obiettivo di analizzare e confrontare tre tecnologie innovative di mitigazione del DON applicabili alla filiera birraria, appartenenti a tre diversi approcci: fisico, chimico e biologico. Per ciascuna tecnologia vengono esaminate le evidenze scientifiche disponibili, i meccanismi d'azione, il grado di efficacia e le potenziali criticità legate all'implementazione su scala industriale. Lo scopo è quello di valutare il potenziale di queste strategie come soluzioni efficaci, sostenibili ed economicamente applicabili per la riduzione del rischio da micotossine nella produzione di birra.

RISULTATI E DISCUSSIONE

1. APPROCCIO FISICO: Adsorbimento mediante pareti cellulari di *Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRACT

Questo studio ha valutato la capacità di adsorbimento di pareti cellulari di *Saccharomyces cerevisiae* ottenute come sottoprodotto della fermentazione contro diverse micotossine che possono contaminare il mosto di birra, contribuendo a mettere a punto strategie praticabili per la mitigazione dei contaminanti nell'industria della birra. L'adsorbente è stato ottenuto mediante lisi meccanica seguita da centrifugazione e caratterizzazione fisico-chimica. I test di adsorbimento sono stati eseguiti su mosto contaminato artificialmente con AFB₁ (2,0 ng/mL), OTA (2,0 ng/mL), DON (6,0 µg/mL) e ZEA (2,0 ng/mL), testando gli effetti della dose di biosorbente (0,5–2 mg/mL), dell'agitazione (0, 50, 100 rpm) e della temperatura (12,5, 15, 25 °C). La massima efficienza di adsorbimento è stata osservata a 15 °C e 50 rpm, con una rimozione fino al 45% per DON e del 20% per AFB₁, OTA e ZEA dopo 24 ore. Il tempo di contatto si è rivelato critico, con l'equilibrio di adsorbimento raggiunto a circa 1440 minuti. DON ha mostrato la più alta capacità di adsorbimento (4,14 µg/g), seguito da ZEA (1,95 µg/g), AFB₁ (1,52 ng/g) e OTA (1,34 ng/g), suggerendo un ordine di affinità DON > ZEA > AFB₁ > OTA. L'adsorbimento è correlato alle proprietà fisico-chimiche delle tossine, come la polarità, le dimensioni molecolari e le interazioni con i β-D-glucani e gli α-D-mannani della parete cellulare. Il trattamento non ha alterato i parametri fisico-chimici del mosto, dimostrando il suo potenziale nei processi di produzione di birra su scala industriale senza compromettere la qualità del prodotto.

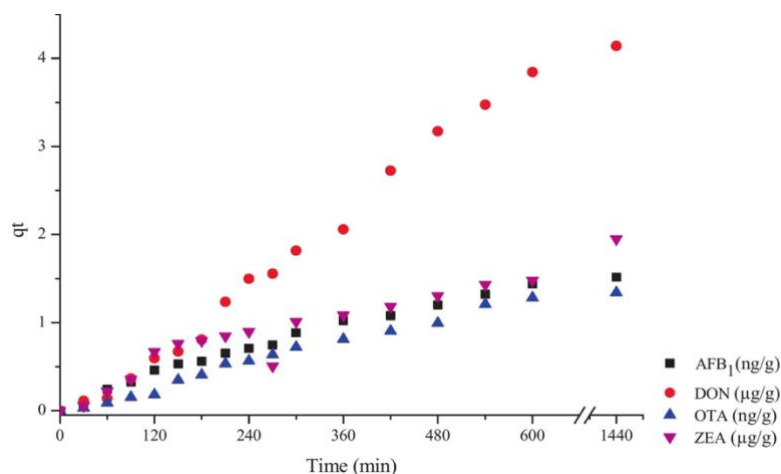
CONTRIBUTO ALLA RISOLUZIONE DEL PROBLEMA

Questo approccio rappresenta una “barriera” nel mosto, dopo l'ammestamento e prima della fermentazione. Utilizza pareti cellulari di *S. cerevisiae* (ottenute come sottoprodotto della fermentazione), trasformando uno scarto in risorsa attiva, perfetto esempio di economia circolare.

Il meccanismo si basa sulla selettività chimico-fisica: il DON, essendo altamente polare, viene adsorbito preferenzialmente (fino al 45%) attraverso interazioni con i mannano-oligosaccaridi e i carboidrati polari della parete cellulare. Le micotossine meno polari come AFB₁ e ZEA interagiscono invece con le regioni idrofobiche, principalmente i β-glucani, garantendo una rimozione del 20%. Questo meccanismo differenziato permette al bioadsorbente di essere efficace contro tossine con caratteristiche chimiche diverse.

EFFICACIA E PARAMETRI OPERATIVI

I parametri operativi ottimizzati rendono il processo facilmente implementabile: temperatura di 15 °C (compatibile con le normali condizioni di lavorazione), agitazione moderata a 50 rpm, e tempo di contatto di 24 ore. Questi parametri non richiedono modifiche sostanziali alle infrastrutture esistenti e sono compatibili con i normali tempi di processo.



La Figura mostra la capacità di adsorbimento nel tempo (q_t) delle quattro micotossine (AFB₁, DON, OTA e ZEA) da parte della parete cellulare del lievito nell'arco di 24 ore (1440 minuti), ed evidenzia chiaramente la cinetica di adsorbimento differenziata tra le diverse micotossine, con il DON che raggiunge la massima capacità di adsorbimento (4,14 µg/g), seguito da ZEA (1,95 µg/g), AFB₁ (1,52 ng/g) e OTA (1,34 ng/g). La curva mostra che l'equilibrio di adsorbimento viene raggiunto dopo circa 1440 minuti per tutte le micotossine, fornendo un parametro operativo fondamentale per l'applicazione industriale del metodo.

La capacità di agire simultaneamente su micotossine diverse (DON, AFB₁, OTA, ZEA) è particolarmente rilevante considerando che la contaminazione naturale dell'orzo coinvolge tipicamente più specie fungine. Il trattamento non altera i parametri qualitativi del mosto: zuccheri, proteine, pH, acidità e densità rimangono invariati, garantendo che la capacità fermentativa e le caratteristiche organolettiche finali non vengano compromesse. La leggera riduzione dei lipidi (14,6%) può migliorare la stabilità della schiuma e ridurre sapori sgradevoli.

VANTAGGI RISPETTO AGLI ADSORBENTI CONVENZIONALI

Rispetto a carbone attivo, bentonite o zeoliti, classici agenti adsorbenti, le pareti cellulari di *S. cerevisiae* offrono vantaggi in termini di biocompatibilità: essendo componenti naturali già presenti nell'ambiente della fermentazione, non introducono sostanze estranee e non richiedono complesse procedure di approvazione regolatoria.

LIMITI E PROSPETTIVE

L'efficienza di adsorbimento, sebbene significativa, è inferiore a quella osservata in sistemi modello semplificati, evidenziando l'effetto competitivo dei componenti del mosto (proteine, zuccheri, fenoli) per i siti di legame. L'agglomerazione ad alte dosi di alcuni composti presenti nel mosto può bloccare i siti attivi, limitando l'efficacia di adsorbimento.

Le prospettive future includono l'ottimizzazione per applicazioni a flusso continuo, che permetterebbe maggiore efficienza industriale nel trattamento di grandi volumi, e la modifica fisica, chimica o enzimatica delle pareti cellulari per aumentare la loro capacità di adsorbimento. Sarà necessario valutare l'applicazione su mosti naturalmente contaminati e studiare l'impatto sulla fermentazione completa e sulle caratteristiche sensoriali della birra finita.

In conclusione, questo approccio rappresenta una soluzione sostenibile ed economica, ideale come ultimo step di decontaminazione nella gestione della sicurezza della filiera birraria.

2. APPROCCIO CHIMICO: Trattamento con ozono gassoso

ABSTRACT

Le infezioni fungine, in particolare da specie di *Fusarium*, rappresentano una sfida per i cereali, in particolare l'orzo da malto, in quanto causano notevoli perdite economiche e perdita di qualità. Questo studio ha valutato l'effetto dell'ozono gassoso sulla contaminazione fungina, con particolare attenzione alle specie di *Fusarium*, e sulla germinazione dei chicchi di orzo da malto. Sono state testate diverse concentrazioni di ozono (10–100 ppm) e tempi di esposizione (1–24 h) su orzo ad alta umidità (19,8%). Concentrazioni di ozono più elevate e tempi di esposizione più lunghi hanno prodotto riduzioni maggiori, con 100 ppm per 24 ore che hanno ottenuto riduzioni rispettivamente del 99,2% e del 98,2% nella conta fungina totale e nella contaminazione da *Fusarium*. La germinazione del grano ha mostrato una risposta dose-dipendente negativa, ma è rimasta entro i valori raccomandati. L'orzo trattato con ozono ha preservato la qualità per 60 giorni di stoccaggio. Il contenuto di umidità del grano, l'umidità relativa e la temperatura non hanno influenzato significativamente l'efficacia dell'ozono contro i funghi e la germinazione del grano.

CONTRIBUTO ALLA RISOLUZIONE DEL PROBLEMA

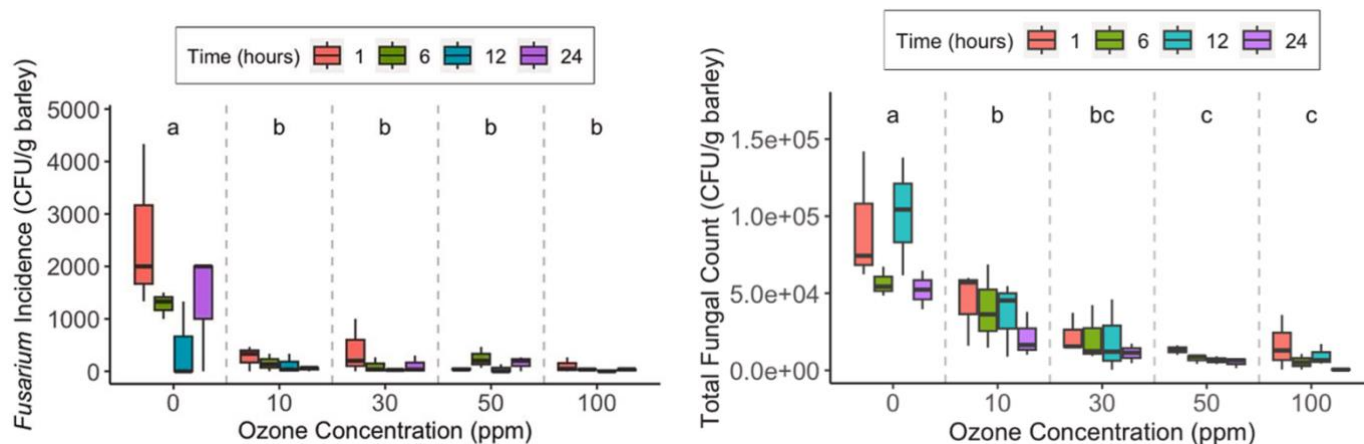
Il trattamento con ozono rappresenta una decontaminazione preventiva post-raccolta che riduce drasticamente la carica fungina prima della maltazione. Il principale vantaggio è il fatto che l'ozono si decomponga rapidamente in ossigeno senza lasciare residui, eliminando i rischi determinati dalla presenza di residui dei fungicidi tradizionali.

L'ozono agisce per ossidazione diretta dei costituenti cellulari fungini e produce specie reattive dell'ossigeno (ROS) che aumentano il potere disinfettante, particolarmente in presenza di elevata umidità.

EFFICACIA E PARAMETRI OPERATIVI

Lo studio ha identificato una finestra operativa ottimale che bilancia efficacia e preservazione della germinazione. Il trattamento più intenso, condotto a 100 ppm per 24 ore, ha comportato una riduzione del 99,2% della conta fungina totale e del 98,2% della contaminazione da *Fusarium*. Il trattamento ottimale, a 50 ppm per 1-6 ore, ha portato a riduzioni fungine del 89,3% preservando contemporaneamente tutti i parametri di germinazione entro i valori raccomandati per la maltazione (>95%). Anche il trattamento più blando, a 10 ppm per 1 ora, ha prodotto riduzioni significative del 41,6% per la conta totale di colonie fungine e dell'81,0% per *Fusarium* ssp.

La concentrazione di ozono è risultata il fattore predominante che ne influenza l'efficacia.



Le figure mostrano l'effetto del trattamento con ozono sull'incidenza di *Fusarium* e sulla conta fungina totale nell'orzo. L'incidenza di *Fusarium* mostra un plateau già a 10 ppm. La conta fungina totale mostra un plateau a partire da 50 ppm, mentre concentrazioni superiori non producono riduzioni significativamente maggiori. La differenza tra i due plateau indica che le specie di *Fusarium* sono più sensibili all'ozono rispetto ad altri funghi presenti nell'orzo. Per applicazioni industriali, 50 ppm rappresenta il parametro ottimale in quanto massimizza la riduzione della carica fungina totale preservando contemporaneamente la germinazione dell'orzo (>95%). I trattamenti sono stati condotti a diversi tempi di esposizione (1-24 ore) su orzo con ~20% di umidità.

VANTAGGI APPLICATIVI

Un vantaggio operativo significativo è che fattori ambientali come contenuto di umidità del grano, umidità relativa e temperatura non hanno influenzato significativamente l'efficacia del trattamento. Questo semplifica il controllo del processo e riduce la necessità di modifiche ambientali complesse, rendendo il trattamento robusto e facilmente implementabile in diversi contesti industriali.

L'orzo trattato con ozono mantiene una qualità microbica significativamente migliore rispetto ai campioni di controllo durante i primi 60 giorni di conservazione ad alta umidità, offrendo maggiore flessibilità nella gestione logistica post-raccolta. Un'applicazione particolarmente promettente è il trattamento durante l'essiccazione: l'ozono riduce contemporaneamente la carica fungina e i tempi di essiccazione del 20%, ottimizzando risorse energetiche e temporali.

Il meccanismo ad ampio spettro riduce la probabilità di sviluppo di resistenza fungina, problema crescente con i fungicidi convenzionali, sebbene sia stata evidenziata una maggiore resistenza di *Penicillium ssp.* che richiederebbero dosi superiori.

LIMITI E CONSIDERAZIONI

L'impatto dell'ozono è principalmente a livello superficiale, con limitata capacità di penetrare nei chicchi, spiegando l'effetto plateau osservato. L'effetto dose-dipendente sulla germinazione richiede un attento bilanciamento: concentrazioni elevate possono infatti danneggiare componenti cellulari come lipidi, proteine e acidi nucleici, alterando varie attività enzimatiche ed integrità del DNA, con conseguente riduzione della vitalità germinativa.

Sebbene il trattamento riduca drasticamente la carica fungina iniziale, potrebbe non inattivare completamente le spore fungine. Il sostanziale aumento della carica fungina osservato nei campioni trattati entro il 120° giorno di conservazione, dovuto principalmente a specie di *Penicillium*, suggerisce che potrebbero essere necessarie concentrazioni più elevate per effetti letali duraturi o l'integrazione con altre strategie di conservazione.

Dal punto di vista economico, il trattamento elimina le spese legate ai fungicidi tradizionali utilizzando ozono generato in loco dall'aria atmosferica. Tuttavia, l'adozione dell'ozono richiede investimenti in attrezzature specializzate, adeguamenti degli impianti e formazione del personale per gestire i potenziali rischi dell'ozono ad alte concentrazioni.

Le prospettive future includono la valutazione dell'impatto sulle micotossine già presenti nell'orzo al momento del trattamento, l'ottimizzazione dei parametri per generi fungini resistenti come *Penicillium*, e lo studio dell'impatto sulla qualità finale del malto. È inoltre necessario approfondire la ricerca sulla potenziale formazione di sottoprodotti dell'ossidazione: sebbene l'ozono sia generalmente considerato non residuale, la sua elevata reattività può potenzialmente generare sottoprodotti a seconda delle condizioni operative.

3. APPROCCIO BIOLOGICO: Biocontrollo con *Pythium oligandrum*

ABSTRACT

Questo studio indaga il potenziale di *Pythium oligandrum* (ceppi M1 e 00X48) come agente di biocontrollo nel sopprimere la crescita di *Fusarium culmorum* e la produzione di micotossine durante la maltatura di orzo naturalmente contaminato. Gli effetti dell'agente di biocontrollo sul malto d'orzo infetto da *F. culmorum* sono stati valutati tramite PCR in tempo reale, mentre il suo impatto sulla produzione di micotossine è stato determinato mediante analisi quantitativa di deossinivalenolo (DON) e deossinivalenolo-3-glucoside (D3G). Il trattamento con i ceppi M1 e 00X48 di *P. oligandrum* ha prodotto rispettivamente una riduzione del 59% e del 48% della contaminazione da *F. culmorum*, del 37% e del 17% di DON e del 27% e del 32% di D3G. Il malto d'orzo trattato con entrambi i ceppi di *P. oligandrum* ha mostrato un miglioramento della qualità; la birra prodotta dal malto d'orzo trattato con il ceppo M1 di *P. oligandrum* non ha comportato alcun deterioramento della qualità e ha determinato una riduzione della contaminazione da DON e D3G nel prodotto finale rispettivamente del 26% e del 18%.

CONTRIBUTO ALLA RISOLUZIONE DEL PROBLEMA

Questo approccio rappresenta una soluzione biologica sostenibile contro la contaminazione fungina durante la maltazione, fase in cui temperatura e umidità favoriscono particolarmente la crescita di specie di *Fusarium* e la produzione di micotossine. L'applicazione di agenti di biocontrollo è in linea con le strategie di sicurezza alimentare sostenibili che mirano a minimizzare l'impatto dei pesticidi chimici.

P. oligandrum è un oomicete terricolo non patogeno con proprietà micoparassitarie: cresce abbondantemente sulle ife di *Fusarium* inibendone fisicamente la crescita, compete per nutrienti e spazio, e induce resistenza sistemica nelle piante ospiti. È già approvato dall'UE e dall'EPA per la protezione delle colture, garantendo un profilo di sicurezza validato.

EFFICACIA E PARAMETRI OPERATIVI

Lo studio ha identificato parametri operativi ottimali: l'aggiunta di 1×10^6 oospore/kg con la seconda acqua di macerazione e durante la germinazione ha prodotto una riduzione del 59% della contaminazione da *F. culmorum*, accompagnata da riduzioni del 37% per DON e del 35% per D3G. Questa specificità temporale è strategicamente vantaggiosa perché interviene quando le condizioni ambientali favoriscono maggiormente la crescita di *Fusarium*.

Un aspetto particolarmente innovativo è il doppio effetto benefico sulla qualità del malto: il trattamento ha migliorato potere diastatico, attenuazione finale e friabilità, indicando una maggiore

modifica amilolitica e citolitica dei grani. Il punteggio di qualità complessivo del malto (BMQ) è migliorato da 3,1 a 4,1, confermando che il biocontrollo non solo riduce la contaminazione ma migliora attivamente la qualità del prodotto. Questo miglioramento è ricondotto alla produzione di enzimi (β -glucanasi, xilanasi, cellulasi) che contribuiscono alla degradazione delle pareti cellulari e alla mobilizzazione delle riserve del chicco.

Campione	Contaminazione relativa da <i>F. culmorum</i>	DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	D3G ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Diminuzione della concentrazione totale di DON
BM	100% ^a	701 \pm 131 ^a	2260 \pm 445 ^a	
BM + M1 (1° STW)	65% \pm 6% ^b	501 \pm 94 miliardi	1470 \pm 290 miliardi	33%
BM + M1 (2° STW)	41% \pm 1% ^c	444 \pm 83 miliardi	1660 \pm 327 ^{ab}	29%
BM + M1 (GE)	45% \pm 2% ^d	467 \pm 87 miliardi	1780 \pm 351 ^{ab}	24%

La tabella mostra l'efficacia di *P. oligandrum* (ceppo M1) applicato in diversi momenti della maltazione. L'applicazione con la seconda acqua di macerazione (2° STW) produce la maggiore riduzione della contaminazione da *F. culmorum* (dal 100% al 41%), seguita dall'applicazione durante la germinazione (GE, riduzione al 45%) e dalla prima acqua di macerazione (1° STW, riduzione al 65%). Si osservano riduzioni significative anche nei livelli di DON (dal 29 al 37%), e D3G (dal 21 al 35%) rispetto al controllo. Le performance complessive migliori sono state ottenute con il trattamento sulla seconda acqua di macerazione.

IMPATTO SULLA BIRRA FINALE

La birra prodotta da malto trattato con il ceppo M1 ha mostrato parametri qualitativi comparabili o superiori al controllo, con tassi di fermentazione e pH statisticamente invariati. L'unica differenza significativa è stata un colore leggermente più scuro, attribuibile all'aumentata attività proteolitica, generalmente considerato accettabile o desiderabile in determinati stili birrari.

Un dato particolarmente significativo è la riduzione del trasferimento di micotossine: la birra ha mostrato il 26% in meno di DON e il 18% in meno di D3G rispetto al controllo. Considerando che il DON è molto stabile durante la fermentazione, questa riduzione rappresenta un importante vantaggio per la sicurezza alimentare.

VANTAGGI E LIMITI

Il principale vantaggio rispetto ad altri agenti di biocontrollo è l'assenza di problematiche specifiche: i batteri lattici possono essere contaminanti indesiderati nella birra, mentre *Geotrichum candidum* richiede attenta selezione del ceppo per evitare attività lipasiche indesiderate o produzione di alcaloidi tossici. *P. oligandrum* non presenta questi svantaggi e ha un profilo di sicurezza validato.

L'applicazione dimostra un effetto dose-dipendente con plateau: la dose ottimale di 1×10^6 oospore/kg rappresenta un buon equilibrio tra efficacia ed economia del trattamento. Dal punto di vista economico, sebbene comporti costi iniziali per produzione e acquisto delle oospore, i benefici includono riduzione delle perdite dovute a malto di bassa qualità, miglioramento dei parametri qualitativi con possibili prezzi di vendita più elevati, e conformità con le richieste di sostenibilità ambientale.

Lo studio identifica alcune limitazioni: l'uso nel processo di maltazione richiede autorizzazione specifica per l'industria alimentare. Sebbene *P. oligandrum* sia approvato per applicazioni agricole, la sua applicazione durante la maltazione richiede approvazioni aggiuntive. I principali produttori di malto ne stanno attualmente richiedendo la registrazione, indicando interesse industriale concreto per il processo di approvazione che è in corso. Un punto di forza è che il trattamento è stato testato su orzo naturalmente contaminato, aumentando la rilevanza dei risultati per applicazioni industriali reali. Le prospettive future includono l'ottimizzazione dei protocolli per diverse varietà di orzo e condizioni di maltazione, la valutazione dell'efficacia contro altre specie di *Fusarium* come *F. graminearum*, sempre più prevalente, e lo studio dei meccanismi molecolari per migliorare potenzialmente l'efficacia attraverso la selezione dei ceppi.

Il biocontrollo con *P. oligandrum* rappresenta una soluzione biologica sostenibile, efficace e qualitativamente vantaggiosa. La sua capacità di ridurre simultaneamente la crescita fungina, la produzione di micotossine e migliorare la qualità del malto lo rende particolarmente attraente per l'industria birraria, con concrete prospettive di implementazione industriale nel prossimo futuro.

CONCLUSIONI

La contaminazione da *Fusarium* e deossivalenolo rappresenta una delle sfide più rilevanti per la sicurezza e la qualità della filiera birraria, destinata a complicarsi a causa dei cambiamenti climatici. L'analisi condotta ha evidenziato come gli approcci convenzionali, sebbene utili, presentino limitazioni intrinseche: le fasi tradizionali del processo produttivo non eliminano completamente il DON e in alcuni casi ne favoriscono la formazione e il trasferimento al prodotto finito.

Le tre tecnologie innovative esaminate offrono soluzioni applicabili in diversi punti della filiera produttiva. Il trattamento con ozono agisce come strategia preventiva post-raccolta, riducendo drasticamente la carica fungina iniziale senza residui chimici. Può essere integrato nei processi di essiccazione, ottimizzando risorse energetiche. Tuttavia, l'azione prevalentemente superficiale richiede un'attenta calibrazione dei parametri operativi.

Il biocontrollo con *P. oligandrum* offre una soluzione ecologicamente sostenibile durante la maltazione, fase critica per la crescita fungina. Riduce simultaneamente la contaminazione e migliora la qualità del malto, con ridotto trasferimento finale di micotossine alla birra. Rimane necessaria l'approvazione regolatoria specifica per uso alimentare.

L'adsorbimento fisico da parte delle pareti cellulari di *S. cerevisiae* nel mosto costituisce una soluzione applicabile prima della fermentazione, valorizzando sottoprodotti dell'industria birraria in ottica di economia circolare. La capacità di adsorbire diverse micotossine e l'assenza di alterazioni qualitative del mosto facilitano l'implementazione senza modifiche sostanziali agli impianti.

Ciascuna tecnologia presenta vantaggi specifici legati al punto di applicazione nella filiera: l'ozono interviene preventivamente sulla materia prima, il biocontrollo agisce durante la fase più critica di sviluppo delle micotossine, l'adsorbimento offre un'opportunità di decontaminazione finale. La scelta dell'approccio più adatto dipenderà dalle specifiche esigenze produttive, dai livelli di contaminazione iniziale e dalle risorse disponibili.

Rimangono sfide da affrontare: completamento degli iter regolatori, ottimizzazione a seconda delle diverse varietà di orzo utilizzate in maltazione, valutazione economica su larga scala, e sviluppo di metodologie analitiche per il monitoraggio simultaneo di DON ed eventuali forme mascherate. Quest'ultimo aspetto è particolarmente critico: il D3G elude le analisi convenzionali ma può riconvertirsi in DON biodisponibile, richiedendo urgentemente protocolli analitici che includano le forme coniugate e limiti regolatori basati sull'esposizione totale.

Le tecnologie analizzate rappresentano soluzioni promettenti, scientificamente validate e potenzialmente implementabili. Il loro sviluppo, supportato da adeguati investimenti in ricerca e da un quadro regolatorio favorevole, potrebbe contribuire significativamente a garantire sicurezza e

qualità della birra, preservando sostenibilità ambientale ed economica del settore di fronte alle sfide dei cambiamenti climatici.

BIBLIOGRAFIA

1. Biehl E.M., Schneidemann-Bostelmann S., Hoheneder F. *et al.* (2025). “Monitoring *Fusarium* toxins from barley to malt: Targeted inoculation with *Fusarium culmorum*”. *Mycotoxin Res* 41, 215–237.
2. Goswami R.S., Kistler H.C. (2004). “Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops”. *Molecular Plant Pathology*, 5: 515-525.
3. Long N., Peng H., Wang Y., Zhou C., Wang Z. (2025). “Effects of mycotoxins in foods on human health and strategies for prevention and control: A review”. *Journal of Future Foods*.
4. Ng C.A., Poštulková M., Matoulková D., Psota V., Hartman I., Branyik T. (2021). “Methods for suppressing *Fusarium* infection during malting and their effect on malt quality”. *Czech J. Food Sci.* 39(5):340-359.
5. Pascari X.; Marin S.; Ramos A.J.; Sanchis V. (2022). “Relevant *Fusarium* Mycotoxins in Malt and Beer”. *Foods*, 11, 246.
6. Pascari X., Ramos A.J., Marín S., Sanchis V. (2018). “Mycotoxins and beer. Impact of beer production process on mycotoxin contamination. A review”. *Food Research International*, Volume 103.
7. Pascari X., Rodriguez-Carrasco Y., Juan C., Mañes J., Marin S., Ramos A.J., Sanchis V. (2019). “Transfer of *Fusarium* mycotoxins from malt to boiled wort”. *Food Chemistry*, Volume 278.
8. Postulkova M., Riveros-Galan D., Cordova-Agiular K., Zitkova K., Verachtert H., Derdelinckx G., Dostalek P., Ruzicka M. C., Branyik T. (2016). “Technological possibilities to prevent and suppress primary gushing of beer”. *Trends in Food Science & Technology*, Volume 49.
9. Sarlin T., Nakari-Setälä T., Linder M., Penttilä M., Haikara A. (2005). “Fungal Hydrophobins as Predictors of the Gushing Activity of Malt”. *Journal of the Institute of Brewing*, 111: 105-111.
10. Wolf-Hall C.E. (2007). “Mold and mycotoxin problems encountered during malting and brewing”. *International Journal of Food Microbiology*, Volume 119, Issues 1–2.

REFERENCES (fonti citate direttamente nell'elaborato finale, fonti consultate; articoli selezionati indicati in grassetto)

1. AssoBirra Annual Report (2024).
2. Biehl E.M., Schneidemann-Bostelmann S., Hoheneder F. *et al.* (2025). "Monitoring *Fusarium* toxins from barley to malt: Targeted inoculation with *Fusarium culmorum*". *Mycotoxin Res* 41, 215–237.
3. Long N., Peng H., Wang Y., Zhou C., Wang Z. (2025). "Effects of mycotoxins in foods on human health and strategies for prevention and control: A review". *Journal of Future Foods*.
4. **Ng C. A., Pernica M., Litvanova K., Kolouchova I., Branyik T. (2023). "Biocontrol Using *Pythium oligandrum* during Malting of Fusarium-Contaminated Barley. Fermentation". **9(3), 257.****
5. Ng C.A., Poštulková M., Matoulková D., Psota V., Hartman I., Branyik T. (2021). "Methods for suppressing *Fusarium* infection during malting and their effect on malt quality". *Czech J. Food Sci.* 39(5):340-359.
6. Pascari X., Marin S., Ramos A.J., Sanchis V. (2022). "Relevant *Fusarium* Mycotoxins in Malt and Beer". *Foods*, 11, 246.
7. Pascari X., Ramos A.J., Marín S., Sanchis V. (2018). "Mycotoxins and beer. Impact of beer production process on mycotoxin contamination. A review". *Food Research International*, Volume 103.
8. Pascari X., Rodriguez-Carrasco Y., Juan C., Mañes J., Marin S., Ramos A.J., Sanchis V. (2019). "Transfer of *Fusarium* mycotoxins from malt to boiled wort". *Food Chemistry*, Volume 278.
9. Prusova N., Dzuman Z., Jelinek L., Karabin M., Hajslova J., Rychlik M., Stranska M. (2022). "Free and conjugated *Alternaria* and *Fusarium* mycotoxins during Pilsner malt production and double-mash brewing". *Food Chemistry*, Volume 369.
10. **Rodarte Sanchez D., Møller Jespersen B., Holm Rasmussen L., Larsen Andersen M. (2024). "Fungicidal effect of gaseous ozone in malting barley: Implications for *Fusarium* infection and grain germination". **Journal of Cereal Science, Volume 118.****
11. **Rodrigues Acosta E., Sofia Lampert B., Sant'anna Cadaval Júnior T.R., Greque de Morais M., Garda-Bufferon J. (2026). "Functional and sustainable application of residual yeast cell wall for multi-mycotoxin removal from brewing wort". **Food Research International, Volume 224.****
12. Vitalini S., Iriti M., Vallone L. (2025). "Mycotoxins in European Union Regulations". *Ital. J. Food Saf.*

13. Wolf-Hall C.E. (2007). “Mold and mycotoxin problems encountered during malting and brewing”. *International Journal of Food Microbiology*, Volume 119, Issues 1–2.