



Caracterização bioquímica e físico-química do grão de cevada ao longo do processo de maltagem

José Miguel Sousa de Matos

Dissertação de Mestrado em Bioquímica

Setembro de 2014

Caracterização bioquímica e físico-química do grão de cevada ao longo do processo de maltagem

José Miguel Sousa de Matos

Mestrado em Bioquímica

Departamento de Química e Bioquímica

2014

Orientador

Professor Doutor Luís Guido, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Coorientador

Dr. Tiago Brandão, Unicer Bebidas S.A.

Agradecimentos

Em primeiro lugar queria agradecer às pessoas das quais partiu a ideia para este projeto de parceria entre a Faculdade de Ciências da Universidade do Porto e a Unicer Bebidas S.A.; estou-me a referir ao Professor Luís Guido e ao Dr. Tiago Brandão. Agradeço também às pessoas que me orientaram e me apoiaram, quer a nível de conhecimento científico e operacional, quer a nível de logística; por isso, concedo os meus agradecimentos mais uma vez ao Professor Luís Guido e ao Dr. Tiago Brandão, mas ainda ao Eng^o Miguel Cancela, à Eng^a Sónia Meireles, à Eng^a Cristina Silva e ao João Costa.

Uma vez que não me foi possível efetuar algumas das muitas análises que foram efetuadas com vista ao controlo de qualidade do produto, deixo também os meus agradecimentos a quem me apoiou neste sentido, neste caso às minhas colegas da Faculdade de Ciências: Rita Rocha, Inês Ferreira e Andreia Vaz; e também às pessoas da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (do laboratório da Professora Isabel Ferreira) e ao laboratório da Maltibérica S.A..

Quero também agradecer a toda a equipa do laboratório do Departamento da Qualidade da Unicer por estarem sempre disponíveis para me esclarecer, em especial à Eng^a Helena Cunha e ao Manuel Bandeirinha, por me terem ensinado todas as análises que efetuei para este trabalho e pelo conhecimento científico que me transmitiram; também um agradecimento ao Dr. Paulo Magalhães, chefe do laboratório, pela grande disponibilidade demonstrada para que eu pudesse fazer uso das instalações e do material do laboratório.

Pela ajuda providenciada pela Maltibérica S.A., quer ao nível da grande disponibilidade manifestada para a realização de análises e envio de cevada, quer pelo esclarecimento de algumas dúvidas, agradeço ao Eng^o Carlos Pragana, à Patrícia Cotrim e ao Miguel Roca.

Os meus agradecimentos vão também para o Jorge Silva e para o Manuel Dias, pelo apoio que me prestaram ao nível da instalação industrial, na Mini-Fábrica. Deixo ainda um grande agradecimento ao Sr. Mário Rui, que nunca negou dar uma ajuda, mesmo nas alturas mais inconvenientes, e ao Ricardo Reis, pela ajuda com as estimativas de consumos energéticos e pelas boas conversas. Quero também deixar um agradecimento muito sentido à Catarina Lopes, pelas muitas horas de excelente companhia na Mini-Fábrica, e pela grande amiga que foi e que continua a ser.

Agradeço também aos outros estagiários que, independentemente do tempo que lá tenham estado, muito contribuíram para um bom ambiente e para a facilitação

do trabalho. Por isso, obrigado ao Fábio Oliveira, à Diana Canas, ao Nuno Matos, à Helena Bogas, à Marina Barbosa e ao Pedro Pinto da Costa.

Por fim, agradeço também ao grande conjunto de pessoas, de várias áreas da empresa, que, por diversas razões, prestaram também algum tipo de apoio. Assim, agradeço às equipas e responsáveis da Produção (Adegas e Fabrico), e às pessoas dos Armazéns Gerais, da Logística, dos SMEFs, da Manutenção e da Metrologia.

Resumo

A maltagem é um processo biotecnológico que antecede o fabrico de cerveja e consiste em transformar cereais (nomeadamente cevada) em malte. O processo malteiro divide-se em três fases essenciais: molha, germinação e estufagem. Na molha, é aumentado o teor de água do grão, de 12-13% para cerca de 40%, o que ativa o seu metabolismo; durante a fase de germinação, ocorrem processos metabólicos que resultam na produção de enzimas, na hidrólise de moléculas complexas e no crescimento de tecidos; a estufagem interrompe o processo germinativo, por sujeição do grão a elevadas temperaturas e devido à redução do teor de humidade, e promove o desenvolvimento de cor e de aromas/gostos característicos da cerveja.

Sendo a maltagem um processo industrial, acarreta um consumo considerável de energia (nomeadamente elétrica e térmica), principalmente a fase de estufagem, o que se traduz também em elevados custos para o produtor. Como tal, o presente trabalho, através da realização de mini-fabricos de malte de cevada (variedades *Quench* e *Tipple*) na Instalação Piloto de Mini-maltagem da Unicer Bebidas S.A., teve em vista a redução dos consumos de eletricidade e vapor durante a estufagem, com o intuito de otimizar, em termos energéticos, o processo semi-industrial (escala de mini-maltagem) de produção de malte *Pilsner*, que é um malte base, extensivamente utilizado no fabrico de cerveja. Para tal, foram experimentadas duas abordagens: estufagem a menor temperatura (75°C, em vez dos 85°C *standard*) e menor teor de humidade na germinação (inferior a 40% durante todo o período de germinação). De ressaltar a importância de um dos critérios absolutamente fulcrais para avaliar o sucesso deste trabalho ter sido a manutenção (ou mesmo melhoramento) da qualidade do produto final, neste caso malte *Pilsner*; para isso, após cada fabrico de malte, foi efetuado um conjunto de análises laboratoriais (físicas e químicas), que permitiram averiguar, a vários níveis, a qualidade do produto. Destas, destacam-se as determinações da modificação e da homogeneidade do malte, do teor de β -glucanos no mosto, do teor de extrato e do teor de humidade do malte, do poder diastásico, do teor de azoto solúvel no mosto e dos níveis de DMS e DMSP no malte.

Foram identificados quatro principais fatores capazes de influenciar profundamente o processo de maltagem e a qualidade do malte obtido: massa inicial de cevada, teor de humidade do malte verde, a temperatura de *curing* e a ventilação durante a estufagem. No total, foram realizados 10 fabricos, quatro deles *standard*, quatro em que a temperatura máxima da estufagem foi de 75°C e dois em que a

germinação foi mantida a um baixo teor de humidade. De facto, poupanças de energia térmica foram conseguidas em dois ensaios de temperatura mais baixa na estufagem (redução de 19% de volume de vapor); em ambos os ensaios em que o teor de humidade do grão foi mantido mais baixo do que no procedimento *standard* durante a germinação foram observadas poupanças de eletricidade (8%) e de vapor (14%). Porém, verificaram-se impactos negativos na qualidade do malte: o teor de humidade foi alto no malte final dos ensaios de menor temperatura de estufagem (valores de humidade entre 5,0 e 5,3%), e, nos ensaios de menor humidade na germinação, observou-se uma redução dos níveis de azoto aminado livre no mosto (redução de até 28%) e da atividade das enzimas β -glucanase (30%) e β -amilase (até 16%). Contudo, também se verificaram impactos positivos, como o aumento da atividade das amilases (e do poder diastásico) e da β -glucanase nos ensaios em que foi reduzida a temperatura máxima da fase de estufagem: aumento de até 31% de atividade para α -amilase, 14% para β -amilase e de até 173% para β -glucanase, e aumento de até 37% de poder diastásico; para além disso a redução da temperatura de *curing* não causou aumento do teor de DMSP no malte, tendo mesmo reduzido o teor de DMS (até 21%).

Conclui-se que, apesar de terem sido conseguidas poupanças energéticas através de ambas as abordagens testadas, há que ter em atenção que: seria importante estudar o impacto de cada uma das abordagens num maior número de parâmetros de qualidade; o estudo devia ser estendido a outras variedades de cevada; os valores dos gastos energéticos foram estimados de forma indireta, pelo que o recurso a contadores de energia permitiria otimizar estes cálculos; este é um estudo no contexto de mini-maltagem, pelo que ainda é prematuro transportar diretamente os resultados e conclusões para a realidade de maltagem em grande escala. Apesar de preliminares, estes ensaios revestem-se de importância e deverá ser feito um esforço para otimizar as alterações que já foram introduzidas, que exibem potencial para, não só tornar definitivamente mais rentável a mini-produção de malte *Pilsner*, mas, porventura, também a produção industrial em grande escala deste tipo de malte, o que poderia resultar em poupanças de energia e de dinheiro muito substanciais, quer para as malterias, quer para cervejeiras.

Palavras-chave: mini-maltagem, cevada, *Pilsner*, poupança, energia, temperatura, humidade, *curing*, germinação.

Abstract

Malting is a biotechnological process that precedes brewing and consists in transforming cereals (namely barley) into malt. The malting process is divided into three essential stages: steeping, germination and kilning. Through steeping, the grain's moisture content is raised from 12-13% to 40%, which will activate its metabolism; during the germination stage, metabolic processes occur, which result in enzymes production, hydrolysis of complex molecules and tissue growth; kilning stops the germination process, by exposing the grain to high temperatures and by the reduction of its moisture content, and promotes the development of beer's colour and aroma/taste.

Because malting is an industrial process, it entails a considerable energy consumption (namely electric and thermal energy), especially the kilning stage, which also results in high costs for the producer. As so, the present work, through the execution of barley (Quench and Tipple varieties) mini-malting assays in the Unicer Bebidas S.A.'s Mini-malting Pilot Unit, aimed at the reduction of electricity and vapor consumptions during kilning, in order to optimize, in terms of energy, the semi-industrial process (mini-malting scale) of Pilsner malt production, which is a base malt, widely used in brewing. To achieve that, two approaches were tested: kilning at lower temperature (75°C, instead of the standard 85°C) and lower moisture content during germination stage (lower than 40% during all germination period). It is important to bear in mind that one of the absolutely central criteria in order to assess this work's success was the maintenance (or even improvement) of the final product's quality, in this case Pilsner malt; in order to do this, after each assay, a set of laboratory analysis (physical and chemical) was conducted, which allowed do assess, at different levels, the product's quality. Among these, a special attention is given to the determination of malt's modification and homogeneity, of β -glucan content of wort, of malt's extract and moisture content, of diastatic power, of soluble nitrogen content of wort and of DMS and DMSP contents of malt.

Four factors capable of deeply affecting malting process and final malt quality were identified: barley initial mass, green malt moisture content, curing temperature and aeration profile during kilning. In total, 10 assays were performed: four standard, four in which kilning highest temperature was 75°C, and two in which germination's moisture content was kept low. Energy savings were attained in two of the lower kilning temperature assays (volume of vapor consumption was decreased by 19%); in both assays in which grain's moisture content was kept lower than standard procedure

during germination savings were observed in terms of electricity (8%) and vapor (14%). Nonetheless, negative impacts were observed regarding malt's quality: final malt's moisture content was high following lower kilning temperature assays (moisture values between 5,0 and 5,3%), and, for the assays with lower moisture during germination, a reduction in the levels of free amino nitrogen was noted (decrease up to 28%), as well as in β -glucanase (30%) and β -amylase (16%) activity. However, some positive contributions were observed, like the increase in amylase and β -glucanase activity (and in the diastatic power) for the assays in which kilning highest temperature was decreased: there was an increase of up to 31% in α -amylase activity, 14% for β -amylase and 173% for β -glucanase, while diastatic power was raised up to 37%; furthermore, decreasing curing temperature did not cause an increase in malt DMSP content and reduced its DMS content (up to 21%).)

In conclusion, besides energy savings were accomplished through both approaches attempted, it is important to bear in mind that: it would be important to study the influence of each approach regarding a greater number of quality assessment parameters; this study should be extended to other barley varieties; energy consumption values were estimated indirectly, so the use of energy meters would allow calculi optimization; this is a mini-malting study, so it is yet early to directly implement these results and conclusions in great scale malting. Although preliminary, these assays are important and an effort is to be made in order to optimize the already established alterations, which exhibit potential, not only to render a definitely more profitable Pilsner malt mini-production, but, perhaps, also improve the great scale industrial production of this type of malt, which could result in very substantial energy and money savings for both malting and brewing companies.

Keywords: mini-malting, barley, Pilsner, savings, energy, temperature, moisture, curing, germination.

Índice

Lista de Tabelas	10
Lista de Figuras	14
Lista de Abreviaturas	19
1. Introdução	20
1.1. Introdução à maltagem	20
1.2. Cevada.....	21
1.2.1. Composição química	22
1.2.2. Variedades	25
1.2.3. Morfologia.....	26
1.2.4. Características da cevada para maltagem	31
1.2.5. Atividade antioxidante da cevada.....	33
1.3. Etapas das maltagem	33
1.3.1. Molha.....	34
1.3.2. Germinação	37
1.3.3. Estufagem	50
1.3.4. Combinação de molha, germinação e estufagem (SGKV)	58
1.3.5. Desradiculação	59
1.3.6. Torra.....	60
1.3.7. Armazenamento	60
1.4. Outros aspetos técnicos da malteria.....	60
1.4.1. Qualidade e recirculação da água.....	60
1.4.2. Remoção de poeiras.....	60
1.5. Perdas durante a maltagem	61
1.6. Microflora em maltagem	62
1.7. Plano de inspeção e ensaios.....	64
1.8. Tipos de malte.....	67
1.8.1. Maltes especiais	67

1.8.2. Maltes Caramelo e Cristal.....	68
1.8.3. Maltes escuros.....	69
1.8.4. Maltes torrados	69
1.8.5. Outros maltes	69
1.9. Enquadramento e objetivo do trabalho	70
2. Materiais e métodos	73
2.1. Ensaios de mini-maltagem	73
2.2. Plano de análises	82
2.3. Reagentes.....	96
3. Resultados e discussão	97
3.1. Ensaios <i>standard</i> / preliminares (<i>Quench</i>).....	97
3.1.1. Análises à cevada.....	97
3.1.2. Ensaios de mini-maltagem.....	97
3.1.3. Consumos energéticos	104
3.1.4. Parâmetros de qualidade do malte	106
3.2. Ensaio de menor temperatura de <i>curing</i> (<i>Quench</i>)	110
3.2.1. Análises à cevada.....	110
3.2.2. Ensaio de mini-maltagem.....	111
3.2.3. Consumos energéticos	116
3.2.4. Parâmetros de qualidade do malte	117
3.3. Ensaio <i>standard</i> / preliminar (<i>Tipple</i>)	120
3.3.1. Análises à cevada.....	120
3.3.2. Ensaio de mini-maltagem.....	121
3.3.3. Consumos energéticos	123
3.3.4. Parâmetros de qualidade do malte	123
3.4. Ensaios de menor temperatura de <i>curing</i> (<i>Tipple</i>)	124
3.4.1. Análises à cevada.....	124
3.4.2. Ensaios de mini-maltagem.....	125
3.4.3. Consumos energéticos	134

3.4.4. Parâmetros de qualidade do malte	135
3.5. Ensaio de menor teor de humidade durante a germinação.....	141
3.5.1. Análises à cevada.....	141
3.5.2. Ensaio de mini-maltagem.....	142
3.5.3. Consumos energéticos	147
3.5.4. Parâmetros de qualidade do malte	149
4. Conclusões	153
4.1. Influência da massa de cevada	153
4.2. Influência do teor de humidade.....	154
4.3. Influência da temperatura de <i>curing</i> e da ventilação durante a estufagem	156
4.4. Consumos energéticos.....	156
4.5. Parâmetros de qualidade do malte	157
4.6. Perspetivas futuras.....	160
5. Bibliografia	162

Lista de Tabelas

Tabela 1. Composição química do grão de cevada [<i>The Scandinavian School of Brewing</i>]	22
Tabela 2. Rendimento médio da maltagem, com indicação das perdas que ocorrem nas várias fases que compreendem a entrada da cevada até à limpeza do malte [<i>The Scandinavian School of Brewing</i>]	61
Tabela 3. Plano de inspeção e ensaios em maltagem	64
Tabela 4. Diferenças entre o processo de produção de malte <i>Pilsner</i> (padrão) e o de produção de malte especial [adaptado de Kunze e Mieth, 1999]	68
Tabela 5. Resultados do plano de análises à cevada da variedade <i>Quench</i> , usada nos ensaios de mini-maltagem. Análises efetuadas pelo fornecedor (Maltibérica)	73
Tabela 6. Resultados do plano de análises à cevada da variedade <i>Tipple</i> , usada nos ensaios de mini-maltagem. Análises efetuadas pelo fornecedor (Maltibérica)	73
Tabela 7. Parâmetros do programa da primeira fase húmida da molha standard	79
Tabela 8. Parâmetros do programa da primeira fase seca da molha standard	79
Tabela 9. Parâmetros do programa da segunda fase húmida da molha standard	80
Tabela 10. Parâmetros do programa da segunda fase seca da molha standard	80
Tabela 11. Exemplo de programa de germinação	81
Tabela 12. Parâmetros gerais da germinação	81
Tabela 13. Programa standard de estufagem	81
Tabela 14. Parâmetros gerais da estufagem standard	82
Tabela 15. Análises efetuadas à cevada, ao grão em germinação e ao malte final de cada ensaio	82
Tabela 16. Resultados da determinação do teor de humidade e da triagem da cevada <i>Quench</i> utilizada nos ensaios 1, 2 e 4 (standard)	97
Tabela 17. Valor da massa inicial de cevada para os três fabricos <i>standard</i> com cevada <i>Quench</i>	98
Tabela 18. Valores do teor de humidade da cevada, da percentagem de <i>chitting</i> alcançada e da duração da molha para os fabricos 1, 2 e 4	98
Tabela 19. Programa de germinação do 1º ensaio (duração: 119 h)	99
Tabela 20. Programa de germinação do 2º ensaio (duração: 89 h)	99
Tabela 21. Programa de germinação do 4º ensaio (duração: 93 h)	99

Tabela 22. Valores diários da percentagem de modificação do grão durante a germinação. Não há resultados do 5º dia para os fabricos 2 e 4, uma vez que ambos tiveram uma duração inferior a 4 dias completos.....	100
Tabela 23. Informações mais relevantes da fase de germinação nos ensaios <i>standard</i> com cevada <i>Quench</i>	102
Tabela 24. Valores de duração de fase pré-break, duração do curing, duração da estufagem, massa final de malte, e teor de humidade do malte seco, para os ensaios 1, 2 e 4. A massa de malte seco do fabrico 1 não foi registada.....	103
Tabela 25. Dados relativos aos consumos energéticos e a sua relação com a duração da estufagem, com a massa de cevada e com o teor de humidade do malte verde, para os fabricos 1, 2 e 4.....	106
Tabela 26. Valores do extrato (em %) e do poder diastásico (em WK), obtidos a partir do mosto dos fabricos 1, 2 e 4. Não foi determinado o poder diastásico do mosto do fabrico 1	108
Tabela 27. Resultados da triagem do malte e do pH do mosto obtidos para os fabricos 1, 2 e 4	110
Tabela 28. Resultados obtidos para a determinação do teor de humidade e para a triagem da cevada <i>Quench</i> utilizada no ensaio 3	110
Tabela 29. Programa de germinação do 3º ensaio (duração: 124 h)	111
Tabela 30. Aumento da modificação do grão no decorrer da germinação do fabrico 3	113
Tabela 31. Informações mais relevantes da fase de germinação dos ensaios com cevada <i>Quench</i>	113
Tabela 32. Programa de estufagem do fabrico 3	114
Tabela 33. Parâmetros da fase de estufagem do fabrico 3.....	114
Tabela 34. Valores de duração de fase pré-break, duração do curing, duração da estufagem, massa final de malte e teor de humidade do malte seco, para os ensaios 2 e 3	115
Tabela 35. Dados relativos aos consumos energéticos e a sua relação com a duração da estufagem, com a massa de cevada e com o teor de humidade do malte verde, para os fabricos 1, 2, 3 e 4.....	117
Tabela 36. Resultados da determinação do teor de azoto solúvel e da determinação do teor de azoto aminado livre no mosto do 3º ensaio	119
Tabela 37. Resultados da triagem do malte e do pH do mosto, obtidos para o 3º ensaio	119

Tabela 38. Resultados obtidos para o teor de humidade e para a triagem da cevada <i>Tipple</i> utilizada no ensaio 5	120
Tabela 39. Programa de germinação do 5º ensaio (duração: 146 h)	121
Tabela 40. Informações mais relevantes da fase de germinação do ensaio 5	122
Tabela 41. Valores de duração de fase pré-break, duração do curing, duração da estufagem, massa final de malte e teor de humidade do malte seco, para o ensaio 5	122
Tabela 42. Dados relativos aos consumos energéticos e a sua relação com a duração da estufagem, com a massa de cevada e com o teor de humidade do malte verde, para o fabrico 5	123
Tabela 43. Valores da modificação, friabilidade do malte, teor de β -glucanos e atividade da enzima endo- β -glucanase no malte do fabrico 5	124
Tabela 44. Resultados das análises relativas à amilólise e proteólise ocorridas durante a maltagem da cevada do fabrico 5	124
Tabela 45. Resultados da triagem, da homogeneidade, do poder anti-radicalar, do teor de DMS e do pH do mosto obtidos para o malte do 5º ensaio	124
Tabela 46. Resultados obtidos para a determinação do teor de humidade e para a triagem da cevada <i>Tipple</i> utilizada nos ensaios 7, 8 e 9	125
Tabela 47. Valores do teor de humidade da cevada, calculados pelo autómato, e da percentagem de <i>chitting</i> após a fase de molha, para os ensaios 7, 8 e 9	126
Tabela 48. Programa de germinação do 7º ensaio (duração: 124 h)	126
Tabela 49. Programa de germinação do 8º ensaio (duração: 149 h)	126
Tabela 50. Programa de germinação do 9º ensaio (duração: 125 h)	127
Tabela 51. Dados mais importantes relacionados com a fase de germinação nos ensaios 7, 8 e 9.....	129
Tabela 52. Programa de estufagem do fabrico 7	130
Tabela 53. Parâmetros da fase de estufagem do fabrico 7	130
Tabela 54. Programa de estufagem dos fabricos 8 e 9	130
Tabela 55. Parâmetros da fase de estufagem do fabrico 8.....	130
Tabela 56. Parâmetros da fase de estufagem do fabrico 9.....	131
Tabela 57. Valores de duração de fase pré-break, duração do curing, duração da estufagem, massa final de malte e teor de humidade do malte seco, para os ensaios 5, 7, 8 e 9	132
Tabela 58. Dados dos consumos energéticos relativos à massa de cevada e ao teor de humidade do malte verde, para os fabricos 5, 7, 8 e 9	135

Tabela 59. Resultados da triagem e da determinação do pH do mosto obtidos para os fabricos 7, 8 e 9	139
Tabela 60. Resultados da triagem e valores do teor de humidade das amostras de cevada <i>Tipple</i> utilizadas nos ensaios 10 e 11	141
Tabela 61. Valores do teor de humidade da cevada, calculados pelo autómato, e da percentagem de <i>chitting</i> após a fase de molha, para os ensaios 5, 10 e 11.....	143
Tabela 62. Programa de germinação do 10º ensaio (duração: 199 h)	143
Tabela 63. Programa de germinação do 11º ensaio (duração 170 h)	143
Tabela 64. Dados mais importantes relacionados com a fase de germinação nos ensaios 5, 10 e 11	145
Tabela 65. Valores de duração de fase pré-break, duração do curing, duração da estufagem, massa final de malte e teor de humidade do malte seco, para os ensaios 5, 10 e 11	146
Tabela 66. Dados dos consumos energéticos relativos e do teor de humidade do malte verde, para os fabricos 5, 10 e 11	148
Tabela 67. Resultados da triagem e da determinação do pH do mosto obtidos para os fabricos 10 e 11, e da determinação da homogeneidade do malte do fabrico 10	152

Lista de Figuras

Figura 1. Fórmula estrutural da amilose (a) e da amilopectina (b) [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282005000400011].	23
Figura 2. Fórmula estrutural do β -glucano [http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates2.html].	24
Figura 3. Fórmula estrutural do E-2-nonenal [http://www.coleparmer.com/buy/product/34208-trans-2-nonenal-95-25ml-ac298310250.html].	25
Figura 4. Comparação entre cevada de duas fileiras e de seis fileiras. À esquerda, espigas de cevada de duas fileiras (2r) e de cevada de seis fileiras (6r); à direita, comparação entre a morfologia de um grão de cevada de duas fileiras (esquerda) e um de seis fileiras (direita) [http://en.wikipedia.org/wiki/Bere_(grain)].	26
Figura 5. Morfologia de um grão de cevada em germinação [adaptado de http://brejadobreda.blogspot.pt/2013/05/maltear-ou-torrar-eis-questao.html].	31
Figura 6. Ilustração de um tanque de molha cilindro-cónico [Brissart <i>et al.</i> , 2000].	36
Figura 7. Esquerda: tanque de molha cilíndrico com carga e descarga de grão automática [de Pinho Ferreira Guiné e dos Reis Correia, 2013]. Direita: ilustração de um tanque cilíndrico, equipado com um dispositivo que permite o carregamento do grão para o tanque (pode ser subido e baixado); o ar entra no tanque por cima durante as fases a seco da molha, e por baixo durante as fases de imersão; a saída do material dá-se pela parte inferior do tanque [Brissart <i>et al.</i> , 2000].	37
Figura 8. Sequência de passos que estão na base do processo bioquímico de germinação do grão de cevada (AG: ácido giberélico) [adaptado de http://5e.plantphys.net/images/ch20/wt2002c_s.jpg].	38
Figura 9. Grão de cevada ao qual foi removido o envelope do lado dorsal. A plúmula e as radículas estão evidenciadas.	41
Figura 10. Ação das endo- β -glucanases sobre a molécula de β -glucano [adaptado de http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates2.html].	44
Figura 11. Locais de quebra da molécula de amido por α -amilase, β -amilase e dextrinase limite [adaptado de http://hotelmule.com/html/85/n-1785-26.html].	46
Figura 12. Caixa de Saladin retangular, com revolvimento ativo [http://www.mopos.com/production-programme/malt_plants.htm?lang=en].	48

Figura 13. Germinação no chão [http://www.maison-de-stuff.net/john/pictures/EdinburghAndIslay/05/].	49
Figura 14. Exemplo de diagrama de estufagem de malte Pilsen. Quando a temperatura do ar _{off} (T _{saída}) atinge 45°C, efetua-se um único revolvimento do grão (fim da primeira fase da estufagem); aos 60°C, é iniciada a recirculação do ar _{off} , que deixa de estar saturado. A “velocidade” referida diz respeito à força da ventilação (em % da velocidade máxima da ventoinha). Observa-se uma aproximação da temperatura do ar _{off} (vermelho) relativamente ao ar _{on} (azul) com o avançar da estufagem.	52
Figura 15. Conversão de DMSP a DMS promovida por elevada temperatura [adaptado de http://culturingscience.files.wordpress.com/2010/07/2010_07_18_dmsp_dms_vanalstyne2001.jpg].	55
Figura 16. Tanque de estufagem <i>single deck</i> circular [de Pinho Ferreira Guiné e dos Reis Correia, 2013].	56
Figura 17. Sistema de recuperação de calor <i>air-to-air</i> [Brissart et al., 2000].	57
Figura 18. Sistema de recuperação de calor <i>run-around</i> [Brissart et al., 2000].	58
Figura 19. SGKV [http://altavina.ru/images/blog_url/89.jpeg].	59
Figura 20. Friabilímetro [http://www.graintec.com.au/malt-friabilimeter.html].	66
Figura 21. Tanque de armazenamento de cevada (esquerda) e sistema de aspiração de ar com filtros de poeiras (direita).	74
Figura 22. Transportador parafuso de cevada para o tanque de molha (esquerda) e chapa sob o tanque de armazenamento de cevada (direita).	74
Figura 23. Tanque de molha.	75
Figura 24. Transportador sem-fim para o tanque de germinação / estufagem.	76
Figura 25. Tanque de germinação/estufagem (esquerda), girador (centro) e chão falso do tanque de germinação/estufagem (direita).	77
Figura 26. Transportador sem-fim de malte seco para a desradiculação.	78
Figura 27. Dispositivo de desradiculação (esquerda) e silo de armazenamento de malte (direita).	78
Figura 28. Valores do teor de humidade do grão durante a germinação para o 1º (a), 2º (b) e 4º (c) ensaios.	100
Figura 29. Variação da percentagem de modificação do grão ao longo da germinação, para os fabricos 1, 2 e 4.	101
Figura 30. Diagramas de estufagem dos fabricos 1 (a), 2 (b) e 4 (c).	104
Figura 31. Velocidade da ventoinha de arejamento, em % da sua capacidade máxima, ao longo do tempo de estufagem, para os fabricos 1 (a), 2 (b) e 4 (c).	105

Figura 32. Consumo elétrico (da ventoinha da estufagem) e área do diagrama de estufagem (proporcional ao volume de vapor consumido) calculados para os fabricos 1, 2 e 4.....	105
Figura 33. Resultados das análises relacionadas com a degradação citolítica ocorrida durante a maltagem, para os fabricos 1, 2 e 4. Para a determinação do teor de β -glucanos e da atividade da β -glucanase, $n=2$. (<u>Especificações</u> : friabilidade > 80% e < 95%; modificação > 85%; teor de β -glucanos < 200 mg/L).....	107
Figura 34. Resultados da determinação do teor de azoto solúvel e da determinação do teor de azoto aminado livre no mosto dos fabricos 1, 2 e 4 (determinação do teor de azoto solúvel: $n=2$; determinação do teor de azoto aminado livre: $n=2$ para os fabricos 1 e 2, e $n=4$ para o fabrico 4).	109
Figura 35. Resultados da determinação da homogeneidade do malte dos fabricos 1, 2 e 4.	110
Figura 36. Valores da massa de cevada <i>Quench</i> inicial utilizada nos fabricos 1, 2, 3 e 4.	111
Figura 37. Duração da fase de germinação dos fabricos 1, 2, 3 e 4.	112
Figura 38. Valor do teor de humidade do grão recolhido no final de cada dia da germinação do fabrico 3.....	112
Figura 39. Aumento da percentagem de modificação do grão ao longo da germinação, para os fabricos 1, 2, 3 e 4.	113
Figura 40. Duração da fase pré- <i>break</i> , do <i>curing</i> e da fase de estufagem dos fabricos com cevada <i>Quench</i> (esquerda); e teor de humidade do malte final dos fabricos 1, 2, 3 e 4 (direita).	115
Figura 41. Diagramas de estufagem dos fabricos 2 (esquerda) e 3 (direita).	115
Figura 42. Velocidade da ventoinha de arejamento, em % da sua capacidade máxima, ao longo do tempo de estufagem, para os fabricos 2 (esquerda) e 3 (direita).....	116
Figura 43. Consumo elétrico (da ventoinha da estufagem) e área do diagrama de estufagem (proporcional ao volume de vapor consumido) calculados para os fabricos 2 e 3.	116
Figura 44. Resultados das determinações do teor de β -glucanos no mosto (a), da modificação e da friabilidade (b) e da atividade da β -glucanase (c) para os ensaios 1, 2, 3 e 4. A atividade da endo- β -glucanase não foi determinada no malte do fabrico 1. Para a determinação do teor de β -glucanos, $n=2$; para a determinação da atividade enzimática, $n=3$	118
Figura 45. Valores de extrato (esquerda) e de poder diastásico (direita) obtidos para o malte dos fabricos com cevada <i>Quench</i> . Não foi efetuada a determinação do poder	

diastásico no malte do fabrico 1. Na determinação do teor de extrato: $n=5$ para os fabricos 1 e 3; $n=2$ para o fabrico 2; $n=6$ para o fabrico 4. Na determinação do poder diastásico, $n=2$ para todos os ensaios.....	119
Figura 46. Valores de homogeneidade do malte dos fabricos 1, 2, 3 e 4.	120
Figura 47. Valor do teor de humidade do grão recolhido no final de cada dia da germinação do fabrico 5.....	121
Figura 48. Variação da percentagem de modificação do grão ao longo da germinação do 5º ensaio.....	122
Figura 49. Diagrama de estufagem (esquerda) e gráfico da ventilação durante a estufagem (direita) do fabrico 5.	123
Figura 50. Massa inicial de cevada utilizada nos fabricos 5, 7, 8 e 9.	125
Figura 51. Duração da fase de germinação para os fabricos 7, 8 e 9.	127
Figura 52. Variação do valor do teor de humidade do grão durante os dias de germinação dos fabricos 7 (a), 8 (b) e 9 (c).	128
Figura 53. Variação da percentagem de modificação do grão ao longo da germinação dos fabricos 7, 8 e 9.....	129
Figura 54. Diagramas de estufagem dos fabricos 5 (a), 7 (b) 8 (c) e 9 (d).	133
Figura 55. Velocidade da ventoinha de arejamento, em % da sua capacidade máxima, ao longo do tempo de estufagem, para os fabricos 5 (a), 7 (b), 8 (c) e 9 (d).	133
Figura 56. Consumo elétrico (da ventoinha da estufagem) e área do diagrama de estufagem (proporcional ao volume de vapor consumido) calculados para os fabricos 5, 7, 8 e 9.	134
Figura 57. Resultados das análises relacionadas com a degradação citolítica (modificação e friabilidade do malte, esquerda; teor de β -glucanos no mosto e atividade da β -glucanase, direita) para os fabricos 5, 7, 8 e 9 (<u>Especificações</u> : modificação > 85%; friabilidade > 80% e < 95%; teor de β -glucanos < 200 mg/L).	136
Figura 58. Resultados do teor de extrato (a), do poder diastásico (b) e das atividades de α - (c) e β -amilase (d) no malte dos fabricos 5, 7, 8 e 9. Para a determinação do teor de extrato, $n=7$ para o fabrico 5, $n=4$ para o fabrico 7, $n=8$ para o fabrico 8 e $n=6$ para o fabrico 9; para a determinação do poder diastásico, $n=2$ para todos os fabricos; para a determinação da atividade de α e β -amilase, $n=2$ para todas as amostras.	138
Figura 59. Resultados da determinação do teor de azoto solúvel e da determinação do teor de azoto aminado livre no mosto dos fabricos 5, 7, 8 e 9. Para a determinação do teor de azoto solúvel: $n=1$ para o fabrico 5, e $n=2$ para os restantes; para a determinação do teor de azoto solúvel: $n=4$ para o fabrico 5, $n=2$ para o fabrico 7, e $n=6$ para os fabricos 8 e 9.	139

Figura 60. Resultados da determinação da homogeneidade do malte dos fabricos 7, 8 e 9 (esquerda), e do teor de DMS no malte dos fabricos 5, 7, 8 e 9 (direita).....	141
Figura 61. Massa inicial de cevada <i>Tipple</i> utilizada nos fabricos 5, 10 e 11.	142
Figura 62. Variação do valor do teor de humidade do grão durante os dias de germinação dos fabricos 10 (esquerda) e 11 (direita).	144
Figura 63. Variação da percentagem de modificação do grão ao longo da germinação, para os fabricos 5, 10 e 11.	145
Figura 64. Diagramas de estufagem dos fabricos 5 (a), 10 (b) e 11 (c).	146
Figura 65. Velocidade da ventoinha de arejamento, em % da sua capacidade máxima, ao longo do tempo de estufagem, para os fabricos 10 (esquerda) e 11 (direita).	147
Figura 66. Consumo elétrico (da ventoinha da estufagem) e área do diagrama de estufagem (proporcional ao volume de vapor consumido) calculados para os fabricos 5, 10 e 11.	147
Figura 67. Resultados das análises relacionadas com a degradação citolítica para os fabricos 5, 10 e 11 (<u>especificações</u> : friabilidade > 80% e < 95%; modificação > 85%).	149
Figura 68. Resultados do teor de extrato, do poder diastásico e das atividades de α - e β -amilase no malte dos fabricos 5, 10 e 11. Para a determinação do extrato, $n=7$ para o fabrico 5, $n=10$ para o fabrico 10, e $n=6$ para o fabrico 11; as análises de determinação do poder diastásico e da atividade de α - e β -amilase foram feitas em duplicados ($n=2$).	151
Figura 69. Resultados da determinação do teor de azoto aminado livre no mosto dos fabricos 5, 10 e 11; $n=4$ para os fabricos 5 e 10, e $n=6$ para o fabrico 11.	152
Figura 70. Teor de humidade médio dos maltes verdes dos fabricos 2-4, 5-9 e 10 e 11 (a); tempo de germinação médio dos fabricos 1-4, 5-9 e 10 e 11 (b); e percentagem de modificação média do malte verde dos fabricos 1-7 e 8-11 (c). Nos fabricos 1-4, foi feita a tentativa de manter o teor de humidade durante a germinação acima de 43%; nos fabricos 5-9, foram apenas efetuadas duas adições de água durante a germinação; nos fabricos 10 e 11, o teor de humidade do grão foi sempre mantido abaixo de 40%.	156
Figura 71. Consumo de energia (elétrica e térmica), por kg de cevada, na estufagem de todos os fabricos de malte efetuados.	157

Lista de Abreviaturas

BNPG7 - *p*-nitrofenilmaltoheptaósido
BSA – albumina sérica bovina
CAR-PDMS – Carboxen®/Polydimethylsiloxane
DMS – dimetilsulfureto
DMSO – dimetilsulfóxido
DMSP – precursor do dimetilsulfureto
EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético
EMS – Etil Metil Sulfeto
GKV – *germination and kilning vessel*
HS-SPME – *Headspace Solid-Phase Micro Extraction*
IFBM – *Institut Français de la Brasserie et de la Malterie*
IPM – Instalação Piloto de Mini-maltagem
LIE – limite inferior especificado
LSE – limite superior especificado
MES – ácido 2-(*N*-morfolino)etanossulfónico
NDMA - *N*-Nitrosodimetilamina
PNP β -G3 – *p*-nitrofenil- β -D-maltotriósido
ppb – partes por bilião
PR – *pathogenesis-related*
SGKV – *steeping, germination and kilning vessel*
SGV – *steeping and germination vessel*
UA – unidades arbitrárias
UC – unidades *Ceralpha*
WK – Windisch-Kolbach

1. Introdução

1.1. Introdução à maltagem

A maltagem faz parte do processo de fabrico da cerveja e consiste na produção de malte a partir de cereais. Os cereais normalmente usados em maltagem são a cevada, o trigo, o arroz e o milho; porém, uma vez que a cevada é o mais utilizado, é o que terá maior relevância no contexto deste trabalho.

A maltagem é um processo de germinação controlada, cujos principais propósitos são a produção de enzimas hidrolíticas (que irão realizar a degradação de grandes moléculas durante a brassagem) [The Scandinavian School of Brewing] e a liquidificação do endosperma do grão, por degradação das paredes celulares das células do endosperma [Brissart *et al.*, 2000], originando-se moléculas mais simples e mais solúveis em água. Assim, a ativação de enzimas que é pretendida durante a maltagem terá como principais efeitos a conversão das reservas de amido insolúvel do endosperma em amido solúvel, a redução dos níveis de proteínas complexas e a produção de nutrientes que serão importantes para o desenvolvimento da levedura durante a fermentação do mosto. Porém, é necessário ter o cuidado de limitar a atividade enzimática, e crescimento do grão, de modo a evitar perdas excessivas de extrato (açúcares fermentescíveis) [The Scandinavian School of Brewing], uma vez que as reservas energéticas são gastas pelo grão para que este possa crescer, não estando mais tarde disponíveis para as leveduras durante a fermentação; deste modo, os processos de degradação enzimática devem ser, primeiramente, promovidos, e, mais, tarde, restringidos, durante a maltagem [Kunze e Mieth, 1999].

As razões para ser usado malte de cevada na brassagem, e não a cevada, são seguidamente enumeradas: os constituintes da cevada, de elevado peso molecular, não são solúveis; o malte é a principal fonte de extrato e enzimas para a obtenção de açúcares fermentescíveis; é uma fonte de nutrientes para o crescimento de levedura; está na origem da cor e aroma/gosto da cerveja; providencia proteínas para a formação de espuma na cerveja.

O processo de maltagem, embora usualmente seja visto apenas como a sequência composta por molha, germinação e estufagem (por esta ordem), engloba mais passos, pelo que uma maltagem completa compreende:

1. Receção: em que há uma análise da qualidade da matéria bruta (cevada).

2. Limpeza: efetua-se a remoção de material não pretendido (poeira, palha, pedras, grãos pequenos...).
3. Secagem: é feita a redução da humidade para assegurar a estabilidade da cevada a longo prazo, preservando a estabilidade do embrião; reduz o período de dormência do grão [Kunze e Mieth, 1999].
4. Armazenamento: mantém o grão num ambiente ameno, seco e ventilado, para prevenir a degradação biológica por microorganismos.
5. Molha: limpa os grãos; hidrata e areja o grão, induzindo o início da germinação.
6. Germinação: permite o crescimento do embrião em condições controladas de humidade e temperatura; desenvolvem-se enzimas que hidrolisam os constituintes do endosperma.
7. Estufagem: reduz a humidade, o que para a germinação, interrompe a atividade enzimática e permite o armazenamento e a conservação do malte; remove sabores indesejados; desenvolve cor e sabores desejados.
8. Desradiculação: são removidas as radículas que crescem durante a germinação.
9. Torra (opcional): desenvolvem-se cor e sabores mais fortes, mas toda a atividade enzimática é destruída.
10. Armazenamento: deve manter a humidade e a qualidade do malte.

No final, deve ser obtido um malte de alta qualidade, o qual se define como um malte a partir do qual se consegue produzir boa cerveja, sem ocorrência de problemas nas fases seguintes do fabrico de cerveja.

1.2. Cevada

As principais razões para ser preferido o uso de cevada, em detrimento de outros cereais, na indústria cervejeira, listam-se de seguida: em primeiro lugar, não é um cereal muito exigente no que diz respeito às condições climáticas e aos solos em que pode ser cultivada, o que permite que seja extensamente produzida em vários pontos do globo, conferindo-lhe grande popularidade e disponibilidade; depois, há a contribuição das suas propriedades biológicas, como o facto de o grão de cevada possuir um elevado conteúdo em amido, uma elevada taxa de formação de enzimas, uma grande resistência mecânica e constituintes necessários à fermentação pelas leveduras, como aminoácidos e ácidos gordos insaturados. Contam-se também entre as vantagens que a cevada oferece a facilidade em controlar a sua germinação, a

existência de envelope (confere uma vantagem tecnológica) e o seu aroma e gosto agradáveis [Brissart, 2000].

1.2.1. Composição química

A composição química média do grão de cevada pode ser observada na **Tabela 1**. Constata-se que os valores médios dos teores dos diferentes constituintes químicos da cevada se encontram sob a forma de intervalos, o que se deve ao facto de diferentes variedades de cevada possuírem diferentes composições, traduzindo-se na preferência de certas variedades para determinados fins, consoante o tipo de malte, e de cerveja, que se pretenda produzir. Estas variações estão relacionadas com as condições em que a cevada é cultivada, sejam elas climatéricas ou relativas ao solo, e com o genótipo da variedade; isto é, a composição química da cevada é determinada por fatores genéticos e ambientais. Regra geral, quanto maior o teor de amido na cevada, menor o de proteínas, e vice-versa [Palmer, 1989].

Tabela 1. Composição química do grão de cevada [*The Scandinavian School of Brewing*]

Carboidratos 80%	Amido 62-66%
	Pentosanos 8-10%
	β-glucanos 3-5%
	Sacarose 1-2%
	Outros açúcares 1%
Proteínas 8-13%	Albuminas 0,5%
	Globulinas 3%
	Hordeínas 3-4%
	Glutelinas 3-4%
	Aminoácidos e péptidos 0,5%
Lípidos 2-3%	
Minerais 2%	
Outras substâncias 5-6%	

O amido, que se encontra principalmente no endosperma do grão, sob a forma de grânulos, é composto por amilose (cerca de 25%) e amilopectina (75%). A amilose (**Figura 1a**) apresenta-se como uma cadeia simples, sendo as ligações entre os monómeros de glucose da cadeia do tipo α-1,4; já a amilopectina (**Figura 1b**) é uma cadeia ramificada, exibindo, para além das ligações α-1,4, ligações α-1,6 nos pontos em que a cadeia ramifica [Palmer, 1989].

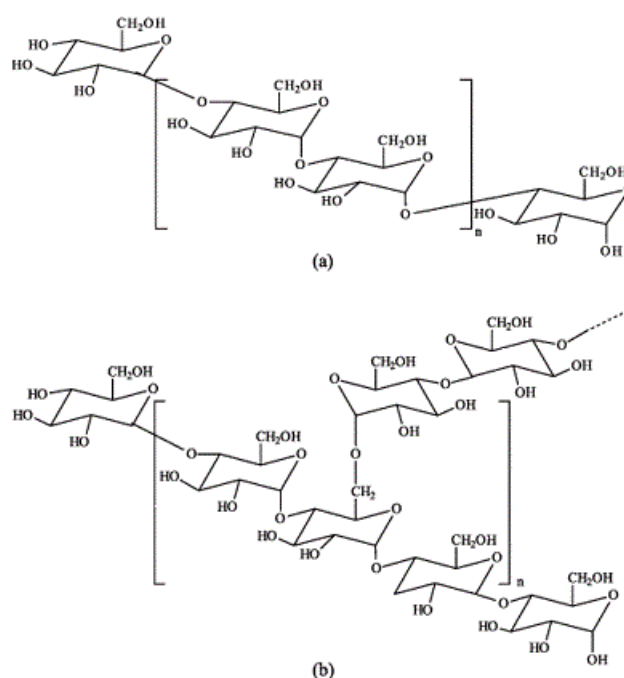


Figura 1. Fórmula estrutural da amilose (a) e da amilopectina (b) [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282005000400011].

Em grãos maduros, os β -D-glucanos localizam-se principalmente no endosperma, enquanto os pentosanos encontram-se em quantidades significativas nas paredes celulares do endosperma, na aleurona, no pericarpo e na envelope [Palmer, 1989]. Os β -D-glucanos são constituintes das paredes celulares e são homopolímeros de resíduos de D-glucopiranosil, ligados maioritariamente via duas ou três ligações β -1,4 consecutivas separadas por uma única ligação β -1,3 [Cui *et al.*, 2000] (**Figura 2**). A ação enzimática insuficiente durante a maltagem pode causar hidrólise incompleta de β -glucanos, produzindo-se moléculas de elevado peso molecular com padrões de ligação semelhantes, que possuem uma elevada tendência para se associarem e precipitar [Palmer, 1989], formando géis que, para além de aumentarem a viscosidade da cerveja, estão na origem de problemas que possam ocorrer durante a filtração do mosto. Um alto teor de β -glucanos na cevada pode também conduzir a uma degradação insuficiente das paredes celulares, o que, por seu turno, impede a difusão de enzimas, a germinação e a mobilização das reservas dos grãos, reduzindo o extrato do malte. Consequentemente, é expectável que uma maltagem mais eficiente esteja associada a níveis mais altos de β -glucanase e níveis mais baixos de β -glucanos nos grãos [Gupta *et al.*, 2010].

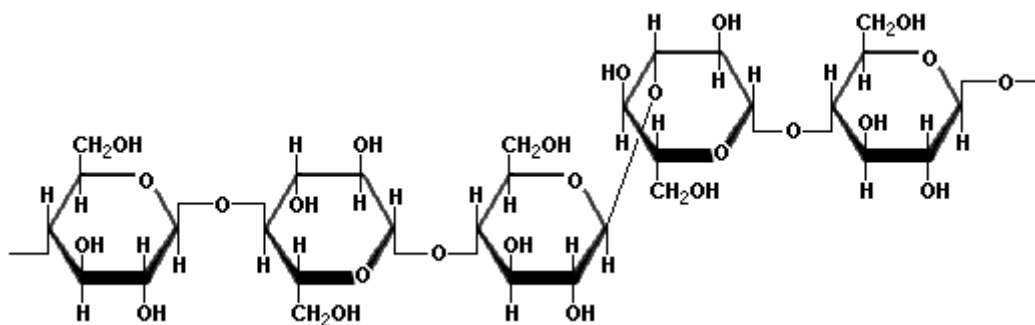


Figura 2. Fórmula estrutural do β -glucano [<http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates2.html>].

Os pentosanos estão ancorados às paredes celulares por intermédio de ligações mais fortes do que as dos β -glucanos, o que pode explicar que os pentosanos sejam muito menos solúveis e suscetíveis à hidrólise enzimática durante a maltagem. Durante a maltagem, os β -D-glucanos são degradados por β -glucanases (passando de um teor de 3-5% no grão de cevada para 0,2-1% no malte final), enquanto a degradação de pentosanos é mínima. Apesar disso, os β -glucanos parcialmente degradados são mais problemáticos para o processo cervejeiro do que os pentosanos, que praticamente não são degradados [Palmer, 1989].

As principais proteínas da cevada são as hordeínas (prolaminas), as glutelinas, as globulinas e as albuminas. As reservas de proteína no grão de cevada encontram-se principalmente no endosperma (70%), na camada de aleurona (20%) e no escutelo do grão; algumas estão intimamente associadas aos grânulos de amido e cerca de 5% encontram-se integradas nas paredes celulares. A agregação de hordeínas interfere na qualidade de maltagem, na medida em que forma uma matriz que envolve os grânulos de amido, dificultando a hidrólise do amido por amilases [*The Scandinavian School of Brewing*].

A maior parte dos lípidos da cevada encontra-se no embrião e na aleurona [Palmer, 1989], sendo o endosperma pobre em lípidos (menos de 2% do peso total do endosperma). Cerca de 70% dos lípidos da cevada são neutros (maioritariamente triglicéridos), 10-20% são fosfolípidos, e os glicolípidos correspondem a menos de 10% dos lípidos totais na cevada, tal como os ácidos gordos livres. Durante a maltagem, o processo de germinação da cevada resulta numa diminuição de até 30% dos níveis de lípidos no grão, principalmente devido à hidrólise de triglicéridos e ao metabolismo dos ácidos gordos [*The Scandinavian School of Brewing*], os quais podem ser libertados, sendo captados e utilizados pela levedura durante a fermentação.

As lipases convertem lípidos em ácidos gordos livres; estes podem depois: ser convertidos a aldeídos por lipoxigenases; originar glicolípidos e fosfolípidos; ou sofrer β -oxidação, rendendo carboidratos e energia. Na presença de oxigénio, os glicéridos e os ácidos gordos são convertidos, via lipases e lipoxigenases, a intermediários

hidroperóxidos, que são mais solúveis que os lípidos *per se*, e sobrevivem ao processo cervejeiro [Palmer, 1989]; os intermediários são posteriormente hidrolisados a componentes responsáveis pelo desenvolvimento de sabores indesejados (aldeídos, álcoois, lactonas e ácidos), por ação de enzimas termoestáveis. O ácido linoleico, o ácido gordo mais abundante na cevada, é precursor, via peroxidação por ação de lipoxigenases, do *E*-2-nonenal (**Figura 3**), um aldeído responsável pelo aroma/gosto a ranço na cerveja [*The Scandinavian School of Brewing*]. Também pode ocorrer a oxidação não enzimática dos lípidos, que é efetuada pelas formas de oxigénio parcialmente reduzido, e altamente reativas, como o peróxido de hidrogénio e os radicais superóxido e hidroxilo; desta forma, os níveis de superóxido dismutase (enzima maioritariamente ativa durante a germinação) presentes na cevada, serão importantes no que diz respeito a prevenir esta oxidação e consequente formação de espécies causadoras de sabor a ranço [Palmer, 1989].

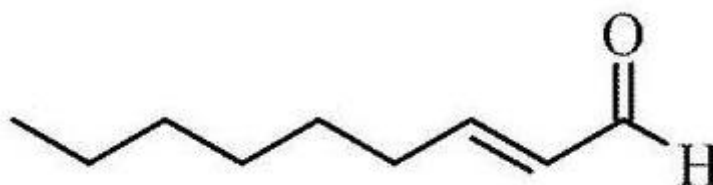


Figura 3. Fórmula estrutural do *E*-2-nonenal [<http://www.coleparmer.com/buy/product/34208-trans-2-nonenal-95-25ml-ac298310250.html>].

Pequenas quantidades de fosfolípidos encontram-se associadas a grânulos de amido e nas paredes celulares do endosperma. A ação de fosfolipases sobre os fosfolípidos da parede celular pode contribuir para a libertação de β -glucanos durante a maltagem, facilitando a quebra das paredes celulares e, consequentemente, o acesso ao amido no interior das células do endosperma. Lípidos em excesso na cerveja interferem com a estabilidade da espuma e podem formar complexos de inclusão na amilose do amido, dificultando a sua hidrólise [Palmer, 1989].

1.2.2. Variedades

Em relação ao cultivo da cevada, existem duas variedades: cevada de Primavera e de Inverno; estas ainda se subdividem em cevada de duas fileiras (dística) ou de seis fileiras (hexástica), no que diz respeito à distribuição dos grãos na espiga. Os grãos de cevada de seis fileiras possuem um maior teor de proteínas e, consequentemente, níveis mais baixos de amido, o que significa um maior poder enzimático; para além disso, possuem um envelope mais espesso, rico em polifenóis. Já o grão de cevada de duas fileiras é mais amplo e simétrico, visto que tem mais

espaço para crescer; o seu envelope é menos espesso em comparação com a cevada de seis fileiras, sendo, por isso, mais pobre em polifenóis. Para produção de malte, é tradicionalmente preferida a cevada de duas fileiras, nomeadamente a de Primavera, visto ser comparativamente mais rica em amido e, por isso, capaz de providenciar mais extrato. A cevada de seis fileiras, por seu turno, é usada quando é pretendida uma elevada actividade enzimática no malte [Brissart *et al.*, 2000]. A **Figura 4** é explanativa das diferenças entre cevada de duas fileiras e cevada de seis fileiras.



Figura 4. Comparação entre cevada de duas fileiras e de seis fileiras. À esquerda, espigas de cevada de duas fileiras (2r) e de cevada de seis fileiras (6r); à direita, comparação entre a morfologia de um grão de cevada de duas fileiras (esquerda) e um de seis fileiras (direita) [[http://en.wikipedia.org/wiki/Bere_\(grain\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Bere_(grain))].

1.2.3. Morfologia

O grão de cevada pode dividir-se em envelope, pericarpo, testa, embrião, aleurona e endosperma (**Figura 5**). O amido, cuja hidrólise fornecerá os açúcares que compõem o extrato que será utilizado pela levedura na fermentação, está concentrado no endosperma. As enzimas hidrolíticas responsáveis pela degradação do endosperma que ocorre durante a germinação são produzidas e libertadas pelas células da camada de aleurona, como resposta ao ácido giberélico sintetizado pelo embrião. O envelope, o pericarpo e a testa formam camadas protetoras cuja permeabilidade é seletiva.

Envelope

O envelope representa cerca de 10% do peso do grão e os seus principais componentes são sílica, celulose, pentosanos e lenhina; também contém compostos fenólicos, que conferem alguma adstringência à cerveja. O envelope é importante no processo de maltagem, e na indústria da cerveja, na medida em que medeia uma

absorção uniforme de água pelo grão, protege a plúmula que se desenvolve durante a germinação e facilita a filtração durante a brassagem. O envelope geralmente contém níveis toleráveis de fungos e bactérias. Infecção fúngica excessiva no envelope pode prejudicar a germinação, na medida em que influencia a sensibilidade da cevada à água [*The Scandinavian School of Brewing*].

A perda do envelope pelo grão de cevada, causada por danos no grão, reduz a qualidade do mesmo para maltagem e produção de cerveja: a germinação de amostras de cevada parcialmente descascada é desequilibrada, o que resulta num desenvolvimento enzimático também ele desequilibrado, e, conseqüentemente, numa modificação do endosperma heterogénea, provocando problemas no processo cervejeiro. Dano excessivo no envelope pode também impedir a função do mesmo no que diz respeito à filtração do mosto [Palmer, 1989].

Pericarpo e testa

O pericarpo encontra-se logo abaixo do envelope e representa cerca de 3% do peso do grão, rodeando-o por completo. Não contém amido e é impermeável a dióxido de carbono e a ácido giberélico [Palmer, 1989], devido à existência de uma fina camada lipídica na sua superfície exterior [*The Scandinavian School of Brewing*]. Assim, o ácido giberélico exógeno por vezes adicionado durante a maltagem (com vista a acelerar a germinação) tem de entrar na camada de aleurona por intermédio de absorção ao nível das radículas, sendo transportado para o interior do grão através do embrião. Danificar o pericarpo acelera a germinação, na medida em que favorece a chegada mais rápida de ácido giberélico exógeno à camada de aleurona, otimizando a resposta da cevada em germinação ao ácido giberélico adicionado; este processo de dano controlado do pericarpo denomina-se abrasão [Palmer, 1989].

A testa encontra-se entre o pericarpo e a aleurona e representa 1,5% do peso total do grão. Consiste em duas camadas celulares compreendidas entre duas cutículas, uma interior e outra exterior, as quais são ricas em compostos fenólicos, que podem reagir com o oxigénio, restringindo o acesso desta molécula ao embrião e à aleurona durante a germinação. As proantocianidinas, que são exemplo dos compostos fenólicos da testa, estão relacionadas com a formação de turvação na cerveja, promovendo a instabilidade coloidal [*The Scandinavian School of Brewing*].

Embrião

Alcançada a maturidade morfológica, o embrião representa cerca de 3-4% do peso seco do grão, sendo composto por cerca de 10% de proteínas de reserva, 25% de lípidos, 10% de sacarose, 2% de rafinose, 5% de minerais, vitaminas do grupo B e

componentes da parede celular, como a celulose e a pectina. O embrião divide-se em sistema radicular (coleorriza), nodo escutelar (também capaz de desenvolver radículas), plúmula (contém o coleóptilo e o rebento foliar) e escutelo (estruturalmente associado à aleurona e local de síntese de ácido giberélico) [Palmer, 1989].

Na presença de quantidades adequadas de água e oxigénio, as células do embrião iniciam rapidamente o metabolismo, estimulando o desenvolvimento do coleóptilo e do sistema de raízes. De início, o embrião é auto-sustentável, mas quando a sua reserva de nutrientes se esgota, requer acesso às reservas energéticas do endosperma; para isso, contribui a ação coordenada do embrião e da aleurona, que culmina com a destruição da estrutura do endosperma e hidrólise do seu conteúdo, de modo a torná-lo disponível para o embrião. Esta série de eventos é o cerne do processo malteiro [*The Scandinavian School of Brewing*].

Durante o crescimento da plântula, o escutelo produz ácido giberélico, o qual induz a produção de enzimas na camada de aleurona, bem como a sua secreção para o endosperma, onde serão responsáveis pela modificação do mesmo. Assim sendo, a viabilidade do embrião é um dos principais fatores tidos em conta na avaliação da qualidade da cevada para maltagem, e pode ser posta em risco, antes da maltagem, no caso de armazenamento do grão a humidade alta, secagem a temperaturas demasiado elevadas e fluxos de ar inadequados no tanque de secagem. Contudo, pode acontecer que grãos considerados viáveis não sejam capazes de crescer em condições recomendadas para tal; nestas situações, o grão que não germina considera-se estar em estado de dormência [Palmer, 1989].

Muitos tipos de dormência devem-se a obstáculos metabólicos nos tecidos embrionários, mas também se podem dever a infeções microbiológicas, na medida em que estas diminuem a sensibilidade à água pelo grão. Armazenamento por longos períodos de grão húmido (teor de humidade superior a 12%) pode reduzir as suas capacidade e energia germinativas, tornando-o impróprio para maltagem. Para além disso, o crescimento radicular é necessário para que o embrião inicie o desenvolvimento enzimático ótimo na camada de aleurona durante a germinação [Palmer, 1989].

Aleurona

As maiores diferenças entre as células da aleurona e as do endosperma são, no grão maturo, o facto de as células da aleurona estarem vivas e não conterem amido. As células da aleurona estão preenchidas por inclusões ricas em proteínas, lípidos, ácido fítico e minerais, enquanto as suas paredes celulares são compostas por pentosanos (65-70%), β -glucanos (25-30%) e pequenas quantidades de outras

substâncias, como fenóis e proteínas. Geralmente, a aleurona consiste em três camadas celulares, representa 10% do peso total do grão e envolve por completo o endosperma, exceto na região em que este e o embrião estão em contacto (através do escutelo). Durante a germinação, as paredes celulares da aleurona são parcialmente degradadas, de modo a permitir a libertação das enzimas hidrolíticas para o endosperma, onde hidrolisam os constituintes do mesmo [*The Scandinavian School of Brewing*].

Endosperma

O endosperma é o maior tecido do grão de cevada, representando cerca de 70% do seu peso, e é rodeado pela camada de aleurona [*The Scandinavian School of Brewing*]. É constituído por células ricas em amido (principal constituinte do endosperma), o qual se encontra embutido numa matriz proteica, na forma de grânulos, que podem ser grandes (10-25 μm de diâmetro) ou pequenos (1-5 μm) [Palmer, 1989].

Nas células do endosperma, os grânulos de amido de grande tamanho correspondem a apenas 10% do número total de grânulos, mas constituem 90% do peso total de amido no grão [Palmer, 1989]. Os grânulos de amido grandes e pequenos diferem no que diz respeito à temperatura de gelatinização, que é a temperatura a que os grãos incham de forma irreversível, libertando o seu conteúdo para o meio; os grânulos de pequenas dimensões parecem gelatinizar a temperaturas mais elevadas do que os grandes, tornando-os indesejáveis no malte. Porém, os grânulos pequenos são mais suscetíveis a serem hidrolisados pela α -amilase do malte [*The Scandinavian School of Brewing*].

A maior parte da proteína do grão de cevada existe no interior das células do endosperma, formando a matriz na qual estão embutidos os grânulos de amido [*The Scandinavian School of Brewing*]. As proteínas de reserva depositam-se no endosperma após a fertilização sob a forma de corpos sub-celulares, que podem, ou não, ser envolvidos por membranas. Mais tarde, o depósito proteico assume uma forma amorfa, formando-se uma matriz na qual ficam embutidos os grânulos de amido [Palmer, 1989]. A distribuição da proteína no endosperma é heterogénea, concentrando-se preferencialmente junto à aleurona [*The Scandinavian School of Brewing*].

Os níveis de azoto aminado livre no endosperma são mais elevados no malte em relação à cevada, como resultado da hidrólise da matriz proteica que ocorre durante a modificação. Estas diferenças são mais expressivas na região proximal do endosperma, isto é, junto ao embrião, e menos significativas no endosperma distal;

isto indica que a taxa de modificação vai diminuindo quanto maior a distância ao embrião [*The Scandinavian School of Brewing*].

Durante o desenvolvimento do grão, um solo com um baixo potencial de água ou com alto nível de azoto tende a aumentar a rigidez do endosperma [Palmer, 1989]. Para maltagem, é preferível o uso de grãos com um endosperma mais macio, nos quais: a matriz proteica é menos densa, os grânulos de amido estão menos embutidos na rede proteica, o endosperma possui uma estrutura mais aberta e as paredes celulares podem ser mais estreitas. Pelo contrário, os endospermas mais rígidos (vítreos) parecem ser mais densos e têm uma matriz proteica contínua, na qual os grânulos de amido se encontram profundamente embutidos. Assim, a absorção de água e a migração de enzimas são mais rápidas em grãos macios em comparação com os vítreos, pelo que os primeiros são preferidos no que diz respeito à maltagem. Os grãos vítreos parecem conter mais proteínas e pequenos grânulos de amido do que os grãos macios, pelo que a rigidez dos vítreos poderá ter como razão as interações entre proteínas e grânulos de amido de pequenas dimensões. Uma vez que a moagem pode funcionar como uma forma de avaliação da textura do endosperma, quanto menor a energia necessária para moer a cevada (maior a friabilidade), maior o seu potencial para maltagem [*The Scandinavian School of Brewing*].

A seguir às proteínas e ao amido, o constituinte mais abundante do endosperma é a parede celular das células do endosperma, a qual é maioritariamente constituída por β -D-glucanos e pentosanos. Quanto mais espessas as paredes celulares do endosperma, mais tempo demora a maltagem, por contribuírem para uma taxa de hidrólise enzimática do endosperma mais baixa [Palmer, 1989], uma vez que obstruem o movimento da água e protegem o conteúdo celular (amido e proteína) do ataque das enzimas hidrolíticas [*The Scandinavian School of Brewing*]. É, por isso, essencial que as paredes celulares sejam destruídas durante a maltagem, o que é conseguido através da ação de enzimas capazes de solubilizar e degradar os β -glucanos das paredes celulares do endosperma, que representam aproximadamente 70% do material que as compõe; estas paredes celulares são ainda constituídas por pentosanos (cerca de 20%), proteínas (a rondar 6%) e pequenas quantidades de outros materiais, como glucomanano, celulose, ácidos fenólicos e ácidos urónicos. Porém, um elevado número de pequenas células no endosperma terá maior impacto no atraso da modificação enzimática do que a espessura das paredes celulares de grandes células [Palmer, 1989].

A degradação das paredes celulares do endosperma é também levada a cabo por enzimas proteolíticas, uma vez que existem depósitos proteicos entre as paredes das células no endosperma. Isto significa que as propriedades físico-químicas destas

proteínas das paredes podem controlar a taxa a que o endosperma é hidrolisado durante a maltagem [Palmer, 1989].

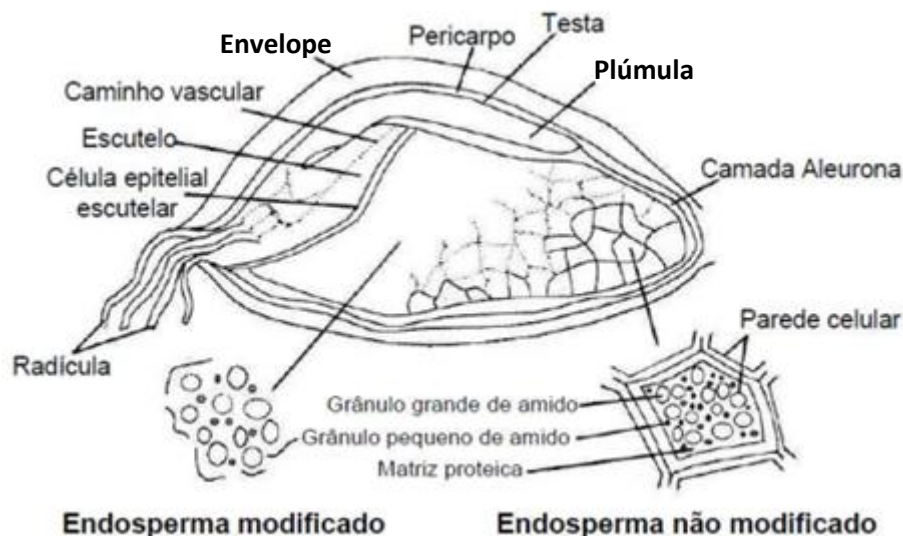


Figura 5. Morfologia de um grão de cevada em germinação [adaptado de <http://brejadobreda.blogspot.pt/2013/05/maltear-ou-torrar-eis-questao.html>].

1.2.4. Características da cevada para maltagem

A qualidade da cevada para maltagem é avaliada em termos de facilidade de processamento. Apesar disso, variedades de cevada de excelente qualidade para maltagem e para produção de cerveja podem ser comercialmente inapropriadas por baixa produção agrícola. Uma cevada comercialmente maltável é essencialmente aquela que pode ser processada de forma económica, rendendo malte aceitável para comércio. 10,4% da produção mundial de cevada tem como destino o uso do cereal para produção de cerveja [Palmer, 1989].

Tendo isto em conta, uma boa cevada para maltagem: deve apresentar boas propriedades agronómicas; tem uma produção elevada; os grãos devem ser grandes; deve conter um alto teor de amido; possui uma vitalidade elevada; exibe bom potencial enzimático; apresenta um endosperma macio; possui um teor proteico moderado (9,5-10,5%) e um baixo teor de β -glucanos; possui elevadas pureza varietal (>95%), viabilidade ($\approx$ 95%), capacidade germinativa (>95%) e energia germinativa (>95%); apresenta baixa sensibilidade à água e dormência curta; exibe um crescimento do embrião vigoroso; não apresenta dano nem elevada percentagem de grãos pré-germinados; não deve ser de colheita prematura nem apresenta contaminações visíveis [Palmer, 1989; Brissart *et al.*, 2000].

Face a isto, antes de seguir para maltagem, a cevada deve ser submetida a uma série de análises [*The Scandinavian School of Brewing*]:

- Avaliação visual: aparência; cheiro; forma e tamanho dos grãos; propriedades do envelope (espessura, enrugamento); uniformidade; impurezas (grãos estranhos, pedras, palha, insetos, poeiras...); grãos danificados; infecções (fungos, cor, fendas...).
- Propriedades físicas: triagem e dureza.
- Composição química: humidade, teor proteico, extrato e teor de β -glucanos.
- Propriedades fisiológicas: capacidade germinativa, energia germinativa, dormência e sensibilidade à água.
- Contaminantes: *Fusarium*, resíduos de pesticidas, micotoxinas e metais pesados.

Grãos estreitos (diâmetro inferior a 2,2 mm) não são maltáveis; podem-se desenvolver quando o crescimento ou as condições ambientais restringem a deposição de reservas alimentícias e a expansão de células do endosperma [Palmer, 1989].

Os grãos pré-germinados são grãos que germinam na espiga, antes da colheita. A exposição do grão maturo a altos teores de humidade pode ser causadora de pré-germinação; o que também pode fazer com que o grão germine ainda na espiga é a ocorrência de fendas à sua superfície [Palmer, 1989].

A dormência é um mecanismo protetor nos grãos de cevada, que varia consoante a variedade da cevada [Brissart *et al.*, 2000]; é uma característica comum das sementes, que atrasa uma germinação rápida e uniforme, tendo, portanto, o potencial de afetar de forma adversa a qualidade do malte [Woonton *et al.*, 2005]. Sabe-se que a dormência do grão de cevada é influenciada pelo genótipo e condições ambientais durante o desenvolvimento; por exemplo, dias curtos e baixa temperatura durante o desenvolvimento do grão de cevada têm o efeito de aumentar a dormência, enquanto dias longos e altas temperaturas possuem o efeito contrário [Schuurink *et al.*, 1992]. Sabe-se ainda que o armazenamento da cevada após a colheita altera significativamente o estado de dormência do grão e, conseqüentemente, as suas características de germinação: um ambiente fresco e seco durante o armazenamento minimiza a perda de dormência, e um ambiente quente e húmido acelera a perda de dormência [Briggs *et al.*, 1994].

Uma importante fonte de variação na qualidade da cevada é o ano de colheita, o que está intimamente relacionado com as condições climáticas durante o desenvolvimento do grão; outra, é o local onde cresce a cevada. A magnitude da variação entre variedades difere de ano para ano e os valores absolutos dos parâmetros de maltagem e produção de cerveja são dependentes do ano da colheita. São utilizadas variedades padrão para servirem como referência, assumindo que a

qualidade entre as variedades manifesta a mesma tendência de um ano para o outro e entre locais de plantação [*The Scandinavian School of Brewing*].

1.2.5. Atividade antioxidante da cevada

Os antioxidantes naturais nos cereais podem atuar como sequestradores de radicais livres ou agentes redutores. Para além disso, muitos dos antioxidantes naturais presentes na cevada, como os polifenóis, exibem um largo espectro de efeitos biológicos, inclusivamente antibacterianos, antivirais, anti-inflamatórios, antialérgicos e anti-trombóticos, podendo também estar envolvidos em ações vasodilatadoras [Cook e Sammon, 1996]. Os polifenóis identificados na cevada incluem as antocianinas, os flavonoides, os ácidos fenólicos, as catequinas e as proantocianidinas [Goupy *et al.*, 1999]. Pensa-se que os antioxidantes desempenham um papel na maltagem e produção de cerveja devido à sua capacidade de atrasar ou mesmo prevenir reações de oxidação e de radicais livres de oxigénio [Gupta *et al.*, 2010].

1.3. Etapas da maltagem

Antes de ser dado início à maltagem propriamente dita, a cevada deve ser processada de forma a torná-la apta a entrar no processo de maltagem. Assim, a cevada, após colhida, é recebida no local de processamento, altura em que é avaliada a sua qualidade no que diz respeito à maltagem; deve ser limpa, com vista a remover material que não tem interesse para o processo e que poderá dificultá-lo; deve seguidamente ser seca, de forma a reduzir o teor de humidade do grão e estabilizá-lo a níveis que permitam a posterior conservação segura do cereal; por fim, e no caso de não ser necessária na altura ou não for possível dar início à maltagem de imediato, deve ser armazenada em condições que permitam a manutenção da sua qualidade, durante períodos de tempo que poderão ser longos.

A maltagem, como já foi referido, consiste em transformar a cevada em malte, o que é feito através de uma germinação controlada do cereal, que permite tornar o seu conteúdo mais solúvel e suscetível à hidrólise. O maior objetivo da maltagem é a síntese de enzimas hidrolíticas, responsáveis pela solubilização do endosperma do grão e pela produção de extrato fermentescível, que será captado pela levedura durante a fermentação. Esta fase da produção cervejeira compreende a molha da

cevada, a sua germinação, a estufagem do malte verde, a desradiculação do malte seco e, em determinados casos, também uma etapa de torra do grão, no final.

A cevada armazenada em silos começa por ser transferida para um tanque de molha, onde o seu teor de humidade será significativamente aumentado. Depois, passa para a fase de germinação, ocorrendo a síntese enzimática e modificação do endosperma. A esta fase segue-se a estufagem, em que o teor de humidade é fortemente reduzido e se desenvolve a cor e sabores finais do malte. Na fase de desradiculação, as radículas são removidas dos grãos e, no caso de se pretender cor, paladares e aromas mais intensos, o grão pode também ser submetido a uma etapa em que é torrado a temperaturas muito elevadas.

1.3.1. Molha

A molha, numa primeira instância, tem a função de lavar o grão, removendo resíduos que possam eventualmente estar presentes, juntamente com microorganismos e substâncias prejudiciais para a cerveja. Porém, o principal objetivo da molha é aumentar o teor de humidade da cevada até valores superiores a 40%, o que prepara o grão para que este possa começar a germinar, na medida em que o aumento da quantidade de água no interior do grão ativa processos metabólicos.

O processo de molha da cevada consiste em períodos em que o grão se encontra submerso em água alternados com períodos a seco, permitindo que o grão respire e não asfixie. Durante os períodos de imersão, deve existir a injeção de ar comprimido, visto que o oxigénio dissolvido na água é rapidamente absorvido pelo grão; para além disso, deve ocorrer renovação constante da água, de modo a remover o dióxido de carbono dissolvido resultante do início da respiração da cevada e a reintroduzir água rica em oxigénio. Nos períodos a seco, deve ser realizada a extração de dióxido de carbono, uma vez que este, em elevadas concentrações (10-20%), inibe o metabolismo e, por isso, a germinação, da cevada [Kleinwächter *et al.*, 2012]. Este é o método clássico de molha, mas existe também a molha feita através de aspersores, a qual permite que o grão tenha acesso a um nível mais alto de oxigénio e permite um consumo de água reduzido, mas acarreta risco de a hidratação do endosperma não ser uniforme, o que conduz a modificação desequilibrada dos grãos [Palmer, 1989].

Durante a molha, os grãos de cevada, visto absorverem água, incham, e, no final desta etapa, deve ser observado o “picar” das radículas (ou *chitting*), isto é, as radículas devem começar a emergir no fim da molha. Assim, o teor de humidade e a percentagem de grãos que exibem *chitting*, são indicadores do sucesso da molha. A taxa a que a água é absorvida pelo grão está relacionada com a actividade metabólica

do embrião e depende de: temperatura da água da molha; duração do ciclo de molha; regime e parâmetros da molha; variedade da cevada (influencia sensibilidade à água); teor proteico da cevada (quanto mais azoto, mais lenta a absorção de água); tamanho dos grãos (grãos pequenos absorvem água mais rapidamente); e variações sazonais [*The Scandinavian School of Brewing*].

Em relação à água usada na molha, a temperatura está geralmente compreendida entre os 10 e os 15°C [Palmer, 1989]. No caso de se pretender acelerar a molha, pode-se utilizar água a uma temperatura mais elevada; porém, maiores temperaturas da água favorecem a absorção de água pela cevada, mas também o desenvolvimento de microorganismos, como resultado de as enzimas citolíticas da cevada serem insuficientes, devido ao crescimento excessivamente rápido do embrião [Brissart *et al.*, 2000]. A principal forma de poupar água na molha é através da reutilização da mesma; a água da segunda fase de imersão é utilizada na primeira imersão da carga seguinte de cevada. Uma vez que esta água está muito suja e infetada, recorre-se à adição de agentes floculantes, que clarificam a água, e de formaldeído, que elimina a microflora [Kunze e Mieth, 1999].

Durante as fases de imersão, o arejamento com ar comprimido tem como principais propósitos: evitar condições anaeróbias (resultam na morte da plântula), permitir o início rápido e uniforme da germinação, minimizar as diferenças de temperatura e pressão no leito de grão, e uniformizar a distribuição de oxigénio no tanque de molha. A ausência prolongada de fornecimento de oxigénio causa respiração intramolecular, sendo produzido, por exemplo, etanol, o que representa toxicidade para o grão [*The Scandinavian School of Brewing*]. Já a sobreoxigenação do grão, por injeção excessiva de ar comprimido, pode conduzir ao desenvolvimento de bactérias no envelope do grão, abrandando o crescimento, por influência na sensibilidade à água.

A rigidez do grão pode ser vista como uma medida da compactação dos constituintes celulares do endosperma, deduzindo-se que, em casos em que o endosperma é rígido, a permeabilidade à água no tecido será difícil; consequentemente, maior tamanho e dureza do grão conduzem à necessidade do recurso a períodos de molha mais prolongados [Palmer, 1989].

Quando a cevada é introduzida no tanque de molha, este já se encontra cheio com água; uma pequena fração dos grãos (0,1-0,2%) não afunda, pelo que estes sobrenadantes devem ser removidos e podem ser vendidos como alimento para gado [Kunze e Mieth, 1999]. Terminada a molha, a descarga do grão pode ser efetuada a seco, causando pouco dano nos grãos; já a descarga molhada, acarreta um risco

maior de dano nos grãos e de atrasos na germinação [*The Scandinavian School of Brewing*].

Os parâmetros de controlo de maior relevo durante a molha são: massa de cevada; temperatura da água; nível da água no tanque; controlo do arejamento (tempo, volume e temperatura); controlo da extração de dióxido de carbono (tempo, volume e temperatura); as necessidades físicas da cevada (sensibilidade à água, dormência e dureza do grão); características do tanque de molha; variedade da cevada e tamanho do grão; e o tempo permitido por imposição dos ciclos de produção [Palmer, 1989].

No final da molha, o teor de humidade da cevada deve ser 42-44%, no caso de ser pretendida a produção de malte *Pilsner*, ou 44-47%, quando se quer malte escuro [Kunze e Mieth, 1999]. A duração da molha é geralmente de 36-48 horas.

Equipamento

Existem dois tipos de tanques em que pode ser efetuada a molha: cilindro-cónicos ou cilíndricos de fundo plano perfurado. Os tanques cilindro-cónicos (**Figura 6**) são geralmente construídos em aço inoxidável e permitem que a cevada seja deles transferida por gravidade (não são necessários dispositivos de descarga), permitindo também poupar água e providenciando facilidade de limpeza. Porém, nos tanques cilindro-cónicos, geram-se elevadas pressões hidrostáticas, que podem resultar na danificação do grão, e, além disso, o fluxo de ar é irregular, gerando-se um produto menos homogéneo no final da molha; para além disso, observam-se dificuldades na extração de dióxido de carbono durante as fases a seco [Brissart *et al.*, 2000].

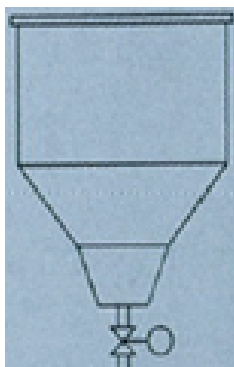


Figura 6. Ilustração de um tanque de molha cilindro-cónico [Brissart *et al.*, 2000].

Os tanques de molha cilíndricos (**Figura 7**) possuem maior capacidade, mas a sua limpeza é mais complicada, em comparação com os tanques cilindro-cónicos. À semelhança dos cilindro-cónicos, estes tanques também são à base de aço inoxidável, mas contrariamente aos primeiros, permitem uma boa distribuição do ar no seu interior e permitem uma remoção eficaz do dióxido de carbono [Palmer, 1989]. Porém: necessitam de aparelhos de carregamento do grão para o tanque e de descarga para

a germinação, no fim; exigem maiores custos de investimento e de manutenção; consomem maiores quantidades de água e a circulação da cevada e da água são menores [The Scandinavian School of Brewing].

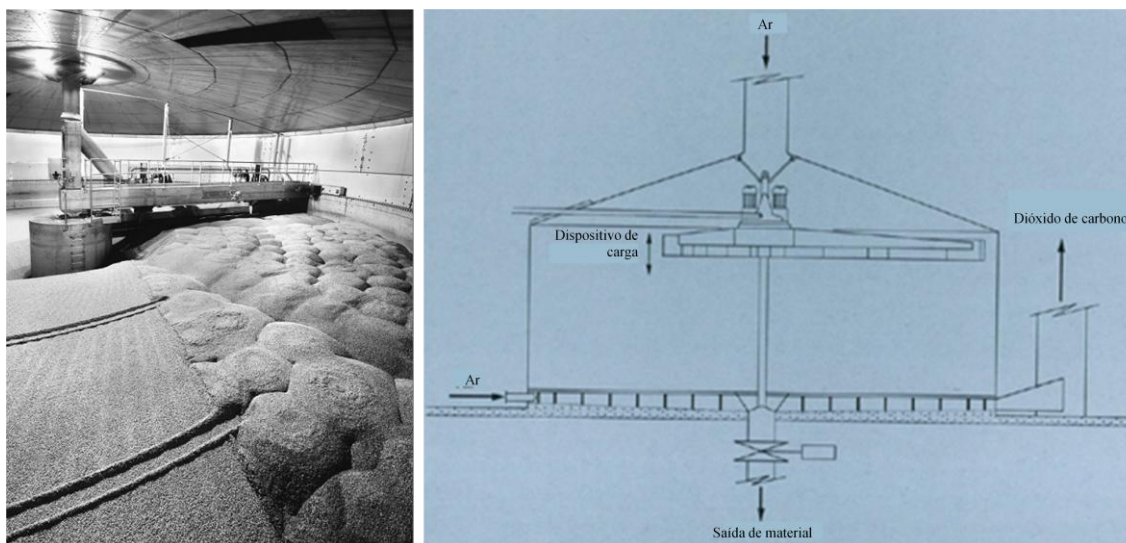


Figura 7. Esquerda: tanque de molha cilíndrico com carga e descarga de grão automática [de Pinho Ferreira Guiné e dos Reis Correia, 2013]. Direita: ilustração de um tanque cilíndrico, equipado com um dispositivo que permite o carregamento do grão para o tanque (pode ser subido e baixado); o ar entra no tanque por cima durante as fases a seco da molha, e por baixo durante as fases de imersão; a saída do material dá-se pela parte inferior do tanque [Brissart et al., 2000].

1.3.2. Germinação

Como o próprio nome indica, a germinação é a etapa da maltagem em que o grão germina, isto é, quando dá início à sua atividade metabólica e síntese de novos tecidos. Como se observa na **Figura 8**, no início da germinação, induzido pela absorção de água ao nível da região proximal do grão, o embrião sintetiza ácido giberélico, que é depois transportado para as células da aleurona, onde promove a síntese de enzimas. As enzimas hidrolíticas produzidas na camada de aleurona difundem-se para o endosperma, onde são responsáveis pela hidrólise do amido a mono e oligossacáridos, das proteínas a aminoácidos e péptidos e dos lípidos a ácidos gordos. Os produtos de hidrólise deslocam-se de seguida para o escutelo, onde são convertidos na sua forma transportável, para poderem ser transportados para o embrião, onde são utilizados na respiração e na síntese de novos tecidos [The Scandinavian School of Brewing].

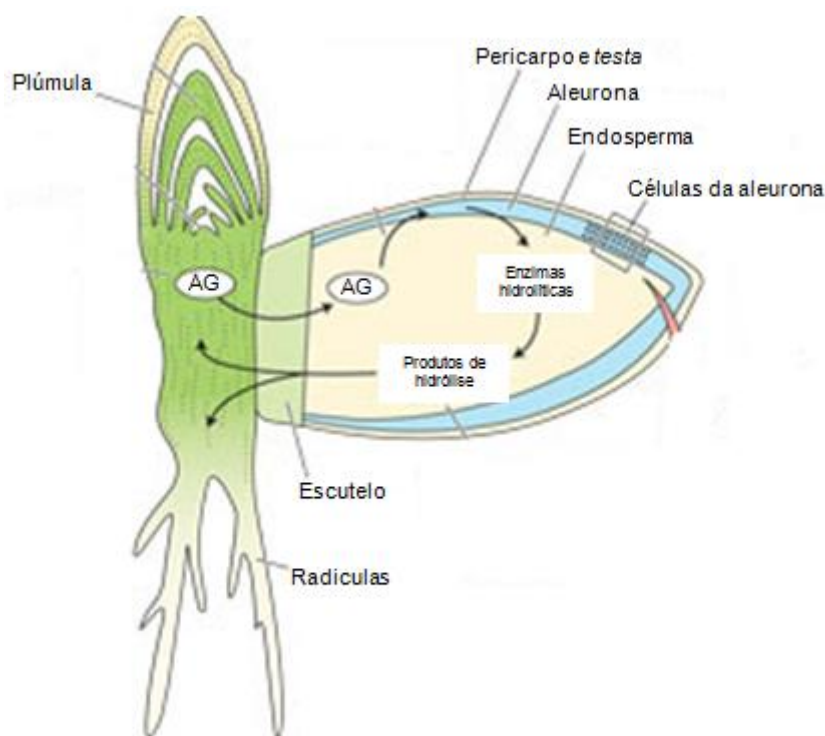


Figura 8. Sequência de passos que estão na base do processo bioquímico de germinação do grão de cevada (AG: ácido giberélico) [adaptado de http://5e.plantphys.net/images/ch20/wt2002c_s.jpg].

Para evitar que sejam consumidas as reservas energéticas do endosperma, que contribuem para o extrato útil, a etapa de germinação deve ser rigorosamente controlada: pretende-se produzir enzimas (importantes para a obtenção de extrato na fase de brassagem) e tornar o amido acessível à degradação, mas com o cuidado de evitar perdas de extrato excessivas. Assim, durante a germinação, tanto a temperatura como a humidade devem ser constantemente monitorizadas. De forma resumida, os principais eventos que ocorrem no grão durante a germinação são: processo de crescimento (radículas e plúmula); produção e distribuição de ácido giberélico; formação, libertação e distribuição de enzimas; degradação metabólica das paredes celulares, das proteínas e do amido no endosperma; e transporte de nutrientes resultantes da modificação do endosperma (açúcares, aminoácidos...) [The Scandinavian School of Brewing].

Os fatores que afetam a germinação / modificação da cevada são a temperatura, a humidade, o arejamento, a recirculação de ar e o tempo de germinação [The Scandinavian School of Brewing].

A temperatura a que o grão é feito germinar é, por regra, de 14-20°C. Esta pode ser mantida constante durante todo o período de germinação, ou ter perfis crescentes ou decrescentes. Uma temperatura de germinação mais baixa resulta em germinação uniforme, baixa taxa de respiração, reduzido crescimento das radículas e

menor nível de modificação. Em relação ao teor de humidade dos grãos, este pode ser aumentado, quando necessário, durante os revolvimentos do grão, através do uso de aspersores [*The Scandinavian School of Brewing*].

Durante as fases iniciais da germinação, é essencial um bom fornecimento de oxigénio para a produção de enzimas [*The Scandinavian School of Brewing*]. Porém, demasiado arejamento conduz a uma maior perda de extrato, devido à respiração do embrião [Kunze e Mieth, 1999]; por outro lado, arejamento insuficiente pode conduzir à morte da plântula por anoxia [Perata *et al.*, 1998]. A respiração faz com que a temperatura aumente, o que, por sua vez, faz com que a respiração aumente ainda mais (*feedback* positivo), assim como as perdas devidas ao crescimento das radículas e a quantidade de enzimas formadas [Kunze e Mieth, 1999]. O ar usado no arejamento é humidificado por pulverização com água [*The Scandinavian School of Brewing*], e deve estar totalmente saturado, para evitar a secagem do grão [Brissart *et al.*, 2000]. O ar que sai do tanque é mais quente e possui um maior teor de humidade e de dióxido de carbono; a perda de humidade pelos grãos impede o crescimento excessivo do embrião e das radículas [*The Scandinavian School of Brewing*].

A recirculação do ar no Inverno sobrepõe-se à necessidade de aquecer o ar ambiente que entra no tanque, enquanto a recirculação no Verão reduz a necessidade de o refrigerar. O controlo da recirculação de ar permite otimizar as necessidades energéticas, mas deve ser tido em conta que o ar recirculado contém níveis mais baixos de oxigénio e mais altos de dióxido de carbono, em comparação com o ar ambiente (devido à respiração do grão), o que inibe a formação de enzimas aeróbicas (caso das amilases) e acelera a síntese de enzimas anaeróbicas (conduz ao aumento da quantidade de proteínas solúveis e, por isso, da cor do malte). Por estas razões, a recirculação do ar é geralmente aumentada perto do fim da germinação [*The Scandinavian School of Brewing*].

Normalmente, a fase de germinação dura entre 4 e 6 dias [*The Scandinavian School of Brewing*], mas o tempo de residência do grão no tanque de germinação depende de vários fatores: variedade da cevada, grau de crescimento que ocorreu durante a molha, método de carregamento do tanque de germinação (transferência molhada ou a seco), temperatura, humidade do grão, tipo de malte pretendido e aditivos usados [Palmer, 1989]. O tempo da germinação deve ser aumentado se o teor de humidade dos grãos for baixo ou se a quantidade de dióxido de carbono for alta. Por outro lado, pode ser reduzido se a cevada possuir boa energia germinativa ou for acrescentado ácido giberélico; contudo, os grãos que germinam por um período mais curto originam um mosto com grandes quantidades de β -glucanos altamente viscosos,

o que pode reduzir a taxa de filtração da cerveja e provocar turvação [The Scandinavian School of Brewing].

Assim, os principais parâmetros que possibilitam o controlo da germinação terão de ser os do ar que entra (temperatura, volume e humidade), do ar que sai (temperatura e humidade), do revolvimento do grão e de adição de água.

Durante a germinação da cevada observa-se o crescimento de radículas e da plúmula (**Figura 9**), como resultado da atividade metabólica do embrião. As radículas emergem pela base do grão no final da molha e devem, no final da germinação, ter aproximadamente 1,5 vezes o comprimento do grão, no caso do malte *Pilsner*, ou duas vezes, no caso de maltes escuros. Após a estufagem, as radículas, que constituem cerca de 4% do peso seco do malte, são removidas, sendo parte intrínseca das perdas que ocorrem durante a maltagem. O crescimento de radículas durante a germinação é afetado pelo tempo e temperatura da germinação: quanto mais longa e mais quente a germinação, mais longas serão as radículas e, conseqüentemente, maiores serão as perdas; logo, quando o principal objetivo é a obtenção de extrato, a germinação deve ocorrer à menor temperatura possível, durante o menor tempo possível [Kunze e Mieth, 1999].

A plúmula rompe a testa, mas não o envelope, crescendo por baixo deste, do lado dorsal do grão, a partir do embrião, em direção à ponta oposta do grão. O comprimento da plúmula está relacionado com o progresso das alterações metabólicas no interior do grão, podendo dizer-se que o desenvolvimento da plúmula ocorre em paralelo com a modificação do grão. Uma vez que a modificação deve ocorrer apenas até um certo ponto, caso contrário observar-se-iam perdas, a plúmula deve atingir apenas entre 2/3 e 3/4 do comprimento do grão, no caso do malte *Pilsner*, ou entre 3/4 e o comprimento total, em maltes escuros (no segundo caso, pretende-se uma maior quantidade de produtos da degradação, o que exige um maior grau de modificação) [Kunze e Mieth, 1999]. Assim, o crescimento da plúmula determina o final da germinação.

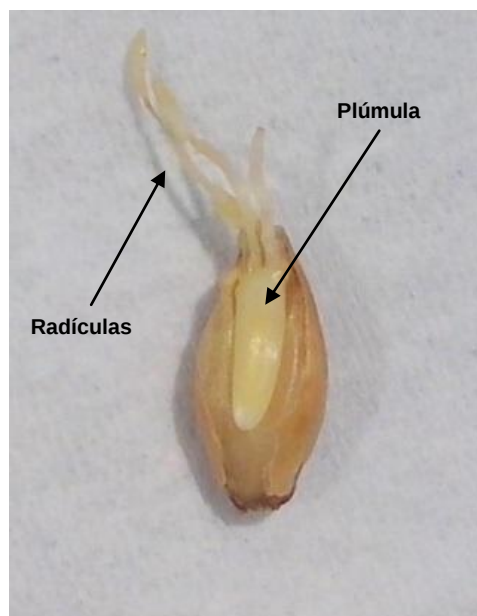


Figura 9. Grão de cevada ao qual foi removido o envelope do lado dorsal. A plúmula e as radículas estão evidenciadas.

Na germinação, também podem ser adicionados reguladores exógenos do metabolismo / crescimento do grão, os quais podem ser estimuladores ou inibidores. O estimulador mais utilizado é o ácido giberélico, que está também presente em pequenas quantidades na cevada não maltada [Kunze e Mieth, 1999]. O ácido giberélico pode ser adicionado externamente no último período de imersão da molha ou no início da germinação, com o intuito de aumentar a síntese de enzimas e o extrato, reduzindo o tempo de germinação [The Scandinavian School of Brewing] e a dormência da cevada. Uma quantidade demasiado elevada de ácido giberélico adicionado, porém, pode causar sobremodificação, bem como cor mais escura no malte (uma vez que há um desenvolvimento mais rápido das enzimas proteolíticas, em comparação com as outras) [Kunze e Mieth, 1999]. Um déficit de ácido giberélico resulta na redução da produção de enzimas pela camada de aleurona, atrasando o início da germinação [The Scandinavian School of Brewing]. Outro regulador da germinação que pode ser adicionado é o bromato de potássio (usado em conjunto com o ácido giberélico), o qual diminui a proteólise e desenvolvimento de radículas, e consequentes perdas [Palmer, 1989; Brissart *et al.*, 2000; Kunze e Mieth, 1999].

Enzimas sintetizadas / ativadas durante a germinação

As enzimas hidrolíticas mais relevantes em maltagem são as amilases, as dextrinases, a α -glucosidase, as proteases, a β -glucano solubilase e as endo- β -glucanases. O processo de síntese enzimática que ocorre durante a germinação inicia-se pela degradação das proteínas das inclusões proteicas no escutelo e na aleurona

por intermédio de sulfidril endoproteínases e carboxipeptidases. Os pequenos péptidos e aminoácidos resultantes passam então para o citosol, onde os péptidos são hidrolisados por aminopeptidases neutras ou alcalinas. Os aminoácidos são depois usados para sintetizar enzimas hidrolíticas, as quais são libertadas para o endosperma [*The Scandinavian School of Brewing*].

Proteólise:

Durante a germinação, sulfidril endoproteases e carboxipeptidases atacam prolaminas e glutelinas no endosperma, libertando-se polipéptidos, péptidos e aminoácidos. As endoproteases são produzidas na aleurona e libertadas para o endosperma durante a maltagem, após indução pelo ácido giberélico; já as carboxipeptidases, estão associadas à matriz proteica do endosperma da cevada, sendo também encontradas na camada de aleurona e nas células epiteliais do escutelo. As endoproteases promovem a solubilização das proteínas, enquanto as carboxipeptidases do endosperma (ação exo) libertam aminoácidos a partir do C-terminal das proteínas sobre as quais atuam [Palmer, 1989].

A importância das enzimas proteolíticas durante a maltagem prende-se com o facto de a sua ação resultar na libertação de péptidos e aminoácidos necessários para tamponar o mosto e manter o crescimento de leveduras durante a fermentação; para além disso, também facilitam a libertação e degradação de β -D-glucanos durante a germinação (por ação sobre as proteínas das paredes celulares) e removem a matriz proteica que envolve os grânulos de amido no interior das células do endosperma, facilitando a amilólise que ocorre durante a brasagem. A proteólise excessiva, contudo, para além de aumentar a cor do mosto, também pode provocar a destruição da fração proteica responsável por estabilizar a espuma da cerveja. Por outro lado, a degradação insuficiente de grandes moléculas solubilizadas de β -glucanos e proteínas pode causar problemas, como fraca filtração do mosto e da cerveja, perda de extrato, alta viscosidade do mosto e desenvolvimento de turvação [Palmer, 1989].

Num malte modificado, cerca de 40% da proteína está solubilizada. A solubilização da proteína durante a maltagem está mais relacionada com a estrutura proteica do que com os níveis enzimáticos. A combinação de ácido giberélico com alta humidade favorece o aumento da hidrólise de proteínas. A aplicação de bromato de potássio, por outro lado, reduz a proteólise, através da oxidação de proteínas, limitando a atividade das proteases [Palmer, 1989]; também altos níveis de inibidores de proteases podem comprometer a produção de níveis ótimos de proteínas solúveis e aminoácidos. O aumento da temperatura de germinação aumenta o metabolismo do azoto, ou seja, aumenta a degradação das proteínas, mas também aumenta a

formação de proteína insolúvel (radículas); o resultado do aumento excessivo de temperatura é, por isso, uma diminuição do índice de Kolbach (razão entre azoto solúvel e azoto total) e da quantidade de aminoácidos [*The Scandinavian School of Brewing*].

As proteases do malte não só atuam durante a maltagem, mas também na brassagem (na fase em que a temperatura estaciona a 45°C, antes do aumento para temperaturas mais elevadas), contribuindo para o aumento dos níveis de azoto solúvel nesta fase. A maior parte da proteases do malte são muito mais estáveis no grão de malte do que em solução, no mosto (ficam inativas após 5 min a 72°C, na brassagem); isto deve-se ao facto de estas enzimas serem consideravelmente mais resistentes ao calor seco do que ao calor húmido [Jones, 2005].

Hidrólise das paredes celulares:

A β -glucano solubilase é responsável pelo primeiro passo da degradação das paredes celulares do endosperma, na medida em que liberta os β -glucanos das paredes celulares. As endo- β -glucanases, que são endo-celulases termossensíveis, são sintetizadas nas células da aleurona e do escutelo durante a germinação e difundem-se para o endosperma, onde degradam os β -glucanos que são libertados das paredes celulares por ação da β -glucano solubilase. Durante a germinação, a modificação do endosperma inicia-se junto ao embrião e espalha-se a partir da superfície do escutelo, o que significa que, no começo da germinação, as endo- β -glucanases são secretadas pelo epitélio escutelar; após o ácido giberélico ter estimulado a síntese destas enzimas na aleurona, a degradação das paredes celulares começa-se a observar abaixo da camada de aleurona [*The Scandinavian School of Brewing*].

A ação das endo- β -glucanases, que clivam os β -glucanos quer nas ligações β -1,3 quer nas β -1,4 (**Figura 10**), resulta na formação de tri e tetrassacáridos, os quais podem ser depois substrato para exo-glucanases e β -glucosidases. Tanto a atividade da β -glucano solubilase como a das endo- β -glucanases aumenta quanto maior o teor de humidade da cevada [*The Scandinavian School of Brewing*]. Uma vez que β -glucanos de elevado peso molecular são principalmente responsáveis por problemas de filtração do mosto (formam géis), o malte deverá conter um alto teor de endo- β -glucanases, de forma a hidrolisá-los [Kunze e Mieth, 1999].

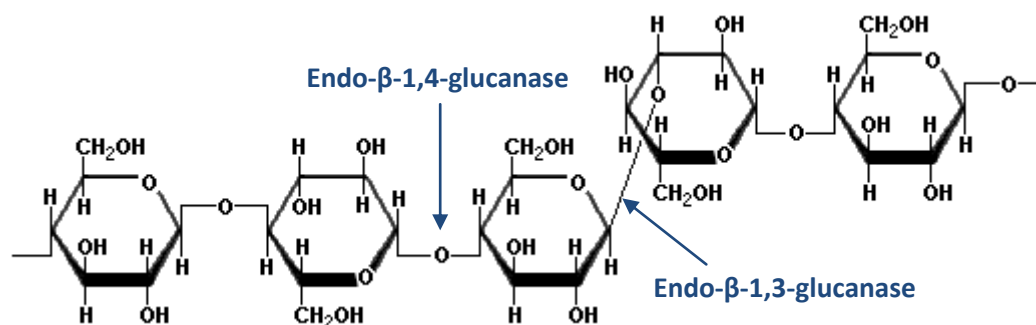


Figura 10. Ação das endo-β-glucanases sobre a molécula de β-glucano [adaptado de <http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates2.html>]

Uma vez que as paredes celulares estão associadas a proteínas e fosfolípidos, é possível que proteases e fosfolipases estejam também envolvidas na libertação de β-glucanos das paredes celulares do endosperma [Palmer, 1989], por facilitação do acesso aos β-glucanos. Para além destas, é também importante para a total hidrólise destes β-glucanos a ação de arabinofuranosidase, xilanase, feruloil esterase e acetoxilano esterase, as quais atuam como solubilases, na medida em que contribuem para a maior solubilização dos β-glucanos de elevado peso molecular [Bamforth, 2009].

Visto que as paredes celulares do endosperma envolvem as reservas de amido e de proteínas do grão, uma degradação ineficaz dos β-glucanos das paredes celulares durante a maltagem iria limitar o desenvolvimento de extrato para o processo cervejeiro [Palmer, 1989].

Amilólise:

As amilases são as enzimas mais importantes do malte, sendo responsáveis pela degradação do amido durante a brassagem [Kunze e Mieth, 1999]. As quantidades de amilases formadas durante a germinação dependem de vários fatores. Em primeiro lugar, o teor de amilases é uma propriedade que depende da variedade da cevada e é afetado pelas condições climáticas; grãos de grandes dimensões formam mais amilase que grãos mais pequenos, da mesma variedade; um maior teor de humidade aumenta o teor de amilases; uma germinação a baixa temperatura resulta em níveis de amilases mais elevados, já que a molha e germinação mais quentes causam um início precoce de formação de enzimas, mas em menor quantidade. A atividade das amilases pode ser medida pelo poder diastásico, sendo que este expressa maioritariamente a atividade da β-amilase.

A α-amilase não existe na cevada não germinada, sendo sintetizada *de novo*, durante a germinação, nas células da camada de aleurona, após estímulo hormonal pelo ácido giberélico produzido pelo embrião; a isto, segue-se a sua secreção para o endosperma [The Scandinavian School of Brewing]. A α-amilase pode solubilizar tanto

as regiões amorfas como as cristalinas dos grânulos de amido [Lauro *et al.*, 1993], atacando as ligações α -1,4 do amido, o que produz oligossacáridos [Gupta *et al.*, 2010]. Esta ação quase aleatória da α -amilase, clivando o amido em qualquer dos lados de um ponto de ramificação da molécula, origina novas terminações não redutoras, que podem ser alvo da ação da β -amilase [*The Scandinavian School of Brewing*].

A β -amilase existe na cevada não germinada na forma livre (ativa) ou ligada a proteínas insolúveis, sendo que a proporção de β -amilase ligada aumenta mais para o centro do endosperma [*The Scandinavian School of Brewing*]. Durante a germinação, praticamente toda a β -amilase ligada a proteínas insolúveis, que corresponde a 60% da β -amilase total [Sopanen e Laurière, 1989], passa à forma livre, por ação de enzimas proteolíticas sintetizadas na aleurona após estímulo por ácido giberélico [*The Scandinavian School of Brewing*], aumentando a atividade desta enzima no grão de malte [Sopanen e Laurière, 1989; Guerin *et al.*, 1992; Grime e Briggs, 1995]. É uma exo-enzima que catalisa a hidrólise das ligações α -1,4 antes da última ligação numa terminação não redutora da molécula de amido, libertando o dissacárido maltose. É incapaz de atacar grânulos de amido intactos, necessitando de uma gelatinização prévia desempenhada pela α -amilase [*The Scandinavian School of Brewing*]. Uma vez que é uma enzima termossensível, até 1/3 da sua atividade pode ser perdida durante a estufagem do malte [Runkel, 1975].

Apesar de ambas atacarem as ligações α -1,4 do amido, uma vez que a α -amilase tem ação endo, produz dextrinas, diminuindo rapidamente a viscosidade do meio, enquanto a β -amilase, que atua de forma exo nas extremidades não redutoras do amido, origina maltose [*The Scandinavian School of Brewing*], aumentando os níveis de açúcares fermentescíveis.

A dextrinase limite é responsável pela hidrólise das ligações α -1,6 da amilopectina do amido, que correspondem aos pontos em que a cadeia ramifica [*The Scandinavian School of Brewing*]. Assim, é capaz de hidrolisar as dextrinas que se libertam por ação da α -amilase, removendo as ramificações, que, de outra forma, não poderiam ser degradadas. Esta enzima é, portanto, essencial para que haja uma conversão completa do amido a moléculas de menor peso molecular. Uma vez que não é capaz de atacar o amido intacto, é necessária a presença das amilases. Tal como a β -amilase, esta enzima pode existir no endosperma na forma livre ou ligada a outras proteínas e exhibe também uma grande sensibilidade a altas temperaturas, sendo a sua atividade significativamente reduzida após a estufagem. A dextrinase limite necessita de um período de germinação mais longo do que a α -amilase para alcançar a sua actividade máxima, e, como tal, em condições normais de germinação,

apenas se desenvolve uma parte do seu potencial enzimático máximo [*The Scandinavian School of Brewing*].

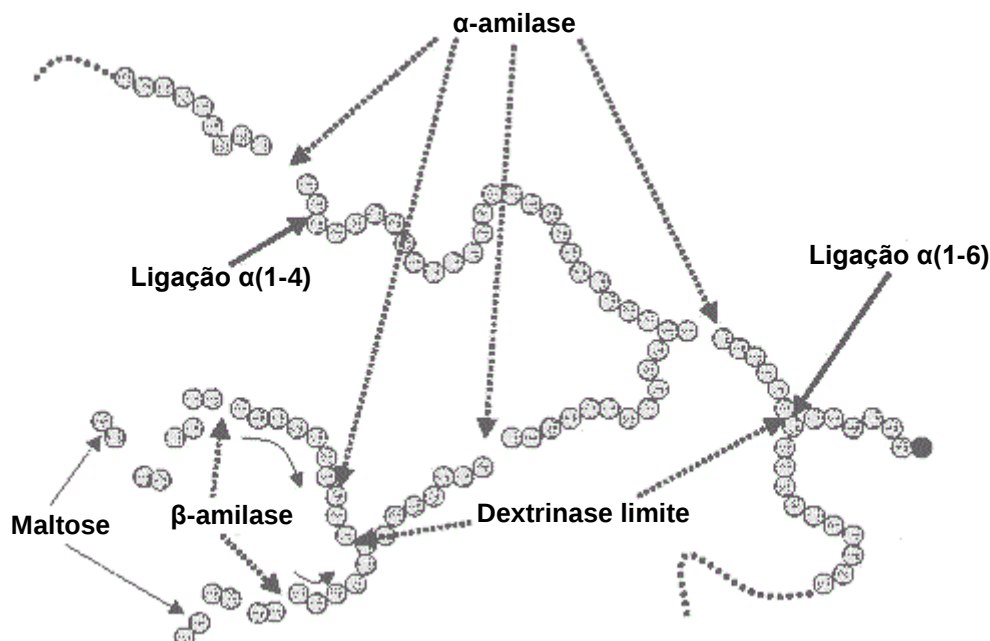


Figura 11. Locais de quebra da molécula de amido por α -amilase, β -amilase e dextrinase limite [adaptado de <http://hotelmule.com/html/85/n-1785-26.html>].

A α -glucosidase catalisa a hidrólise de ligações α -1,4 terminais, originando glucose como produto. A principal fonte desta enzima parece ser o escutelo. A importância desta enzima deve-se ao facto de disponibilizar ao embrião energia na forma de glucose, sendo a responsável pelo passo final da degradação do amido a glucose [*The Scandinavian School of Brewing*]. Porém, é termolábil, pelo que a sua importância durante a brassagem é limitada [Muslin *et al.*, 2000].

Resumidamente, o processo de conversão do amido a açúcares fermentescíveis pode ser descrito como se segue: a α -amilase quebra as ligações α -1,4 internamente, produzindo principalmente oligossacáridos ou dextrinas limite. Depois, a β -amilase quebra as ligações α -1,4 nas terminações não redutoras (exo-enzima), originando maltose. A hidrólise das ligações α -1,6 das ramificações da amilopectina ou das dextrinas limite é efetuada pela dextrinase limite. Por fim, a α -glucosidase quebra as ligações α -1,4 das extremidades não redutoras, produzindo glucose. A ação conjunta destas enzimas produz um mosto com uma composição típica em açúcares, consistindo em cerca de 65% maltose, 18% maltotriose, 11% hexoses (glucose e frutose) e 5% sacarose. As enzimas limitantes do processo de formação de açúcares fermentescíveis a partir do amido são a β -amilase e a dextrinase limite [Kunze e Mieth, 1999].

De todas as enzimas importantes em maltagem, a enzima mais termoestável (atividade aumenta durante a estufagem) é a α -amilase, cuja temperatura de inativação durante a estufagem é de 80°C; a enzima mais termosensível (quase metade é destruída durante a estufagem) é a endo- β -glucanase, com uma temperatura de inativação de 55-60°C; a β -amilase (inativada a partir de 65-70°C) e a endopeptidase (inativada a 60-65°C) são enzimas consideradas termosensíveis; já a β -glucano solubilase (ativa até 70°C) e a carboxipeptidase (até 75°C) são relativamente estáveis a temperaturas altas [Global Beverage Solutions].

Equipamento

A germinação pode ocorrer em sistemas pneumáticos (em tambores ou tanques retangulares ou circulares) ou em sistemas em que há um deslocamento diário do grão. Nos sistemas de maltagem operados pneumaticamente, o teor de humidade e a temperatura são controlados através da injeção de ar previamente refrigerado e humidificado. Porém, no Inverno, se a temperatura for demasiado baixa, é necessário proceder-se ao aquecimento do ar. O ar que é feito passar através do grão deve estar continuamente saturado com água, de modo a que o grão em germinação não seque; a humidificação do ar é feita por recurso a pulverização com água, que deve ser tão curta quanto possível, com vista a prevenir que a água precipite prematuramente. Em muitos sistemas, os revolvedores estão equipados com aspersores, com o objetivo de humidificação mais eficiente do grão [Kunze e Mieth, 1999]. O propósito do revolvimento do leito de grão, que é, por norma, efetuado duas vezes ao dia [*The Scandinavian School of Brewing*], é impedir que as radículas se entrelacem e permitir que todos os grãos possam entrar em contacto com o ar húmido, refrigerado [Kunze e Mieth, 1999].

A germinação em sistemas pneumáticos pode ser conduzida, como já foi referido, em tambores rotativos ou em tanques (caixas de Saladin) circulares ou retangulares. As caixas de Saladin (**Figura 12**) são o sistema mais popular, possuindo um chão perfurado de aço inoxidável, que pode ser rotativo (para o revolvimento do grão), e ventoinhas centrífugas com velocidade variável, com vista ao arejamento. Geralmente, as caixas circulares são preferidas às retangulares, devido à maior facilidade de revolvimento do leito, à melhor distribuição do ar no seu interior e ao sistema de carga e descarga ser mais eficaz. O sistema caixa de Saladin exhibe facilidade em variar condições de maltagem, e requer pouco espaço e baixa mão-de-obra (possibilidade de automação) [*The Scandinavian School of Brewing*]. Os tanques de germinação geralmente acarretam o problema de imporem uma limpeza difícil, levantando problemas de higiene, visto que o ar altamente humidificado que atravessa

o grão propicia o crescimento de bactérias e fungos. O ar ambiente entra através de uma ventoinha, passando por um sistema que o humidifica, antes de entrar no tanque, por baixo do chão perfurado; a humidificação é alcançada com recurso ao uso de aspersores, colocados entre a ventoinha e o local de entrada no tanque. Depois de atravessar o grão, o ar é libertado para a atmosfera, ou parcialmente recirculado para ser re-humidificado. Um revolvedor horizontal, equipado com espirais verticais e opcionalmente com aspersores, é usado para soltar o grão, promovendo melhor crescimento deste e minimizando o emaranhamento das radículas [Palmer, 1989].

Inevitavelmente, há sempre um diferencial de temperatura a diferentes alturas do leito do grão, o qual é importante ser mantido no mínimo. Uma das maneiras de o fazer é revolvendo o malte; a outra, mais complexa, é feita através da regulação do arejamento. Enquanto a temperatura do ar que entra pode ser regulada através da interação entre mecanismos de circulação de ar ambiente e de ar recirculado, a diferença entre a temperatura do ar_{on} (que entra) e a do ar_{off} (que sai) pode ser minimizada por aumento do volume de ar que passa através do grão, aumentando a velocidade do arejamento; esta operação tem um sucesso apenas parcial, uma vez que o fluxo de ar depende da permeabilidade do leito, o qual, por sua vez, é dependente da quantidade de revolvimento do grão. Para além disso, o volume de ar não deve exceder a capacidade da unidade de humidificação, de modo a que este se mantenha 100% saturado, caso contrário, o grão vai gradualmente secando durante a germinação, o que afetará a taxa de modificação enzimática do endosperma. O revolvimento mecânico, se impróprio, pode danificar o crescimento das radículas, ou mesmo cortá-las, e prejudicar a síntese de enzimas, uma vez que esta depende do crescimento do embrião, e de um desenvolvimento saudável das radículas no início da germinação [Palmer, 1989].



Figura 12. Caixa de Saladin retangular, com revolvimento ativo [http://www.mopos.com/production-programme/malt_plants.htm?lang=en].

Relativamente aos sistemas em que a cevada é transferida ao longo do período de germinação, destacam-se o sistema *Wanderhaufen* e o *Lausmann*. O primeiro consiste em longos corredores de grão em germinação, nos quais o grão que sai da molha é descarregado numa das pontas e termina a germinação na outra; são utilizados revolvedores inclinados, responsáveis por movimentar o grão ao longo do corredor, criando espaço para a próxima remessa de grão. Porém, este sistema acarreta as desvantagens de ocorrer mistura de remessas de grão e de difícil limpeza. No sistema *Lausmann*, o grão também atravessa um corredor, dividido em secções, avançando uma secção por dia; a ponta em que termina a germinação está ligada a um tanque de estufagem; o chão é móvel, podendo ser içado e rebaixado, de modo a permitir a transferência do grão entre secções; é um sistema totalmente automatizado [The Scandinavian School of Brewing].

Para além dos referidos sistemas pneumáticos e de transferência semi-contínua do grão, existe também a possibilidade de realizar a germinação no chão (**Figura 13**). Por este método, após a molha, o grão é espalhado pelo chão numa camada uniforme; a temperatura é controlada pela altura do leito do grão e a cevada é revolvida duas vezes por dia durante a fase inicial da germinação, e depois com menos frequência, de modo a evitar danos. A germinação no chão exige que a área usada seja mantida a baixa temperatura, sendo normalmente necessário isolá-la e refrigerá-la ativamente. As principais desvantagens deste sistema são a necessidade de usar uma grande área e os altos custos que advêm de uma grande necessidade de mão-de-obra [The Scandinavian School of Brewing].



Figura 13. Germinação no chão [<http://www.maison-de-stuff.net/john/pictures/EdinburghAndIslay/05/>].

1.3.3. Estufagem

Finda a germinação, de modo a que seja biologicamente seguro armazenar o malte, a sua humidade deve ser reduzida de mais de 40% para menos de 5%, o que é possível graças à passagem de um grande volume de ar quente através do malte verde [Kunze e Mieth, 1999]; é por este motivo que à germinação se segue uma fase de estufagem do malte. Para além de permitir a boa conservação do grão, por redução do teor de humidade, a estufagem tem também outros objetivos, todos eles de grande importância para a qualidade do malte: parar os processos bioquímicos e biológicos (germinação, crescimento das radículas, respiração...), por remoção da água e aquecimento (quando não há água suficiente, as reações enzimáticas param); preservação das enzimas; desenvolvimento de cor (as reações de Maillard que ocorrem entre aminoácidos e açúcares originam a formação de melanoidinas); desenvolvimento de aroma e gosto da cerveja; remoção de compostos sulfurosos voláteis (DMS); e secagem das radículas para facilitar a sua remoção [*The Scandinavian School of Brewing*].

Durante a estufagem, o aquecimento deve ser efetuado com especial cuidado, devendo a redução do teor de humidade do malte ser controlada, de modo a evitar a destruição das enzimas pelo calor húmido (aguentam muito melhor o calor seco), uma vez que estas serão necessárias posteriormente na produção de cerveja; para além disso, quando se aquece o amido húmido, este gelatiniza, formando-se malte vítreo, que não possui utilidade para o processo cervejeiro. Por isso, a temperatura deve apenas ser elevada acima de 50°C após removida a maior parte da humidade; como tal, deve-se proceder a uma fase de temperaturas não tão altas, que permitam reduzir a humidade do malte suavemente, para depois sim, se utilizar temperaturas muito elevadas, com vista a remover quase toda a humidade e provocar o desenvolvimento de cor e aroma/gosto [Kunze e Mieth, 1999]. Durante todo o tempo da estufagem, o ar_{off} deve carregar o máximo de humidade; o volume e a temperatura do ar definem a sua capacidade para transportar água, na medida em que um maior fluxo de ar e temperatura mais elevada vão aumentar a sua capacidade de remover a humidade do malte. Resumidamente, a estufagem pode ser dividida em três fases fundamentais, que se encontram seguidamente descritas, para o caso de malte *Pilsner* (base) [*The Scandinavian School of Brewing*]:

1. A água do grão, muito húmido, é removida facilmente das regiões externas do malte através da passagem de um grande volume de ar a temperatura relativamente baixa (50-60°C). O teor de humidade fica reduzido a cerca de 20%. Durante esta fase, o ar_{off} mantém uma saturação entre 90 e 95%. Esta

fase é caracterizada por uma grande diferença entre as temperaturas do ar_{on} e do ar_{off} (a temperatura do ar que entra é bem mais elevada).

2. O teor de água é reduzido até 10-12%. A velocidade de perda de água pelo grão abranda e a temperatura do malte aumenta, devido à menor quantidade da água que evapora. À medida que seca, o grão encolhe, o que diminui a distância de difusão da água das camadas interiores do grão para fora deste, mas também reduz a área de superfície. O ar é aquecido até cerca de 70°C, de modo a acelerar a difusão da água para fora do grão; o volume de ar que é feito entrar no tanque é reduzido (por questões de cariz económico) e, no final desta fase, é recirculado. No momento em que a temperatura do ar que abandona do tanque se aproxima muito da temperatura do ar que entra, toda a água livre no grão foi removida; nesta altura, o ar que sai já não possui um elevado nível de saturação.
3. O teor de humidade desce para o seu nível final, entre 3 e 5% de humidade. A remoção de água é difícil, visto que abaixo dos 10% de humidade, já só existe água não livre para ser removida. De modo a remover esta água, a temperatura do ar deve ser ainda mais aumentada; nesta fase, o ar é substancialmente recirculado. A temperatura do ar que entra está compreendida entre os 80 e os 85°C (sendo mantida durante 3 a 5 horas, no caso do malte claro). Nesta fase, desenvolvem-se cor, aromas e gosto do malte.

Também é possível fasear a estufagem atendendo às alterações químicas que ocorrem no seu decurso [*The Scandinavian School of Brewing*]:

1. Fase de crescimento (continuação da germinação): o teor de humidade do malte é ainda superior a 20% e a temperatura no interior do grão é inferior a 40°C, possibilitando a ocorrência de algum crescimento. Assim: a plúmula continua a crescer; a modificação continua a uma taxa elevada; os metabolitos de baixo peso molecular acumulam-se; as atividades e concentrações de algumas enzimas aumentam, enquanto as de outras diminuem (termossensíveis).
2. Fase enzimática: a temperatura nesta fase encontra-se entre os 40 e os 70°C. Alguma actividade enzimática pode persistir no grão, enquanto a quantidade de água neste for suficiente (>30%) e a temperatura não for demasiado alta (<60°C). Não há crescimento biológico do malte e a inativação enzimática ocorre, ou quando o teor de humidade se torna demasiado baixo, ou quando a temperatura sobe demasiado.

3. Fase química: a temperatura é superior a 70°C. A estrutura dos β -glucanos é alterada. Acima dos 80°C, produtos da degradação, de baixo peso molecular (aminoácidos e açúcares), reagem (reações de Maillard), formando compostos responsáveis por conferir cor e aromas/gostos intensos ao malte.

Durante a estufagem, deve existir uma monitorização constante dos parâmetros do ar que entra (temperatura, tempo, volume, níveis de óxidos de azoto), da temperatura do grão e dos parâmetros do ar que sai (temperatura e humidade).

A temperatura no interior do tanque de estufagem é controlada a três alturas diferentes, de modo a permitir conhecer a temperatura a que está o grão nas várias camadas do leito, dado que esta difere entre as camadas, principalmente numa primeira fase da estufagem. A secagem é feita de baixo para cima, o que faz com que a água que evapora mantenha a temperatura mais baixa na camada de cima. Assim, durante a primeira metade da estufagem, a temperatura da camada superior é consideravelmente inferior à das outras duas camadas, aumentando posteriormente ao ponto de a temperatura no final da estufagem ser quase igual em todas as camadas [Kunze e Mieth, 1999]. A monitorização da temperatura do ar que abandona o tanque de estufagem dá informação acerca das condições no interior do tanque, sendo usada para determinar quando termina a primeira fase da estufagem [*The Scandinavian School of Brewing*].

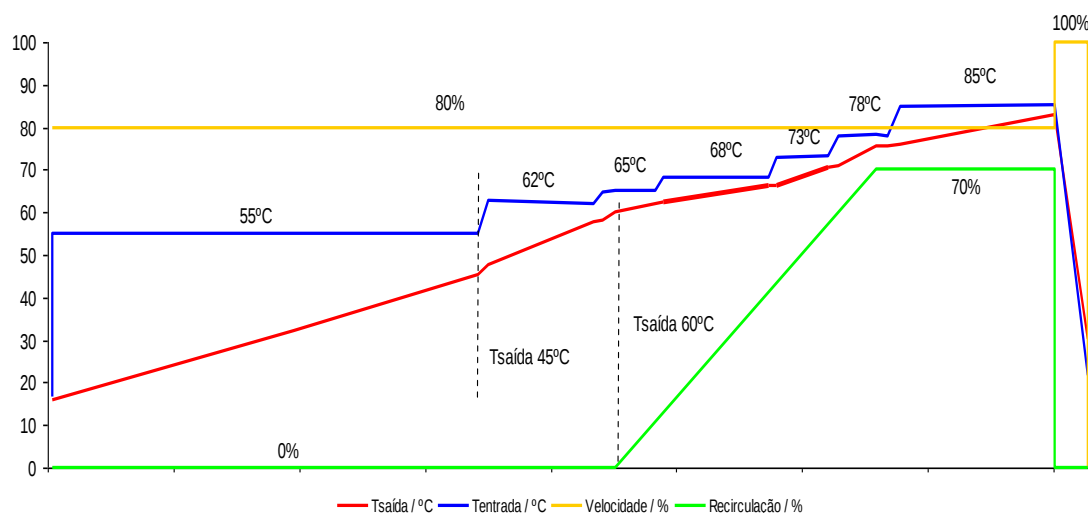


Figura 14. Exemplo de diagrama de estufagem de malte Pilsen. Quando a temperatura do ar_{off} ($T_{saída}$) atinge 45°C, efetua-se um único revolvimento do grão (fim da primeira fase da estufagem); aos 60°C, é iniciada a recirculação do ar_{off}, que deixa de estar saturado. A “velocidade” referida diz respeito à força da ventoinha (em % da velocidade máxima da ventoinha). Observa-se uma aproximação da temperatura do ar_{off} (vermelho) relativamente ao ar_{on} (azul) com o avançar da estufagem.

Desenvolvimento de cor e aroma/gosto

Cor, aromas e gosto do malte desenvolvem-se no final da estufagem como resultado das reações de Maillard que ocorrem nessa altura. A reação de Maillard é

um conjunto complexo de reações entre aminas, resultando na formação de muitos produtos [*The Scandinavian School of Brewing*], dos quais os mais importantes para a cor são as melanoidinas, que se formam a 100°C, por reação entre açúcares e aminoácidos, os quais advêm da hidrólise de moléculas de elevado peso molecular que ocorre durante a modificação do grão (amido e proteínas). A formação de melanoidinas determina a cor do malte e, conseqüentemente, da cerveja: quanto mais melanoidinas se formarem, mais escuro será o malte, e mais escura a cerveja [Kunze e Mieth, 1999]. Assim, o regime de temperaturas determina a cor do malte e a quantidade de enzimas que sobrevivem à estufagem.

Na produção de maltes mais claros, como *Pilsner*, é de evitar a formação de melanoidinas, o que significa que a quantidade de produtos da degradação (açúcares e aminoácidos) deve ser tão baixa quanto possível e a temperatura da estufagem não deve subir acima dos 100°C. Como tal, quando se pretende produzir malte claro, deve-se partir de uma cevada com baixo teor proteico e a sua germinação deve ser limitada, de modo a restringir a hidrólise de compostos de elevado peso molecular. Para além disso, a actividade enzimática pode ser interrompida no início da estufagem, por secagem do malte a temperaturas relativamente baixas com um grande volume de ar até o grão atingir um teor de humidade entre os 10-12%; numa fase subsequente da estufagem, o aquecimento deve ser feito até aos 80-85°C. Por outro lado, quando se produz malte escuro, as enzimas devem exibir atividade no início da estufagem, o que é conseguido pela diminuição do fluxo de ar; a formação de melanoidinas é assegurada por aquecimento do malte a 105°C, no final da estufagem [Kunze e Mieth, 1999].

Assim, consoante o programa de estufagem, vão-se obter maltes com características diferentes, isto é, esta é a fase da maltagem que determina o tipo de malte. Estufagem a baixa temperatura preserva o poder enzimático, o que significa que o malte final tem um grande extrato, mas poucos compostos de cor e sabor (maltes *Pilsner* e *Pale Ale*); estufagem a temperatura intermédia resulta num malte com menos enzimas, mas mais compostos responsáveis por cor e sabor (maltes *Munique* e *Viena*); estufagem a alta temperatura origina malte com poucas enzimas e, por isso, um extrato mais baixo, mas bastante mais escuro (maltes *Cristal* e *Chocolate*).

Para além das melanoidinas, a reação de Maillard também origina compostos voláteis que contribuem para o aroma, compostos que conferem gosto (muitas vezes amargos), compostos redutores (previnem deterioração oxidativa, aumentando a estabilidade da cerveja a longo prazo) e compostos mutagénicos [*The Scandinavian School of Brewing*].

Os compostos responsáveis pelo aroma/gosto do malte formam-se por reações de caramelização e de Maillard; são exemplos destes compostos os furanos, piranos, pirrole, tiazol, piridina e pirazinas. Tal como no caso do desenvolvimento de cor, durante o aquecimento, diferentes períodos de exposição ao calor, em combinação com diferentes temperaturas de aquecimento, originarão diferentes perfis aromáticos no malte [*The Scandinavian School of Brewing*].

Compostos voláteis na estufagem

A produção de substâncias voláteis no malte ocorre durante a estufagem, por intermédio de oxidação lipídica (forma-se *E*-2-nonenal), degradação de Strecker dos aminoácidos, reações de Maillard (formação de compostos heterocíclicos) e degradação térmica de ácidos fenólicos [*The Scandinavian School of Brewing*]. Porém, as substâncias voláteis mais relevantes que se formam durante a estufagem, e que devem ser eliminadas ou impedidas de se formarem, são o DMS (dimetilsulfureto) e as nitrosaminas.

O DMS é produzido pela levedura durante a fermentação ou origina-se a partir do seu precursor, DMSP (existe no malte), quando este é submetido a altas temperaturas, podendo, por isso, formar-se durante a estufagem do malte ou a ebulição do mosto. O DMS contribui para o aroma/gosto da cerveja, tornando-se um *off-flavour* a partir de 60 ppb [*The Scandinavian School of Brewing*]. O DMSP forma-se durante a germinação e, sendo termolábil, pode ser convertido a DMS durante a estufagem (**Figura 15**). O DMS, por ser volátil, pode ser eliminado para a atmosfera no ar que abandona o tanque; porém, uma parte fica retida no malte como DMS livre, mas pode também ser oxidado a DMSO, o qual poderá depois ser reduzido pela levedura durante a fermentação alcoólica do mosto, originando novamente DMS. Molha a alta temperatura, germinação longa a elevada humidade e temperatura [Brissart *et al.*, 2000; Kunze e Mieth, 1999], bem como a adição de ácido giberélico, são todos fatores que favorecem a formação de DMSP; menor proteólise e crescimento das radículas durante a germinação, maltes fracamente modificados, e estufagem mais longa e quente, permitem reduzir os níveis de DMSP durante a maltagem [*The Scandinavian School of Brewing*; O'Rourke, 2002]. Contudo, em certos tipos de cerveja, o DMS é visto como um sabor positivo, sendo encorajados altos níveis de DMSP, através do uso de baixas temperaturas durante a estufagem [O'Rourke, 2002].

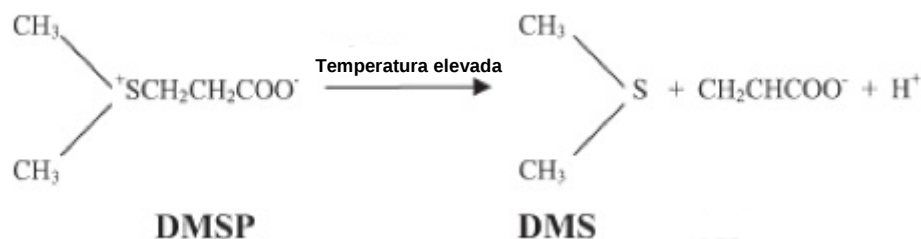


Figura 15. Conversão de DMSP a DMS promovida por elevada temperatura [adaptado de http://culturingscience.files.wordpress.com/2010/07/2010_07_18_dmsp_dms_vanalstyne2001.jpg].

As nitrosaminas (como NDMA) são substâncias carcinogénicas que se formam a altas temperaturas durante a estufagem, através de reações entre aminas (aminoácidos) e óxidos de azoto [Kunze e Mieth, 1999] presentes no ar que entra no tanque, após este ter sido aquecido. Por questões de saúde pública, o teor máximo permitido de NDMA no malte é entre 2 e 3 ppb. Os óxidos de azoto formam-se por oxidação do azoto no ar pelo oxigénio quando o combustível é queimado. Uma forma de prevenir a presença de óxidos de azoto no ar, e consequente aparecimento de nitrosaminas nas radículas do embrião, é através do aquecimento indireto do ar, por intermédio de permutadores de calor, prevenindo, desta forma, que os gases libertados pela combustão entrem no tanque e contactem o malte, contaminando-o. Se o aquecimento do ar for feito de forma direta, devem ser usadas para a combustão fontes de calor pobres em óxidos de azoto, ou que sejam ricas em enxofre [The Scandinavian School of Brewing], uma vez que a presença deste elemento reduz a formação de óxidos de azoto pela combustão; porém, o uso de enxofre pode promover a corrosão da planta de estufagem. O uso de bromato de potássio pode também reduzir a formação de nitrosaminas no malte, através da redução do crescimento das radículas [Palmer, 1989].

Equipamento

Os tanques de estufagem podem ser horizontais (*single deck*, *double deck* e *triple deck*) ou verticais (chãos múltiplos). Os tanques de estufagem *single deck* estão (Figura 16), na sua maioria, equipados com um aparelho de carregamento e descarga incorporado permanente, o qual pode ser elevado ou rebaixado; estes tanques podem ser retangulares ou circulares [The Scandinavian School of Brewing].



Figura 16. Tanque de estufagem *single deck* circular [de Pinho Ferreira Guiné e dos Reis Correia, 2013].

Quando se atinge o *break point* (altura em que o ar_{off} se torna menos saturado, o que faz aumentar a sua temperatura), é aumentada a temperatura e a recirculação do ar. Em tanques *double deck* verticais com transferência de malte verde, o processo é interrompido no *break point*, de forma a permitir: a descarga do malte completamente seco da camada de baixo (pós-*break*); a transferência do malte da fase pré-*break* da camada de cima para a de baixo; e carregamento da camada de cima com malte verde proveniente da germinação [The Scandinavian School of Brewing].

Em tanques *double deck* sem transferência de malte, as amostras de grão permanecem no mesmo compartimento durante todo o período de estufagem, sem que haja transferência do malte, sendo apenas alterado o fluxo de ar em cada um; quando uma das camadas está na fase pós-*break*, a outra, na fase pré-*break*, recebe o ar insaturado que sai da primeira [The Scandinavian School of Brewing].

Os tanques *triple deck* costumam encontrar-se sob a forma de torre, estando as duas camadas de cima na fase pré-*break*, e a de baixo na fase pós-*break*. Uma das camadas de cima possui 45% e o outro 55% da carga total de malte e o ar saturado que delas sai vai para um recuperador de calor; como estas têm quantidades diferentes de malte, o tempo de estufagem é diferente entre elas, o que permite que haja sempre uma a libertar ar saturado para o recuperador de calor [Brissart et al., 2000].

É preferível optar por tanques de estufagem circulares, uma vez que permitem boa distribuição do ar e melhor homogeneidade do produto, o que se faz acompanhar de poupanças de energia e manutenção [Palmer, 1989].

Na operação básica de estufagem, o ar ambiente é aquecido, por combustão de uma fonte de calor, e conduzido para o interior do tanque de estufagem, onde entra por baixo do chão perfurado; quando deixa o tanque, o ar pode ser expulso para a

atmosfera (na fase *pré-break*) ou parcialmente recirculado, quando fica insaturado, para reutilização em fases mais avançadas da estufagem, em que as temperaturas devem ser mais elevadas [Palmer, 1989]. Na estufagem, o ar que entra no tanque pode ser aquecido de forma direta ou indireta. Por aquecimento direto do ar, a fonte de aquecimento entra em contacto direto com o ar, o que faz com que a água de combustão passe para o ar que vai secar o malte, reduzindo o seu potencial de secagem; para além disso, o método direto acarreta o risco de contaminação do malte com óxidos de azoto. O aquecimento indireto do ar permite que a combustão se dê separadamente do ar, o que evita a contaminação deste; pode ser feito através da transferência de calor por meio de um líquido ou por vapor (oferece a vantagem da unidade de aquecimento poder estar separada do tanque de estufagem) [Brissart *et al.*, 2000]. É preferível o sistema de aquecimento indireto do ar de entrada, uma vez que, como já foi referido, permite minimizar os níveis de nitrosaminas no ar, apesar de existir algum consumo adicional de combustível [Palmer, 1989].

A fase de estufagem é, de longe, aquela que consome mais energia no processo de maltagem. Se nenhum sistema de recuperação de calor for utilizado, a energia gasta durante a estufagem pode representar até 90% da energia total despendida pela instalação de maltagem, caso contrário, esta percentagem desce para valores entre os 75 e os 85%. As formas de conservação de energia podem ir desde a unidade de recuperação de calor básica (recupera calor no local de saída do ar do tanque de estufagem), até sistemas mais complexos, como bombas de calor e recirculação inter-tanques [Brissart *et al.*, 2000]. Um dos tipos mais comuns de permutadores de calor é o sistema de transferência de calor *air-to-air* (**Figura 17**), pelo qual o ar que sai quente e saturado aquece o ar que entra [Palmer, 1989].

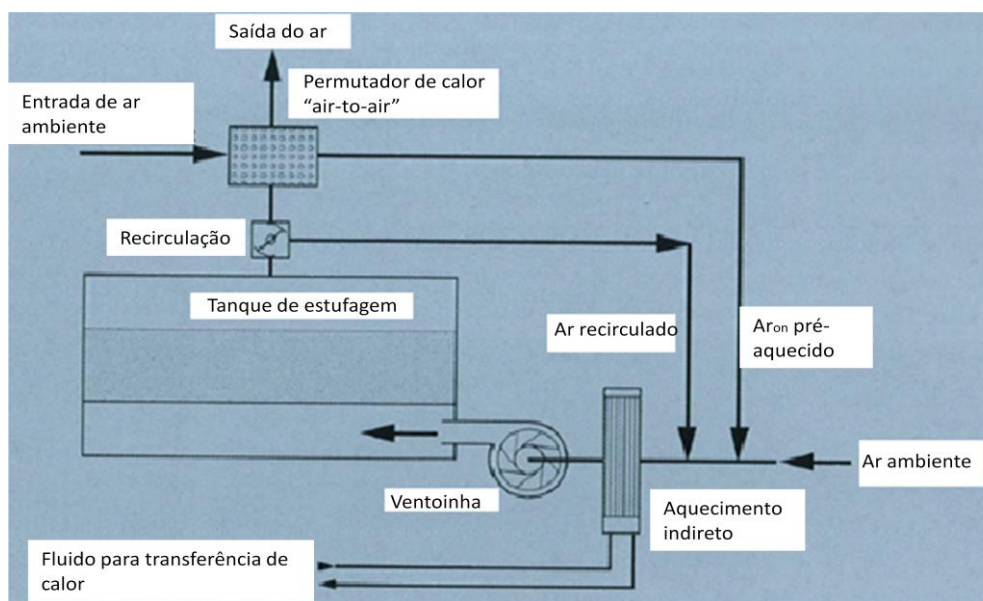


Figura 17. Sistema de recuperação de calor *air-to-air* [Brissart *et al.*, 2000].

Outro sistema muito utilizado de recuperação de calor é o *run-around* (**Figura 18**), pelo qual o calor disponível no local de saída do ar do tanque é transferido, através de um permutador de calor, para um fluido (como uma solução de glicol), o qual é daí bombeado para uma unidade semelhante, localizada no sítio de entrada de ar ambiente, onde a transferência de calor se dá de modo inverso (do fluido para o ar); este método é mais útil quando o local de saída do ar do tanque se encontra longe do local de entrada [Palmer, 1989].

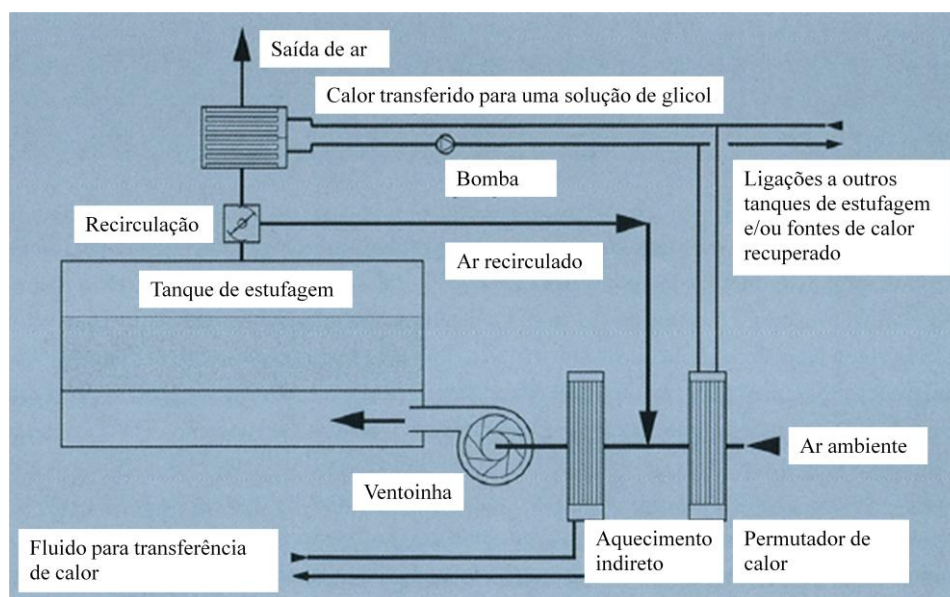


Figura 18. Sistema de recuperação de calor *run-around* [Brissart et al., 2000].

Após a estufagem, o malte é arrefecido, para poder ser armazenado, sendo-lhe posteriormente removidas as radículas. O arrefecimento pode ser feito por aplicação de ar frio do ambiente até que a temperatura do grão seja inferior a 35-40°C seguida de uma passagem lenta do malte pelo sistema de desradiculação [Kunze e Mieth, 1999].

1.3.4. Combinação de molha, germinação e estufagem (SGKV)

Em alternativa à maltagem tradicional, com transferência do grão entre as várias fases do processo, existem sistemas que combinam duas destas fases, ou mesmo as três num único tanque. Assim, existem malterias que usam um só tanque para a molha e germinação (SGV – *Steeping and Germination Vessel*), para a germinação e estufagem (GKV – *Germination and Kilning Vessel*) ou para as três fases (SGKV – *Steeping, Germination and Kilning Vessel*). O recurso a SGKVs (**Figura 19**), pelo facto de permitir que todo o processo ocorra num único tanque, sem que haja transferências ao longo da maltagem, traz as vantagens de causar menor

dano ao grão e permitir melhor higiene [Brissart *et al.*, 2000]. Porém, SGKVs têm o inconveniente de exigir maiores gastos de água e energia. Devido à existência de um grande espaço abaixo do chão perfurado, necessário para efeitos de arejamento durante a germinação e a estufagem, o volume de espaço vazio é enorme; logo, o volume de água necessário para encher o tanque durante a molha será muito grande [Palmer, 1989]. As unidades que combinam germinação e estufagem (GKVs), também chamadas de instalações de maltagem estáticas, possuem as vantagens de impedir o crescimento de fungos, de serem de fácil limpeza e de permitirem um melhor controlo energético [The Scandinavian School of Brewing].

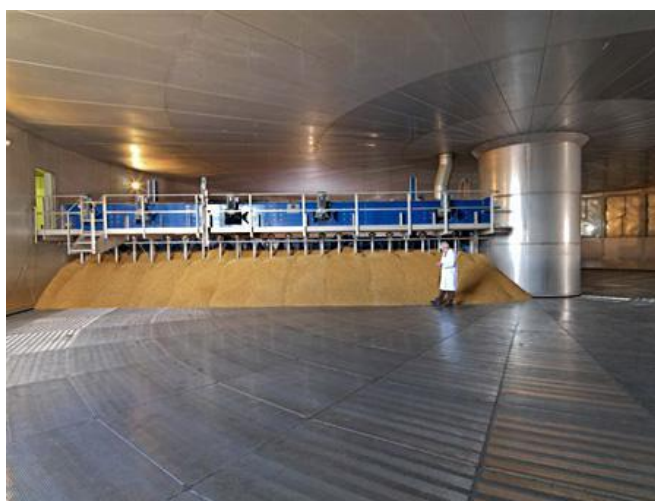


Figura 19. SGKV [http://altavina.ru/images/blog_url/89.jpeg].

1.3.5. Desradiculação

As radículas (3-4% do peso seco do malte) não têm utilidade para o processo de produção de cerveja [Kunze e Mieth, 1999], uma vez que absorvem rapidamente humidade, possuem substâncias de sabor amargo (afetam negativamente o sabor da cerveja) e possuem altos teores de proteínas (que provocam cor mais escura na cerveja) e ácidos gordos livres [The Scandinavian School of Brewing]. Por estas razões, as radículas são removidas, após a estufagem, e vendidas como ração para gado, juntamente com outros resíduos não aproveitados na maltagem. Os desradiculadores operam por agitação mecânica dos grãos no interior de um cilindro crivado, o que induz o desprendimento das radículas. É importante que esta operação não danifique os grãos, por isso, o movimento do malte é feito de forma suave ao longo do aparelho [Kunze e Mieth, 1999]. Para além da remoção das radículas, a desradiculação também permite arrefecer o malte.

1.3.6. Torra

A torra faz uso de temperaturas bem mais elevadas do que as usadas na estufagem, permitindo assim obter maltes muito escuros e com aromas/gostos muito mais intensos que maltes não torrados. As temperaturas na torra são tão elevadas que, quando se atinge a temperatura máxima (entre 200 e 230°C), é injetada água no tanque, de modo a prevenir a combustão do grão [Brissart *et al.*, 2000].

1.3.7. Armazenamento

O malte, se for usado logo após a estufagem, pode originar problemas na fermentação. Como tal, deve antes ser armazenado em silos por um período de, pelo menos, 4 semanas, ao longo do qual o teor de humidade aumenta um pouco até 4-5%, o que resulta em alterações físico-químicas no endosperma, que facilitam o processo subsequente. Uma vez que as plântulas já não estão vivas, não respiram e, por isso, não é efetuado arejamento durante o armazenamento [Kunze e Mieth, 1999].

1.4. *Outros aspetos técnicos da malteria*

1.4.1 Qualidade e recirculação da água

A água usada em maltagem deve ser potável, límpida, insípida e inodora. Não são desejáveis altos níveis de contaminação microbiológica nem de material orgânico; o teor de ferro deve ser inferior a 0,5 mg/L e o de manganês inferior a 0,3 mg/L [Kunze e Mieth, 1999].

Observam-se por vezes sistemas de recirculação de água, tais como unidades de tratamento aeróbico/anaeróbico de águas residuais, bem como micro e ultrafiltração. Na prática, é muito complicado desenvolver processos de recirculação de água fiáveis e rentáveis, sem provocar consequências danosas ao metabolismo da cevada em germinação [The Scandinavian School of Brewing].

1.4.2 Remoção de poeiras

As poeiras, que se fixam à superfície dos grãos, devem ser removidas ao longo de todas as fases da maltagem, uma vez que podem causar explosões, sujam o

equipamento e são uma fonte de infecção. Esta remoção está a cargo de uma unidade de aspiração de poeiras [Kunze e Mieth, 1999].

1.5.
Perdas durante a maltagem

A **Tabela 2** ilustra o rendimento médio de uma unidade de maltagem.

Tabela 2. Rendimento médio da maltagem, com indicação das perdas que ocorrem nas várias fases que compreendem a entrada da cevada até à limpeza do malte [*The Scandinavian School of Brewing*]

Fase do processo	Início	Perdas	Rendimento
Entrada da cevada	100%	9%	91%
Entrada para a maltagem	91%	1%	90%
Perdas da maltagem	90%	12%	78%
Limpeza do malte	78%	0,6%	77,4%

As perdas que se observam durante a molha estão associadas à extração de material solúvel (e insolúvel) durante os períodos de imersão, nomeadamente durante a remoção de sobrenadantes. As perdas observadas durante a germinação devem-se ao crescimento das radículas e da plúmula, que não são aproveitadas na maltagem. Na germinação, alta humidade do grão e germinação quente e prolongada conduzem ao aumento das perdas. As perdas durante a maltagem são também influenciadas pela variedade de cevada, pelo teor proteico e pelo *layout* do processo [*The Scandinavian School of Brewing*].

Porém, as perdas que inevitavelmente resultam da maltagem podem ser aproveitadas como constituintes de rações animais. Há várias frações, resultantes de várias fases do processo de maltagem, que podem ser recolhidas e vendidas para serem utilizadas como constituintes de rações para alimentação de gado. Estas são: a fração resultante da pré-limpeza da cevada (cascas soltas, palha, poeiras...), que possui baixo valor como alimento, por si só; fração resultante da limpeza e triagem da cevada (cascas soltas, poeira e grãos pequenos); fração resultante da limpeza do malte: cascas soltas e radículas (maior valor como alimento); e poeiras removidas durante todo o processo de maltagem. Estas frações são misturadas e vendidas como alimento para gado; contêm 15-20% de proteínas, 1,2-1,5% de gorduras e 7-8% de fibra [*The Scandinavian School of Brewing*].

1.6. Microflora em maltagem

A maior parte da microflora na cevada consiste em bactérias, leveduras e fungos filamentosos [Van Nierop *et al.*, 2006]. A contaminação do grão pelos microorganismos está geralmente restringida às camadas mais externas, nomeadamente o envelope e o espaço entre o envelope e o pericarpo; contudo, também pode ocorrer penetração para o interior do endosperma [Schwarz *et al.*, 2002]. O tipo e a severidade da colonização microbiológica variam de acordo com a região em que cresce o grão, com a suscetibilidade da variedade de cevada e com o clima [Etchevers *et al.*, 1977], dos quais o último parece ser o que tem mais importância [Beck *et al.*, 1991].

Para além de os microorganismos crescerem nos grãos de cevada, quer no campo, quer durante o seu armazenamento, também se observa o seu crescimento durante a maltagem e o armazenamento do malte [Anderson *et al.*, 1967; Prentice e Sloey, 1960]. As condições de temperatura, humidade e fluxo de ar que existem durante a maltagem favorecem o crescimento microbiológico no decorrer do processo. As populações de alguns microorganismos, particularmente fungos de espécies de *Fusarium*, aumentam substancialmente durante as fases de molha e germinação [Kotheimer e Christensen, 1961], devido ao aumento da atividade da água, mas a maioria é posteriormente eliminada, durante a estufagem [Van Nierop *et al.*, 2006]; contudo, os níveis de microorganismos no malte final são bem superiores aos encontrados na cevada [The Scandinavian School of Brewing].

Normalmente, cevada com elevados níveis de crescimento microbiológico exhibe dormência aumentada, capacidade para germinar diminuída (contaminações influenciam sensibilidade à água) e perdas aumentadas durante a maltagem [Van Nierop *et al.*, 2006]. Para além disso, a microflora na cevada está associada à obtenção de malte de fraca qualidade, tendo efeitos sobre a modificação, rendimento (teor de extrato) e poder diastásico. Isto resulta em fermentações anormais, intensificação da cor do mosto e da cerveja, sobreprodução de espuma (*gushing*) e aromas/gostos indesejados na cerveja [Van Nierop *et al.*, 2006].

Em cevada contaminada, o amido tende a ser mais intensamente degradado, conduzindo a uma modificação aumentada. Isto deve-se à presença adicional de enzimas hidrolíticas de origem microbiana, incluindo α -amilase [Gjertsen *et al.*, 1965] e proteinases [Noots *et al.*, 2003; Pekkarinen, 2003; Schwarz *et al.*, 2002]. A modificação aumentada do grão, resultante do crescimento microbiológico, resulta num decréscimo do teor de β -glucanos, bem como no aumento do extrato e das concentrações de azoto solúvel e de azoto aminado livre no mosto [Van Nierop *et al.*, 2006]. A

diminuição da quantidade de β -glucanos resulta numa menor viscosidade do mosto, o que se relaciona de forma negativa com a qualidade da espuma [Evans *et al.*, 1999]. Mosto mais escuro, bem como elevados teores proteicos, estão associados à libertação descontrolada de substâncias azotadas durante a maltagem, induzida por microorganismos [Bol *et al.*, 1985]. A maior parte dos fungos na cevada libertam enzimas hidrolíticas [Hoy *et al.*, 1981; Kanauchi e Bamforth, 2002; Schwarz *et al.*, 2002], as quais facilitam a degradação das camadas externas do grão, gerando nutrientes que os próprios fungos possam assimilar [Van Nierop *et al.*, 2006]. Por isso, em amostras de cevada infetadas por fungos, os níveis de actividade enzimática são tão altos que podem afetar a qualidade do malte resultante [Sarlin *et al.*, 2005].

Para além dos efeitos causados pela presença de microorganismos sobre o malte, a contaminação microbiológica também pode apresentar riscos para a saúde pública, exibindo efeitos alergénicos, toxigénicos, carcinogénicos e imunossupressores, bem como inibição da síntese proteica e ataque ao sistema nervoso central (neurotoxinas) [The Scandinavian School of Brewing].

Apesar de a maior parte dos fungos ser eliminada na estufagem, algumas espécies pertencentes aos géneros *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Penicillium* são mais resistentes ao calor, continuando a crescer no malte [Gyllang *et al.*, 1977]. Outros, chegam mesmo a reproduzir-se rapidamente no início da estufagem, como é o caso de espécies de *Rhizopus* e *Mucor* [Douglas e Flannigan, 1988; Haikara *et al.*, 1977].

A humidade do malte após a estufagem, durante o seu armazenamento, é crítica, na medida em que determina o crescimento microbiológico que poderá ocorrer no grão, enquanto armazenado. Níveis de humidade na ordem dos 4-6% impõem que poucas alterações ocorram no que diz respeito aos níveis de microorganismos no malte. Se o teor de humidade do grão durante o armazenamento for superior a 14%, ocorre um aumento progressivo dos níveis de fungos [Van Nierop *et al.*, 2006]. Para além da humidade, também a temperatura do ar e os níveis de dióxido de carbono durante o armazenamento são fatores importantes no que diz respeito ao desenvolvimento de fungos: a temperatura ótima de crescimento dos fungos está compreendida entre os 25 e os 35°C, enquanto ar com níveis de dióxido de carbono superiores a 10% reduz fortemente a quantidade de fungos no grão [Axcell *et al.*, 1986].

Alguns microorganismos que infetam a cevada, de modo a conseguirem vantagem na competição por nutrientes, possuem atividade antimicrobiana; isto pode influenciar o processo de maltagem, por ter influência na composição da microflora nos grãos. Assim, a atividade antimicrobiana de certos microorganismos pode ser explorada através do uso de culturas de fungos (espécies de *Rhizopus* e *Geotrichum*)

e bactérias (espécies de *Lactobacillus*) na maltagem, com vista a inibir o crescimento de organismos indesejados [Van Nierop *et al.*, 2006]. Estudos sugerem que a inoculação da cevada com bactérias lácticas pode evitar o crescimento de espécies de fungos, como *Fusarium*, e melhorar a qualidade do malte [Boivin e Malanda, 1993; Haikara *et al.*; 1993; Haikara e Laitila, 1995; Boivin e Malanda 1997a,b].

1.7. Plano de inspeção e ensaios

Tabela 3. Plano de inspeção e ensaios em maltagem

Amostra	Inspeção/ensaios
Cevada (antes da molha)	Humidade Teor de proteína Triagem Grãos estranhos/danificados/ infetados Grãos germinados Materiais estranhos Odor Pureza varietal Energia germinativa Sensibilidade à água
Cevada (fim da molha)	Humidade <i>Chitting</i>
Cevada em germinação (diariamente)	Humidade Comprimento da plúmula
Malte verde (durante a estufagem)	Humidade
Malte final (após estufagem)	Extrato (moagem fina e grossa) Diferença de extrato Viscosidade do mosto a 20°C Humidade Friabilidade Grãos vítreos Modificação Homogeneidade Azoto total Azoto solúvel Índice de Kolbach Azoto aminado livre Poder diastásico β-glucanos Cor Turvação Velocidade de filtração Tempo de sacarificação

	Atenuação final pH Aroma/gosto do mosto Triagem Grãos estranhos e partidos DMSP Polifenóis Lipoxigenase Catequinas
--	--

Na **Tabela 3** estão indicadas as análises geralmente efetuadas ao grão antes, durante e no fim do processo de maltagem. A importância destas análises está relacionada com o facto de estas permitirem controlar a qualidade do material em alturas críticas do processo. Seguem-se os princípios básicos de algumas das análises mais importantes efetuadas em maltagem:

- Capacidade germinativa da cevada: determinação da percentagem de grãos vivos numa amostra de cevada.
- Energia germinativa da cevada: determinação da percentagem de grãos que se espera que germinem completamente se a amostra for maltada normalmente.
- Humidade: o teor de humidade da amostra é calculado a partir da massa perdida durante a secagem de uma amostra de grão moído, que corresponderá à massa de água na amostra; alternativamente, o teor de humidade pode ser determinado através do uso de uma termobalança que, por via de um programa de aquecimento controlado, faz evaporar a água contida no grão, enquanto regista a perda de massa que ocorre como resultado desse fenómeno.
- Triagem: determinação do tamanho e uniformidade dos grãos, bem como de grãos partidos e material estranho.
- Extrato: o extrato do malte é determinado, após empastagem e filtração, a partir do extrato do mosto obtido de uma amostra de malte.
- Diferença de extrato: o malte é moído por moagem fina e grossa, sendo determinado o extrato para cada uma; por fim, é calculada a diferença entre os extratos obtidos pelos dois tipos de moagem.
- Cor: permite determinar a cor do mosto de malte.
- Viscosidade do mosto: a viscosidade é determinada pela leitura do tempo que um determinado volume de líquido, a 20°C, leva a atravessar um capilar; é calculada por comparação com a água destilada.

- Poder diastásico do malte: determinação da atividade combinada de α - e β -amilase do malte em condições de reação padronizadas.
- Determinação do azoto aminado livre: determinação do teor de aminoácidos e pequenos péptidos do malte, recorrendo a colorimetria com ninidrina.
- Modificação e homogeneidade: as paredes celulares intactas do endosperma são marcadas colorimetricamente com o fluorocromo Calcofluor, o qual se liga especificamente a β -glucanos.
- Friabilidade (energia de moagem): os grãos são fragmentados por ação mecânica do friabilímetro (**Figura 20**).



Figura 20. Friabilímetro [<http://www.graintec.com.au/malt-friabilimeter.html>].

- Determinação do teor de β -glucanos de elevado peso molecular no mosto: os β -glucanos reagem especificamente com o fluorocromo Calcofluor.

A determinação da humidade é a análise mais frequente no decorrer do processo de maltagem, uma vez que permite aferir, de forma rápida, se o processo decorre normalmente e que modificações aos parâmetros devem ser efetuadas, no caso de tal ser necessário. Em princípio, se a modificação e a homogeneidade estiverem de acordo com o esperado, também o estarão todos os outros indicadores de qualidade do malte.

Estas análises podem ser divididas de acordo com as informações que providenciam ao malteiro: as análises indicativas da degradação citolítica são a friabilidade, a diferença de extrato, o teor de β -glucanos, a viscosidade do mosto e a modificação; as análises que permitem avaliar a degradação do amido são o poder diastásico e o extrato; por fim, as análises indicativas da degradação proteica são a do azoto solúvel e o azoto aminado livre [*The Scandinavian School of Brewing*].

Para além das análises indicadas na tabela, podem ainda ser efetuadas mais análises, que providenciam informação complementar relativamente à qualidade do produto final: avaliação visual do malte (aparência, aroma/gosto, crescimento da plúmula, forma e tamanho do grão, impurezas e poeiras); procura de contaminantes (nitrosaminas, micotoxinas de fungos, resíduos de pesticidas, metais pesados...); e determinação do *E-2-nonenal*, ou do nonenal potencial [*The Scandinavian School of Brewing*].

1.8. Tipos de malte

Concluída a maltagem, o malte resultante do processo, para que possa ser utilizado para produção de cerveja, deve: permitir a recuperação de um alto extrato; ter um comportamento satisfatório durante o processo cervejeiro, sem que haja necessidade de processamento ou tratamento adicionais, e no tempo requerido para o ciclo; providenciar um mosto com todos os nutrientes necessários, de modo a assegurar uma fermentação satisfatória; apresentar o aroma/gosto pretendido e cumprir os requisitos exigidos para o processo [O'Rourke, 2002].

Contudo, apesar de estes serem os requisitos mais gerais para que um malte possa originar cerveja de qualidade, existem vários tipos de cerveja e, como tal, para cada uma, são pretendidas características mais específicas no malte. Por este motivo, de acordo com o tipo de cerveja que se pretende produzir, há que usar um (ou mais) tipo(s) específicos(s) de malte, que apresente(m) as características desejadas. O tipo de malte é definido consoante as variações que se possam fazer nos programas das várias etapas da maltagem, havendo também variedades de cevada que são mais apropriadas para produzir determinado tipo de malte do que outras.

1.8.1 Maltes especiais

São usados para conferir cor e aroma/gosto mais intensos [*The Scandinavian School of Brewing*]. Assim, podem adicionar-se maltes especiais com o objetivo de ajustar as propriedades sensoriais dos maltes padrão, apesar de os últimos possuírem uma maior actividade enzimática e maior extrato potencial do que os maltes especiais [Palmer, 1989]. A **Tabela 4** ilustra uma comparação entre um malte *Pilsner* e um malte especial.

Tabela 4. Diferenças entre o processo de produção de malte *Pilsner* (padrão) e o de produção de malte especial [adaptado de Kunze e Mieth, 1999]

	Malte <i>Pilsner</i>	Malte especial
Teor proteico da cevada	8,5-11%	11-13%
Teor de humidade no final da molha	42-44%	44-47%
Temperatura mais alta da germinação	17-18°C	22-25°C
Modificação	Limitada	Extensa
Comprimento final da plúmula (em relação ao comprimento do grão)	2/3-3/4	3/4-1
Primeira fase da estufagem	Secagem rápida por forte ventilação; inativação de enzimas; não há hidrólise de grandes moléculas	Ambiente morno e húmido com recirculação de ar; forte actividade enzimática; reações de hidrólise
Segunda fase da estufagem	80-85°C	105-110°C
Formação de melanoidinas	Muito reduzida	Abundante

Uma vez que no malte especial é pretendido favorecer a formação de melanoidinas, é preferível a maltagem de cevada mais rica em proteínas, cuja degradação durante a modificação do grão rende compostos de azoto solúveis, importantes para a formação de melanoidinas, pela reação de Maillard. Para além disso, também os elevados teores de humidade alcançados na molha e as altas temperaturas usadas na germinação favorecem a formação destes compostos azotados. Logicamente, face a estes parâmetros de maltagem, a modificação do grão também se dará em maior extensão do que na produção de malte *Pilsner*; o facto de a plúmula crescer mais na produção de malte especial vem ao encontro disso mesmo (maior modificação = maior crescimento da plúmula). Por fim, de modo a que se possam formar as desejadas melanoidinas em grande quantidade, a temperatura máxima da estufagem deverá ser superior a 100°C.

1.8.2 Maltes Caramelo e Cristal

Na produção de maltes Caramelo e Cristal, os programas da molha e da germinação são semelhantes aos usados para maltes padrão. Porém, após a germinação, é efetuada uma nova etapa de molha, aumentando o teor de humidade do malte para 50%. Segue-se uma estufagem, que se inicia com aquecimento rápido até 60-80°C durante uma a duas horas, com a ventilação no mínimo; estas condições conduzem à liquidação do amido do endosperma por amilólise, devido ao calor húmido (temperatura e humidade muito altas), o que resulta no desenvolvimento de grãos vítreos, ricos em açúcares. A fase final da estufagem consiste em sujeitar o

malte a temperaturas entre os 120 e os 160°C [*The Scandinavian School of Brewing*], o que induz a caramelização dos açúcares, originando-se um malte extremamente aromático e doce. Os maltes Caramelo e Cristal também melhoram a estabilidade da espuma da cerveja e são ainda mais escuros do que malte especial.

1.8.3 Maltes escuros

Os maltes escuros (Amber e castanho) possuem atividade enzimática baixa, ou não possuem nenhuma, devido à estufagem a alta temperatura ou à torra a que são sujeitos. Isto implica que maltes escuros não podem ser usados sozinhos para produzir cerveja, uma vez que é necessária a hidrólise enzimática do amido na brassagem. Estes maltes conferem sabor forte e muitos componentes de coloração à cerveja [http://www.e-malt.com/en_special_malt_frames.htm].

1.8.4 Maltes torrados

São sujeitos a altas temperaturas durante a torra e, por isso, não exibem atividade enzimática. As etapas de molha, germinação e estufagem são semelhantes às de maltes padrão. Porém, segue-se uma fase de torra, com duração entre duas horas e duas horas e meia, a temperaturas entre os 220 e os 235°C. O processo é interrompido por adição de água, de modo a impedir a combustão do grão, tão alta é a temperatura. Podem ser malte preto ou malte chocolate, sendo o chocolate menos escuro do que o preto, retendo também alguma doçura e aromas, visto não ser torrado durante tanto tempo [http://www.e-malt.com/en_special_malt_frames.htm].

1.8.5 Outros maltes

Malte chitted

A etapa da molha é semelhante à usada para maltes padrão; porém, a germinação é muito curta (duração de dois dias) e a estufagem é suave. Este malte é sub-modificado, o que provoca problemas de filtração, mas melhora a estabilidade da espuma. Devido à sub-modificação, o malte *chitted* retém muitas características da cevada [http://www.e-malt.com/en_special_malt_frames.htm], mas é muito pouco utilizado na produção de cerveja [Kunze e Mieth, 1999].

Malte enzimático

O malte enzimático é um malte acidificado, o que é conseguido através da adição de ácido láctico à cevada em germinação ou por inoculação de malte verde com bactérias lácticas. Esta acidificação promove a atividade proteolítica durante a brassagem, o que aumenta o extrato e melhora o sabor e a estabilidade da cerveja. Assim, o mosto feito a partir deste tipo de malte caracteriza-se por conter um alto extrato, um alto teor de azoto solúvel e alto teor de azoto aminado livre; exhibe também um pH baixo [http://www.e-malt.com/en_special_malt_frames.htm].

Malte para whisky

Na produção deste tipo de malte, é favorecido o máximo desenvolvimento enzimático, através de uma germinação longa a baixa temperatura e de uma estufagem também a baixa temperatura. Isto permite que tanto carboidrato quanto possível seja convertido a álcool pela levedura, obtendo-se uma grande produção de álcool durante a fermentação [http://www.e-malt.com/en_special_malt_frames.htm].

Malte de trigo

As maiores diferenças entre o trigo e a cevada são o facto de o trigo não possuir envelope e apresentar um maior teor de proteínas. Devido à ausência de envelope, o trigo absorve mais rapidamente água durante a molha, o que permite encurtar a duração desta etapa da maltagem [Kunze e Mieth, 1999]. O início da estufagem é feito a temperaturas entre os 40 e os 60°C e a fase final a 80°C, para maltes claros, ou a temperatura entre 100 e 110°C, no caso de maltes escuros [*The Scandinavian School of Brewing*].

1.9. Enquadramento e objetivo do trabalho

Numa primeira instância, este projeto visa a otimização do processo semi-industrial da produção de malte *Pilsner*, na Instalação Piloto de Mini-maltagem (IPM) da Unicer Bebidas S.A., a qual se encontrava inativa há alguns anos. Com isto em vista, um dos objetivos do projeto foi, no decorrer dos vários fabricos realizados, elaborar um manual técnico de operação para produção de malte *Pilsner* na IPM. Para além de possibilitar averiguar as condições em que se encontrava a mini-malteria, esta primeira fase teve, não só o propósito de permitir a familiarização com a instalação e com o processo de fabrico de malte em si, mas também permitiu a realização de

vários ensaios ditos *standard*, utilizados mais tarde como meios de controlo e de comparação para os fabricos subsequentes, aos quais foram feitas tentativas de implementar alterações ao processo base de produção de malte *Pilsner*.

Como referido anteriormente, a etapa de estufagem é aquela que acarreta maiores consumos energéticos no contexto da produção de malte, na medida em que é necessário fazer com que um elevado volume de ar atravesse todo o leito de malte, de forma a remover uma enorme quantidade de água (o teor de humidade do malte desce de um valor superior a 40% no fim da germinação, para valores inferiores a 5%, no malte final), tendo em conta que lida com toneladas de malte, que deve ser seco. O elevado fluxo de ar que tem de ser feito atravessar o grão é conseguido à custa do recurso a ventoinhas poderosas, de elevada capacidade, que representam um elevado consumo de energia elétrica. O facto de a estufagem corresponder a praticamente toda a energia elétrica que é consumida num fabrico de malte, significa que uma poupança energética nesta fase faria reduzir significativamente os consumos energéticos do fabrico de malte.

Tendo em consideração que gastos de energia representam custos, que podem ser elevados, para uma malteria, ficam claras as vantagens que um método de produção de malte energeticamente menos consumidor traria, quer para a malteria em si, quer para as cervejeiras, que encomendam às malterias o malte para o fabrico da cerveja, pois um menor custo de produção poderia conduzir a um menor custo de venda do produto. Com isto em vista, o presente projeto visou também, e mais importantemente, a otimização do processo de produção de malte *Pilsner*, no que diz respeito à redução de custos energéticos inerentes ao processo. Foram testadas duas abordagens, ambas com este propósito: germinação a menor teor de humidade e estufagem a menor temperatura.

É deduzível que partir de um teor de humidade mais baixo no início da estufagem signifique que esta etapa possa ser encurtada (uma vez que há menos água para remover do malte), o que permitiria alguma poupança de energia elétrica e de vapor (considerando um aquecimento do ar feito à custa de vapor). Para além disso, maltagem a menor humidade poderia também permitir o aumento da produtividade de uma malteria, na medida em que os grãos necessários à produção de uma dada quantidade de malte ocupam menos espaço do que o necessário a uma produção convencional, visto que, se os grãos absorverem menos água, não expandem tanto (o volume não aumenta tanto), o que permite o uso maiores quantidades de grão por fabrico. Acresce ainda o facto de poderem ser diminuídas as exigências de controlo do arejamento, uma vez que também existiria menor calor resultante da respiração do grão para ser removido (menor teor de água abrandava o metabolismo).

Uma hipótese que poderia permitir a redução da energia térmica gasta na estufagem seria a diminuição da temperatura máxima desta etapa, denominada temperatura de *curing*, uma vez que não seria necessário gastar tanto vapor, pois o ar_{on} não necessita de ser tão aquecido. Por isso, a outra abordagem deste projeto consistiu na redução da temperatura de *curing* da estufagem dos 85°C *standard* para apenas 75°C.

Nesta perspetiva, foi realizado um estudo de micro-maltagem pelo *IFBM* [Schmitt, 2013], o qual sugere que uma redução de 5% no teor de humidade antes da estufagem do malte verde (isto é, valores na ordem dos 38%) poderá permitir uma redução de 20% dos gastos de energia térmica e elétrica, sem que estas alterações tenham causado qualquer impacto negativo quer na qualidade do malte quer nas características sensoriais da cerveja. Face a isto, a primeira abordagem deste projeto, com vista à redução de custos energéticos, foi a tentativa de reproduzir os resultados obtidos em ensaios de micro-maltagem pelo *IFBM* (massa de material de 1 kg) para ensaios de mini-maltagem (massa de material superior a 1 ton), no que concerne as poupanças energéticas.

Uma vez que a temperatura máxima da estufagem, bem como o teor de humidade do grão enquanto germina, são de extrema importância no que envolve quer a composição química e enzimática do grão de malte quer as características sensoriais do mosto e da cerveja, destaca-se a importância que as análises de controlo da qualidade do malte representam para estes ensaios. Para tal, foi efetuado ao malte de cada fabrico realizado um conjunto de análises que visou avaliar os seguintes eventos biológicos característicos da maltagem da cevada: degradação citolítica do endosperma (determinação da modificação, da friabilidade, do teor de β -glucanos solúveis no mosto e da atividade da enzima endo- β -glucanase), a partir das quais se consegue saber o grau de destruição das paredes celulares do endosperma, importantes na medida em que dão uma noção da acessibilidade das restantes enzimas hidrolíticas ao amido e às proteínas que se localizam no interior das células do endosperma; amilólise (determinação do teor de extrato, do poder diastásico e das atividades das enzimas α - e β -amilase), as quais providenciam informação acerca da capacidade do malte para degradar as suas reservas de amido, e também da quantidade de amido e de produtos da sua degradação disponíveis para a levedura; e proteólise (determinação do teor de azoto solúvel e do teor de azoto aminado livre no mosto), as quais fornecem dados acerca da quantidade de produtos libertados da hidrólise proteica, mas também da atividade das proteases. Para além destas análises foram efetuadas outras, consideradas importantes (homogeneidade do malte, triagem, pH do mosto e níveis de DMS e DMSP no malte).

2. Materiais e métodos

2.1. Ensaios de mini-maltagem

Cevada

Foram utilizadas duas variedades de cevada nos ensaios de mini-maltagem: *Quench* e *Tipple*, ambas com origem em Inglaterra. O fornecimento de toda a cevada usada foi providenciado por parte da Maltibérica (Poceirão, Setúbal). O transporte de cevada foi feito em *big bags*, sendo que a massa de grão em cada *big bag* variou entre 970 e 1290 kg, para os vários fabricos de malte efetuados. As características de ambos os lotes de cevada utilizados nos ensaios estão indicadas na **Tabela 5** e na **Tabela 6**.

Tabela 5. Resultados do plano de análises à cevada da variedade *Quench*, usada nos ensaios de mini-maltagem. Análises efetuadas pelo fornecedor (Maltibérica)

Humidade (%)	Proteína (%)	Triagem (%)				Capacidade germinativa (%)	Energia germinativa (%)	Sensibilidade à água (%)
		>2.8	>2.5	>2.2	Resíduos			
13.5	10.8	78.0	17.5	3.7	0.8	100.0	98.0	1.0

Tabela 6. Resultados do plano de análises à cevada da variedade *Tipple*, usada nos ensaios de mini-maltagem. Análises efetuadas pelo fornecedor (Maltibérica)

Humidade (%)	Proteína (%)	Triagem (%)				Capacidade germinativa (%)	Energia germinativa (%)	Sensibilidade à água (%)
		>2.8	>2.5	>2.2	Resíduos			
14.3	10.6	78.4	15.6	3.8	1.4	100.0	98.0	1.0

Instalação de mini-maltagem (mini-malteria)

O tanque de receção da cevada (**Figura 21**, esquerda), é à base de aço e tem capacidade para 1,3 toneladas de cevada por fabrico. Instalado no tanque, existe também um sistema de aspiração do ar do tanque (**Figura 21**, direita), com filtros de poeiras.



Figura 21. Tanque de armazenamento de cevada (esquerda) e sistema de aspiração de ar com filtros de poeiras (direita).

A cevada deixa o tanque pela base para um transportador parafuso (**Figura 22**, esquerda), que conduz os grãos para o tanque de molha. Este transportador, de aço inoxidável, tem capacidade para transportar 2,6 toneladas de cevada por hora. Com vista a regular o fluxo de cevada a entrar para o transportador, existe uma chapa (**Figura 22**, direita) entre o fundo do tanque de receção de cevada e o transportador, a posição da qual é regulada manualmente. O tipo de transporte entre estes tanques é do tipo seco.



Figura 22. Transportador parafuso de cevada para o tanque de molha (esquerda) e chapa sob o tanque de armazenamento de cevada (direita).

O tanque de molha (**Figura 23**) desta unidade de mini-maltagem é do tipo cilindro-cónico, em aço inoxidável, e tem uma capacidade para 1,3 toneladas de cevada por fabrico. A base do tanque tem a forma de cone, com uma inclinação de 55° ; o restante do tanque é cilíndrico. O tanque está ainda apetrechado com uma unidade de pesagem, que permite conhecer a massa de material no seu interior. O mecanismo de remoção de sobrenadantes é de operação pneumática e encontra-se ligado a

canalização para drenagem de água e sobrenadantes. Para conhecimento das condições no interior do tanque, existem, no seu interior, um sensor de pressão (na parte de baixo), um termómetro e aparelhos de medição do nível de água. Todas as canalizações (fornecimento de ar ambiente para o interior do tanque, extração de dióxido de carbono, fornecimento de água e drenagem de água) são de aço inoxidável. Com vista ao arrefecimento da água usada nas fases húmidas da molha, existe ainda um permutador de calor, no interior do qual circula um agente de arrefecimento, que é uma solução de 30% glicol-água (-3°C). De forma semelhante, também o ar usado durante o arejamento (nas fases húmidas) e o ar que entra no tanque durante as fases secas são arrefecidos em permutadores de calor. A capacidade máxima do sistema de arejamento durante as fases húmidas é de 25 m^3 de ar / hora; a temperatura do ar usado no arejamento é monitorizada por via de um termómetro que existe após o permutador de calor. A sucção de dióxido de carbono do interior do tanque, durante as fases secas da molha, é conseguida por ação de uma ventoinha, a qual pode extrair do tanque até 290 m^3 de ar rico em dióxido de carbono por hora; no interior do tubo de extração encontram-se instalados um termómetro e um sensor de pressão.



Figura 23. Tanque de molha.

Durante a descarga da molha, a cevada sai por baixo do tanque para um transportador sem-fim de aço inoxidável (**Figura 24**), que a transporta para o tanque de germinação/estufagem; este transportador tem uma capacidade máxima para transportar 2,6 toneladas de cevada húmida / hora. À semelhança do transportador para a molha, também este possui uma chapa no local em que está em contacto com o tanque de molha, cuja posição pode ser regulada manualmente, de modo a controlar

o fluxo de cevada que é transportada. O transporte da molha para a germinação é também do tipo seco.



Figura 24. Transportador sem-fim para o tanque de germinação / estufagem.

As fases de germinação e estufagem do grão têm lugar no mesmo tanque (**Figura 25**, esquerda). Este é circular, em aço inoxidável, e está preparado para o sistema de germinação de Saladin. O tanque tem capacidade para acomodar 1,3 toneladas de malte por fabrico, o que equivale a $433 \text{ kg de malte} / \text{m}^2$. Este tanque está equipado com um sistema destinado ao revolvimento do leito de grão (**Figura 25**, centro), o qual consiste em dois agitadores suportados por um dispositivo girador localizado no centro do tanque (de aço inoxidável); este tem a capacidade de rodar 360° em torno do seu eixo, o que permite que os agitadores revolvam toda a área ocupada pelo grão enquanto o dispositivo roda. Este sistema encontra-se ainda equipado com aspersores, com um fluxo máximo de $1 \text{ m}^3/\text{h}$, que permitem a humedificação do grão durante o revolvimento do grão, quando assim for pretendido. O fundo do tanque é dividido em 4 partes de aço inoxidável de forma mais ou menos triangular, com 2 mm de espessura e perfuradas (**Figura 25**, direita); estas abrem na altura da descarga do tanque, permitindo a saída do malte para o transportador. O tanque está equipado com 3 termómetros, que medem a temperatura no interior a 3 alturas diferentes; estes termómetros são retirados de forma automática do interior do tanque aquando do revolvimento. Para além dos termómetros, existe também um sensor de pressão, abaixo do chão falso do tanque, no cone que conduz o grão para o transportador seguinte. Tal como acontece para o tanque de molha, também este tanque possui associadas tubagens que transportam ar e água para o seu interior (canalização de água para os aspersores, arejamento durante a germinação e

arejamento durante a estufagem) e exterior. O equipamento de arejamento durante a germinação inclui uma ventoinha radial de elevado desempenho, de aço inoxidável, com capacidade para ventilar 1000 m^3 de ar por hora; a ventoinha está equipada com um conversor de frequência, o que permite um controlo continuamente ajustável da velocidade da ventoinha. Antes da ventoinha, o ar passa por um permutador de calor contendo solução de glicol-água, para arrefecimento do ar. Antes ainda de ser arrefecido, o ar é humidificado através de aspersores (água aspergida $\approx 0,07 \text{ m}^3/\text{h}$). Um termómetro dá a informação acerca da temperatura do ar imediatamente antes de entrar no tanque. O equipamento de arejamento da estufagem também inclui uma ventoinha radial de elevado desempenho, de aço inoxidável e resistente ao calor, através da qual pode passar um volume de ar igual a $7400 \text{ m}^3/\text{h}$; também esta ventoinha possui um conversor de frequência. A temperatura do ar também é medida à entrada do tanque por um termómetro. O ar que entra no tanque durante a estufagem, antes de passar pela ventoinha, atravessa um permutador de calor onde é aquecido até à temperatura pretendida, através da passagem de vapor saturado a 159°C (método de aquecimento indireto do ar que entra). Imediatamente após a saída do ar do tanque, um termómetro indica a temperatura do ar que abandona o tanque. Existe ainda um sistema de válvulas que permite a recirculação do ar que sai do tanque, quer na germinação, quer na estufagem.

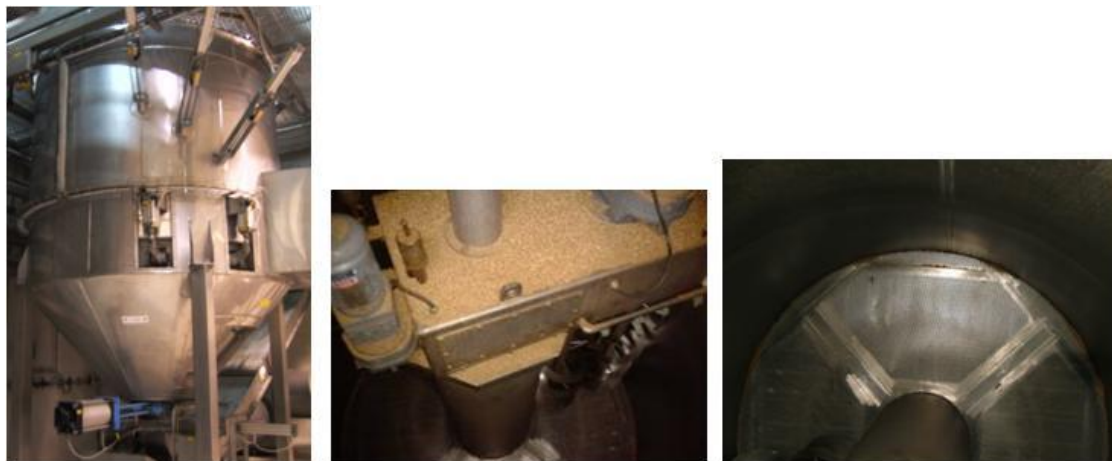


Figura 25. Tanque de germinação/estufagem (esquerda), girador (centro) e chão falso do tanque de germinação/estufagem (direita).

Na altura da descarga, após a estufagem, o chão falso abre-se e o malte cai para o transportador sem-fim (**Figura 26**), em aço inoxidável, que conduz o grão para a desradiculação; este transportador tem capacidade para transportar $1,18 \text{ ton}$ de malte por hora, e está também apetrechado com uma chapa à entrada do mesmo, com a finalidade de regular o fluxo de malte descarregado do tanque.



Figura 26. Transportador sem-fim de malte seco para a desradiculação.

No desradiculador (**Figura 27**, esquerda), são soltas as radículas do malte, por agitação mecânica; este tem capacidade para um fluxo de malte de 1,18 ton/h. O desradiculador, em aço inoxidável, possui um fundo crivado, por onde apenas passam as radículas e grãos e material demasiado pequenos. Na base do desradiculador existe um funil para o qual caem as radículas. O malte desradiculado é direcionado, via um transportador parafuso, de funcionamento pneumático, para um silo de armazenamento (**Figura 27**, direita). O transportador, em aço inoxidável, tem capacidade para transportar 1,18 toneladas de malte por hora. O silo, de aço, possui um sistema de aspiração de ar, com filtros de poeiras.



Figura 27. Dispositivo de desradiculação (esquerda) e silo de armazenamento de malte (direita).

A planta de arrefecimento da mini-malteria compreende o fornecimento de glicol-água, a -3°C , aos locais de refrigeração do ar e da água, e também o sistema de retorno do agente de refrigeração.

Em relação ao controlo elétrico da mini-malteria, este é constituído por um controlo básico do sistema (controlador programável e PC operador) e um sistema de energia ininterrompível.

Conta-se ainda o sistema de fornecimento de água à mini-malteria ($15\text{ m}^3/\text{h}$) e de eliminação de águas residuais.

Programa de mini-maltagem *standard*

A etapa de molha dos ensaios preliminares (*standard*) consistiu em duas fases húmidas intercaladas com duas fases secas, e teve a duração de 36 – 43 h (7 h de primeira fase húmida mais 12 h de primeira fase seca mais 5 h de segunda fase húmida mais 12 – 19 h de segunda fase seca). Os parâmetros adotados para as quatro fases da molha dos ensaios *standard* foram os indicados nas **Tabelas 7 – 10**.

Tabela 7. Parâmetros do programa da primeira fase húmida da molha *standard*

Duração	7 h
Massa de água no tanque antes do carregamento da cevada	1000 kg
Temperatura da água de enchimento do tanque	16°C
Nível de água no tanque para início do arejamento	90%
Nível de água no tanque para remoção de sobrenadantes	104%
Tempo de arejamento antes de remoção de sobrenadantes	10 min
Tempo de repouso até ao início da remoção de sobrenadantes	30 min
Tempo de remoção de sobrenadantes	10 min
Tempo até ao início do arejamento após remoção de sobrenadantes	10 min
Arejamento / hora	10 min ON / 50 min OFF ^a
Temperatura do ar para arejamento	16°C
Humidificação do ar para arejamento	Sim

a: Por cada hora (60 min) desta fase, o arejamento está ativo durante 10 min, permanecendo inativo nos restantes 50 min.

Tabela 8. Parâmetros do programa da primeira fase seca da molha *standard*

Duração	12 h
Tempo de arejamento antes de esvaziar a água do tanque de molha	10 min
Tempo até ao início da extração de CO ₂	60 min
Extração de CO ₂ / hora	15 min ON / 45 min OFF ^a
Tempo de extração de CO ₂ ON/OFF ^b	300 min
Velocidade de extração de CO ₂ ^c	60% ^d
Recirculação de ar	0%
Temperatura do ar de entrada	16°C
Temperatura do ar de saída	17°C ^e

a: Por cada hora, a extração de CO₂ está ativa durante 15 min e inativa nos restantes 45 min.

b: Durante as primeiras 5h (300 min) a extração de CO₂ desenrola-se 15 min ON / 45 min OFF; durante o tempo restante desta fase, a extração é contínua.

c: Durante a fase de extração ON/OFF de CO₂. Tem um valor fixo durante o período em que a extração de CO₂ não é contínua; quando a extração passa a ser contínua, a velocidade de extração varia, consoante a diferença entre a temperatura do ar de entrada e a do ar de saída (o aumento da temperatura do ar de saída, com temperatura do ar de entrada constante, provoca o aumento da velocidade da extração, com vista à redução da diferença entre estas temperaturas).

d: Percentagem da velocidade máxima da ventoinha.

e: Valor alvo. Durante a fase de extração contínua de CO₂, o sistema tenta que esta temperatura não se altere substancialmente, através da auto-regulação da velocidade da ventoinha de extração.

Tabela 9. Parâmetros do programa da segunda fase húmida da molha standard

Duração	5 h
Temperatura da água de enchimento do tanque	16°C
Nível de água no tanque para início do arejamento	70%
Remoção de sobrenadantes	Não
Tempo de repouso até ao início do arejamento	10 min
Arejamento / hora	10 min ON / 50 min OFF
Temperatura do ar para arejamento	16°C
Humidificação do ar para arejamento	Sim

Tabela 10. Parâmetros do programa da segunda fase seca da molha standard

Duração	12-19 h
Tempo de arejamento antes de esvaziar a água do tanque de molha	10 min
Tempo até ao início da extração de CO ₂	10 min
Extração de CO ₂ ON/OFF	Não ^a
Recirculação de ar	0%
Temperatura do ar de entrada	16°C
Temperatura do ar de saída	17°C

a: Durante todo o tempo da segunda fase seca da molha, a extração de CO₂ é contínua, sendo a velocidade da ventoinha de extração controlada da mesma forma que durante a extração contínua da primeira fase seca (**Tabela 8**).

Em relação à fase de germinação, o programa nunca foi exatamente o mesmo para todos os fabricos *standard*, com uma e outra variedade de cevada. Isto resulta do facto de a duração da germinação depender exclusivamente da velocidade a que a cevada germina. De facto, a taxa de modificação do grão depende, por si só, de vários fatores, como a temperatura e humidade do ar ambiente (que é feito entrar no tanque durante o processo), a massa de cevada inicial, e a própria variedade [Palmer, 1989]. Face a isto, e uma vez que se observou, entre os diferentes ensaios (standard ou não), variações, quer nas condições climatéricas, quer na massa de cevada e na variedade, é natural que a germinação tenha prosseguido de forma diferente para cada ensaio, o que resultou em abordagens diferentes relativas ao programa de germinação, com vista a otimizar a eficiência desta etapa. Por isso, não é possível apresentar um programa *standard* para a germinação, uma vez que não há dois ensaios com uma fase de germinação idêntica. Independentemente desta situação, a tendência geral durante a germinação é, de dia para dia, baixar a temperatura do ar que entra no tanque e aumentar a recirculação do ar que deixa o tanque. As **Tabelas 11 e 12** são exemplificativas de um programa de germinação na linha do que foi realizado.

Tabela 11. Exemplo de programa de germinação

Passo	Duração (h)	Temperatura do ar de entrada (°C)	Recirculação de ar (%)
1	24	15	50
2	24	14	60
3	24	13	70
4	24	12	70
5	24	12	80
6	24	12	90

Tabela 12. Parâmetros gerais da germinação

Rotação do girador durante a carga do tanque de germinação	0,60 m/min ^a
Rotação do girador durante a descarga do tanque de germinação	0,60 m/min ^a
Rotação do girador durante a germinação	0,30 m/min ^a
Intervalo entre voltas do girador no decurso da germinação ^b	12 h
Abertura da válvula de fundo do tanque de germinação ^c	1 h em 1 h
Voltas do girador com aspersão ligada ^d	1 ^a e 8 ^a

a: Velocidade

b: O revolvimento do grão durante a germinação tem o propósito de a tornar mais homogénea.

c: A abertura da válvula de fundo visa a saída do excesso de água no interior do tanque.

d: A aspersão é ligada quando existe necessidade de aumentar o teor de humidade do grão.

Para os fabricos de estufagem *standard* realizados, o tempo da estufagem variou entre 14h e 18h. As **Tabelas 13 e 14** indicam o programa adotado e os parâmetros gerais da estufagem.

Tabela 13. Programa *standard* de estufagem

Passo	Temperatura do ar _{on} ^a (°C)	Duração (h)	Velocidade da ventoinha (%) ^b
1	55	2 (mínimo) ^c	80
2 ^d	62	2	80
3	65	1	80
4	68	2	80
5	73	1	80
6	78	1	80
7	85	6 (máximo) ^e	80

a: Ar que é feito entrar no tanque.

b: Percentagem da velocidade máxima da ventoinha.

c: O tempo mínimo do primeiro passo é de 2h; este passo corresponde à fase pré-break da estufagem.

d: Como o passo 1 não tem duração certa, o passo 2 apenas se inicia quando a temperatura do ar que abandona o tanque atinge 45°C (**Tabela 14**).

e: A duração máxima do último passo da estufagem (curing) é de 6 h; este passo (e a estufagem) termina 1h após o ar que sai do tanque atingir 82°C (**Tabela 14**).

Tabela 14. Parâmetros gerais da estufagem *standard*

Temperatura do ar _{off} para início do passo 2 da estufagem	45°C
Temperatura ^a para se iniciar a recirculação do ar _{off}	60°C
Recirculação máxima	70%
Tempo para atingir recirculação máxima ^b	4 h
Temperatura ^a para finalizar o aquecimento	82°C
Tempo para finalizar o aquecimento, após a temperatura do ar _{off} atingir 82°C	1 h
Temperatura ^a para final do arrefecimento	40°C
Velocidade da ventilação durante o arrefecimento	100% ^c
Temperatura ^a para início da rotação do girador na estufagem	45°C

a: Temperatura do ar_{off}

b: Tempo que a recirculação demora a aumentar de 0 para 70%.

c: Ventilação máxima.

2.2. Plano de análises

Tabela 15. Análises efetuadas à cevada, ao grão em germinação e ao malte final de cada ensaio

Cevada (início)	Teor de humidade
	Teor total de proteínas
	Capacidade germinativa
	Energia germinativa
	Sensibilidade à água
	Triagem
Cevada (durante a germinação)	Teor de humidade
Malte verde	Teor de humidade
Malte final	Teor de humidade
	Extrato do malte
	Teor de azoto solúvel
	Teor de azoto aminado livre
	Teor de β -glucanos de elevado peso molecular
	Teor de DMS e derivados do DMS (DMSP)
	Friabilidade
	Modificação e homogeneidade
	Triagem
	Poder diastásico
	Atividade da α -amilase
	Atividade da β -amilase
	Atividade da β -glucanase

Análises à cevada

Teor de humidade (método 3.2 da Analytica-EBC)

Uma amostra de cevada é moída (moagem fina) num moinho (*Bühler-Miag DLFU*) e são pesados, numa balança (*Mettler Toledo HK-160*), cerca de 5 g de farinha de cevada para um prato de alumínio previamente pesado. O prato é colocado na estufa, aberto, a 131°C, durante 3 horas, ao fim das quais o prato é novamente pesado, sendo registada a massa. O cálculo do teor de humidade da amostra de cevada é efetuado pela fórmula seguinte:

$$\text{Teor de humidade (\%)} = \frac{m_1(\text{g}) - m_2(\text{g})}{m_1(\text{g}) - m_0(\text{g})}$$

Em que:

m_0 : massa do prato de alumínio vazio

m_1 : massa do prato com amostra, antes da secagem

m_2 : massa do prato com amostra, depois da secagem

Teor total de proteínas (método 3.3.1 da Analytica-EBC)

Estas análises foram efetuadas na Maltibérica. Uma amostra de cevada é moída (moagem fina) num moinho DLFU (*Bühler-Miag DLFU*). 1,000 g ($\pm 0,001$ g) da farinha fina de cevada é transferida para um frasco de *Kjeldahl* completamente seco. De seguida, procede-se à adição de 10 g de catalisador em pó à farinha, e mistura-se. São adicionados 20 mL de ácido sulfúrico 98% e é efetuada uma agitação, após a qual é realizada uma digestão a baixa temperatura até não se observar espuma. O passo seguinte consiste em ferver o digerido vivamente, até ao desaparecimento da cor castanha, sendo o aquecimento mantido por mais 30 min. O digerido é depois deixado arrefecer e cuidadosamente diluído com 250 mL de água destilada; é adicionado o agente *antibumping*, e são lentamente adicionados cerca de 70 mL de solução de hidróxido de sódio, formando-se duas camadas distintas. Efetua-se a destilação de amoníaco com cerca de 25 mL de solução de ácido bórico 20 g/L, contendo cerca de 0,5 mL de indicador de cor. São recolhidos aproximadamente 180 mL de destilado e procede-se à titulação do amoníaco com ácido padrão até se atingir a cor cinzenta. O teor de azoto total em peso seco de cevada (% m/m) é dado pela equação:

$$\text{Teor de azoto total (\% m/m)} = \frac{T \times 14}{W (100 - M)}$$

T: volume de ácido padrão gasto na titulação de amoníaco, em mL

W: massa de amostra (1 g)

M: teor de humidade da amostra de cevada (%)

Este valor é convertido a teor total de proteínas (% m/m) multiplicando-o pelo fator de conversão 6,25.

Capacidade germinativa (método 3.5.2 da *Analytica-EBC*)

Estas análises foram efetuadas na Maltibérica. Dois conjuntos de 200 grãos, cada, são imersos em 200 mL de solução de peróxido de hidrogénio fresca, a $19,5 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$. Ao fim de dois dias, o líquido é descartado e substituído. Um dia depois, o líquido é outra vez descartado e os grãos que não manifestam desenvolvimento de raízes nem plúmula são separados e contados.

$$\text{Capacidade germinativa (\%)} = \frac{200 - \text{n}^{\circ} \text{ de grãos não germinados}}{2}$$

Energia germinativa (método 3.6.2 da *Analytica-EBC*)

Estas análises foram efetuadas na Maltibérica. São colocados dois papéis de filtro na base de uma caixa de Petri e são adicionados 4 mL de água. Para a caixa de Petri são transferidos 100 grãos de cevada. A caixa é bem selada e a amostra incubada no escuro a $19,5 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$. Às 24, 48 e 72h de incubação, são retirados os grãos que exibem picar das radículas (*chitting*), evitando uma absorção excessiva de água por parte destes grãos já germinados. A energia germinativa é dada pela percentagem cumulativa dos grãos para os quais se observa *chitting* no final de cada dia de incubação.

Sensibilidade à água

Estas análises foram efetuadas na Maltibérica. O procedimento é igual ao usado para determinação da energia germinativa da cevada, com a diferença de o volume de água usado ser de 8 mL, em vez de 4 mL; apenas o lado ventral dos grãos deve tocar no papel, com o intuito de evitar que asfixiem.

Triagem (método 3.11.1 da *Analytica-EBC*)

Três peneiras com ranhuras de diferentes larguras (2,8, 2,5 e 2,2 mm) são colocadas em torre e colocadas sobre um aparelho de agitação, que promove a passagem dos grãos através das ranhuras, permitindo que a triagem com base no diâmetro dos grãos seja efetuada. 100 g de cevada são pesados numa balança (*Mettler Toledo PB3002-S*) e colocados sobre a peneira com as ranhuras de maior diâmetro (2,8 mm) e é ligada a agitação, que se mantém por 5 minutos. Finda a agitação, obtêm-se quatro frações de grãos, separados consoante o seu calibre (> 2,8 mm; > 2,5 mm; > 2,2 mm; < 2,2 mm). Todas as frações, exceto a de calibre < 2,2 mm,

são cuidadosamente examinadas em busca de grãos partidos e de material estranho, os quais são separados; a fração de material estranho é junta com a de calibre < 2,2 mm e é determinada a massa das duas frações em conjunto. Esta determinação da massa de grão é também efetuada para as restantes frações (> 2,8 mm; > 2,5 mm; > 2,2 mm e grãos partidos), em separado. A massa obtida corresponderá à percentagem de grãos pertencente a cada uma das frações (massa peneirada = 100 g = 100%).

Análises ao malte

Teor de humidade (método 4.2 da *Analytica-EBC*)

Uma amostra de malte é moída (moagem fina) num moinho (*Bühler-Miag DLFU*) e são pesados, numa balança (*Mettler Toledo HK-160*), cerca de 5 g de farinha de malte para um prato de alumínio. O prato é colocado na estufa, aberto, a 106°C, durante 3 horas, ao fim das quais o prato é novamente pesado, sendo registada a massa. O cálculo do teor de humidade da amostra de malte é efetuado pela mesma fórmula usada para a determinação do teor de humidade da cevada.

Para as amostras que são recolhidas no decorrer da germinação, a determinação da humidade foi feita por recurso a uma termobalança (*Mettler Toledo HB43-S*), cujo funcionamento se baseia também na perda de massa por uma amostra quando sujeita a elevadas temperaturas, a qual corresponderá à massa de água contida na amostra. O programa usado para as determinações do teor de humidade consistiu em aquecimento progressivo da amostra até 160°C, sendo esta temperatura mantida até que estabilização da massa, altura em que o aquecimento é interrompido. A massa de grão usada foi de $3,0 \pm 0,1$ g. A duração do programa de secagem completa das amostras de grão foi 25 – 30 min.

Extrato do malte – Mosto Congresso (método 4.5.1 da *Analytica-EBC*)

Brassagem

Uma amostra de malte é moída num moinho (*Bühler-Miag DLFU*) e são pesados 50 g de farinha fina de malte. São adicionados 200 mL de água ultrapura a 45°C à farinha, que é de seguida incubada, com agitação permanente, num banho de brassagem (*Lg – automatic aps MA-002*). O programa de brassagem descreve-se de seguida: 30 min a 45°C; 25 min em que a temperatura do banho aumenta 1°C por minuto, até se atingir 70°C; adição de 100 mL de água a 70°C; estacionamento a 70°C durante 1 h; arrefecimento até aos 20°C. O mosto é retirado do banho e a massa é ajustada a $450,0 \pm 0,2$ g, por adição de água ultrapura à temperatura ambiente.

Filtração

Após uma agitação rápida, é feita a filtração do mosto, através de um funil com filtro de pregas (*Macherey-Nagel 614*; 320 mm de diâmetro).

Determinação do extrato

Um pequeno volume de mosto filtrado é colocado no aparelho *Anton-Paar Alcolyzer Plus*, que fornece dados relativos ao extrato e pH do mosto.

Cálculo do extrato fermentescível (% m/m) do malte

$$E_1(\% \text{ m/m}) = \frac{P(M + 800)}{100 - P}$$

$$E_2(\% \text{ m/m}) = \frac{E_1 \times 100}{100 - M}$$

E_1 : Teor de extrato da amostra (% m/m)

E_2 : Teor de extrato do malte seco (% m/m)

P: Teor de extrato aparente do mosto (% m/m)

M: Teor de humidade do malte (%m/m)

800: quantidade de água destilada adicionada ao mosto não filtrado para 100 g de malte (mL)

Teor de azoto solúvel (método 4.9.1 da *Analytica-EBC*)

Estas análises foram efetuadas na Maltibérica. São pipetados 20 mL do mosto do malte (método do Mosto Congresso) para um frasco de *Kjeldahl* de 500 mL. São, de seguida, adicionados 2-3 mL de ácido sulfúrico concentrado e procede-se a uma evaporação suave, quase até secagem total. Adiciona-se o catalisador em pó, e, a partir deste momento, o procedimento é o mesmo que é usado para a determinação do teor de proteínas totais. O teor de azoto solúvel em 1 L de mosto é calculado pela fórmula que se segue.

$$N_V(\text{mg/L}) = \frac{T \times 14}{V} \times 100$$

N_V : teor de azoto solúvel (mg/L)

T: volume de ácido 0,1 M gasto na titulação do amoníaco (mL)

V: volume de amostra (20 mL)

O teor de azoto solúvel também pode ser expresso como percentagem por massa de malte seco:

$$N_S(\text{mg/L}) = \frac{N_V \times E_1}{10000 \times E_W} \times 100$$

N_S : teor de azoto solúvel em massa de malte seco (% m/m)

N_V : teor de azoto solúvel (mg/L)

E_1 : teor de extrato em massa de malte seco (% m/m)

E_w : massa de extrato no mosto (g / 100 mL de mosto)

10000: fator de correção, de forma a obter o resultado sob a forma de percentagem

O teor de azoto solúvel pode ser convertido em teor de proteínas solúveis, bastando multiplicar esse valor pelo fator 6,25.

Teor de azoto aminado livre no mosto (método 4.10 da *Analytica-EBC*)

1 mL de mosto (Mosto Congresso) é diluído 1:100 com água ultrapura. A 2 mL da amostra diluída é adicionado 1 mL de reagente de cor (25 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ + 15 g de KH_2PO_4 + 1,25 g de ninidrina + 0,75 de frutose em 250 mL de água ultra-pura; pH 6,6-6,8), seguindo-se a permanência em água a ferver durante exatamente 16 min. A seguir, o tubo é transferido para um banho a 20°C, aí permanecendo cerca de 20 min. Adicionam-se 5 mL de solução de diluição (2 g de KIO_3 em 600 mL de água ultra-pura + 400 mL de etanol 96%), é feita uma agitação vigorosa e a absorvância da solução é lida no espectrofotómetro (*Cary 50 Bio*) ao comprimento de onda de 570 nm. É também lida a absorvância de uma solução com 2 mL de solução padrão de glicina, em vez de mosto diluído, para cálculo do teor de azoto aminado livre; este padrão é elaborado por diluição de 1:100 de solução-mãe de glicina (0,1072 g de glicina em 100 mL de água ultra-pura) com água ultra-pura.

O teor de azoto aminado livre na amostra calcula-se da seguinte forma:

$$\text{Teor de azoto aminado livre (mg/L)} = \frac{(A_1 - A_b) \times 2 \times d}{A_2 - A_b}$$

A_1 : absorvância da amostra de mosto diluído a 570 nm

A_2 : absorvância da solução padrão de glicina a 570 nm

A_b : absorvância do branco a 570 nm

d: fator de diluição (100)

Teor de β -glucanos de elevado peso molecular (método 8.13.2 da *Analytica-EBC*)

Estas análises foram efetuadas na Maltibérica. O fluorocromo Calcofluor complexa com β -glucanos de elevado peso molecular em solução, o que provoca o aumento da intensidade da fluorescência do reagente Calcofluor, que pode ser registado usando um sistema automático que usa o princípio *Flow Injection Analysis*.

Remoção de partículas

Se a amostra de mosto (Mosto Congresso) contiver partículas em suspensão, deve ser feita a centrifugação de uma alíquota de 5 mL por 10 min a 3000 rpm.

Calibração do aparelho β -glucan Analyzer

É feita a leitura de uma solução branco e de soluções padrão com teores de 75, 150 e 300 mg/L de β -glucanos de cevada (as mais diluídas são preparadas por diluição da solução de 300 mg/L) no aparelho *β -glucan Analyzer*, sistema Carlsberg. A fluorescência é registada como o aumento da intensidade de fluorescência usando a intensidade da solução de Calcofluor como linha de base. São feitas três injeções de cada solução padrão e é considerado o valor médio obtido para cada solução.

Análise da amostra

São efetuadas duas injeções da solução amostra e o resultado será o valor médio dos resultados obtidos.

Cálculo do teor de β -glucanos de elevado peso molecular no mosto

A partir das intensidades de fluorescência obtidas para as soluções padrão é elaborada uma reta de regressão linear, a partir da qual é calculado o teor de β -glucanos na amostra:

$$BL = (A \times F + B) \times D$$

Em que:

BL: teor de β -glucanos, em mg/L

A: declive da reta de regressão, em mg/L por unidade de fluorescência

B: interceção da reta de calibração, em mg/L

F: valor da fluorescência da amostra

D: fator de diluição

Teor de DMS

Estas análises foram efetuadas na FFUP. A amostra de malte moído é analisada por *HS-SPME*. 3 g de amostra são transferidos para um *vial* de 15 mL e são adicionados 15 μ L de EMS (padrão interno); o *vial* é selado e fica em agitação a 2000 rpm durante 5 minutos. Depois é introduzida, através do septo do *vial*, a fibra *CAR-PDMS*, durante 15 min a uma temperatura de 30 ± 2 °C, com agitação magnética constante. Após os 15 min, a fibra é introduzida no cromatógrafo (*Hp Hewlett packard Hp 6890 series-GC System*) com uma coluna capilar *supelco*® de sílica com 60 m de comprimento (*SPBTM-5, fused sílica capillary column 60m x 0,32m x 1,0 μ m film thickness*) e com um detetor de massa *Agilent 5973*. O tempo de dessorção foi 5 min. A corrida cromatográfica teve uma duração de 20 min.

Teor de derivados do DMS, DMSP (determinação de compostos voláteis no malte)

Estas análises foram efetuadas na FFUP. 3 g de amostra são transferidos para um *vial* de 15 mL que é fechado e introduzido num bloco de aquecimento; aí a amostra permaneceu durante 5 min, com agitação magnética a 2000 rpm, e a uma temperatura de 70 °C. A fibra usada para a adsorção dos compostos foi a *CAR-PDMS*. A fibra foi introduzida no *vial* através de um septo de borracha na tampa após os 5 min com agitação a 70 °C e ficou a adsorver os compostos voláteis durante 40 min, a uma temperatura de 70° ± 2° C e com agitação a 2000 rpm. Após os 40 min, a fibra foi introduzida no cromatógrafo (*Hp Hewlett packard Hp 6890 series-GC System*) com uma coluna capilar *supelco®* de sílica com 60 m de comprimento (*SPBTM-5, fused sílica capillary column 60m × 0,32m × 1,0 μm film thickness*) e com um detetor de massa *Agilent 5973*. A fibra ficou a desorver durante 15 min. A corrida cromatográfica teve uma duração de 51 min.

Friabilidade (método 4.15 da *Analytica-EBC*)

Grãos de malte inteiros são fragmentados por ação mecânica no friabilímetro, originando pequenos fragmentos de material modificado, que atravessam a malha que circunda o tambor do aparelho; o material maior, não modificado, fica retido no interior do tambor.

50,0 ± 0,1 g de malte são transferidos para o tambor do friabilímetro (*Pfeuffer*), que é crivado, permitindo a saída de material fragmentado pequeno o suficiente para passar nos crivos. O programa do aparelho tem a duração de 8 min, findos os quais é pesado todo o material que permaneceu no interior do tambor ao longo desse tempo. O cálculo da friabilidade da amostra de malte é feito de forma simples:

$$\text{Friabilidade (\%)} = 100 - (2 \times A)$$

A: massa da fração retida no interior do tambor crivado no final dos 8 min (g)

Modificação e homogeneidade (método 4.14 da *Analytica-EBC*)

Usando o Sistema de Fixação de Sementes, são preparados dois blocos com 50 grãos de malte, cada (100 grãos no total). Os grãos de cada bloco são fixados em blocos de cernite, por recurso a uma prensa, de modo a que metade de cada grão fique embutida na matriz, ficando a face dorsal dos grãos à superfície da pasta. Os blocos de cernite são então transferidos para uma estufa, a 106°C, onde permanecem 15-20 min. De seguida as metades expostas dos grãos são lixadas até permanecer apenas a metade que está embutida na matriz de cernite, de maneira a que fique exposto o interior dos grãos. A cernite é colocada, virada para baixo, na solução de Calcofluor (0,1 g de *Fluorescent Brightener 28* em 100 mL de água ultra-pura + 10-15

gotas de Triton-X 10% + 5-6 gotas de NaOH 1 M), durante 2 min, e procede-se à lavagem com etanol 70%. Os blocos são novamente mergulhados por 2 min, desta vez em solução de coloração Fast Green (0,1 g de reagente *Fast Green* em 100 mL de água ultra-pura). Por fim, é feita a análise no aparelho de luz UV (*Malt Modification Analyser*). A luz UV incidente na cernite, no interior do aparelho, faz com que o endosperma não modificado exiba uma fluorescência azul (marcação fluorimétrica dos β -glucanos) e o endosperma modificado se apresente como um azul baço.

A percentagem de modificação de um grão corresponde à área de endosperma modificado, em percentagem da área total de endosperma. De modo a chegar ao valor da percentagem de modificação da amostra (modificação média dos 100 grãos), os grãos são repartidos por 6 grupos, consoante a percentagem de modificação individual de cada um:

- “0”: 0 – 5%
- “1”: 5 – 25%
- “2”: 25 – 50%
- “3”: 50 – 75%
- “4”: 75 – 95%
- “5”: 95 – 100%

Com vista a calcular a percentagem de modificação, a percentagem de grãos de cada grupo é multiplicada por um fator, sendo depois feita a soma de todos os valores obtidos:

Modificação (%) = $0 \cdot \langle 0 \rangle + 0,125 \cdot \langle 1 \rangle + 0,375 \cdot \langle 2 \rangle + 0,625 \cdot \langle 3 \rangle + 0,875 \cdot \langle 4 \rangle + 1 \cdot \langle 5 \rangle$
 $\langle 0 \rangle$, $\langle 1 \rangle$, $\langle 2 \rangle$, $\langle 3 \rangle$, $\langle 4 \rangle$ e $\langle 5 \rangle$ correspondem à percentagem de grãos em cada grupo de modificação, do 0 ao 5.

Em relação à homogeneidade, esta pode ser determinada pela fórmula:

$$\text{Homogeneidade (\%)} = 100 - 2\sqrt{100A - M^2}$$

$$A = 0^2 \cdot \langle 0 \rangle + 0,125^2 \cdot \langle 1 \rangle + 0,375^2 \cdot \langle 2 \rangle + 0,625^2 \cdot \langle 3 \rangle + 0,875^2 \cdot \langle 4 \rangle + 1^2 \cdot \langle 5 \rangle$$

M = percentagem de modificação

Triagem (método 4.22 da *Analytica-EBC*)

O procedimento da triagem do malte segue o mesmo princípio e é idêntico ao que é usado para triagem da cevada.

Poder diastásico (método 4.12 da *Analytica-EBC*)

Estas análises foram efetuadas na FCUP.

Extração enzimática e filtração

20,0 g de malte moído (moinho *Bühler-Miag DLFU*) são transferidos para copos de aço inoxidável, os quais são colocados no banho de brassagem. A temperatura do banho da brassagem é ajustada a 40°C e são acionados 480 mL de água fria a cada copo, procedendo-se a agitação, por meio de vareta, do conteúdo dos copos. Seguidamente, os copos são colocados no banho a 40°C, onde permanecem, em agitação contínua, durante 1 h ± 2 min. Após arrefecimento até à temperatura ambiente, a massa do conteúdo dos copos é ajustada a 52,0 ± 0,2 g e, após nova agitação, procede-se à filtração do conteúdo dos copos para matrizes de 500 mL. Os primeiros 200 mL de filtrado são descartados, sendo os 50 mL seguintes imediatamente usados para análise.

Hidrólise da solução de amido

São pipetados 100 mL de solução de amido para um frasco de 200 mL e adicionam-se 5 mL de tampão acetato. O frasco é colocado num banho a 20°C, onde permanece 20 min, e são pipetados para o frasco 5 mL de extrato de malte. Após agitação, o frasco fica no banho a 20°C durante exatamente 30 min, a contar desde o momento de adição de extrato de malte. Depois, 4 mL de solução de hidróxido de sódio são adicionados ao frasco, com o intuito de inativar as enzimas. O volume é, a seguir, ajustado a 200 mL, com água, e o conteúdo do frasco é misturado.

Também é preparado um branco, sendo, primeiramente, pipetados 100 mL de solução de amido para um frasco de 200 mL, e adicionados 2,35 mL de solução de hidróxido de sódio, seguido de agitação da mistura. Depois, são adicionados 5 mL de extrato de malte e o volume é ajustado a 200 mL com água, ao que se segue nova agitação.

Determinação iodimétrica dos açúcares redutores

50 mL do produto da digestão são transferidos para um frasco de *Erlenmeyer* de 150 mL e são adicionados 25 mL de solução de iodo e 3 mL de solução de hidróxido de sódio; sucede-se uma agitação. O frasco é fechado e fica em repouso por 15 min, ao fim dos quais são adicionados 4,5 mL de ácido sulfúrico. O iodo que não reagiu é titulado com solução de tiosulfato, até a cor azul desaparecer.

A quantidade de maltose produzida durante as condições de hidrólise é calculada:

$$DP_1(WK) = F(V_B - V_T)$$

$$DP_2(WK) = \frac{DP_1 \times 100}{100 - M}$$

DP₁: poder diastásico da amostra (unidades Windisch-Kolbach)

DP₂: poder diastásico do malte seco (unidades Windisch-Kolbach)

V_B : valor da titulação do iodo que não reagiu no ensaio branco (mL)

V_T : valor da titulação do iodo que não reagiu na amostra teste (mL)

F: fator de correção, para obtenção do resultado em 100 g de malte usado para a extração das enzimas (34,2)

M: teor de humidade do malte (% m/m)

Determinação da atividade da α -amilase (método *Ceralpha* da Megazyme)

O método enzimático de determinação da atividade de α -amilase em malte consiste em adicionar ao extrato que contém a enzima α -amilase um substrato específico, que é um oligossacárido bloqueado no terminal não-redutor (o *p*-nitrofenilmaltoheptaósido, ou BPNPG7), em presença de excesso de α -glucosidase; esta enzima glicosídica caracteriza-se por ser termoestável e não exercer qualquer actividade sobre o substrato BPNPG7, devido à presença do grupo de bloqueio no terminal não-redutor, o qual também impede a ação da β -amilase, tornando este substrato específico à ação da α -amilase. A hidrólise do oligossacárido pela α -amilase liberta *p*-nitrofenilmaltossacárido, que reage com o excesso de α -glucosidase, originando glucose e *p*-nitrofenol. A reação é interrompida através da adição de uma solução ligeiramente alcalina, que promove também o desenvolvimento de cor, o qual é monitorizado e quantificado num espectrofotómetro a 400 nm. O valor de absorvância obtido a este comprimento de onda está diretamente relacionado com os níveis de α -amilase na amostra.

Extração da enzima

São moídos 20 g de malte num moinho (*Bühler-Miag DLFU*) e pesados 0,5 g da farinha de malte resultante. São adicionados à farinha 5,0 mL de uma solução tampão de extração da enzima (Tris-HCl 0,05 M + EDTA 1 mM). A mistura é seguidamente agitada por um período de 1 h à temperatura ambiente, ao longo do qual há agitação constante; para além disso, a amostra é agitada 5 vezes com auxílio de um vortex, durante este período. Uma alíquota de 1 mL é centrifugada (*Heraeus Megafuge 1.0R*) a 2000 g durante 10 min e é seguidamente efetuada a diluição de 0,2 mL do sobrenadante com 4,0 mL de tampão de diluição (tampão MES 0,1 M + EDTA 1 mM + BSA 1,0 mg/mL + azida de sódio 0,02% m/v), à qual se segue uma outra diluição, de 0,2 mL desta mistura com 3,0 mL de outra solução tampão de extração (malato de sódio 1 M + cloreto de sódio 1M + cloreto de cálcio 40 mM + azida de sódio 0,1%).

Mistura reacional

0,2 mL de substrato BPNPG7, em presença de excesso de α -glucosidase, são pré-incubados num banho a 40°C por 5 min; simultaneamente, o extrato de malte

diluído é também pré-incubado durante o mesmo período de tempo e à mesma temperatura. Após a pré-incubação, são adicionados 0,2 mL de extrato de malte diluído à solução substrato e a mistura é agitada vigorosamente e incubada a 40°C durante exatamente 10 min (a contar a partir do momento de adição). Ao fim dos 10 min de incubação, são adicionados exatamente 3,0 mL de reagente stop (fosfato de tri-sódio 20% m/v; pH≈11) e a absorvância é lida no espectrofotómetro (Cary 50 Bio) a 400 nm.

Cálculo

A atividade da α -amilase é avaliada em termos de Unidades Ceralpha, em que uma Unidade é definida como a quantidade de enzima, na presença de excesso de α -glucosidase, necessária para libertar 1 μ mol de *p*-nitrofenol do substrato BPNPG7, em 1 min, sob condições de pH e temperatura controladas.

Atividade de α -amilase (UC/g) =

$$\frac{\Delta E_{400}}{\text{Tempo de incubação}} \times \frac{\text{Volume total na célula}}{\text{Alíquota de amostra}} \times \frac{1}{E_{mM}} \times \frac{\text{Volume de extracção}}{\text{Massa de amostra}} \times \text{Diluição}$$

Em que:

$$\Delta E_{400} = \text{Abs}_{\text{amostra}} - \text{Abs}_{\text{branco}}$$

Tempo de incubação = 10 min

Volume total na célula = 3,4 mL

Alíquota de amostra = 0,2 mL

E_{mM} do *p*-nitrofenol (a 400 nm) em 1% fosfato de tri-sódio = 18,1

Volume de extração: 5 mL

Massa de amostra: 0,5 g

Diluição: 336x

Determinação da atividade da β -amilase (método *Betamyl-3* da Megazyme)

Este método enzimático consiste em adicionar ao extrato que contém a enzima β -amilase um substrato específico (*p*-nitrofenil- β -D-maltotriósido, PNP β -G3), em presença de excesso de β -glucosidase. A hidrólise do PNP β -G3 pela β -amilase resulta na libertação de maltose e *p*-nitrofenil- β -D-glucose, sendo a última imediatamente clivada pela β -glucosidase em excesso, originando D-glucose e *p*-nitrofenol livre. A reação é interrompida através da adição de uma solução de elevada alcalinidade, o que promove o desenvolvimento de cor, sendo este monitorizado espectrofotometricamente ao comprimento de onda de 400 nm.

Extração da enzima

É moída uma amostra de malte num moinho (*Bühler-Miag DLFU*) e a 0,5 g da farinha são adicionados 5,0 mL de uma solução tampão de extração da enzima (Tris-

HCl 0,05 M + EDTA 1 mM). A extração enzimática ocorre de seguida por um período de 1 h, à temperatura ambiente, ao longo do qual há agitação constante; para além disso, a amostra é agitada 5 vezes com auxílio de um vortex, durante este período. Uma alíquota de 1 mL vai depois a centrifugar a 3000 g durante 10 min (*Heraeus Megafuge 1.0R*) e 0,2 mL do sobrenadante são diluídos com 4,0 mL de solução tampão de diluição (tampão MES 0,1 M + EDTA 1 mM + BSA 1,0 mg/mL + azida de sódio 0,02% m/v).

Mistura reacional

0,2 mL de substrato PNP β -G3, em presença de excesso de β -glucosidase, são pré-incubados a 40°C por 5 min; simultaneamente, o extrato de malte diluído é também pré-incubado durante o mesmo período de tempo e à mesma temperatura. Após a pré-incubação, são adicionados 0,2 mL de extrato de malte diluído à solução substrato e a mistura é agitada vigorosamente e incubada a 40°C durante exatamente 10 min (a contar a partir do momento de adição). Ao fim dos 10 min de incubação, são adicionados exatamente 3,0 mL de reagente stop (fosfato de tri-sódio 20% m/v; pH $\approx$ 11) e a absorvância é lida no espectrofotómetro (*Cary 50 Bio*) a 400 nm.

Cálculo

A atividade da β -amilase é avaliada em termos de Unidades Betamyl-3, em que uma Unidade é definida como a quantidade de enzima, na presença de excesso de β -glucosidase, necessária para libertar 1 μ mol de *p*-nitrofenol do substrato PNP β -G3, em 1 min, sob condições de pH e temperatura controladas.

Atividade de β -amilase (UC/g) =

$$\frac{\Delta E_{400}}{\text{Tempo de incubação}} \times \frac{\text{Volume total na célula}}{\text{Alíquota de amostra}} \times \frac{1}{E_{mM}} \times \frac{\text{Volume de extracção}}{\text{Massa de amostra}} \times \text{Diluição}$$

Em que:

$$\Delta E_{400} = \text{Abs}_{\text{amostra}} - \text{Abs}_{\text{branco}}$$

Tempo de incubação = 10 min

Volume total na célula = 3,4 mL

Alíquota de amostra = 0,2 mL

E_{mM} do *p*-nitrofenol (a 400 nm) em base Trizma 1% = 18,1

Volume de extracção: 5 mL

Massa de amostra: 0,5 g

Diluição: 21x

Determinação da atividade da β -glucanase (método *Azo-Barley Glucan da Megazyme*)

Estas análises foram efetuadas na FCUP. O extrato de malte é incubado juntamente com o substrato *Azo-Barley Glucan*, dentro de condições definidas e controladas. O substrato é despolimerizado pela enzima β -glucanase, originando fragmentos que são solúveis na presença de uma solução precipitante. Depois de ocorrer a reação de precipitação, a absorvância medida está diretamente relacionada, para cada amostra, com a quantidade de β -glucanase extraída e presente em solução, a qual é quantificada por espectrofotometria a 590 nm, com o resultado a ser expresso em U/kg de massa seca.

Extração enzimática

A 0,5 g de amostra de malte moído (num moinho *Bühler-Miag DLFU*) são adicionados 8,0 mL de solução tampão de extração (1,68 g de acetato de sódio + 2,395 g de hidrogenofosfato de sódio + 0,1 g de azoteto de sódio em 500 mL de água; pH ajustado a 4,6 com solução de HCl 1 M), procedendo-se à incubação, por 15 min, à temperatura ambiente (com agitação ocasional), seguida de centrifugação a 1000 g durante 10 min (centrífuga *Hermle Z 300K*).

Medição da atividade enzimática

A solução de extrato e 0,5 mL da solução substrato *Azo-Barley Glucan* (β -glucanos de cevada marcados colorimetricamente 1% m/v em azida de sódio 0,02%) são pré-incubadas simultaneamente a 30°C (banho *Precistern S-388 Selecta*) durante um período de 5 min, ao fim dos quais 0,5 mL de extrato são adicionados à solução substrato e é feita uma agitação vigorosa. A mistura é incubada durante 10 min a 30°C; passado este período, 3,0 mL de solução de precipitação (12,35 g de acetato de sódio e 2,0 g de acetato de zinco são dissolvidos em 100,0 mL de água; o pH é depois ajustado a 5 com uma solução de HCl 1 M; por fim, o volume é ajustado a 500,0 mL com metoxietanol) são adicionados à mistura e procede-se a nova agitação vigorosa. A mistura é centrifugada durante 10 min a 1000 g e é lida a absorvância a 590 nm da amostra e do branco. O cálculo da atividade da β -glucanase é efetuado pela fórmula seguinte, a partir de uma reta de calibração fornecida pela *Megazyme*:

$$\text{Atividade da } \beta - \text{glucanase (U/kg de massa seca)} = (m \times \text{Abs}_{590\text{nm}} + b) \times \frac{100}{(100 - M)}$$

Em que:

m: declive da reta de calibração

$\text{Abs}_{590\text{nm}} = \text{Abs}_{\text{amostra}} - \text{Abs}_{\text{branco}}$

b: ordenada na origem

M: teor de humidade da amostra de malte (em %)

2.3. Reagentes

Todos os reagentes utilizados para elaborar as soluções para a determinação do teor de azoto aminado livre no malte (reagente de cor, solução de diluição e solução padrão de glicina) foram comprados à *Merck* (Alemanha). À *Sigma* (EUA) foram adquiridos os reagentes *Fluorescent Brightener 28* e *Fast Green*, usados no método de *Carlsberg* (Calcofluor), para determinação da modificação e homogeneidade do malte; as placas de cernite usadas para fixar os grãos foram fabricadas pela *Staedtler* (Alemanha). Para a análise de determinação do teor de β -glucanos no mosto, a solução padrão de 300 mg/L de β -glucanos e a solução da Calcofluor adquirem-se da *Skandinavisk Bryggeri Laboratorium ApsS* (Dinamarca). Na análise de determinação do poder diastásico, a solução substrato de amido foi adquirida à *Merck*. Todos os reagentes e soluções usados nas análises de determinação da atividade de α - e β -amilase e da β -glucanase (substratos, tampões de extração e de diluição e solução stop) no malte foram adquiridos, na forma de kits enzimáticos, à *Megazyme* (Irlanda).

3. Resultados e Discussão

3.1. Ensaios standard / preliminares (*Quench*)

3.1.1. Análises à cevada

Os ensaios (fabricos) preliminares em que foi utilizada a variedade de cevada *Quench* foram os fabricos 1, 2 e 4. Antes de ser dado início a estes fabricos, bem como a todos os outros, a cevada foi sujeita a triagem e à determinação do seu teor de humidade (**Tabela 16**). Apesar de estas informações estarem já contidas nos certificados de análises dos lotes de cevada (**Tabelas 5 e 6**), elaborados pelo fornecedor (Maltibérica, Palmela), foram, ainda assim, efetuadas estas análises, de modo a confirmar esses valores; a razão de tal confirmação prende-se com o facto de a *batch* de cevada utilizada em cada ensaio ser apenas uma amostra de um lote muito maior de cevada, o que significa que estes dados podem variar, mais ou menos significativamente, pois existe sempre alguma heterogeneidade entre grãos numa amostra muito grande. Comparando os valores da **Tabela 16** entre si, e com os da **Tabela 5**, constata-se que estes não diferem de forma substancial, observando-se que o teor de humidade que mais se afasta da informação do certificado de análises é o da cevada do fabrico 1 (0,7% de diferença).

Tabela 16. Resultados da determinação do teor de humidade e da triagem da cevada *Quench* utilizada nos ensaios 1, 2 e 4 (standard)

Fabrico	Teor de humidade ^a (%)	Triagem (%)				
		>2,8 mm	>2,5 mm	>2,2 mm	Resíduos	Grãos partidos
1	12,8 ± 0,0	77,2	17,5	3,6	1,3	0,5
2	13,1 ± 0,0	77,9	17,2	3,0	1,4	0,5
4	13,2 ± 0,0	77,6	16,4	4,3	1,3	0,4

a: $n = 3$

3.1.2. Ensaios de mini-maltagem

Um fator importante a ter em consideração para o decurso da maltagem, bem como para as conclusões retiradas do processo, é a massa de cevada com que se inicia o ensaio. De facto, esta variou dos fabricos 1 e 4 para o 2, como se pode verificar na **Tabela 17**, tendo sido o fabrico 2 aquele em que se utilizou uma maior massa de cevada (1215 kg).

Tabela 17. Valor da massa inicial de cevada para os três fabricos *standard* com cevada *Quench*

Fabrico	Massa de cevada inicial (kg)
1	1140
2	1215
4	1140

O programa de molha usado nestes ensaios apenas variou na duração da segunda fase a seco, tendo-se mantido iguais as outras três fases: 7 h de primeira fase húmida, mais 12 h de primeira fase seca e 5 h de segunda fase húmida (**Tabelas 7, 8 e 9**). A duração da última fase da molha (segunda fase seca; **Tabela 10**) foi de 13 h no fabrico 1, 19 h no fabrico 2 e 12 h no fabrico 4. Os restantes parâmetros da molha mantiveram-se iguais nos referidos ensaios. Com base na diferença entre a massa de cevada no tanque de molha antes do início desta fase e a massa finda a molha, o autómato tem a capacidade de calcular o teor de humidade teórico com que a cevada “sai” da molha; para isso, obviamente, deve-lhe ser indicado qual o teor de humidade inicial da cevada. Os teores de humidade no fim da molha para estes fabricos estão indicados na **Tabela 18**. Verifica-se que o teor de humidade alcançado no final da molha no 2º fabrico é claramente mais baixo em relação aos fabricos 1 e 4 (menos 0,8-0,9%), o que se relacionará com o facto de a última fase da molha (segunda fase seca) ter sido consideravelmente mais longa no caso do fabrico 2 (19 h de duração); quanto mais tempo o grão permanecer a seco mais água que absorveu anteriormente irá perder para o ar. Uma vez que a percentagem mínima de *chitting* para que se considere a fase de molha eficaz é de 80%, conclui-se que o programa de molha foi aceitável para os três ensaios.

Tabela 18. Valores do teor de humidade da cevada, da percentagem de *chitting* alcançada e da duração da molha para os fabricos 1, 2 e 4.

Fabrico	Teor de humidade no fim da molha (%)	<i>Chitting</i> (%)	Duração (h)
1	39,8	80	37
2	38,9	96	43
4	39,7	94	36

As **Tabelas 19, 20 e 21** são ilustrativas do programa de germinação adotado para os fabricos 1, 2 e 4, respetivamente. O 1º ensaio foi o mais longo (praticamente cinco dias), foi o que decorreu a uma temperatura mais elevada (grande parte do tempo a 16°C), e aquele em que a recirculação de ar menos aumentou ao longo da germinação. Os fabricos 2 e 4 foram mais semelhantes no que diz respeito à duração e à recirculação do ar, mas a germinação do ensaio 4 decorreu a uma temperatura mais baixa. Em relação à adição de água no decorrer da germinação, esta foi efetuada

por três vezes para o fabrico 1 (no início da germinação, no início do 2º dia e no início do último dia); na germinação do 2º fabrico foram realizadas também 3 adições de água ao grão (ao iniciar a etapa e no início do 2º e 3º dias); no 4º fabrico, as adições de água foram também 3 (início do 1º e do 2º dias, e a meio do 3º). As adições de água nestes ensaios foram feitas tendo em vista o aumento do teor de humidade para níveis superiores a 43%, o que, em princípio permite a germinação satisfatória do grão no que à quantidade de água presente diz respeito.

Tabela 19. Programa de germinação do 1º ensaio (duração: 119 h)

Passo	Duração (h)	Temperatura do ar de entrada (°C)	Recirculação de ar (%)
1	24	16	50
2	24	16	60
3	24	16	60
4	24	16	60
5	23	14	70

Tabela 20. Programa de germinação do 2º ensaio (duração: 89 h)

Passo	Duração (h)	Temperatura do ar de entrada (°C)	Recirculação de ar (%)
1	24	16	50
2	24	16	60
3	24	16	70
4	17	12	90

Tabela 21. Programa de germinação do 4º ensaio (duração: 93 h)

Passo	Duração (h)	Temperatura do ar de entrada (°C)	Recirculação de ar (%)
1	24	15	50
2	24	14	60
3	24	13	70
4	21	12	90

Ao longo da germinação, o teor de humidade do grão e a sua percentagem de modificação global foram avaliados no final de cada dia. A **Figura 28** ilustra a variação do teor de humidade do grão ao longo dos dias de germinação, para cada um dos fabricos *standard* com cevada *Quench*. No fabrico 1, o aumento do 2º para o 3º dia relaciona-se com a adição de água no início do 3º dia de germinação. Para o fabrico 2, o aumento claro do teor de humidade do 1º para o 2º, e do 2º para o 3º dias, explica-se pela adição de água, que ocorreu no início do 2º e do 3º dias. Na germinação do fabrico 4, apesar da adição de água no início do 2º dia, o teor de humidade do grão quase não aumentou (de 42,5% para 42,7%); contudo, a adição de água a meio do 3º dia resultou num aumento considerável do teor de humidade (42,7% para 46,2%).

Apesar de o número de adições de água ter sido o mesmo para os três ensaios, estas não foram realizadas nas mesmas alturas da germinação (nem os programas foram iguais), pois o grão não germinou ao mesmo ritmo nos três ensaios (as adições de água foram feitas quando era necessário aumentar o teor de humidade para mais de 43%).

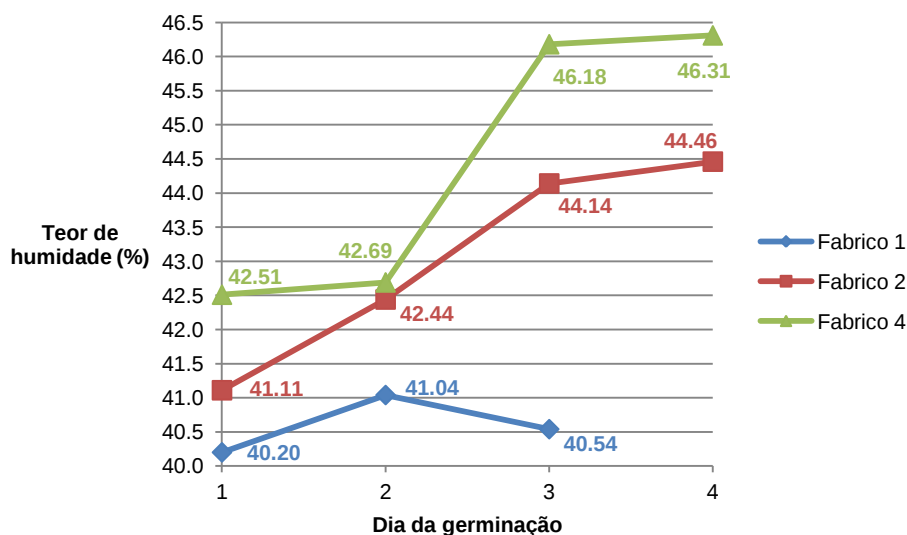


Figura 28. Valores do teor de humidade do grão durante a germinação para o 1º, 2º e 4º ensaios.

A **Tabela 22** e a **Figura 29** permitem a comparação da evolução da modificação ao longo da germinação entre estes fabricos. Apenas a partir do 2º dia da germinação esta análise começou a ser efetuada, excetuando o fabrico 1, para o qual a modificação apenas começou a ser avaliada a partir do 3º dia. O grande aumento da modificação do 4º para o 5º dia de germinação, no ensaio 1 (aumento de 27%), poderá eventualmente ser explicado pela adição de água no início do 5º dia. Apesar da diminuição da temperatura do ar_{on} e do aumento da recirculação do ar_{off} , a modificação do malte no fabrico 2 aumentou excessivamente no último dia da germinação. Para o 4º ensaio, o aumento elevado da modificação do 2º para o 3º dia (27%) estará relacionado com a adição de água a meio do 3º dia de germinação; a diminuição da temperatura do ar_{on} e o aumento da recirculação do ar_{off} podem explicar o facto de a modificação não se ter alterado do penúltimo para o último dia neste fabrico.

Tabela 22. Valores diários da percentagem de modificação do grão durante a germinação. Não há resultados do 5º dia para os fabricos 2 e 4, uma vez que ambos tiveram uma duração inferior a 4 dias completos

Dia da germinação	Percentagem de modificação do grão (%)		
	Fabrico 1	Fabrico 2	Fabrico 4
2	-	61	56
3	46	81	83
4	58	97	83
5	85	-	-

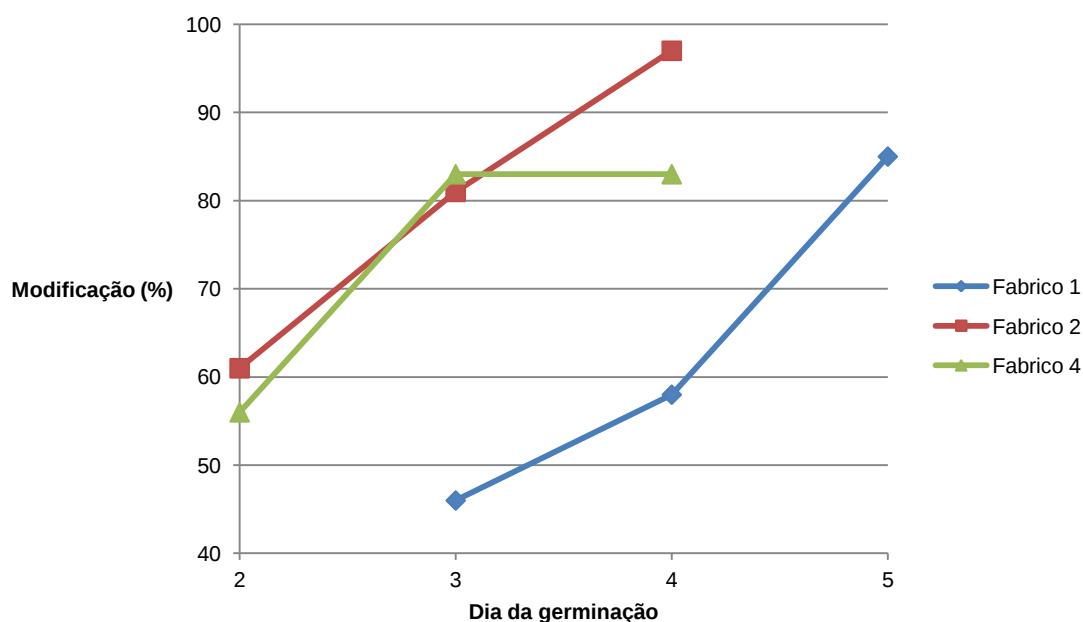


Figura 29. Variação da percentagem de modificação do grão ao longo da germinação, para os fabricos 1, 2 e 4.

A duração da fase de germinação, que, para cada caso, foi interrompida quando considerado conveniente (quando a percentagem da modificação do malte subiu acima de 80%), foi de 119 h para o 1º ensaio, 89 h para o 2º e 93 h para o 4º. Na **Tabela 23** é possível averiguar a duração da germinação, o teor de humidade do malte verde (no final da germinação, antes de ser seco) e a percentagem de modificação alcançada nesta fase da maltagem; o teor de humidade do malte verde não foi registado para o fabrico 1. Para já, duas observações podem ser efetuadas: primeiro, o malte verde do fabrico 1, apesar de ter tido uma germinação mais longa, não foi o que, no fim, sofreu maior grau de modificação, apesar de as adições de água terem sido em número idêntico para os três ensaios; por outro lado, apesar de a adição de água ser aparentemente fulcral para a germinação do grão, o malte que germinou mais (fabrico 2) não foi o que alcançou maior teor de humidade (fabrico 4), nem o mais longo (fabrico 1). A razão para a germinação do fabrico 1 ter sido a mais longa, e na qual a taxa de modificação foi menor, poderá ter sido o facto de nos dois primeiros dias de germinação a temperatura real a que o ar_{on} foi aquecido não correspondeu ao predeterminado no programa (**Tabela 19**); de facto, durante estes dois primeiros dias, a temperatura do ar_{on} , em vez de rondar os 16°C predefinidos, foi sempre próxima de 13°C. Isto está relacionado com as temperaturas muito baixas que se fizeram sentir nesses dias (o ensaio realizou-se no mês de Dezembro), de tal modo que não foi possível aquecer o ar_{on} o suficiente. Como se observa claramente na **Figura 29**, a percentagem de modificação do grão do fabrico 1 ao 3º dia é inferior às observadas para os outros dois ensaios ao 2º dia; isto aponta no sentido de que,

efetivamente, a taxa de modificação para o 1º ensaio terá sido muito baixa nos dois primeiros dias da germinação, provavelmente devido à grande dificuldade em aquecer satisfatoriamente o ar_{on} . O facto de o grão do fabrico 2 ter modificado mais deverá estar relacionado com o facto de a temperatura durante a germinação ter sido claramente superior em comparação com o fabrico 4 (**Tabelas 20 e 21**), o que terá promovido o aumento da atividade das enzimas hidrolíticas, tendo conduzido a uma maior degradação enzimática do endosperma e, conseqüentemente, a uma modificação do grão mais significativa.

Tabela 23. Informações mais relevantes da fase de germinação nos ensaios *standard* com cevada *Quench*

Fabrico	Duração da germinação (h)	Teor de humidade do malte verde (%)	Modificação (%)
1	119	-	85
2	89	44.5	97
4	93	46.3	83

O programa de estufagem foi idêntico para os três fabricos (**Tabelas 13 e 14**). Porém, quer a duração da estufagem, quer o teor de humidade final, quer ainda a massa de malte seco obtida no fim da maltagem, diferiram entre os 3 ensaios (**Tabela 24**). Constatase que a duração do *curing* entre os 3 fabricos *standard* não difere muito (entre 1,25 h e 1,5 h), pelo que as diferenças relativas à duração da estufagem se devem quase exclusivamente à duração da fase pré-*break* (fase em que a temperatura do ar_{on} é de 55°C); uma vez que o programa de estufagem foi idêntico nos três casos, estas diferenças podem explicar-se pela massa de cevada e pelo teor de humidade do malte verde. É importante ter em conta que a duração da fase pré-*break* consiste no tempo que passa até ao momento em que a taxa a que o grão perde humidade começa a abrandar (a água no interior do grão torna-se mais inacessível a partir da altura em se que atinge cerca de 20% de humidade), o que faz com que a temperatura do ar_{off} , cada vez menos húmido, aumente mais rapidamente; é, por isso, nessa altura (*break point*), que é necessário começar a aumentar a temperatura do ar_{on} (foi tido como regra que, quando a temperatura do ar_{off} atinge 45°C, o *break point* foi alcançado e pode-se dar início ao aumento da temperatura do ar_{on}). Para uma quantidade maior de cevada, maior é a resistência ao ar quente que tem de atravessar o leito de grão e maior é a quantidade de água que tem de ser removida, conduzindo a um prolongamento da fase pré-*break*; maiores teores de humidade do grão, por sua vez, obrigam a que mais água tenha de ser removida, aumentando também a duração da estufagem. Isto significa que, quanto maior for o teor de humidade no início da estufagem, e quanto maior a quantidade de material para ser seco, mais tempo irá passar até se atingir cerca de 20% de humidade relativa no grão, e mais tempo durará

a denominada fase *pré-break*. Apesar de a massa de cevada usada no 2º ensaio ser maior que a usada no 4º (**Tabela 17**), a fase *pré-break* foi 0,5 h mais longa na estufagem do 4º ensaio, o que parece ser explicado pelo facto de o teor humidade do malte verde do 4º ensaio ser superior ao do 2º (diferença de 1,8%). Já a grande diferença encontrada para a duração da fase *pré-break* entre os fabricos 1 e 2 (1,75 h) poderá ser explicada pela diferença de massa de cevada (cerca de 9% maior no fabrico 2). Apesar de não existir registo da massa de malte seco para o fabrico 1 (por problemas com o módulo de pesagem), é natural a diferença encontrada para a massa de malte entre os outros dois fabricos, visto que a massa de cevada utilizada no ensaio 2 tinha sido mais elevada. Por fim, apesar do programa de estufagem idêntico, o teor de humidade do malte seco também diferiu entre os três ensaios (entre 4,3 e 4,7%); esta observação poderá ser explicada pelos diferentes teores de humidade do malte verde: do fabrico 4, para o qual o teor de humidade do malte verde era o mais alto, resultou o malte seco com o teor de humidade mais alto. Conclui-se, assim, que o teor de humidade no fim da etapa de germinação (malte verde) desempenha um papel importante na duração da etapa de estufagem e, conseqüentemente, na energia despendida nesta fase.

Tabela 24. Valores de duração de fase *pré-break*, duração do *curing*, duração da estufagem, massa final de malte, e teor de humidade do malte seco, para os ensaios 1, 2 e 4. A massa de malte seco do fabrico 1 não foi registada

Fabrico	Duração da fase <i>pré-break</i> (h)	Duração do <i>curing</i> (h)	Duração da estufagem (h)	Massa de malte seco (kg)	Teor de humidade do malte seco (%)
1	6	1,5	15,5	-	4,3 ± 0,0 ^a
2	7,75	1,25	17	924	4,4 ± 0,0 ^b
4	8,25	1,25	17,5	865	4,7 ± 0,0 ^a

a: n=3;

b: n=2

A **Figura 30** é ilustrativa dos diagramas de estufagem dos três fabricos. Como é possível constatar, apenas a duração da fase *pré-break* (patamar de 55°C) e do *curing* (patamar de 85°C) difere entre os 3 ensaios.

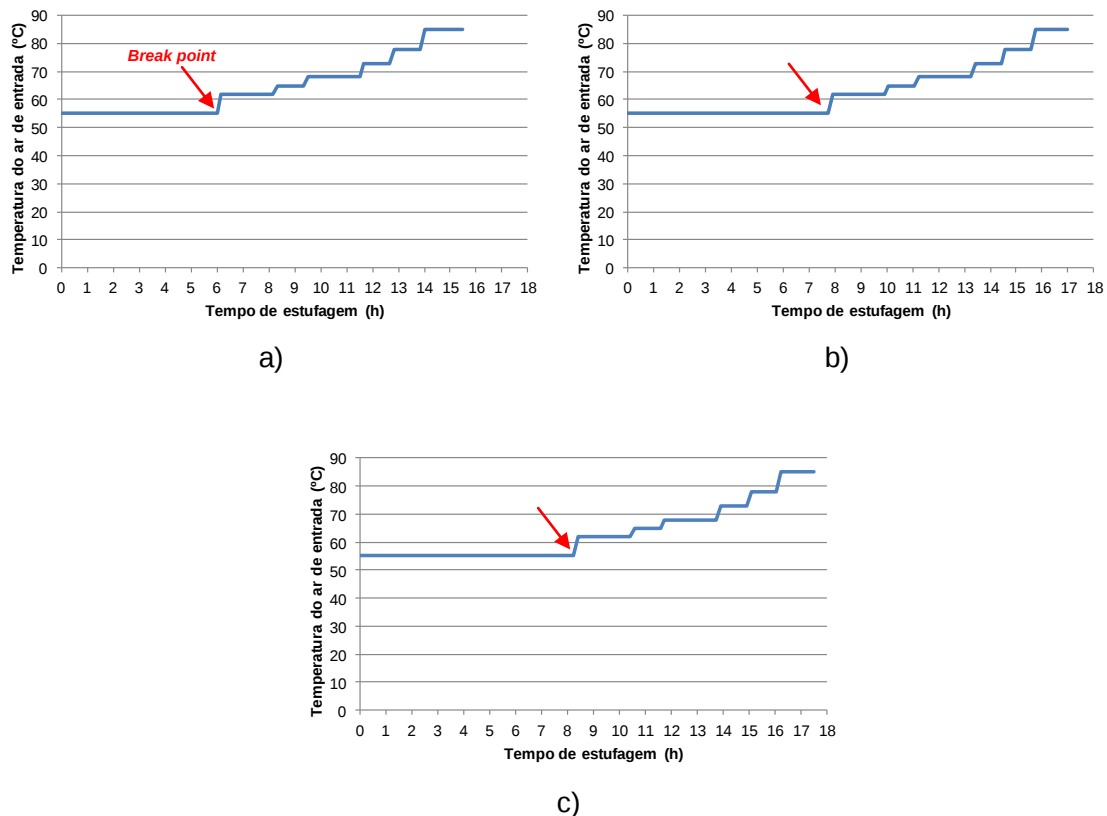


Figura 30. Diagramas de estufagem dos fabricos 1 (a), 2 (b) e 4 (c).

3.1.3. Consumos energéticos

Como referido no capítulo de *Introdução*, a estufagem é a fase da maltagem que representa o maior consumo (até 90%) de energia [Brissart *et al.*, 2000], pelo que serão apenas investigados os consumos de energia referentes a esta fase do processo malteiro. Uma vez que a IPM não possui um contador, a energia elétrica e o vapor gastos no decurso dos vários fabricos foram estimados de forma indireta. A energia elétrica foi calculada com base na potência da ventoinha de elevado desempenho, cujo consumo corresponderá praticamente à totalidade da energia elétrica gasta na estufagem. O volume de vapor utilizado foi estimado a partir de gráficos da temperatura de estufagem em função do tempo (**Figura 30**).

Na **Figura 31** podem-se observar os gráficos que indicam a velocidade da ventoinha da estufagem (em % da sua capacidade máxima) ao longo da estufagem, para cada um dos três ensaios *standard* com cevada *Quench*. Como referido anteriormente, o programa de estufagem foi o mesmo nos três fabricos, pelo que se constata que durante toda a fase de aquecimento a ventoinha funciona a 80% da sua capacidade máxima, aumentando depois para 100%, por um período curto, que corresponde à fase de arrefecimento com que termina a estufagem. A partir destes

diagramas, e sabendo que a potência máxima da ventoinha é de 10,3 kW, torna-se possível fazer uma estimativa do consumo total de energia elétrica durante a estufagem, por multiplicação da potência a que a ventoinha funciona pelo tempo durante o qual esta mantém essa potência.

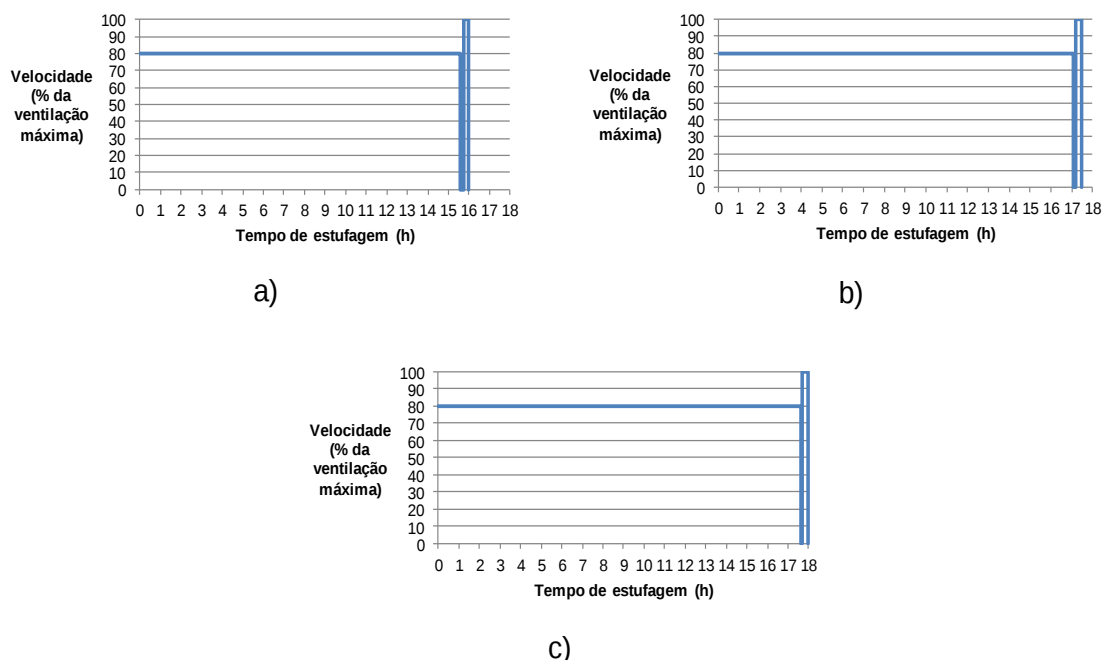


Figura 31. Velocidade da ventoinha de arejamento, em % da sua capacidade máxima, ao longo do tempo de estufagem, para os fabricos 1 (a), 2 (b) e 4 (c).

Relativamente ao consumo de vapor durante a estufagem, este foi estimado tendo por base os gráficos da **Figura 30**, partindo do princípio que o volume de vapor consumido será proporcional à área abaixo da linha de cada gráfico, tendo em conta que quanto maior for a temperatura a que é aquecido o ar_{on} durante a estufagem, maior será o volume de vapor necessário para o aquecer. Com isto em mente, foi elaborado o gráfico da **Figura 32**.

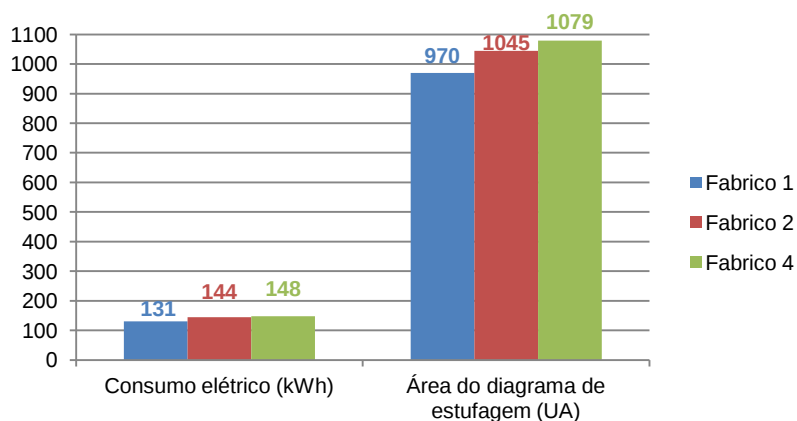


Figura 32. Consumo elétrico (da ventoinha da estufagem) e área do diagrama de estufagem (proporcional ao volume de vapor consumido) calculados para os fabricos 1, 2 e 4.

Quando se procede à análise dos gastos energéticos na estufagem, é necessário ter em conta, quer a massa de cevada inicial, quer o teor de humidade do malte no início da estufagem (malte verde), uma vez que estes fatores condicionarão, como já foi visto, a duração da estufagem (**Tabela 25**). Por essa razão, também foram diretamente relacionados os gastos de energia elétrica (consumo da ventoinha) e térmica (área do diagrama de estufagem) com a massa de cevada. Tendo em conta a duração da estufagem, não é de surpreender que o fabrico 1, o mais curto, seja o que exhibe menor consumo de energia elétrica (131 kWh) e de vapor 970 (UA); já o fabrico 4, o mais longo, é aquele em que o gasto de eletricidade (148 kWh) e de vapor (1079 UA) foi maior. Salienta-se uma razão área do diagrama : massa de cevada mais elevada para o 4º fabrico, em comparação com os outros dois (0,10 e 0,11 UA/kg mais alta); isto poder-se-á dever ao facto de o teor de humidade do malte verde do 4º fabrico ser o mais elevado, desta forma prolongando ainda mais a estufagem e aumentando o consumo de vapor. Apesar de a diferença ser muito pequena, esta tendência também se observa para o consumo da ventoinha / massa de cevada, que é mais alto no fabrico 4 (0,13 kWh/kg).

Tabela 25. Dados relativos aos consumos energéticos e a sua relação com a duração da estufagem, com a massa de cevada e com o teor de humidade do malte verde, para os fabricos 1, 2 e 4

Fabrico	Duração da estufagem, incluindo arrefecimento (h)	Consumo da ventoinha da estufagem (kWh)	Área do diagrama de estufagem (UA)	Massa de cevada (kg)	Consumo da ventoinha / massa de cevada (kWh/kg)	Área do diagrama / massa de cevada (UA/kg)	Teor de humidade do malte verde (%)
1	16	131	970	1140	0,11	0,85	-
2	17,5	144	1045	1215	0,12	0,86	44,5
4	18	148	1079	1140	0,13	0,95	46,3

3.1.4. Parâmetros de qualidade do malte

Tendo em atenção que o objetivo deste trabalho é a redução dos consumos energéticos, sem que saia afetada de forma negativa a qualidade do produto final (malte), foi realizada uma série de análises de controlo dessa mesma qualidade, no que ao uso do malte na produção de cerveja diz respeito. A **Figura 33** contém os resultados das análises relacionadas com a degradação citolítica que ocorreu durante a maltagem do cereal (modificação, friabilidade, teor de β -glucanos e atividade da β -glucanase). A determinação da atividade da enzima β -glucanase não foi efetuada no malte do fabrico 1. Constata-se que o nível de modificação (**Figura 33**, esquerda) do malte foi muito próximo para os três fabricos (entre 94% e 97%). A friabilidade (**Figura 33**, esquerda), que é uma medida indireta da modificação, acompanha a tendência

dos resultados observados para a modificação, ao ser muito elevada e quase idêntica para os três ensaios preliminares com cevada *Quench* (93 – 94%). Em relação à degradação dos β -glucanos que compõem as paredes celulares do endosperma (**Figura 33**, direita), nota-se que o teor é mais baixo no mosto do fabrico 1 (34 mg/L) e mais alto no do fabrico 2 (120 mg/L); isto dever-se-á provavelmente ao facto de o fabrico 1 ter sido o mais longo e o 2 o mais curto (30 h de diferença), uma vez que uma germinação mais longa permitirá mais tempo para que haja uma maior hidrólise dos β -glucanos [*The Scandinavian School of Brewing*]. Sendo a β -glucanase uma enzima bastante termossensível (inativada a partir de 55-60°C [*Global Beverage Solutions*]), a sua menor atividade no malte do fabrico 4 (**Figura 33**, direita) parece estar relacionada com o maior teor de humidade com que este entrou para a estufagem, na medida em que o aquecimento da enzima a um maior teor de humidade é mais destrutivo (o calor húmido inativa mais rapidamente as enzimas do que o calor seco [Kunze e Mieth, 1999]); isto comprova-se com dados não apresentados neste trabalho, pelos quais se observa que, apesar de a atividade da endo- β -glucanase ser muito semelhante no malte verde do fabrico 4 em relação aos outros dois fabricos, na altura do *break point*, os seus níveis já são muito inferiores. Quer o teor de β -glucanos no mosto, quer a percentagem de friabilidade e a modificação, cumprem as especificações exigidas para que o malte possa ser usado para fabricar cerveja.

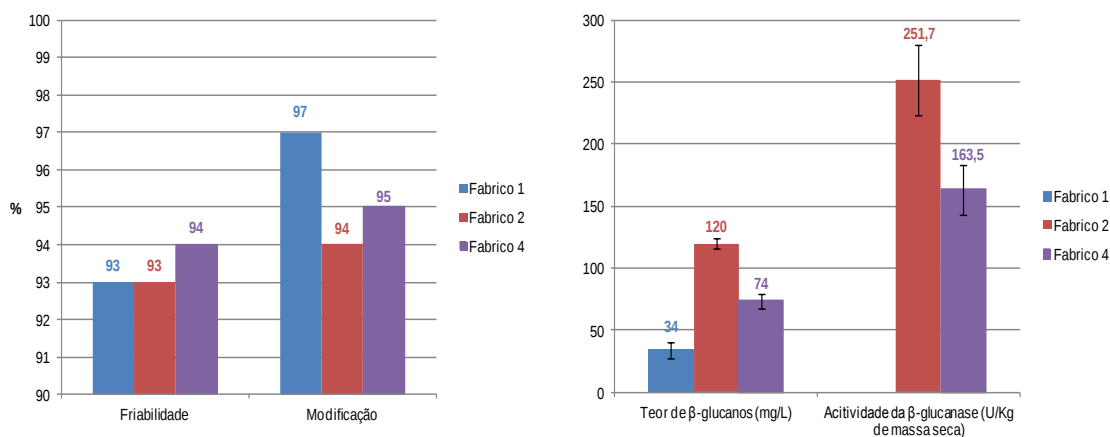


Figura 33. Resultados das análises relacionadas com a degradação citolítica ocorrida durante a maltagem, para os fabricos 1, 2 e 4. Para a determinação do teor de β -glucanos e da atividade da β -glucanase, $n=2$. (Especificações: friabilidade > 80% e < 95%; modificação > 85%; teor de β -glucanos < 200 mg/L).

Em relação às análises que permitem averiguar a amilólise ocorrida durante a maltagem, e especialmente na brassagem, destacam-se o teor de extrato no mosto e o poder diastásico (**Tabela 26**). Uma vez que o extrato corresponde ao teor de açúcares fermentescíveis no mosto, que poderão ser captados pela levedura durante a fermentação e usados para produzir etanol, deduz-se que uma maior atividade das amilases irá resultar numa maior degradação de polissacáridos complexos, libertando

uma quantidade maior de açúcares simples (mono e dissacáridos), captáveis pela levedura. O que os resultados sugerem é que o mosto do fabrico 2, que foi o ensaio com a germinação mais curta (89 h), foi aquele em que se conseguiu obter maior quantidade de açúcares fermentescíveis (82,2%); já o fabrico 1, com a fase de germinação mais longa (119 h), originou o malte com menor teor de extrato (81,2%). Uma hipótese é que, no fabrico 1, por ter tido uma germinação mais longa, o embrião do grão começou a consumir as suas reservas, nomeadamente o amido, o que poderá ter resultado na redução do extrato mais tarde disponível [*The Scandinavian School of Brewing*]. Os fabricos 2 e 4, por terem sido mais curtos (4 h de diferença entre os dois), originam um malte com maior teor de extrato, por não ter existido tanto consumo das reservas de amido do endosperma do grão; para além disso, a fase pré-break (durante a qual ainda ocorre crescimento ativo do grão [*The Scandinavian School of Brewing*]) foi mais longa na estufagem do fabrico 4 (8,25 h), o que poderá ajudar a explicar a razão do extrato ser mais baixo no malte deste fabrico em comparação com o fabrico 2 (menos 0,5 h), na medida em que poderá ter ocorrido maior consumo desse mesmo extrato durante esta fase. O facto de os resultados obtidos para o poder diastásico apontarem no sentido de uma maior atividade amilolítica no mosto do 4º fabrico (37% superior ao do fabrico 2), para o qual o extrato obtido foi mais baixo comparativamente com o ensaio 2 (menos 0,6%), dá mais força a esta hipótese, pois estes dados indicam que o extrato do malte do fabrico 4 deveria ser superior ao do 2. Enquanto todos os fabricos cumprem as especificações relativas ao extrato (> 81%), o poder diastásico do mosto do fabrico 2 fica abaixo do mínimo especificado para produção de cerveja (LIE = 250 WK).

Tabela 26. Valores do extrato (em %) e do poder diastásico (em WK), obtidos a partir do mosto dos fabricos 1, 2 e 4. Não foi determinado o poder diastásico do mosto do fabrico 1

Fabrico	Extrato (%)	Poder diastásico (WK)
1	81,1 ± 0,5 ^a	-
2	82,2 ± 0,0 ^b	227,4 ± 8,0 ^b
4	81,6 ± 0,6 ^c	311,4 ± 1,5 ^b

a: n=5

b: n=2

c: n=6

As análises que permitem tirar conclusões em relação à proteólise que ocorreu durante a maltagem são a determinação do teor de azoto solúvel e a determinação do teor de azoto aminado livre no mosto (**Figura 34**). Apesar de ambas as análises serem indicativas da degradação proteica que ocorreu no decurso da maltagem, encontram-se diferenças mais significativas entre os resultados obtidos para o azoto aminado livre em comparação com o teor de azoto solúvel. Qualquer dos fabricos manifesta um teor de azoto solúvel claramente abaixo do valor mínimo especificado (0,64%). Já em

relação ao teor de azoto aminado livre, o fabrico 4 (149 mg/L) é o único cujo mosto possui valores aceitáveis (LIE = 135 mg/L), o que poderá estar relacionado com o facto de o malte verde deste fabrico ter sido o que alcançou maior teor de humidade, o que terá promovido a atividade proteolítica neste malte [Palmer, 1989], favorecendo a libertação de compostos azotados de baixo peso molecular.

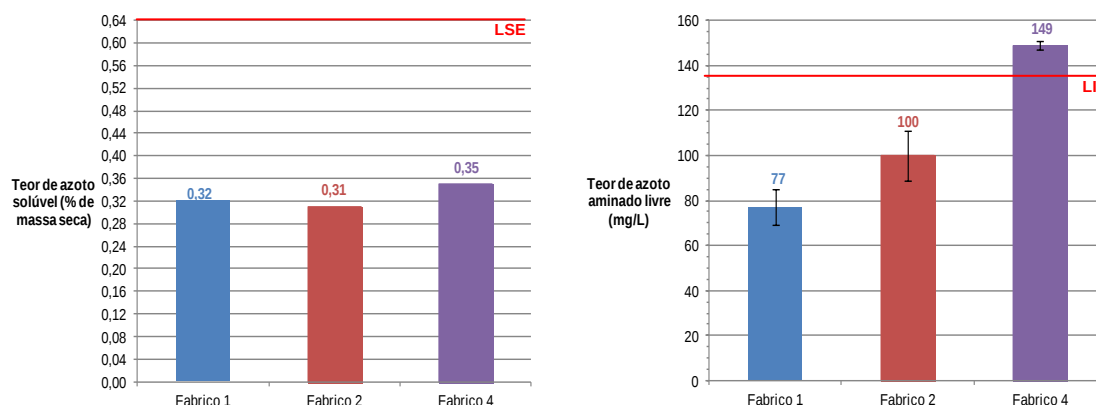


Figura 34. Resultados da determinação do teor de azoto solúvel e da determinação do teor de azoto aminado livre no mosto dos fabricos 1, 2 e 4 (determinação do teor de azoto solúvel: $n=2$; determinação do teor de azoto aminado livre: $n=2$ para os fabricos 1 e 2, e $n=4$ para o fabrico 4).

A **Tabela 27** apresenta outras análises importantes que foram realizadas ao malte, e mosto, dos três fabricos *standard* com cevada *Quench*. Constata-se que os grãos de malte do fabrico 4 foram os que mais aumentaram o volume (95,2% dos grãos possuem diâmetro superior a 2,8 mm), o que provavelmente estará relacionado com o facto de terem sido os que mais água absorveram durante a germinação (teor de humidade do malte verde foi de 46,3%). Observa-se ainda que a percentagem de resíduos é superior ao admissível (1,5%) no malte do fabrico 1; isto pode ser explicado por um processo de desradiculação (que também serve como fase de limpeza) pouco eficaz. Relativamente à homogeneidade da modificação do malte (**Figura 35**), verifica-se que esta é mais alta no malte do fabrico 1, o que pode estar relacionado com o facto de a germinação do fabrico 1 ter sido a mais longa, seguida da do fabrico 4 e da do fabrico 2, a mais curta (e também a que rende malte menos homogéneo); é de esperar que uma germinação mais longa providencie mais tempo para os grãos equilibrarem entre eles a taxa a que germinam, aumentando a homogeneidade. Apesar das diferenças, o malte destes 3 fabricos cumpre as especificações de homogeneidade (> 70%). O pH do mosto é igual entre os fabricos *standard*, e acima do mínimo aceitável (LIE = 5,8).

Tabela 27. Resultados da triagem do malte e do pH do mosto obtidos para os fabricos 1, 2 e 4

Fabrico	Triagem (%)					pH
	> 2,8 mm	> 2,5 mm	> 2,2 mm	Resíduos	Grãos partidos	
1	90,5	5,8	1,2	1,6	0,9	6,1
2	93,8	4,3	0,6	0,8	0,5	6,1
4	95,2	3,3	0,6	0,5	0,4	6,1

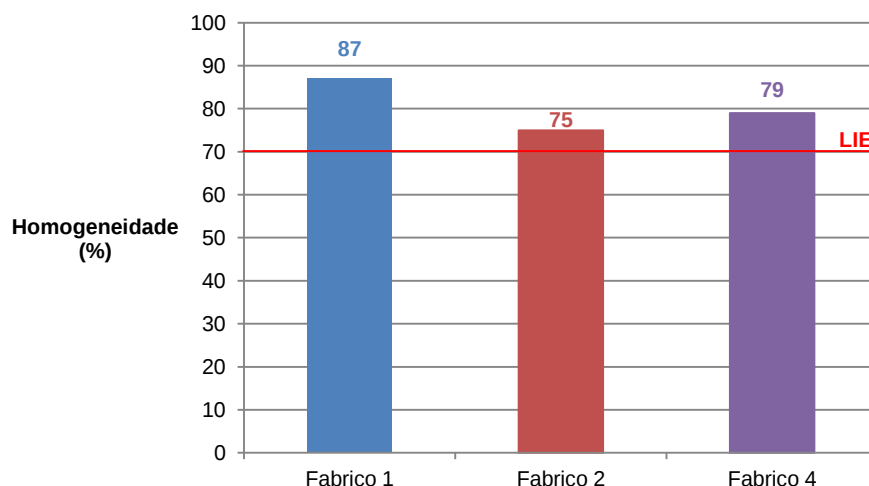


Figura 35. Resultados da determinação da homogeneidade do malte dos fabricos 1, 2 e 4.

3.2. Ensaio de menor temperatura de curing (Quench)

3.2.1. Análises à cevada

O único ensaio com cevada *Quench* no qual foi avaliado o efeito de uma temperatura de *curing* mais baixa foi o ensaio 3. Na **Tabela 28** estão indicados os resultados da triagem e da determinação do teor de humidade realizadas antes do início do fabrico. Comparando com os valores da **Tabela 5**, observa-se que estes são aproximados para o teor de humidade (0,3% de diferença), diferindo um pouco os resultados obtidos da triagem, nomeadamente as percentagens de grãos de maior diâmetro (> 2,8 mm e > 2,5 mm).

Tabela 28. Resultados obtidos para a determinação do teor de humidade e para a triagem da cevada *Quench* utilizada no ensaio 3

Teor de humidade ^a (%)	Triagem (%)				
	>2,8 mm	>2,5 mm	>2,2 mm	Resíduos	Grãos partidos
13,2 ± 0,1	72,3	21,3	4,7	1,3	0,3

a: n=2

3.2.2. Ensaio de mini-maltagem

A massa de cevada utilizada neste fabrico foi de 1230 kg, isto é, superior à que foi utilizada em qualquer um dos ensaios *standard* (**Figura 36**).



Figura 36. Valores da massa de cevada *Quench* inicial utilizada nos fabricos 1, 2, 3 e 4.

O programa de molha usado neste ensaio foi idêntico ao do fabrico 4: 7 h de primeira fase húmida, seguido de 12 h de primeira fase seca, 5 h de segunda fase húmida e 12 h de segunda fase seca. No final da molha, o teor de humidade calculado para o grão foi de 39,7%, de forma idêntica ao fabrico 4 (**Tabela 18**). Já a percentagem de *chitting* obtida para este ensaio foi de 96% (igual ao fabrico 2), concluindo-se que a molha foi eficaz, no que concerne o início do processo germinativo.

O programa de germinação adotado para o fabrico 3 é o representado pela **Tabela 29**. Em comparação com os ensaios 1, 2 e 4 (**Tabelas 19, 20 e 21**), este teve uma germinação mais longa (**Figura 37**). Para além disso, a recirculação de ar não aumentou tanto.

Tabela 29. Programa de germinação do 3º ensaio (duração: 124 h)

Passo	Duração (h)	Temperatura do ar de entrada (°C)	Recirculação de ar (%)
1	24	15	50
2	24	14	60
3	48	13	70
4	24	14	70
5	4	13	70

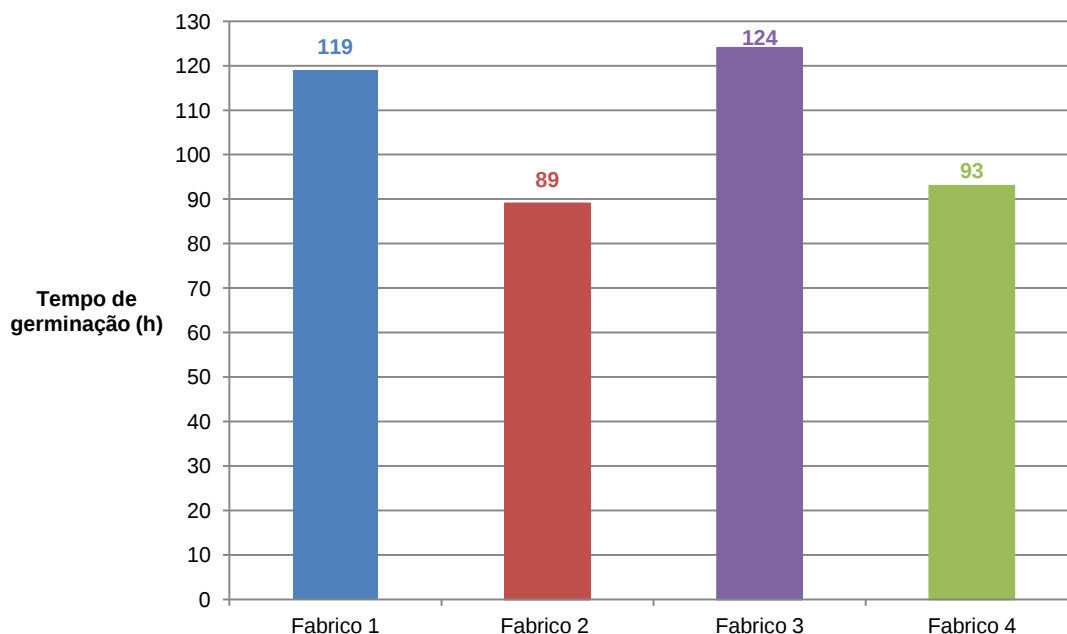


Figura 37. Duração da fase de germinação dos fabricos 1, 2, 3 e 4.

A adição de água durante a germinação foi feita por 3 vezes: no início da germinação, no início do 2º dia e a meio do 5º dia. A **Figura 38** mostra a variação do teor de humidade do grão ao longo dos dias de germinação do fabrico 3. O aumento abrupto da humidade do 1º para o 2º dia (cerca de 2,6%) deve-se à adição de água efetuada no início do dia 2 da germinação. Apesar da adição de água realizada a meio do dia 5 da germinação, não se observou um grande aumento do teor de humidade do grão do final do 4º para o final do 5º dia (0,1%).

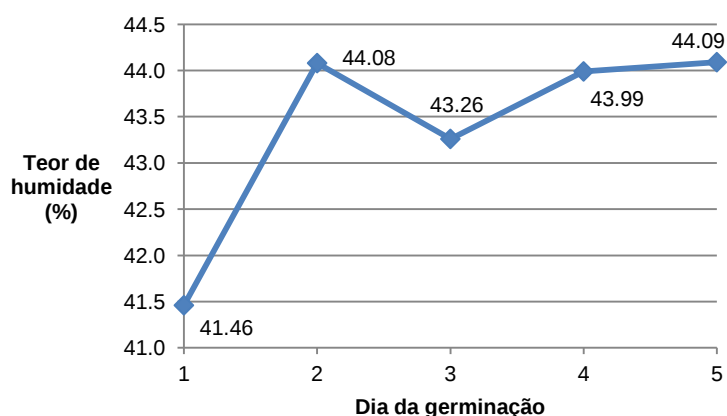


Figura 38. Valor do teor de humidade do grão recolhido no final de cada dia da germinação do fabrico 3.

O aumento da percentagem de modificação do grão no decurso da germinação está bem patente na **Tabela 30**. O grande aumento (30%) observado do 4º para o 5º dia de germinação pode eventualmente ser explicado pela adição de água que foi efetuada a meio do 5º dia, apesar da baixa temperatura do ar_{on} (14°C). A **Figura 39**

permite a comparação da evolução da percentagem de modificação entre o fabrico 3 e os preliminares (1, 2 e 4). Observa-se que nos dois fabricos mais longos (1 e 3) há um grande aumento da percentagem de modificação no último dia da germinação. O malte do fabrico 3, juntamente com o do fabrico 2, foram os que sofreram maior modificação na fase de germinação (96 e 97%, respetivamente).

Tabela 30. Aumento da modificação do grão no decorrer da germinação do fabrico 3

Dia da germinação	Modificação do grão (%)
2	58
3	64
4	66
5	96

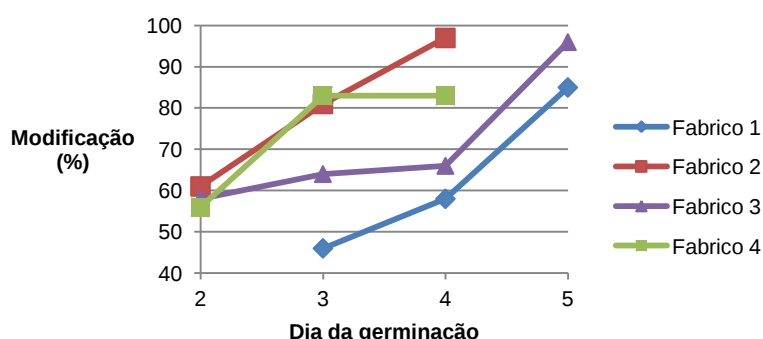


Figura 39. Aumento da percentagem de modificação do grão ao longo da germinação, para os fabricos 1, 2, 3 e 4.

A **Tabela 31** indica, para os quatro fabricos com cevada *Quench*, a duração da germinação, o teor de humidade do malte verde resultante e a percentagem de modificação alcançada nesta fase da maltagem. Nota-se que, para o fabrico 3, apesar de este ter tido a germinação mais longa, e de o malte ter tido uma modificação muito elevada, o teor de humidade do malte verde foi mais baixo do que o do malte verde dos fabricos 2 (menos 0,4%) e, principalmente, do 4 (menos 2,2%).

Tabela 31. Informações mais relevantes da fase de germinação dos ensaios com cevada *Quench*

Fabrico	Duração da germinação (h)	Teor de humidade do malte verde (%)	Modificação (%)
1	119	-	85
2	89	44.5	97
3	124	44,1	96
4	93	46.3	83

O programa de estufagem do fabrico 3 está descrito nas **Tabelas 32 e 33**. Relativamente aos fabricos *standard* usando a mesma variedade de cevada (*Quench*), este ensaio difere dos outros nos parâmetros para fim da fase *pré-break* e na fase de *curing*. Enquanto nos fabricos *standard* a fase *pré-break* terminou quando a

temperatura do ar de saída atingiu 45°C (**Tabela 14**), no fabrico 3 essa temperatura foi de 43°C, como tentativa de encurtar um pouco esta fase, com vista a limitar a modificação que ainda ocorre no grão no início da estufagem (durante parte da fase pré-break ainda ocorrem os processos bioquímicos de degradação do endosperma e crescimento do grão [*The Scandinavian School of Brewing*]). No que diz respeito ao curing (patamar de temperatura mais alta), não só a temperatura foi mais baixa (75°C), como a ventilação, numa fase mais adiantada do curing, foi mais forte (subiu para 90% da capacidade máxima da ventoinha).

Tabela 32. Programa de estufagem do fabrico 3

Passo	Temperatura do ar _{on} (°C)	Duração (h)	Velocidade da ventoinha (%)
1	55	2 (mínimo)	80
2	62	2	80
3	65	1	80
4	68	2	80
5	73	1	80
6	75	24 (máximo)	80 (90 na fase final)

Tabela 33. Parâmetros da fase de estufagem do fabrico 3

Temperatura do ar _{off} para início do passo 2 da estufagem	43°C
Temperatura para se iniciar a recirculação do ar _{off}	60°C
Recirculação máxima	70%
Tempo para atingir recirculação máxima	4h
Temperatura para finalizar o aquecimento	73°C
Tempo para finalizar o aquecimento, após a temperatura do ar _{off} atingir 73°C	5h
Temperatura para final do arrefecimento	40°C
Velocidade da ventilação durante o arrefecimento	100%
Temperatura para início da rotação do girador na estufagem	43°C

A **Tabela 34** indica, para o fabrico 3, a duração da estufagem (incluindo da fase pré-break e do curing), o teor de humidade do malte seco e a massa de malte obtida no fim da maltagem; estes dados são comparados com os do fabrico 2, uma vez que a massa de cevada utilizada nesse ensaio é a que mais se aproxima da que foi usada no fabrico 3 (diferem cerca de 1%); para além disso, o teor de humidade do malte verde também foi bastante próximo (0,4% de diferença). Nota-se que, apesar destas semelhanças ao início da estufagem, a duração desta fase diferiu bastante, maioritariamente devido à grande diferença de tempo de curing, mas também a duração da própria fase pré-break foi um pouco maior para o fabrico 3 (apesar de temperatura do ar_{off} para avançar para o passo 2 tenha sido menor). De destacar o facto de, apesar de o curing do fabrico 3 ser mais de 4 h mais longo, o malte final ser substancialmente mais húmido (5,3% de humidade), de tal forma que ultrapassa o limite máximo especificado (5,0%).

Tabela 34. Valores de duração de fase pré-break, duração do curing, duração da estufagem, massa final de malte e teor de humidade do malte seco, para os ensaios 2 e 3

Fabrico	Duração da fase pré-break (h)	Duração do curing (h)	Duração da estufagem (h)	Massa de malte seco (kg)	Teor de humidade do malte seco (%)
3	8,5	5,4	20,75	946	5,3 ± 0,0 ^a
2	7,75	1,25	17	924	4,4 ± 0,0 ^b

a: n=3

b: n=2

Pela **Figura 40** (esquerda) percebe-se que é principalmente a duração do patamar de *curing* que origina a grande diferença observada para a duração da estufagem entre o fabrico 3 e os outros. Apesar de a estufagem (particularmente a fase de *curing*) ser claramente mais longa no fabrico 3, o malte deste fabrico é também o mais húmido (**Figura 40**, direita). Isto explica-se pelo facto de a temperatura de *curing* do 3º ensaio ter sido substancialmente mais baixa em relação aos outros ensaios (menos 10°C).

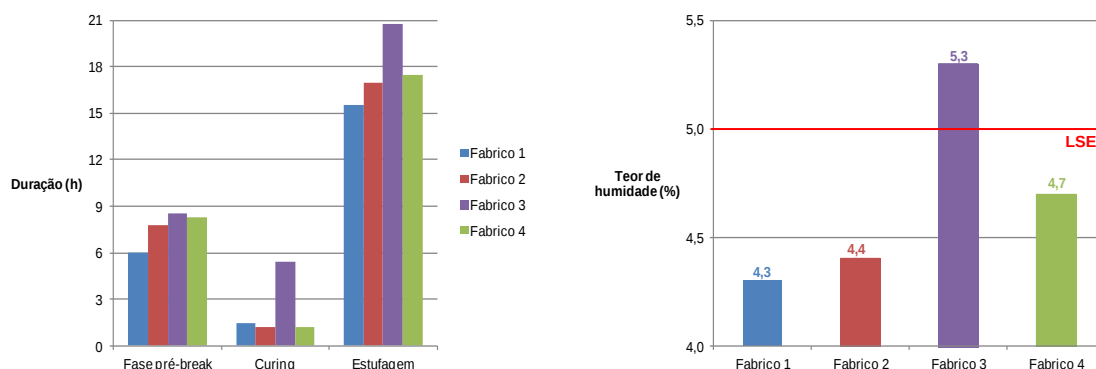


Figura 40. Duração da fase pré-break, do *curing* e da fase de estufagem (esquerda), e teor de humidade do malte final (direita) dos fabricos com cevada *Quench*.

A **Figura 41** permite a comparação do diagrama de estufagem do fabrico 2 (esquerda) com o do 3 (direita). Nota-se que as principais diferenças entre as estufagens se observam na fase pós-break: o fabrico 2 possui mais patamares de temperatura e uma temperatura final mais elevada, mas o *curing* do fabrico 3 é muito mais longo. Até ao patamar de 73°C, os diagramas de estufagem são muito semelhantes.

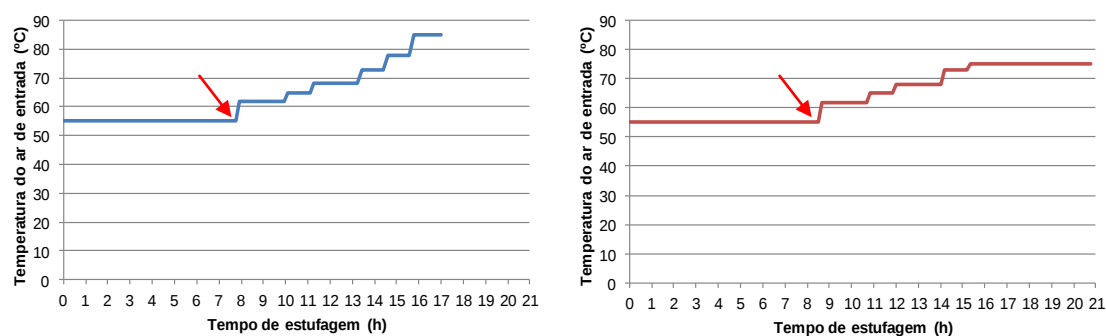


Figura 41. Diagramas de estufagem dos fabricos 2 (esquerda) e 3 (direita).

Na **Figura 42** podem-se comparar os dados da velocidade da ventoinha da estufagem entre os ensaios 2 e 3, mais uma vez. Como já tinha sido referido, há um período de cerca de 1,5 h no final do *curing* do fabrico 3 (direita) em que a ventilação é aumentada para 90%. No tempo restante da estufagem a ventilação é de 80%, e de 100% durante o arrefecimento, à semelhança do fabrico 2 (esquerda).

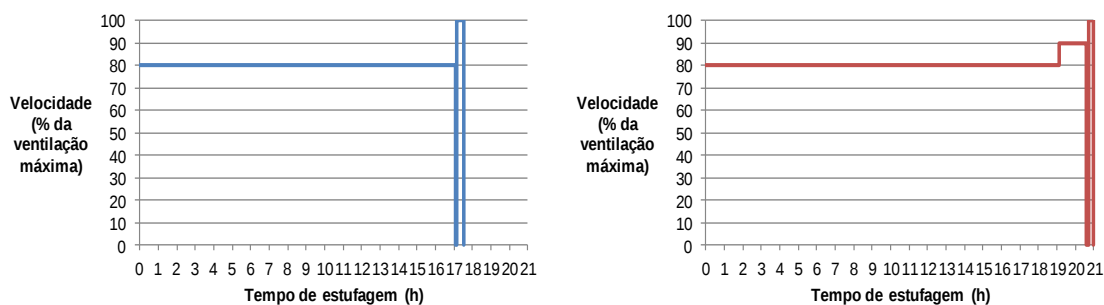


Figura 42. Velocidade da ventoinha de arejamento, em % da sua capacidade máxima, ao longo do tempo de estufagem, para os fabricos 2 (esquerda) e 3 (direita).

3.2.3. Consumos energéticos

A **Figura 43** faz a comparação do consumo elétrico e da área do diagrama de estufagem entre os fabricos 2 e 3. Mais uma vez, a comparação foi feita com o fabrico 2 devido à proximidade no que diz respeito à massa de cevada utilizada (**Figura 36**) e ao teor de humidade do malte verde (**Tabela 31**). Tendo em consideração a duração da estufagem num e noutro fabrico (**Tabela 34**), é natural que os consumos energéticos (eletricidade e vapor) tenham sido superiores no 3º fabrico, comparativamente com o 2º, na medida em que se gastou cerca de 21% mais energia elétrica e 25% mais energia térmica.

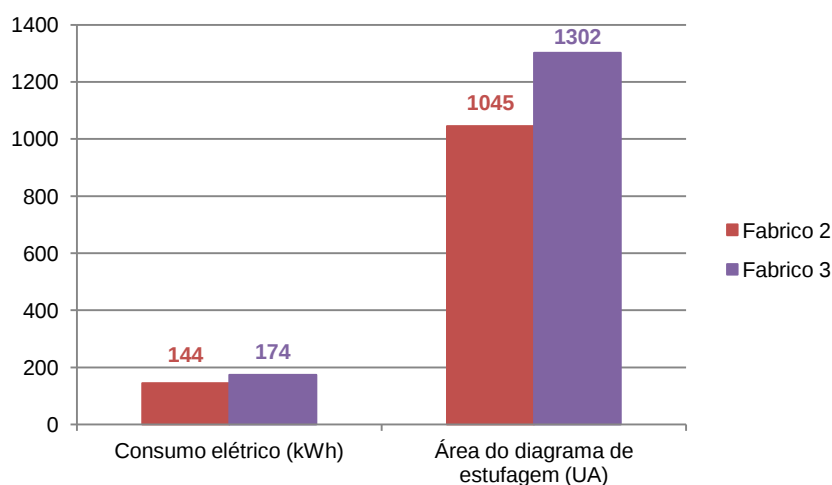


Figura 43. Consumo elétrico (da ventoinha da estufagem) e área do diagrama de estufagem (proporcional ao volume de vapor consumido) calculados para os fabricos 2 e 3.

A **Tabela 35** permite uma análise mais correta destes resultados. De facto, verifica-se que o consumo elétrico relativo (0,14 kWh/kg), e principalmente o consumo relativo de vapor (1,06 UA/kg), são superiores para o fabrico 3, quando comparados com os outros três fabricos em que foi utilizada cevada *Quench*. Uma vez que estes resultados não parecem ser explicados pelo valor do teor de humidade do malte verde, que é muito próximo do respeitante ao fabrico 2, é provável que a responsabilidade recaia na baixa temperatura de *curing*, que obrigou a que este patamar tenha sido mais longo (com vista a uma redução do teor de humidade do malte para valores aceitáveis), o que obrigou a um consumo de maior volume de vapor e a um funcionamento mais prolongado (e mais intenso, no final do *curing*) do arejamento. Isto obrigou a que os consumos energéticos tenham sido mais elevados, por kg de cevada maltado, para o fabrico 3.

Tabela 35. Dados relativos aos consumos energéticos e a sua relação com a duração da estufagem, com a massa de cevada e com o teor de humidade do malte verde, para os fabricos 1, 2, 3 e 4

Fabrico	Duração da estufagem, incluindo arrefecimento (h)	Consumo da ventoinha da estufagem (kWh)	Área do diagrama de estufagem (UA)	Massa de cevada (kg)	Consumo da ventoinha / massa de cevada (kWh/kg)	Área do diagrama / massa de cevada (UA/kg)	Teor de humidade do malte verde (%)
1	16	131	970	1140	0,11	0,85	-
2	17,5	144	1045	1215	0,12	0,86	44,5
3	21	174	1302	1230	0,14	1,06	44,1
4	18	148	1079	1140	0,13	0,95	46,3

3.2.4. Parâmetros de qualidade do malte

Na **Figura 44** estão evidenciados os resultados das análises relacionadas com a degradação citolítica. Na **Figura 44a** são comparados os resultados obtidos para o teor de β -glucanos entre os quatro fabricos. A **Figura 44b** permite a comparação da friabilidade e da modificação verificadas para o fabrico 3 com a média dos valores que se obtiveram para os ensaios preliminares. Já a **Figura 44c** compara o valor da atividade da enzima β -glucanase obtido para o malte do 3º ensaio com o que foi observado para os ensaios 2 e 4 (esta análise não foi efetuada no malte do 1º ensaio). Comparando com os outros fabricos, o teor de β -glucanos no mosto do fabrico 3 é o mais baixo (23 mg/L), o que se pode dever ao facto de a germinação deste ensaio ter sido a mais longa (124 h). Relativamente à percentagem de modificação, o malte do fabrico 3 modificou muito (97%); a percentagem de friabilidade aponta no mesmo sentido (96%), sendo mesmo demasiado elevada (limite superior especificado, ou LSE, é de 95%). A atividade da enzima β -glucanase no malte do fabrico 3 é muito superior à

que foi obtida para os fabricos 2 e 4 (173% superior à média dos valores obtidos para o malte dos outros dois); uma vez que as elevadas temperaturas do patamar de *curing* promovem a destruição desta enzima (que é termossensível), o facto de a temperatura de *curing* ter sido mais baixa na estufagem do fabrico 3 poderá explicar esta observação, uma vez que não haveria tanta enzima a ser destruída por efeito da temperatura.

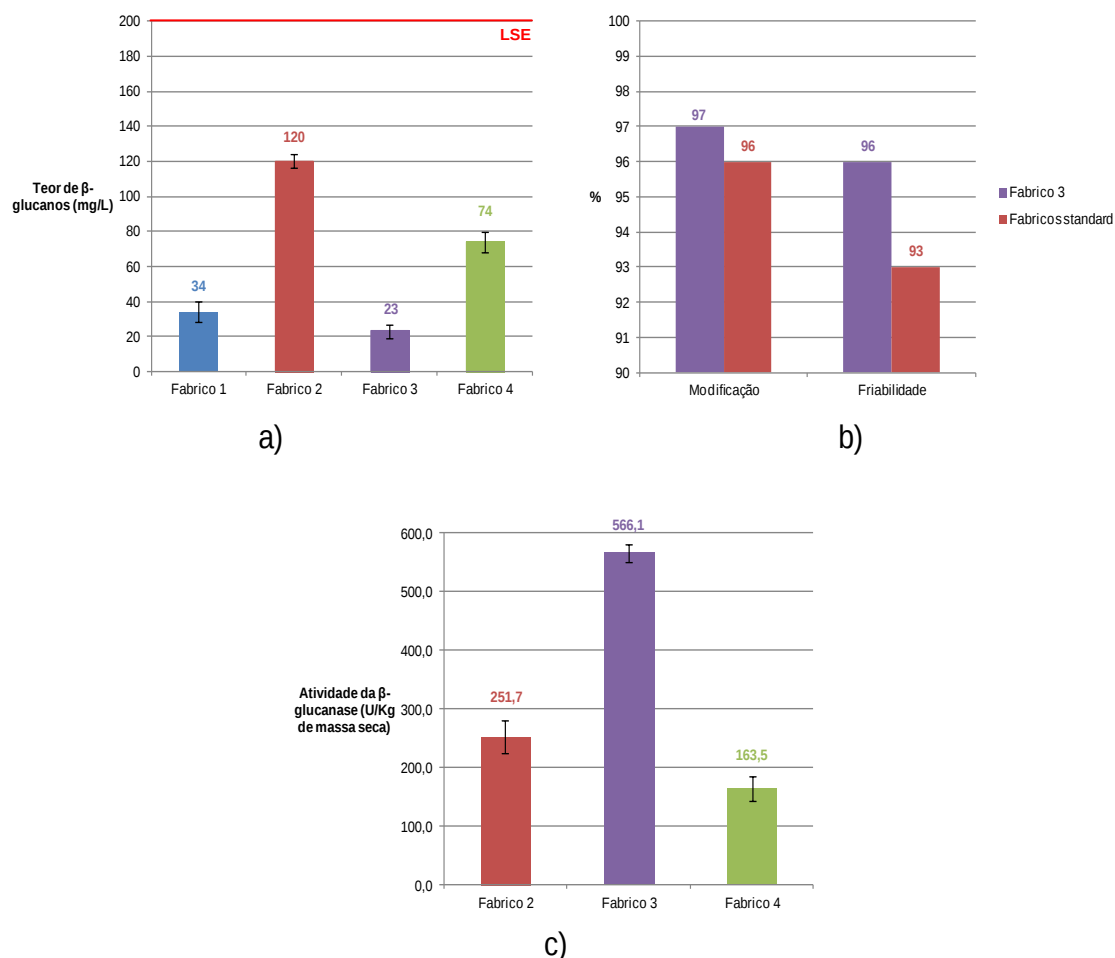


Figura 44. Resultados das determinações do teor de β -glucanos no mosto (a), da modificação e da friabilidade (b) e da atividade da β -glucanase (c) para os ensaios 1, 2, 3 e 4. A atividade da endo- β -glucanase não foi determinada no malte do fabrico 1. Para a determinação do teor de β -glucanos, $n=2$; para a determinação da atividade enzimática, $n=3$.

Os resultados das análises do teor de extrato e do poder diastásico, que permitem aferir a eficácia da amilólise, estão indicados na **Figura 45**. O malte do fabrico 3 cumpre as especificações, quer do extrato (81,3%), quer do poder diastásico (368,9 WK). Todavia, verifica-se que os desvios obtidos para o extrato do malte do 3º ensaio são muito elevados ($\pm 1,1\%$), pelo que se torna complicado tirar conclusões sobre este valor. O maior poder diastásico no malte do fabrico 3 (aumenta 37% relativamente à média dos valores observados para o malte dos ensaios 2 e 4) pode estar associado à menor temperatura de *curing*, uma vez que a temperaturas não tão

altas a enzima termossensível β -amilase (que contribui para o poder diastásico) não é tão inativada, o que promove valores mais altos de poder diastásico; recorde-se que esta enzima amilolítica é inativada a temperaturas superiores a 65-70°C [Global Beverage Solutions].

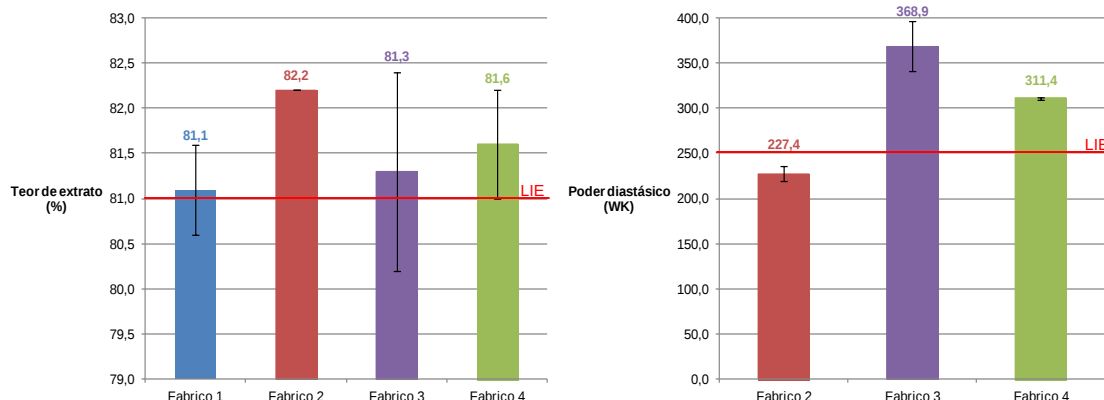


Figura 45. Valores de extrato (esquerda) e de poder diastásico (direita) obtidos para o malte dos fabricos com cevada *Quench*. Não foi efetuada a determinação do poder diastásico no malte do fabrico 1. Na determinação do teor de extrato: $n=5$ para os fabricos 1 e 3; $n=2$ para o fabrico 2; $n=6$ para o fabrico 4. Na determinação do poder diastásico, $n=2$ para todos os ensaios.

Relativamente à proteólise (**Tabela 36**), o valor obtido para o teor de azoto solúvel no mosto do fabrico 3 (0,34% de massa seca) encontra-se bastante próximo do que foi observado para os ensaios preliminares (**Figura 34**); o teor de azoto aminado livre (142 mg/L) foi semelhante ao obtido para o mosto do fabrico 4 (149 mg/L). Apesar de o teor de azoto solúvel ficar abaixo das especificações (0,64%), o teor de azoto aminado livre considera-se satisfatório (acima de 135 mg/L).

Tabela 36. Resultados da determinação do teor de azoto solúvel e da determinação do teor de azoto aminado livre no mosto do 3º ensaio

Teor de azoto solúvel (% de massa seca)	Teor de azoto aminado livre (mg/L)
0,34 ± 0,00 ^a	142 ± 12 ^b

a: $n=2$

b: $n=6$

Por análise da **Tabela 37** constata-se que os resultados da triagem do malte do fabrico 3 são muito semelhantes aos obtidos para o fabrico 2 (**Tabela 28**), o que faz sentido, tendo em conta que a quantidade de água absorvida pelo grão durante a germinação foi, também ela, muito próxima para os dois fabricos (o teor de humidade do malte verde diferiu 0,4%). Já o pH do mosto é idêntico ao dos outros fabricos com cevada *Quench* (**Tabela 27**).

Tabela 37. Resultados da triagem do malte e do pH do mosto, obtidos para o 3º ensaio

Triagem (%)					pH
> 2,8 mm	> 2,5 mm	> 2,2 mm	Resíduos	Grãos partidos	
93,8	4,3	0,7	0,5	0,6	6,1

A **Figura 46** permite a comparação da homogeneidade do malte entre os quatro fabricos. Apesar de ter tido a germinação mais longa, o malte do fabrico 3 não é o mais homogéneo; ainda assim, o malte cumpre as especificações de homogeneidade (LIE = 70%).

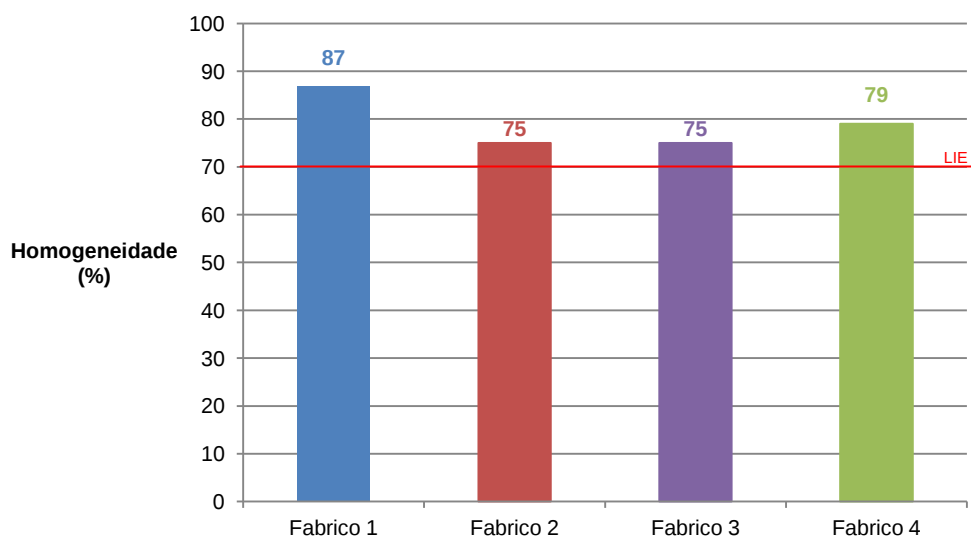


Figura 46. Valores de homogeneidade do malte dos fabricos 1, 2, 3 e 4.

3.3. Ensaio standard / preliminar (Tipple)

3.3.1. Análises à cevada

Foi efetuado apenas um fabrico de malte com cevada da variedade *Tipple* com sucesso, que foi o 5º fabrico (o 6º, devido a problemas operacionais, não decorreu da forma prevista e, por isso, não foram considerados os resultados desse fabrico). A **Tabela 38** indica os resultados da triagem e da determinação do teor de humidade que foram efetuadas antes de iniciar o 5º ensaio. As informações do lote de cevada *Tipple* utilizado, providenciadas pela Maltibérica S.A., estão contidas na **Tabela 6**. Por comparação destes valores com os da **Tabela 6**, conclui-se que os resultados da triagem não diferem muito, mas o teor de humidade obtido foi claramente mais baixo do que o valor indicado pelo fornecedor (14,3% para 13,5%).

Tabela 38. Resultados obtidos para o teor de humidade e para a triagem da cevada *Tipple* utilizada no ensaio 5

Teor de humidade (%) ^a	Triagem (%)				
	>2,8 mm	>2,5 mm	>2,2 mm	Resíduos	Grãos partidos
13,5 ± 0,0	79,0	14,8	4,4	1,0	0,9

a: n = 3

3.3.2. Ensaio de mini-maltagem

A massa de cevada utilizada neste fabrico foi de 985 kg. O programa de molha foi exatamente o mesmo dos fabricos 3 e 4: 7 h de primeira fase húmida, seguido de 12 h de primeira fase seca, 5 h de segunda fase húmida e 12 h de segunda fase seca, com os mesmos parâmetros operacionais. No final da molha, o teor de humidade do grão calculado pelo autómato foi de 40,1% e a percentagem de *chitting* foi de 92%.

O programa de germinação do fabrico 5 decorreu como se pode observar na **Tabela 39**. Esta fase da maltagem teve a duração de 146 h.

Tabela 39. Programa de germinação do 5º ensaio (duração: 146 h)

Passo	Duração (h)	Temperatura do ar de entrada (°C)	Recirculação de ar (%)
1	24	15	50
2	24	14	60
3	24	13	70
4	26	12	70
5	24	12	80
6	24	12	90

Durante a germinação, procedeu-se por duas vezes à adição de água: no início do 1º dia de germinação e a meio do 4º dia. Pela **Figura 47** consegue-se perceber o modo como variou o teor de humidade do grão no decorrer desta fase. O grande aumento do valor do teor de humidade observado do 3º para o 4º dia (4,5%) tem como razão a adição de água efetuada a meio do 4º dia de germinação.

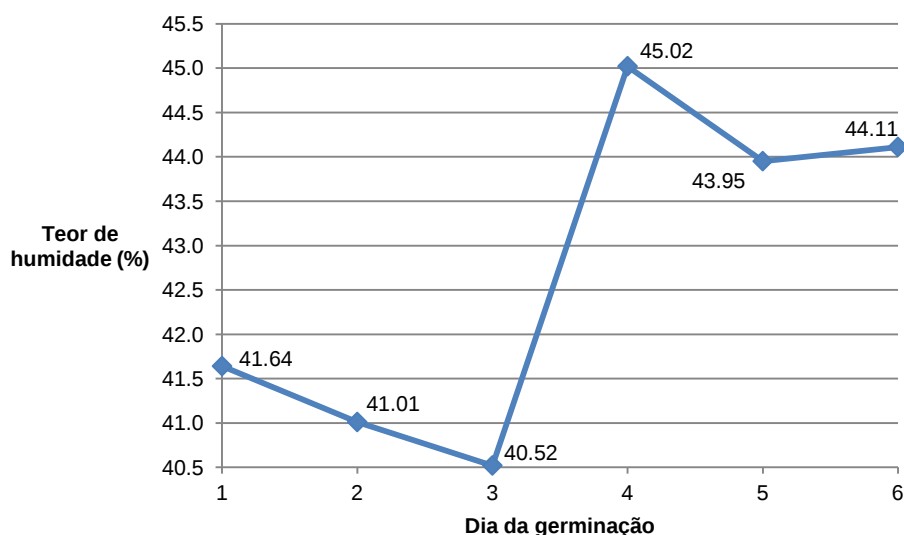


Figura 47. Valor do teor de humidade do grão recolhido no final de cada dia da germinação do fabrico 5.

Em relação aos valores da percentagem de modificação do grão durante a fase de germinação, estes podem ser observados na **Figura 48**. Apesar de ter existido uma

adição de água a meio do período de germinação, esta não se refletiu num aumento tão acentuado da percentagem de modificação do grão (13%) como tinha sido visto para alguns dos fabricos com cevada *Quench* (**Figura 39**), tendo-se observado um aumento quase uniforme da modificação ao longo dos dias. O malte verde seguiu para a fase de estufagem com 84% de modificação.

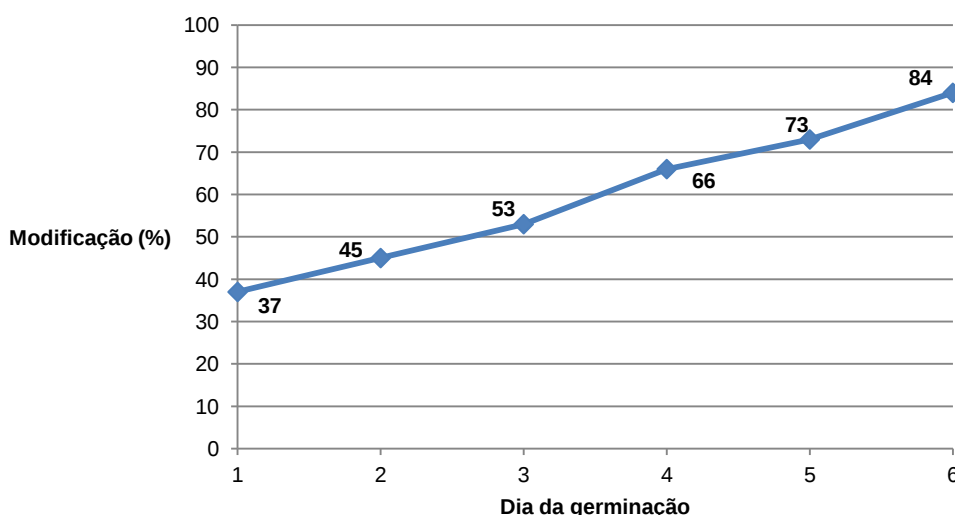


Figura 48. Variação da percentagem de modificação do grão ao longo da germinação do 5º ensaio.

Para este 5º ensaio, a duração da germinação, o teor de humidade do malte verde e a percentagem de modificação alcançada na germinação podem ser consultados na **Tabela 40**.

Tabela 40. Informações mais relevantes da fase de germinação do ensaio 5

Duração da germinação (h)	Teor de humidade do malte verde (%)	Modificação (%)
146	44,1	84

O programa de estufagem do fabrico 5 foi idêntico ao adotado para os ensaios *standard* usando a variedade de cevada *Quench* (**Tabelas 13 e 14**). A **Tabela 41** indica, para o fabrico 5, a duração da estufagem, da fase *pré-break* e do *curing*, o teor de humidade do malte seco e a massa de malte obtida no fim da maltagem. O programa de estufagem foi eficaz, pelo menos no que diz respeito à redução do teor de humidade do malte final para valores inferiores a 5,0%.

Tabela 41. Valores de duração de fase *pré-break*, duração do *curing*, duração da estufagem, massa final de malte e teor de humidade do malte seco, para o ensaio 5

Duração da fase <i>pré-break</i> (h)	Duração do <i>curing</i> (h)	Duração da estufagem (h)	Massa de malte seco (kg)	Teor de humidade do malte seco (%)
6,5	1,5	16	742	4,6 ± 0,1 ^a

a: n=6

A **Figura 49** (esquerda) representa o diagrama de estufagem do único ensaio *standard* com cevada *Tipple*. Na mesma **Figura** (direita) é possível observar o gráfico da velocidade da ventilação durante a estufagem ao longo desta fase da maltagem. Ambos os gráficos são muito semelhantes aos dos fabricos preliminares em que se utilizou cevada da variedade *Quench* (**Figuras 30 e 31**).

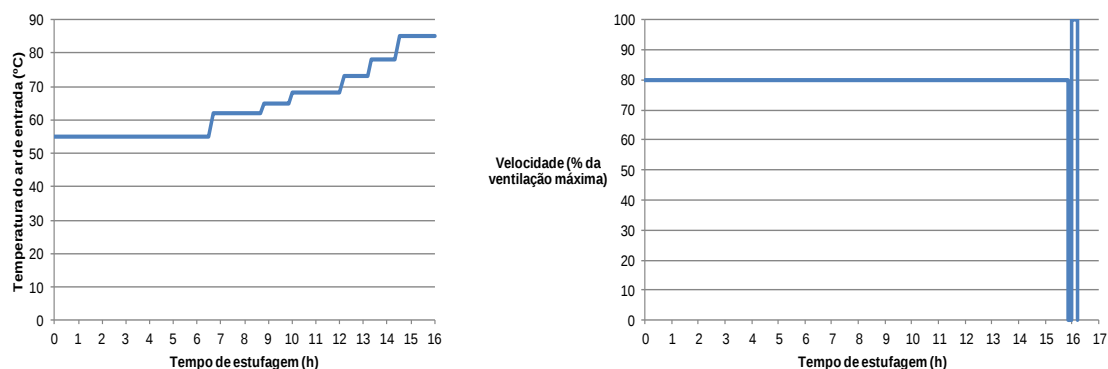


Figura 49. Diagrama de estufagem (esquerda) e gráfico da ventilação durante a estufagem (direita) do fabrico 5.

3.3.3. Consumos energéticos

Com base nestes gráficos, foram estimados o consumo elétrico da ventoinha na estufagem e a proporção de volume de vapor consumido (**Tabela 42**). Considera-se a área do diagrama de estufagem (**Figura 49**, esquerda) proporcional ao volume de vapor gasto.

Tabela 42. Dados relativos aos consumos energéticos e a sua relação com a duração da estufagem, com a massa de cevada e com o teor de humidade do malte verde, para o fabrico 5

Duração da estufagem, incluindo arrefecimento (h)	Consumo da ventoinha da estufagem (kWh)	Área do diagrama de estufagem (UA)	Massa de cevada (kg)	Consumo da ventoinha / massa de cevada (kWh/kg)	Área do diagrama / massa de cevada (UA/kg)	Teor de humidade do malte verde (%)
16,2	133	998	985	0,13	1,01	44,1

3.3.4. Parâmetros de qualidade do malte

Os resultados das análises relacionadas com a degradação citolítica estão evidenciados na **Tabela 43**. Constata-se que a modificação (e a friabilidade), à semelhança dos ensaios com cevada *Quench*, é bastante elevada, como resultado da germinação longa (146 h). Para além disso, o teor de β -glucanos no mosto é satisfatoriamente baixo (< 200 mg/L).

Tabela 43. Valores da modificação e friabilidade do malte, e do teor de β -glucanos e da atividade da enzima endo- β -glucanase no malte do fabrico 5

Modificação	Friabilidade	Teor de β -glucanos	Atividade da β -glucanase ^a
96%	92%	68 mg/L	248,3 $\pm$ 6,8 U/kg de massa seca

a: $n=3$

Os resultados das análises que permitem tirar conclusões acerca da amilólise e da proteólise estão indicados na **Tabela 44**. Todos os parâmetros relacionados com a degradação do amido no endosperma do grão (extrato, poder diastásico e atividades das enzimas α - e β -amilase) cumprem os requisitos exigidos na indústria cervejeira (extrato igual a 81,0%, poder diastásico superior a 250,0 WK, atividade da α -amilase superior a 160 UC/g e atividade da β -amilase superior a 13 UC/g). Já o teor de azoto solúvel no mosto, ao contrário do teor de azoto aminado livre, fica abaixo do valor mínimo especificado (0,64%).

Tabela 44. Resultados das análises relativas à amilólise e proteólise ocorridas durante a maltagem da cevada do fabrico 5

Teor de extrato ^a	Poder diastásico ^b	Atividade da α -amilase ^c	Atividade da β -amilase ^c	Teor de azoto solúvel	Teor de azoto aminado livre ^d
81,0 $\pm$ 0,4%	305,5 $\pm$ 7,7 WK	199 $\pm$ 2 U/g	16,1 $\pm$ 0,5 U/g	0,34 % de massa seca	162 $\pm$ 5 mg/L

a: $n=7$

b: $n=2$

c: $n=2$

d: $n=4$

Os resultados, para o fabrico 5, da triagem, da homogeneidade, do nível de DMS no malte e do pH do mosto, estão presentes na **Tabela 45**. O malte cumpre a especificação para a homogeneidade (LIE=70%).

Tabela 45. Resultados da triagem, da homogeneidade, do teor de DMS e do pH do mosto obtidos para o malte do 5º ensaio

Triagem (%)					Homogeneidade (%)	Teor de DMS (mg/kg)	pH do mosto
> 2,8 mm	> 2,5 mm	> 2,2 mm	Resíduos	Grãos partidos			
91,8	5,1	1,1	1,2	0,7	75	740,7	6,1

3.4. Ensaios de menor temperatura de curing (Tipple)

3.4.1. Análises à cevada

Foram realizados três ensaios com cevada *Tipple* (fabricos 7, 8 e 9), em que foi testada a abordagem de menor temperatura do patamar de *curing*. A **Tabela 46** indica os resultados provenientes da triagem e da determinação do teor de humidade da

cevada, realizadas antes de dar início a cada um dos fabricos. Comparando com os valores da **Tabela 6**, que são os dados providenciados pelo fornecedor, é possível constatar, que o teor de humidade obtido, nomeadamente para a cevada do fabrico 9, se encontra relativamente afastado dos 14,3% indicados no certificado de análises. Quanto aos resultados da triagem, os relativos aos fabricos 7 e 8 praticamente não diferem, mas a triagem da cevada do fabrico 9 aponta para uma percentagem substancialmente mais elevada de grãos de maior diâmetro ($> 2,8$ mm) face aos outros dois fabricos e ao que é indicado pelo fornecedor.

Tabela 46. Resultados obtidos para a determinação do teor de humidade e para a triagem da cevada *Tipple* utilizada nos ensaios 7, 8 e 9

Fabrico	Teor de humidade ^a (%)	Triagem (%)				
		$>2,8$ mm	$>2,5$ mm	$>2,2$ mm	Resíduos	Grãos partidos
7	$13,6 \pm 0,0$	76,6	15,8	4,8	1,8	1,0
8	$13,4 \pm 0,0$	76,3	15,7	4,7	2,0	1,2
9	$13,0 \pm 0,0$	81,0	12,2	4,0	1,7	1,2

a: $n = 3$

3.4.2. Ensaios de mini-maltagem

A **Figura 50** permite comparar a massa de cevada *Tipple* utilizada nos fabricos 5 (*standard*), 7, 8 e 9. Entre os fabricos 7 (menor massa) e 9 (maior quantidade de cevada) a massa de cevada usada variou cerca de 22%.

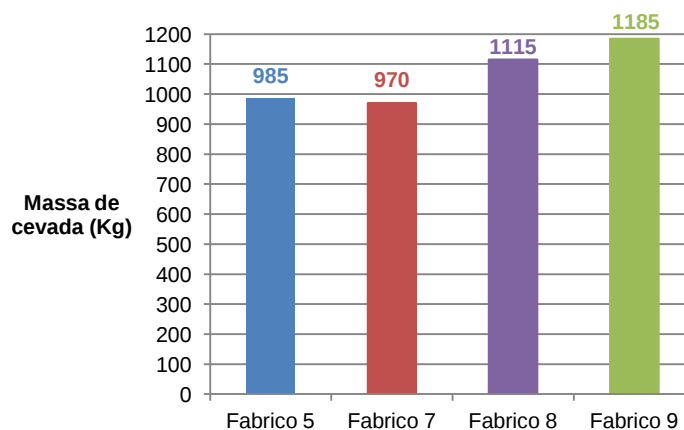


Figura 50. Massa inicial de cevada utilizada nos fabricos 5, 7, 8 e 9.

O programa de molha destes ensaios foi o descrito nas **Tabelas 7, 8, 9 e 10**: 7 h de primeira fase húmida, seguido de 12 h de primeira fase seca, mais 5 h de segunda fase húmida e 12 h de segunda fase seca. A **Tabela 47** indica os valores calculados do teor de humidade do grão e da percentagem de *chitting* no final da fase de molha.

Tabela 47. Valores do teor de humidade da cevada, calculados pelo autómato, e da percentagem de *chitting* após a fase de molha, para os ensaios 7, 8 e 9

Fabrico	Teor de humidade no fim da molha (%)	<i>Chitting</i> (%)
7	40,6	95
8	40,0	93
9	40,6	92

As **Tabelas 48, 49 e 50** ilustram o programa de germinação seguido para cada um dos ensaios (7, 8 e 9, respetivamente). A **Figura 51** permite comparar a duração da germinação destes ensaios e do ensaio 5 (*standard*). A germinação do fabrico 8 foi cerca de 1 dia (24 h) mais longa em comparação com os fabricos 7 e 9, cuja duração foi quase idêntica (diferença de 1 h). Porém, enquanto a temperatura no fabrico 7 foi sendo diminuída gradualmente de 15 até 12°C, no fabrico 9, foi sempre mantida nos 15°C; em ambos os fabricos a recirculação do ar_{off} foi aumentada praticamente diariamente, tendo atingido um máximo de 90% no final do fabrico 7, e 80% no final do fabrico 9. Quanto à recirculação de ar no 8º ensaio, esta, contrariamente ao que é usual, foi reduzida de 70 para 60% nos últimos dias de germinação; também a temperatura foi aumentada nos últimos dias (de 14 para 15°C). Estas alterações que foram feitas ao procedimento normal de germinação, no fabrico 8, deveram-se à dificuldade com que o grão estava a germinar à temperatura de 14°C e 70% de recirculação de ar (temperatura mais alta e recirculação de ar mais baixa promovem os processos metabólicos que ocorrem durante a germinação [*The Scandinavian School of Brewing*]).

Tabela 48. Programa de germinação do 7º ensaio (duração: 124 h)

Passo	Duração (h)	Temperatura do ar de entrada (°C)	Recirculação de ar (%)
1	24	15	50
2	24	14	60
3	24	13	70
4	24	12	70
5	24	12	80
6	4	12	90

Tabela 49. Programa de germinação do 8º ensaio (duração: 149 h)

Passo	Duração (h)	Temperatura do ar de entrada (°C)	Recirculação de ar (%)
1	24	15	50
2	24	15	60
3	50	14	70
4	51,3	15	60

Tabela 50. Programa de germinação do 9º ensaio (duração: 125 h)

Passo	Duração (h)	Temperatura do ar de entrada (°C)	Recirculação de ar (%)
1	24	15	50
2	24	15	60
3	60,5	15	70
4	16,25	15	80

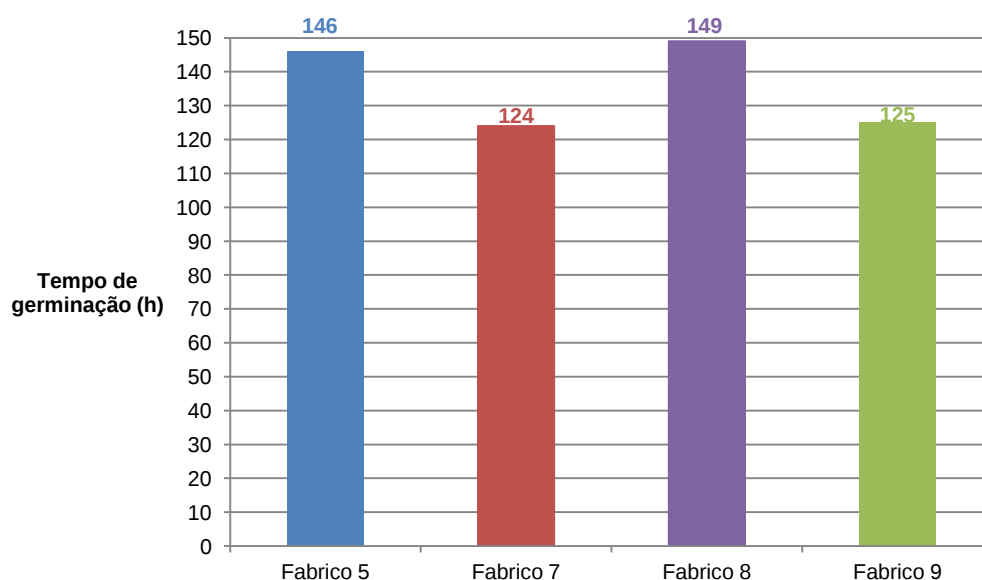


Figura 51. Duração da fase de germinação para os fabricos 5 (*standard*), 7, 8 e 9.

No decorrer da germinação do fabrico 7, foram realizadas duas adições de água: no início do 1º dia e a meio do 4º; as adições de água na germinação do 8º ensaio foram também duas: no início da germinação e a meio do 6º dia; também se procedeu a duas adições de água no decurso da germinação do 9º fabrico (início do 1º dia e a meio do 5º). O grande aumento do valor do teor de humidade (5,7%) do 3º para o 4º dia de germinação do fabrico 7 relaciona-se com a adição de água que ocorreu a meio do 4º dia. No 8º ensaio também se denota um elevado aumento do teor de humidade do grão (2,9%) do 5º para o 6º dia; isto explica-se pelo facto de se ter adicionado água ao cereal a meio do 6º dia de germinação. Igual explicação tem o aumento pronunciado de humidade observado para o 9º fabrico, para o qual a adição de água efetuada a meio do 5º dia é responsável pelo aumento do teor de água do 4º para o 5º dia da fase de germinação (2,6%).

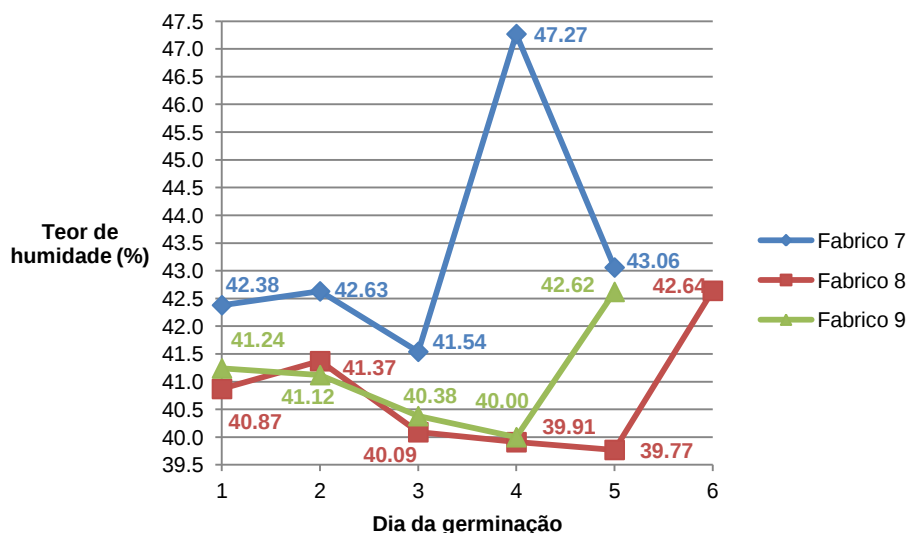


Figura 52. Variação do valor do teor de humidade do grão durante os dias de germinação dos fabricos 7, 8 e 9.

A **Figura 53** permite acompanhar a evolução da modificação do grão no decurso da fase de germinação para os três fabricos em causa, e também para o fabrico 5 (preliminar). Ao final de cinco dias de germinação, o malte do fabrico 8 ainda não tinha ultrapassado os 70% de modificação, razão pela qual a sua germinação foi mais extensa do que a dos fabricos 7 e 9. Para o 7º ensaio, o aumento significativo da percentagem de modificação a partir do 4º dia de germinação parece estar relacionado com a adição de água efetuada a meio desse dia, visto que não foi efetuado nenhum aumento da temperatura do ar_{on} da germinação, nem foi reduzida a recirculação de ar. A mesma explicação pode ser dada para a mesma ocorrência nos fabricos 8 e 9, no 6º e 5º dias de germinação, respetivamente: a adição de água foi feita a meio do dia 6, no fabrico 8, e a meio do dia 5, no fabrico 9. Até ao 3º dia de germinação, os valores da percentagem de modificação para os quatro fabricos são todos muito aproximados. A adição de água a meio do 4º dia no fabrico 7 aumentou consideravelmente a modificação ao fim do 4º dia (75%) comparativamente aos ensaios 8 e 9 (57 e 58%); a adição de água que foi feita a meio do 5º dia no fabrico 9 explica a diferença de modificação entre o malte dos fabricos 8 e 9 no final do 5º dia de germinação (71 e 57%).

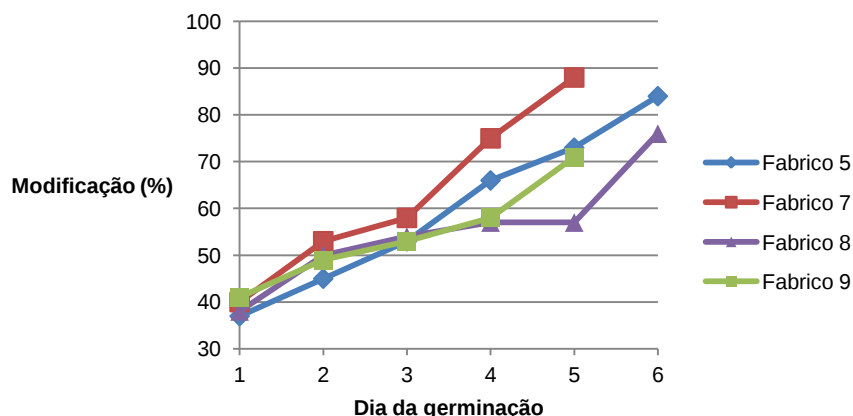


Figura 53. Variação da percentagem de modificação do grão ao longo da germinação dos fabricos 5, 7, 8 e 9.

A partir do ensaio 8, o critério para interrupção da fase de germinação passou a ser a modificação subir acima de 70%, como tentativa de aumentar o extrato do malte final, devido à suspeita de nos ensaios anteriores o extrato obtido ter sido reduzido como consequência de um excesso de modificação. Por outras palavras, foi colocada a hipótese de, nas situações em que foi obtido malte verde com modificação superior a 80%, este seguir para a estufagem demasiado modificado, o que, visto que continuam a ocorrer processos bioquímicos de forma intensa durante a fase pré-break da estufagem, poderá ter conduzido à situação de o embrião (com vista à produção de energia e à síntese de tecidos necessárias ao metabolismo e crescimento promovidos pelas condições de humidade e temperatura) consumir os produtos de baixo peso molecular que se libertam pela hidrólise enzimática do endosperma (entre eles açúcares fermentescíveis), reduzindo, desta forma, a quantidade de extrato potencial que poderia ser mais tarde utilizado pela levedura para produzir etanol (fase de fermentação alcoólica do processo cervejeiro). A **Tabela 51** apresenta dados importantes relativos à fase de germinação dos fabricos 7, 8 e 9. De sublinhar o facto de, apesar de o fabrico 8 ter sido o mais longo (149 h), foi o malte do fabrico 7 que alcançou maior modificação durante a germinação (88%).

Tabela 51. Dados mais importantes relacionados com a fase de germinação nos ensaios 7, 8 e 9

Fabrico	Duração da germinação (h)	Teor de humidade do malte verde (%)	Modificação (%)
7	124	43,1	88
8	149	42,6	76
9	125	42,6	71

O programa de estufagem variou entre os três fabricos; porém, a temperatura do patamar de *curing* foi mantida constante (75°C). Os programas de estufagem são evidenciados pelas **Tabelas 52 – 56**. Os patamares que antecedem o *curing* têm as mesmas temperaturas e a mesma duração, de fabrico para fabrico; porém, enquanto a

força da ventilação é de 100% no decorrer de todo o tempo de estufagem, nos fabricos 8 e 9, no fabrico 7 é de 80% no 1º passo, aumentando depois para 90% nos passos 2 e 3, e finalmente para 100% nos últimos passos da estufagem. Observa-se ainda uma diferença do fabrico 9 para os outros: nos fabricos 7 e 8 a temperatura para fim do passo 1 foi de 45°C; já no fabrico 9, esta foi de 40°C. Esta alteração teve em vista limitar a modificação do malte que ainda ocorre no passo inicial da estufagem (menor duração da fase *pré-break* poderá eventualmente conduzir a menor consumo das reservas de energia por parte do embrião, possibilitando o aumento do extrato).

Tabela 52. Programa de estufagem do fabrico 7

Passo	Temperatura do ar _{on} (°C)	Duração (h)	Velocidade da ventoinha (%)
1	55	2 (mínimo)	80
2	62	2	90
3	65	1	90
4	68	2	100
5	73	1	100
6	75	24 (máximo)	100

Tabela 53. Parâmetros da fase de estufagem do fabrico 7

Temperatura do ar _{off} para início do passo 2 da estufagem	45°C
Temperatura para se iniciar a recirculação do ar _{off}	60°C
Recirculação máxima	70%
Tempo para atingir recirculação máxima	2 h
Temperatura para finalizar o aquecimento	73°C
Tempo para finalizar o aquecimento, após a temperatura do ar _{off} atingir 72°C	5 h
Temperatura para final do arrefecimento	40°C
Velocidade da ventilação durante o arrefecimento	100%
Temperatura para início da rotação do girador na estufagem	45°C

Tabela 54. Programa de estufagem dos fabricos 8 e 9

Passo	Temperatura do ar _{on} (°C)	Duração (h)	Velocidade da ventoinha (%)
1	55	2 (mínimo)	100
2	62	2	100
3	65	1	100
4	68	2	100
5	73	1	100
6	75	24 (máximo)	100

Tabela 55. Parâmetros da fase de estufagem do fabrico 8

Temperatura do ar _{off} para início do passo 2 da estufagem	45°C
Temperatura para se iniciar a recirculação do ar _{off}	60°C
Recirculação máxima	70%
Tempo para atingir recirculação máxima	2 h
Temperatura para finalizar o aquecimento	73°C
Tempo para finalizar o aquecimento, após a temperatura do ar _{off} atingir 73°C	2 h
Temperatura para final do arrefecimento	40°C

Velocidade da ventilação durante o arrefecimento	100%
Temperatura para início da rotação do girador na estufagem	45°C

Tabela 56. Parâmetros da fase de estufagem do fabrico 9

Temperatura do ar _{off} para início do passo 2 da estufagem	40°C
Temperatura para se iniciar a recirculação do ar _{off}	60°C
Recirculação máxima	70%
Tempo para atingir recirculação máxima	2 h
Temperatura para finalizar o aquecimento	73°C
Tempo para finalizar o aquecimento, após a temperatura do ar _{off} atingir 73°C	4 h
Temperatura para final do arrefecimento	40°C
Velocidade da ventilação durante o arrefecimento	100%
Temperatura para início da rotação do girador na estufagem	40°C

A **Tabela 57** permite comparar os fabricos de menor temperatura de estufagem com o ensaio *standard* (ensaio 5), relativamente à duração da estufagem (total, fase *pré-break* e *curing*), massa de malte obtida e teor de humidade do malte final. A fase *pré-break* muito curta do fabrico 9 está relacionada com o próprio programa da estufagem (**Tabela 56**), visto que, para este ensaio, o primeiro passo da estufagem (aqui definido como fase *pré-break*) termina mais cedo comparativamente com os outros ensaios, dada a menor temperatura para fim do passo (40°C). Ainda relativamente à duração da fase *pré-break*, denota-se que, apesar de ser o fabrico em que foi utilizada menor massa de cevada (970 kg), o 7º ensaio é aquele para o qual a fase *pré-break* foi mais longa (7,5 h); contrariamente, o fabrico em que foi utilizada maior quantidade de matéria-prima, o 8º (1115 kg) é o que exhibe a fase *pré-break* mais curta (6 h), isto não considerando o ensaio 9, por razões já apontadas. Uma vez que as diferenças do teor de humidade do malte verde (0,5% maior no fabrico 7) não aparentam ser suficientemente grandes para explicar esta observação, provavelmente a razão será a força da ventilação durante o primeiro passo da estufagem: no passo 1 da estufagem do fabrico 7 a velocidade da ventoinha foi de 80% (**Tabela 52**), enquanto no fabrico 8 foi de 100% (**Tabela 54**); parece natural que a passagem de um maior volume de ar (resultante da maior velocidade da ventilação) a atravessar o leito de malte seja capaz de remover mais rapidamente a água contida nos grãos [*The Scandinavian School of Brewing*], o que conduz a um aumento mais rápido da temperatura do ar_{off} e, conseqüentemente, ao término mais rápido do passo 1 da estufagem (fase *pré-break*). Em relação à duração do patamar de *curing*, entende-se normal o facto de este ter sido mais longo para os fabricos de menor temperatura de *curing*, uma vez que só foram interrompidos quando o teor de humidade do grão baixou dos 5,0% (a monitorização do teor de humidade foi feita por recurso ao uso da termobalança, a cada hora desde o início do *curing*). Apesar disso, nota-se uma

diferença clara para a duração deste último passo da estufagem entre o fabrico 8 (2,17 h) e os fabricos 7 e 9 (4,17 e 3,92 h). Apesar de o *curing* dos fabricos 8 e 9 (principalmente o 9) serem mais longos em comparação com o do fabrico 5 (1,5 h de duração), o tempo total da estufagem foi menor, devido à fase pré-*break* mais curta (6 e 4,25 h, contra 6,5 h), conseguida através do aumento da ventilação para o máximo. A estufagem do fabrico 7 teve os primeiro e último passos mais longos, daí ser a mais longa (18,5 h). No caso do fabrico 9, o *curing* é quase tão longo como a fase pré-*break* (4,25 e 3,92 h). A muito curta duração do passo 1 da estufagem no fabrico 9 deve-se ao facto de, neste caso, ter sido alterado um parâmetro importante, que é o de fim do passo 1, que, nos outros ensaios ocorreu quando a temperatura do ar_{off} atingiu 45°C, mas, neste fabrico, foi alterada para 40°C (**Tabela 56**). O objetivo desta alteração, na altura, foi reduzir o tempo do passo 1 com vista a limitar a modificação do malte (que ainda ocorre nesta fase inicial da estufagem). Uma vez que a temperatura para fim do passo foi menor, a duração também foi menor, o que explica estes resultados. Porém a duração do *curing* foi maior na estufagem do fabrico 9, provavelmente porque foi necessário compensar a menor duração da fase pré-*break*, que poderá ter feito com que o malte entrasse no patamar de *curing* com um teor de humidade mais alto do que o que teria caso não tivesse sido alterada a duração da fase pré-*break*. O uso da termobalança para determinação do teor de humidade do grão não é o método mais apropriado, pelo que, apesar de a fase de estufagem ser interrompida quando o teor de humidade do grão indicado pela termobalança baixa dos 5,0%, este pode, na realidade ainda se encontrar acima desse valor; é por isso que o valor do teor de humidade do malte final dos fabricos 7, 8 e 9 é igual ou superior a 5,0% (Limite Superior Especificado, ou LSE).

Tabela 57. Valores de duração de fase pré-*break*, duração do *curing*, duração da estufagem, massa final de malte e teor de humidade do malte seco, para os ensaios 5, 7, 8 e 9

Fabrico	Duração da fase pré- <i>break</i> (h)	Duração do <i>curing</i> (h)	Duração da estufagem (h)	Massa de malte seco (kg)	Teor de humidade do malte seco (%)
5	6,5	1,5	16	742	4,6 ± 0,1 ^a
7	7,5	4,17	18,5	705	5,0 ± 0,0 ^b
8	6	2,17	15	837	5,0 ± 0,0 ^b
9	4,25	3,92	15	899	5,2 ± 0,0 ^b

a: n=6

b: n=3

Os diagramas de estufagem dos fabricos 5, 7, 8 e 9 podem ser consultados na **Figura 54**. Observa-se com clareza que a duração do *curing* é muito mais significativa em relação à duração total da estufagem, nos fabricos de menor temperatura máxima (gráficos **b**), **c**) e **d**)), de tal forma que, no ensaio 7, o patamar de *curing* representa cerca de 23% do tempo total da estufagem, no ensaio 8 esse valor é

de 14%, e de 26% para o 9º ensaio; já no fabrico 5, o *curing* corresponde a apenas 9% do tempo total da estufagem.

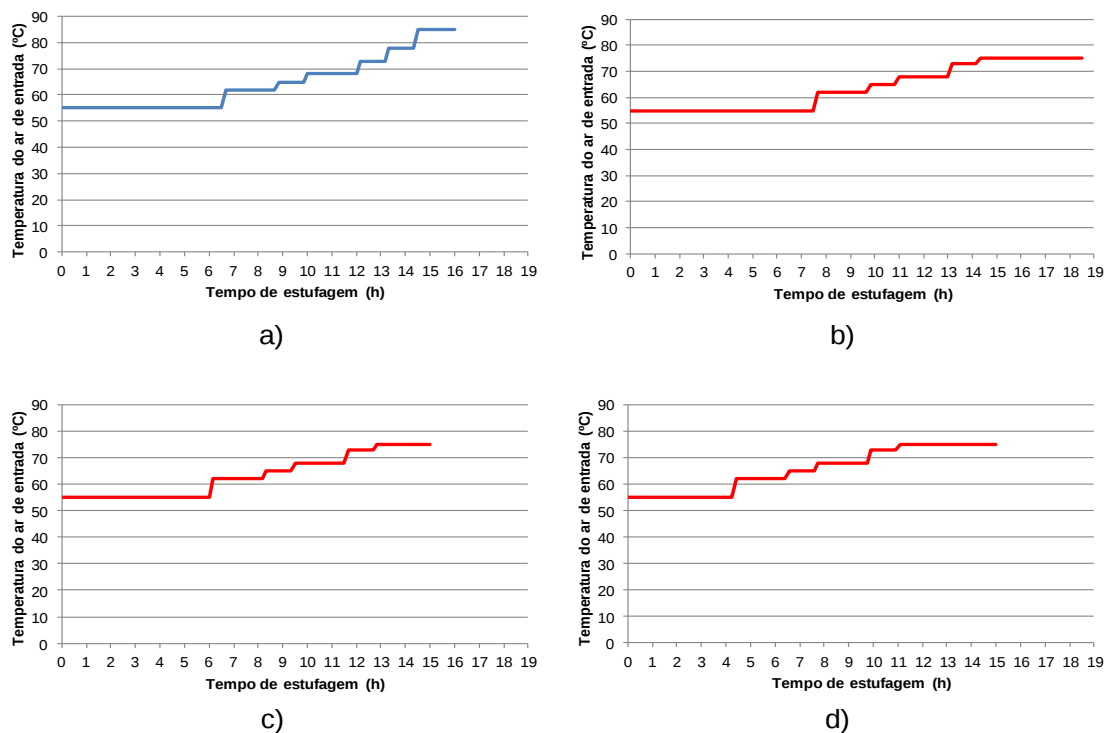


Figura 54. Diagramas de estufagem dos fabricos 5 (a), 7 (b) 8 (c) e 9 (d).

Enquanto no fabrico 5 a velocidade da ventoinha foi de 80% durante todo o período de estufagem (aumentou para 100% durante o arrefecimento), no fabrico 7, esta começou por ser 80% e aumentou, primeiro para 90%, e depois para 100%; já nos fabricos 8 e 9, a ventoinha funcionou sempre à sua capacidade máxima (**Figura 55**).

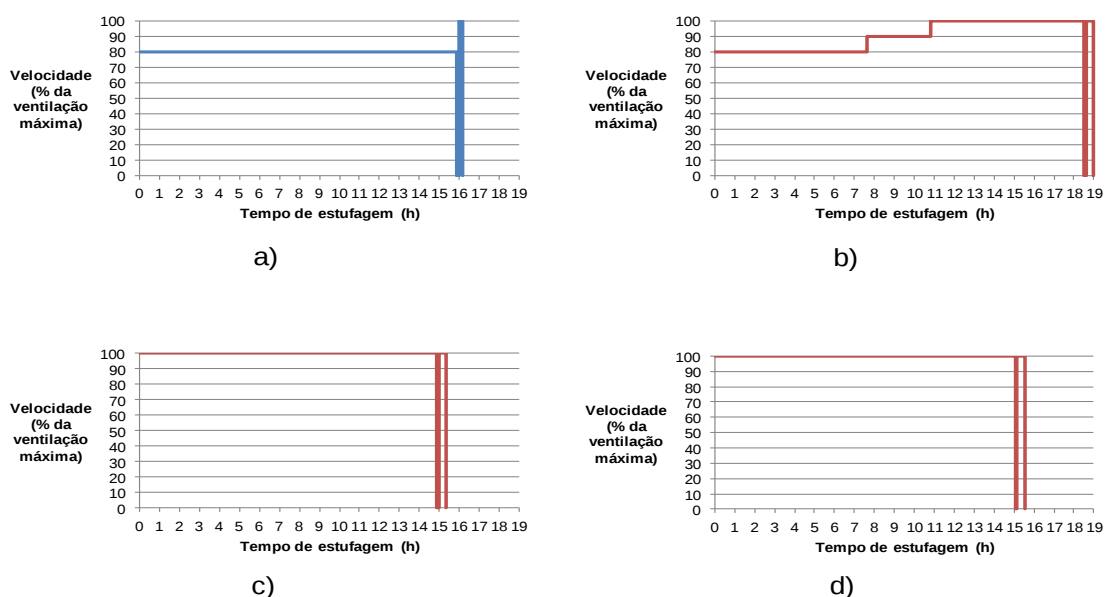


Figura 55. Velocidade da ventoinha de arejamento, em % da sua capacidade máxima, ao longo do tempo de estufagem, para os fabricos 5 (a), 7 (b), 8 (c) e 9 (d).

3.4.3. Consumos energéticos

A **Figura 56** permite comparar os gastos de energia elétrica e térmica entre estes fabricos e o *standard* (5º). Apesar de terem sido mais curtas do que a estufagem do fabrico 5 em 1 h, as estufagens dos fabricos 8 e 9 consumiram mais energia elétrica (157 e 160 kWh, contra 133 kWh), uma vez que nestas a ventilação funcionou a 100% durante todo o tempo; porém, uma vez que a duração foi menor, e por não ter sido necessário aumentar tanto a temperatura do ar_{on}, o consumo de vapor foi inferior nestes ensaios em comparação com o 5 (menos 8% de vapor gasto no fabrico 8 e menos 4% no 9). Já o fabrico 7, mais longo, foi com naturalidade aquele em que se observou maior gasto de eletricidade (175 kWh) e de vapor (1152 UA), apesar de ventilação não ter funcionado à sua capacidade máxima durante toda a estufagem, como aconteceu nos ensaios 8 e 9.

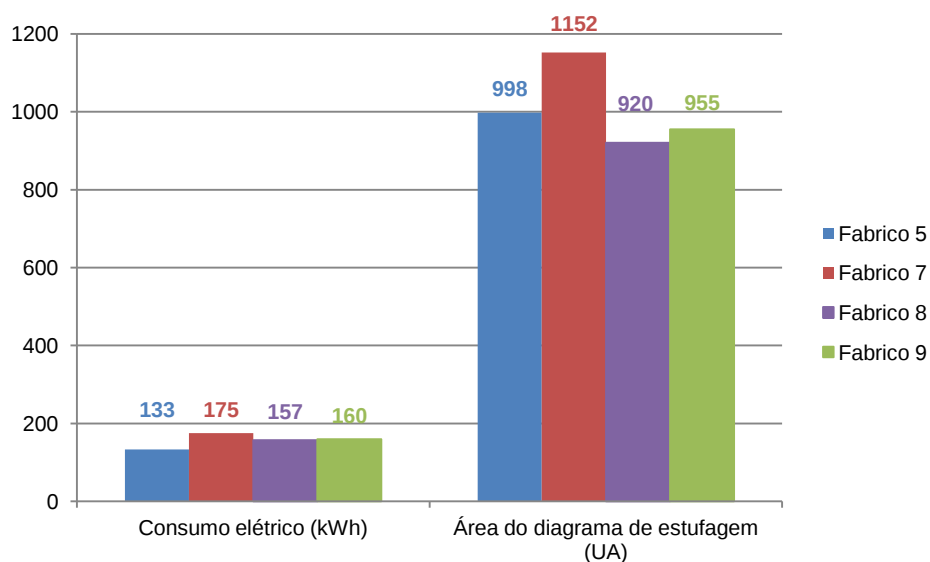


Figura 56. Consumo elétrico (da ventoinha da estufagem) e área do diagrama de estufagem (proporcional ao volume de vapor consumido) calculados para os fabricos 5, 7, 8 e 9.

Pela **Tabela 58** consegue-se fazer uma comparação direta dos gastos energéticos durante a estufagem entre estes fabricos, tendo em consideração a massa de cevada utilizada em cada um. Como já era esperado, o fabrico 7 é o que exhibe maiores consumos de energia elétrica e de vapor por unidade de cevada maltada (mais 38% de eletricidade e mais 18% de vapor, em comparação com o fabrico 5); estes valores claramente mais elevados face aos dos outros fabricos não devem ser explicados pelo teor de humidade do malte aquando do início da estufagem, uma vez que este é bastante próximo entre o fabrico 7 (43,1%) e os fabricos 8 e 9 (42,6%), e é até mais baixo do que o do fabrico 5 (44,1%), mas devido ao programa de estufagem. Quanto ao consumo de energia elétrica não parecem existir poupanças dos fabricos 8

e 9 (0,14 e 0,13%, respetivamente) para o 5 (0,13%); mas, relativamente ao gasto de vapor, a poupança, por kg de cevada maltada, foi de cerca de 18% no fabrico 8 e de 20% no fabrico 9. Porém, é importante ter em conta que o teor de humidade do malte verde foi 1,5% maior no 5º ensaio em relação aos ensaios 8 e 9. Nota-se ainda que a poupança no volume de vapor gasto foi maior para o fabrico 9, o que pode indicar que o programa escolhido para a estufagem deste ensaio poderá ser energeticamente mais rentável.

Tabela 58. Dados dos consumos energéticos relativos à massa de cevada e ao teor de humidade do malte verde, para os fabricos 5, 7, 8 e 9

Fabrico	Consumo da ventoinha / massa de cevada (kWh/kg)	Área do diagrama / massa de cevada (UA/kg)	Teor de humidade do malte verde (%)
5	0,13	1,01	44,1
7	0,18	1,19	43,1
8	0,14	0,83	42,6
9	0,13	0,81	42,6

3.4.4. Parâmetros de qualidade do malte

Por análise da **Figura 57** verifica-se que não há diferenças significativas dos valores de modificação (entre 92 e 98%) e friabilidade (entre 90 e 92%) do malte entre os vários fabricos; de destacar apenas que o malte do fabrico 9 é o que exhibe menor modificação e friabilidade (92% de modificação e 90% de friabilidade), provavelmente como resultado da alteração introduzida (redução da duração do passo 1 da estufagem). Relativamente à hidrólise de β -glucanos, o teor destes no mosto não difere muito entre os fabricos a menor temperatura de *curing* (entre 82 e 94 mg/L), mas nota-se que os valores são superiores ao obtido para o mosto do 5º ensaio (68 mg/L). Apesar de a germinação do 8º ensaio ter sido a mais longa (**Figura 51**), o teor de β -glucanos é superior ao do mosto do ensaio 5; contudo, o teor de humidade do malte verde foi superior no fabrico 5 (mais 1,5% de humidade), o que poderá explicar esta observação, uma vez que a degradação citolítica é promovida por maiores teores de humidade durante a germinação [*The Scandinavian School of Brewing*]. Não obstante as diferenças, o malte dos quatro fabricos cumpre as especificações para todos estes parâmetros de qualidade do produto. Analisando de seguida os valores obtidos para a atividade da enzima β -glucanase, face ao ensaio *standard*, observa-se maior atividade nos fabricos 7 (aumento de 13%) e 8 (aumento de 36%), o que faz sentido quando se tem em mente que esta enzima termossensível (inativada a partir de 55-60°C [*Global Beverage Solutions*]), não sendo exposta a temperaturas tão

elevadas na estufagem do malte, conserve uma maior atividade no malte seco; porém, o malte do fabrico 9 é o que exibe atividade da endo- β -glucanase mais baixa (redução de 38% da atividade face ao ensaio 5), o que poderá estar relacionado com o encurtamento do passo 1 da estufagem (fase pré-break): uma vez que este passo foi mais curto, o aquecimento por patamares foi iniciado mais cedo em relação aos outros fabricos; o que pode ter acontecido foi o malte ter sido sujeito a estas temperaturas mais elevadas possuindo um teor de humidade ainda demasiado elevado. Como já foi referido na *Introdução*, o calor húmido destrói ou inativa mais facilmente as enzimas [Kunze e Mieth, 1999]; assim, a hipótese que se põe é que este baixo valor de atividade encontrado para a β -glucanase se deverá ao facto de uma quantidade maior de enzima ter sido inativada durante a estufagem por sujeição a um calor mais húmido do que o que ocorreu nos outros ensaios.

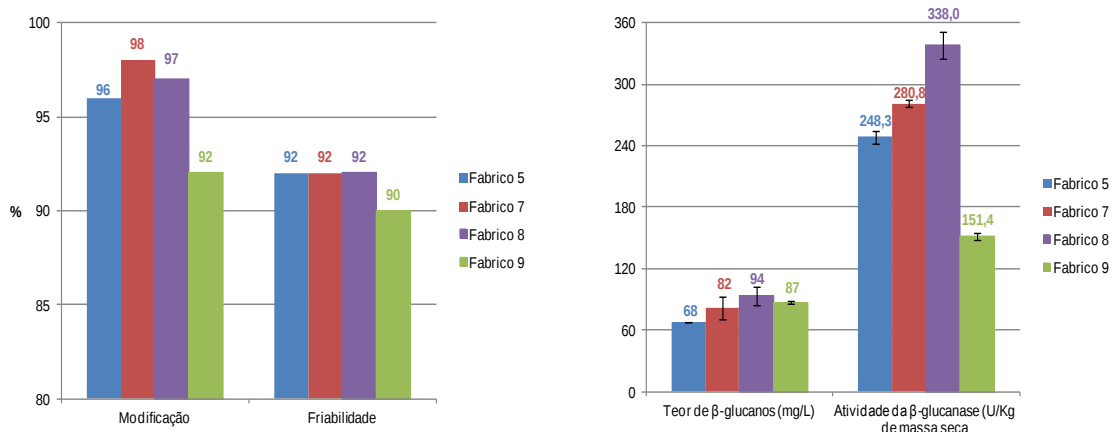


Figura 57. Resultados das análises relacionadas com a degradação citolítica (modificação e friabilidade do malte, esquerda; teor de β -glucanos no mosto e atividade da β -glucanase, direita) para os fabricos 5, 7, 8 e 9 (Especificações: modificação > 85%; friabilidade > 80% e < 95%; teor de β -glucanos < 200 mg/L).

As determinações do teor de extrato, do poder diastásico e da atividade da α - e da β -amilase são indicadores da amilólise ocorrida durante a maltagem da cevada dos fabricos 5, 7, 8 e 9 (**Figura 58**). Nos quatro fabricos foi cumprida a especificação para o extrato (> 81,0%), destacando-se o fabrico 9 (**Figura 58a**) como aquele que originou malte com maior teor de extrato (81,8%); isto poderá estar relacionado com a modificação mais baixa do malte deste fabrico comparativamente com o dos outros (**Figura 57**), a qual terá sido conseguida através da redução da duração do passo 1 da estufagem, e resultou num menor consumo das reservas energéticas por parte do embrião. Os desvios obtidos para os valores do teor de extrato são muito elevados, o que faz com que as diferenças observadas não sejam significativas entre os ensaios 5, 7 e 8. O poder diastásico (**Figura 58b**), foi sempre superior a 250 WK, e semelhante entre os fabricos 5, 7, 8 e 9, mas superior em todos os fabricos de menor temperatura de *curing* em relação ao ensaio 5. Em relação à atividade da enzima α -amilase no

malte (**Figura 58c**), o produto do fabrico 7 destaca-se como o que possui valor mais elevado (261 UC/g), e o do fabrico 8 com o valor mais baixo (180 UC/g). Apesar de a α -amilase ser a enzima menos termossensível (inativada a partir de 80°C [*Global Beverage Solutions*], a sua atividade também é diminuída pelo uso de altas temperaturas (que atingem 85° no fabrico de estufagem *standard*). Assim, faz sentido que a atividade desta enzima seja superior nos fabricos em que a temperatura de *curing* foi menor, que é o que se verifica para os ensaios 7 (aumenta 31% face ao observado no fabrico 5) e 9 (aumenta 16%), mas não para o 8 (diminui 10%). O tempo de germinação poderá eventualmente explicar esta observação, dado que há estudos segundo os quais se observa uma diminuição da atividade amilolítica a partir do 5º/6º dia de germinação [Georg-Kraemer *et al.*, 2001]. Uma vez que as fases de germinação dos fabricos 5 e 8 foram as mais longas (146 e 149 h, respetivamente), é possível que, quando se interrompeu o processo, a atividade da α -amilase já tivesse atingido um pico e estivesse já em sentido descendente. Contudo, seria de esperar que, uma vez que as germinações tiveram uma duração bastante aproximada (3 h de diferença), e que a temperatura máxima de estufagem no fabrico 5 foi superior à do fabrico 8 (mais 10°C), a atividade da enzima fosse superior no malte do fabrico 8, o que não se verificou. Isso pode estar relacionado com o facto de o teor de humidade alcançado durante a germinação do fabrico 5 (44,1%) ter sido superior ao que se observou para o fabrico 8 (42,6%), o que pode ter potenciado o aumento da atividade enzimática no primeiro. A explicação para a diferença encontrada entre o fabrico 7 e o 9 pode ser a mesma que justifica a menor atividade de β -glucanase no malte do fabrico 9: o calor mais húmido pode ter promovido a maior degradação da α -amilase no malte do fabrico 9, comparativamente ao do 7º ensaio. Analisando seguidamente os resultados obtidos para a atividade da β -amilase (**Figura 58d**), denota-se que o valor observado para o malte do fabrico 5 (16,1 UC/g) é claramente mais baixo em comparação com os outros, o que provavelmente se deverá ao facto de a temperatura do passo de *curing* neste fabrico ter sido mais alta, tendo contribuído para a perda de atividade de β -amilase, por esta ser uma enzima termossensível; isto também explica os maiores valores de poder diastásico no malte dos fabricos 7, 8 e 9, visto que a β -amilase é a enzima que mais contribui para o poder diastásico. Para os outros três ensaios, as diferenças não são grandes, mas, caso a atividade da α -amilase tenha saído prejudicada, no fabrico 9, pelas razões indicadas, seria de esperar que também a atividade da β -amilase fosse menor. A maior atividade de β -amilase evidenciada pelo malte do fabrico 8 (18,3 UC/g) poderá dever-se à menor duração do *curing* neste ensaio, relativamente aos ensaios 7 e 9, por exposição mais curta a temperaturas superiores à sua temperatura de

inativação (65-70°C [Global Beverage Solutions]). Os quatro fabricos cumprem as especificações relativas à atividade de ambas enzimas no malte (LIE = 160 U/g para a α -amilase, e 13,0 U/g para a β -amilase).

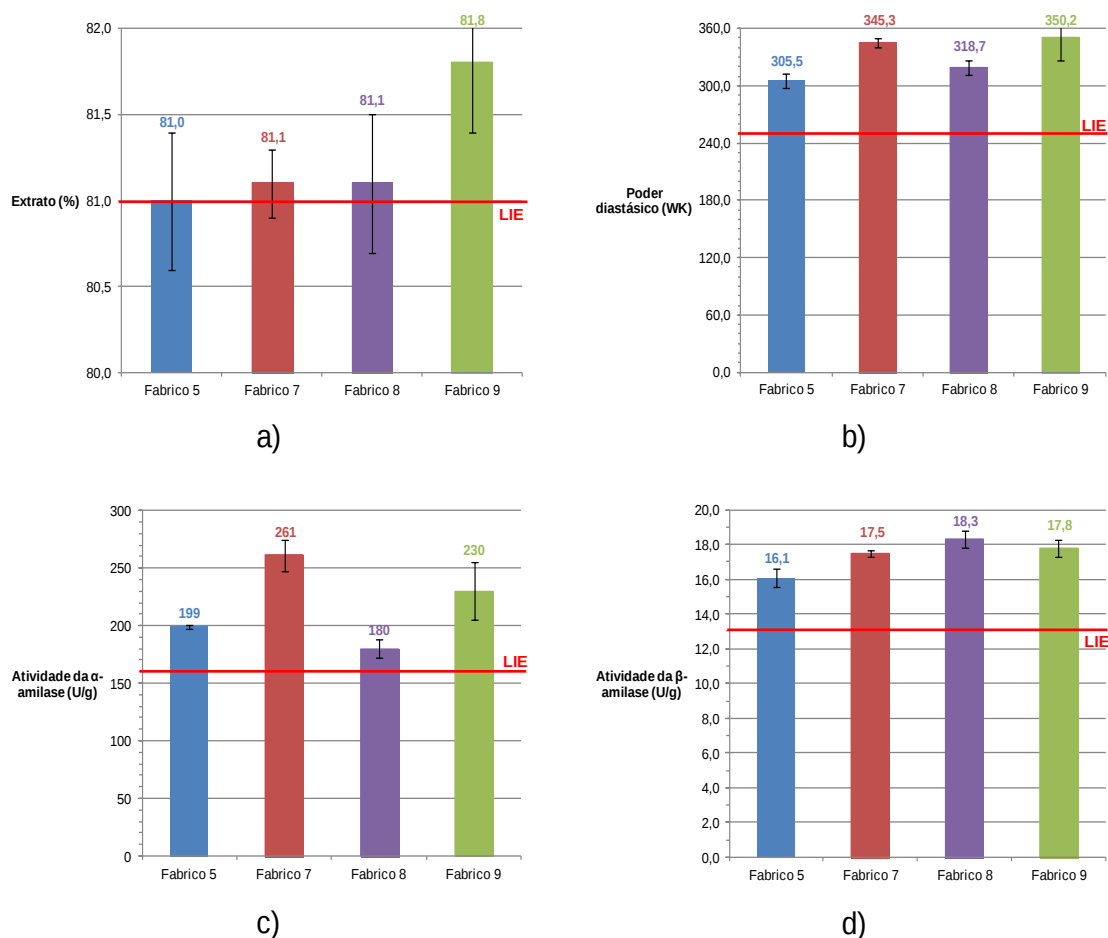


Figura 58. Resultados do teor de extrato (a), do poder diastásico (b) e das atividades de α - (c) e β -amilase (d) no malte dos fabricos 5, 7, 8 e 9. Para a determinação do teor de extrato, $n=7$ para o fabrico 5, $n=4$ para o fabrico 7, $n=8$ para o fabrico 8 e $n=6$ para o fabrico 9; para a determinação do poder diastásico e da atividade de α e β -amilase, $n=2$ para todas as amostras.

A **Figura 59** ilustra os resultados relacionados com a proteólise que ocorreu nos fabricos 5, 7, 8 e 9. De notar que o teor de azoto solúvel no mosto de todos os fabricos é muito inferior ao limite mínimo especificado (0,64%). Comparando os dois gráficos, e sabendo que o malte do fabrico 8 sofreu uma elevada modificação (97%), e que este fabrico teve a germinação mais longa, sugere-se que o fabrico 8 terá valores mais baixos de produtos da hidrólise de proteínas (0,29% de azoto solúvel e 128 mg/L de azoto aminado livre) devido ao consumo dos mesmos por parte do embrião, isto é, terá havido um excesso de modificação proteica deste malte. O teor de azoto aminado livre no mosto do fabrico 8 encontra-se abaixo do limite inferior especificado (135 mg/L).

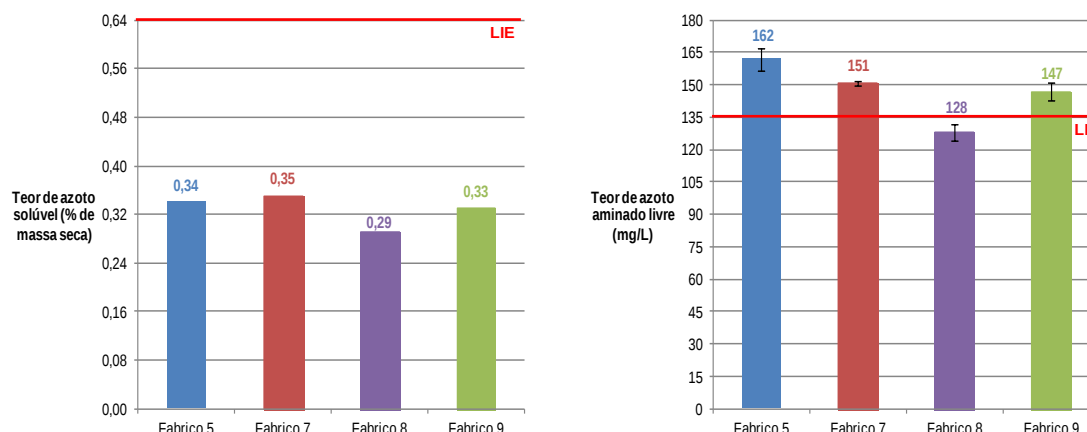


Figura 59. Resultados da determinação do teor de azoto solúvel e da determinação do teor de azoto aminado livre no mosto dos fabricos 5, 7, 8 e 9. Para a determinação do teor de azoto solúvel: $n=1$ para o fabrico 5, e $n=2$ para os restantes; para a determinação do teor de azoto aminado livre: $n=4$ para o fabrico 5, $n=2$ para o fabrico 7, e $n=6$ para os fabricos 8 e 9.

A **Tabela 59** apresenta os resultados da triagem do malte e da determinação do pH do mosto que foram realizadas para os fabricos 5, 7, 8 e 9. Relativamente à triagem, sobressai o facto de existirem consideravelmente mais grãos de diâmetro superior a 2,8 mm no malte do fabrico 9, em comparação com os outros dois ensaios. Apesar de terem sido os grãos do fabrico 7 os que absorveram mais água (**Figura 50**), esta observação explica-se através dos resultados obtidos da triagem da cevada, antes do início dos ensaios (**Tabela 46**): constata-se que, já na cevada usada no fabrico 9, havia claramente maior proporção de grãos de maior calibre, o que explica que no malte final também seja maior a percentagem de grãos de calibre superior a 2,8 mm, comparando com os outros ensaios. Denota-se também a elevada percentagem de resíduos (superior ao limite máximo tolerado) no produto dos fabricos 7 e 8 (1,9 e 1,6%, respetivamente). Este valor alto dever-se-á ao facto de a própria cevada entrar para cada fabrico com uma percentagem já elevada de resíduos (**Tabela 46**). Porém, apesar de a triagem da cevada do fabrico 9 indicar também uma elevada percentagem de resíduos nela contida, esta proporção é comparativamente mais baixa no malte final; a explicação poderá ter sido a ocorrência de uma fase de desradiculação (permite a remoção de resíduos) mais eficaz neste fabrico em comparação com os outros. Relativamente aos valores de pH do mosto, as diferenças são praticamente inexistentes e todos cumprem o especificado ($>5,8$).

Tabela 59. Resultados da triagem e da determinação do pH do mosto obtidos para os fabricos 7, 8 e 9

Fabrico	Triagem (%)					pH
	> 2,8 mm	> 2,5 mm	> 2,2 mm	Resíduos	Grãos partidos	
7	90,6	4,9	1,6	1,9	1,1	6,1
8	89,8	6,1	1,3	1,6	1,2	6,2
9	95,3	3,0	0,5	0,6	0,9	6,2

A **Figura 60** (esquerda) permite comparar os valores de homogeneidade do malte dos fabricos 7, 8 e 9. Em comparação com os ensaios 7 e 8, o 9 originou um malte substancialmente menos homogéneo, que não cumpre a especificação (<LIE); o facto de a fase pré-*break* (passo 1) da estufagem ter sido bem mais curta no fabrico 9 (**Tabela 57**) pode explicar estas diferenças. Como já referido, durante esta fase, ainda ocorre atividade metabólica intensa no grão, mas, inicialmente, a temperatura diverge muito ao longo do leito do grão (o grão que se encontra no fundo do tanque está bem mais quente do que o do topo do leito, pois o ar quente entra pela base do tanque); uma vez que o passo 1 da estufagem foi tão curto, pode não ter havido tempo para que a temperatura (e a humidade) ao longo do leito de malte se tornasse mais homogénea, o que pode ter resultado na ocorrência de processos metabólicos desequilibrados entre os grãos de malte, justificando, desta forma, a homogeneidade tão baixa. Esta explicação serve também para a diferença (de 7%) encontrada entre os outros dois ensaios: a fase pré-*break* da estufagem do fabrico 7 foi 1,5 h mais longa, tendo havido mais tempo para as temperaturas no interior do tanque se aproximarem, promovendo a modificação mais equilibrada dos grãos, e aumentando a homogeneidade. Relativamente ao que foi obtido para o teor de DMS no malte (**Figura 60**, direita), observa-se que o malte dos fabricos em que a temperatura de *curing* foi menor exibe um teor mais baixo de DMS (até 21%, no caso do malte do fabrico 8); por outro lado, de acordo com os resultados das análises de determinação de compostos voláteis no malte, os valores de derivados do DMS (DMSP) no malte dos quatro fabricos foi sempre de 0% (em relação ao total de compostos voláteis presentes). O que isto significa é que não houve impacto negativo da redução da temperatura de *curing* nos níveis de DMSP no malte; mais ainda, os próprios níveis de DMS foram mais baixos no malte dos fabricos 7, 8 e 9. Estes resultados são positivos na medida em que era previsível que a redução da temperatura máxima da estufagem pudesse conduzir ao aumento dos níveis de DMSP no malte (por limitação da conversão deste a DMS), o que aumentaria o potencial de libertação de DMS (*off-flavour*) durante a ebulição do mosto [*The Scandinavian School of Brewing*].

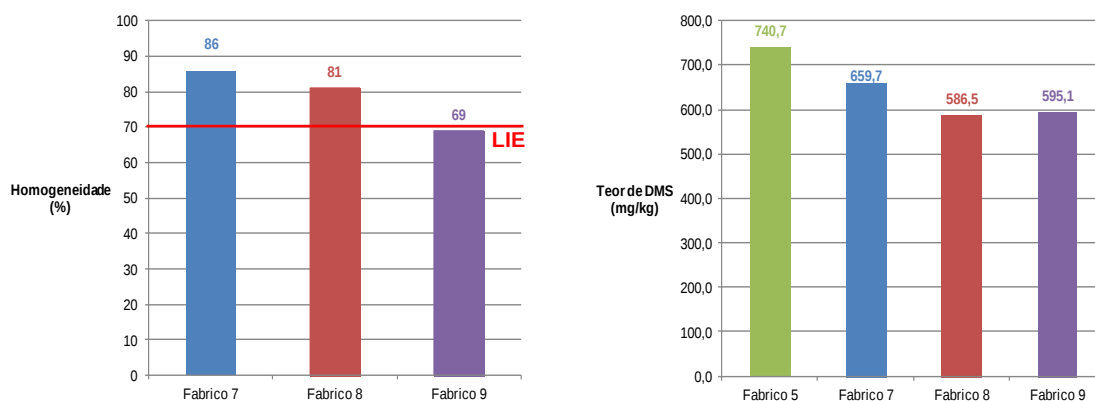


Figura 60. Resultados da determinação da homogeneidade do malte dos fabricos 7, 8 e 9 (esquerda), e do teor de DMS no malte dos fabricos 5, 7, 8 e 9 (direita).

3.5. Ensaios de menor humidade durante a germinação

3.5.1. Análises à cevada

Nos últimos dois fabricos (10 e 11) foi feita a abordagem de redução do teor de humidade no decurso da germinação. Em ambos, a variedade da cevada utilizada foi a *Tipple*. O valor do teor de humidade e os resultados da triagem estão indicados na **Tabela 60**. Por comparação com os dados da **Tabela 6**, percebe-se que o teor de humidade da cevada determinado antes do início dos fabricos difere grandemente do valor indicado no certificado de análises (1,8% para o fabrico 10, e 2,1 % para o 11). Para além disso, enquanto os resultados de triagem da cevada usada no fabrico 11 estão bastante próximos dos obtidos pelo fornecedor, existe uma diferença grande para a cevada do fabrico 10, a qual exhibe consideravelmente maior proporção de grãos com diâmetro superior a 2,8 mm; é possível que este desfasamento esteja relacionado com o facto de, para a triagem, ser utilizada uma pequena amostra de uma quantidade muito maior de cevada, o que pode estar na origem de variações, que podem eventualmente ser grandes, em relação à realidade.

Tabela 60. Resultados da triagem e valores do teor de humidade das amostras de cevada *Tipple* utilizadas nos ensaios 10 e 11

Fabrico	Teor de humidade (%) ^a	Triagem (%)				
		>2,8 mm	>2,5 mm	>2,2 mm	Resíduos	Grãos partidos
10	12,5 ± 0,0	86,5	8,7	2,6	1,2	1,0
11	12,2 ± 0,1	77,9	15,9	3,6	1,9	0,7

a: n = 3

3.5.2. Ensaios de mini-maltagem

Relativamente à massa de cevada utilizada em cada uma das maltagens, a **Figura 61** deixa claro que em ambos os fabricos esta foi superior em comparação com o fabrico *standard* (fabrico 5), apesar de a quantidade usada no ensaio 11 superar claramente (cerca de 11%) a do ensaio 10.

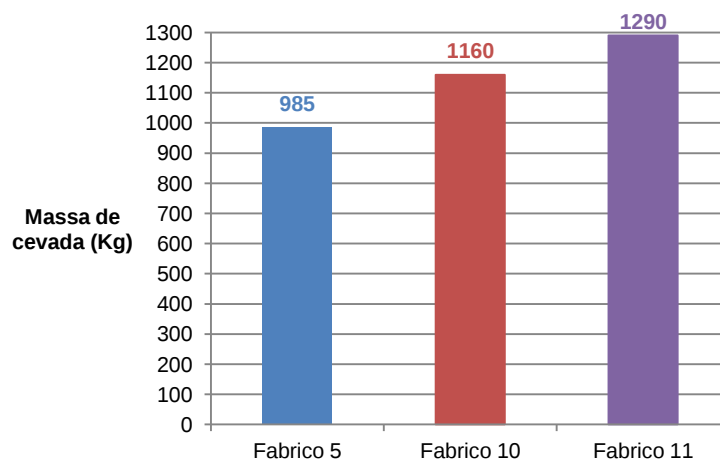


Figura 61. Massa inicial de cevada *Tipple* utilizada nos fabricos 5, 10 e 11.

O programa de molha foi o mesmo em ambos os ensaios: 7 h de primeira fase húmida, seguido de 12 h de primeira fase seca, 3 h de segunda fase húmida e 14 h de segunda fase seca. Os restantes parâmetros desta etapa foram os mesmos utilizados para todos os outros ensaios. Aqui, foram efetivamente introduzidas alterações ao processo *standard* de molha, na medida em que a duração da 2ª fase húmida foi reduzida de 5 para 3 h apenas, e a 2ª fase seca durou mais 2 h (duração de 14 h); estas alterações foram feitas no sentido de diminuir o teor de humidade do grão à saída da molha, uma vez que um menor tempo de imersão em água resulta em menor quantidade de água absorvida e maior tempo a seco permite que o grão perca para o ar maior quantidade de água, também. Na **Tabela 61** estão indicados os valores calculados (pelo autómato) do teor de humidade do grão e os resultados da percentagem de *chitting* determinada no final da etapa de molha para os ensaios 5 (*standard*), 10 e 11. Apesar dos diferentes programas de molha, a diferença do teor de humidade calculado entre os fabricos 5 e 10 não foi relevante, mas o valor obtido para o fabrico 11 já foi cerca de 1% inferior ao obtido para o do 5º ensaio; isto pode estar relacionado com a muito maior quantidade de cevada utilizada no último fabrico, que pode eventualmente abrandar a taxa de absorção de água pelos grãos durante a molha.

Tabela 61. Valores do teor de humidade da cevada, calculados pelo autómato, e da percentagem de *chitting* após a fase de molha, para os ensaios 5, 10 e 11

Fabrico	Teor de humidade no fim da molha (%)	<i>Chitting</i> (%)
5	40,1	92
10	39,8	98
11	39,2	94

As **Tabelas 62 e 63** ilustram o programa de germinação adotado para os fabricos 10 e 11, respetivamente. A duração da germinação do fabrico 10 foi de 199 h e a do fabrico 11 prolongou-se por 170 h; foram, portanto, de todos os ensaios realizados, as mais longas. Observa-se também que, em relação ao ensaio 5 (**Tabela 39**), a temperatura foi mais elevada e a recirculação do ar foi menor, o que promove os processos metabólicos que ocorrem durante a germinação.

Tabela 62. Programa de germinação do 10º ensaio (duração: 199 h)

Passo	Duração (h)	Temperatura do ar de entrada (°C)	Recirculação de ar (%)
1	24	18	50
2	26	18	60
3	24	19	60
4	48	20	50
5	69	19	60
6	8	21	70

Tabela 63. Programa de germinação do 11º ensaio (duração 170 h)

Passo	Duração (h)	Temperatura do ar de entrada (°C)	Recirculação de ar (%)
1	22	18	50
2	136	20	50
3	8	18	80
4	4,5	20	50

Durante as etapas de germinação de ambos os fabricos foi adicionada água ao grão por duas vezes: a meio do 5º dia e a meio do 7º dia no fabrico 10; e a meio do 4º dia e a meio do 7º dia no ensaio 11. A **Figura 62** permite acompanhar a variação do teor de humidade do grão ao longo dos dias da germinação da cevada dos fabricos 5, 10 e 11. Comparando com os valores do teor de humidade durante a germinação do fabrico 5, destaca-se o facto de nos fabricos 10 e 11 os valores serem bastante inferiores (o teor de humidade no fabrico 5 não baixou dos 40% durante a fase de germinação, enquanto nos fabricos 10 e 11 só no fim foi ultrapassado este valor). O teor de humidade variou entre 36,5% e 40,4% durante a germinação do fabrico 10,

entre 37,4% e 40,1% no fabrico 11, e entre 40,5 e 45,0% no fabrico 5; isto indica que, do fabrico *standard* para os fabricos 10 e 11, o teor de humidade no decurso da germinação foi reduzido cerca de 4%. O teor de humidade desceu mais na germinação do 10º ensaio, mas também subiu mais, em comparação com a germinação do fabrico 11. O aumento grande de humidade observado do 4º para o 5º dia, no fabrico 10 (2,3%), do 3º para o 4º dia, no fabrico 11 (2,2%), e do 6º para o 7º dia, em ambos (2,8 e 1,7%), deve-se às adições de água efetuadas nestas alturas.

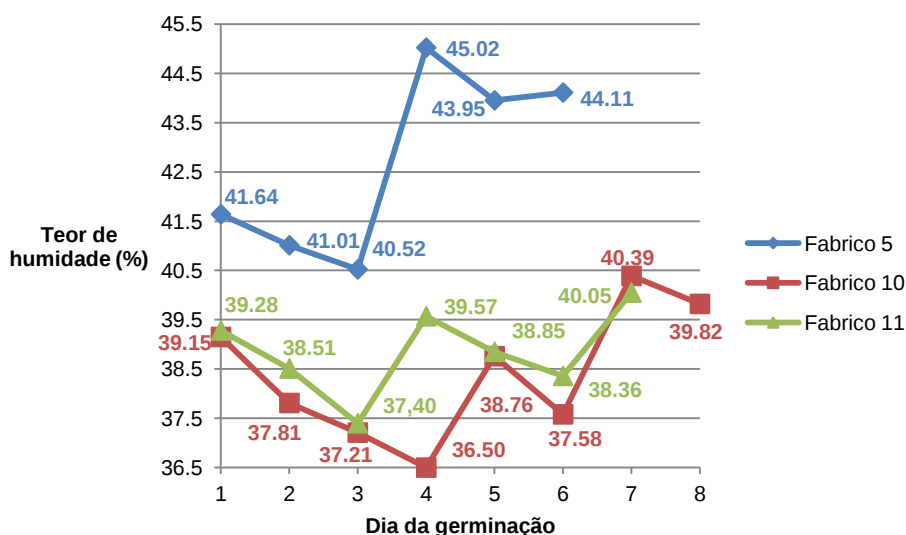


Figura 62. Variação do valor do teor de humidade do grão durante os dias de germinação dos fabricos 5, 10 e 11.

A **Figura 63** permite comparar a evolução da percentagem de modificação do grão dos fabricos 10 e 11 com a do fabrico 5, no decurso da germinação. Nota-se que a partir do dia 3 da germinação a modificação começa a aumentar mais rapidamente no fabrico 5, como resultado das diferentes condições a que o malte deste fabrico germinou comparativamente com o dos outros dois fabricos; uma vez que a modificação aumentou mais rapidamente no ensaio preliminar, a germinação neste foi interrompida mais cedo. O facto de a modificação ter aumentado no fabrico 11 ao 4º dia, face ao fabrico 10, está relacionado com a adição de água realizada a meio do 4º dia de germinação no 11º ensaio. O outro aumento mais óbvio, que tem lugar do 6º para o 7º dia (em ambos os fabricos), também se deve a uma adição de água ao grão. O malte do fabrico 11 manifesta ainda outro aumento brusco da modificação (do 4º para o 5º dia), também ele provavelmente causado pela adição de água. Na germinação do fabrico 10, do 5º para o 6º dia, observa-se uma redução da percentagem de modificação; obviamente que não se trata de uma regressão da modificação, devendo este resultado ser explicado pela própria heterogeneidade que, seja maior ou menor, acompanha sempre o processo de modificação do grão [Palmer,

1994]. De notar ainda que a germinação do fabrico 10, para além de ter sido mais longa do que a do fabrico 11, também originou um malte mais modificado.

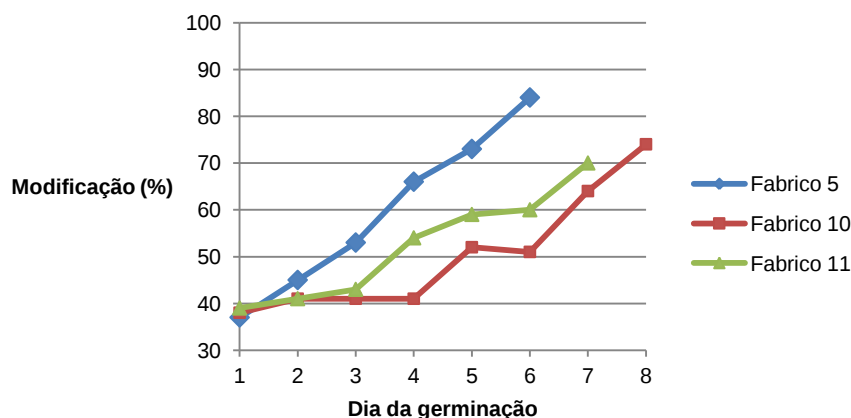


Figura 63. Variação da percentagem de modificação do grão ao longo da germinação, para os fabricos 5, 10 e 11.

Na **Tabela 64** estão indicados, para os fabricos 5, 10 e 11, a duração da fase de germinação, o teor de humidade do malte verde e a percentagem de modificação do malte no final desta etapa. Como resultado dos programas de germinação adotados, o malte do fabrico 5, apesar de ter sofrido a germinação mais curta (146 h), foi o que sofreu maior grau de modificação (84%); para além disso, em comparação com os ensaios 10 e 11, o malte do fabrico 5 foi o que seguiu para a estufagem com maior teor de humidade (mais 4,5% de humidade do que o malte do ensaio 10 e mais 4,3% do que o do 11º ensaio).

Tabela 64. Dados mais importantes relacionados com a fase de germinação nos ensaios 5, 10 e 11

Fabrico	Duração da germinação (h)	Teor de humidade do malte verde (%)	Modificação (%)
5	146	44,1	84
10	199	39,6	74
11	170	39,8	70

O programa de estufagem de ambos os fabricos a menor humidade durante a germinação foi igual ao ensaio 5 (*standard*), sendo, por isso, o descrito nas **Tabelas 13 e 14**. Porém, apesar do programa ter sido o mesmo, houve diferenças relativamente à etapa de estufagem do malte verde (**Tabela 65**), nomeadamente quanto à duração da fase pré-*break*: o que os valores sugerem é que quanto maior a massa de malte a ser seco, mais longa a duração da fase pré-*break*, uma vez que a mais curta foi a do fabrico 5 (em que se usou menor massa de cevada) e a mais longa a do fabrico 11 (maior massa de cevada). Apesar de, como foi visto anteriormente, o teor de humidade do malte verde aparentemente ter também uma certa influência

relativamente à maior ou menor duração deste primeiro passo da estufagem, neste caso, não foi o suficiente para aproximar a duração da fase pré-*break* do fabrico 5 às dos fabricos 10 e 11 (recorde-se que o malte verde do 5º ensaio era significativamente mais húmido que o dos outros dois, como se observa na **Tabela 64**); entre os outros dois fabricos, o teor de humidade do malte era muito próximo, pelo que a diferença de cerca de 0,75 h do passo 1 entre ambos deverá ser explicada maioritariamente pela massa de malte que teve de ser seco. As diferenças observadas para o tempo total de estufagem entre estes ensaios dever-se-ão aos diferentes tempos de fase pré-*break*, dado que a duração do patamar de *curing* foi idêntica nos três casos (1,5 h).

Tabela 65. Valores de duração de fase pré-*break*, duração do *curing*, duração da estufagem, massa final de malte e teor de humidade do malte seco, para os ensaios 5, 10 e 11

Fabrico	Duração da fase pré- <i>break</i> (h)	Duração do <i>curing</i> (h)	Duração da estufagem (h)	Massa de malte seco (kg)	Teor de humidade do malte seco (%)
5	6,5	1,5	16	742	4,6 ± 0,1 ^a
10	7,25	1,5	16,75	804	4,5 ± 0,2 ^b
11	8	1,5	17,5	936	4,6 ± 0,0 ^b

a: n=6

b: n=3

A **Figura 64** ajuda a perceber a semelhança entre as estufagens destes três fabricos, que apenas diferem na duração do patamar de 55°C.

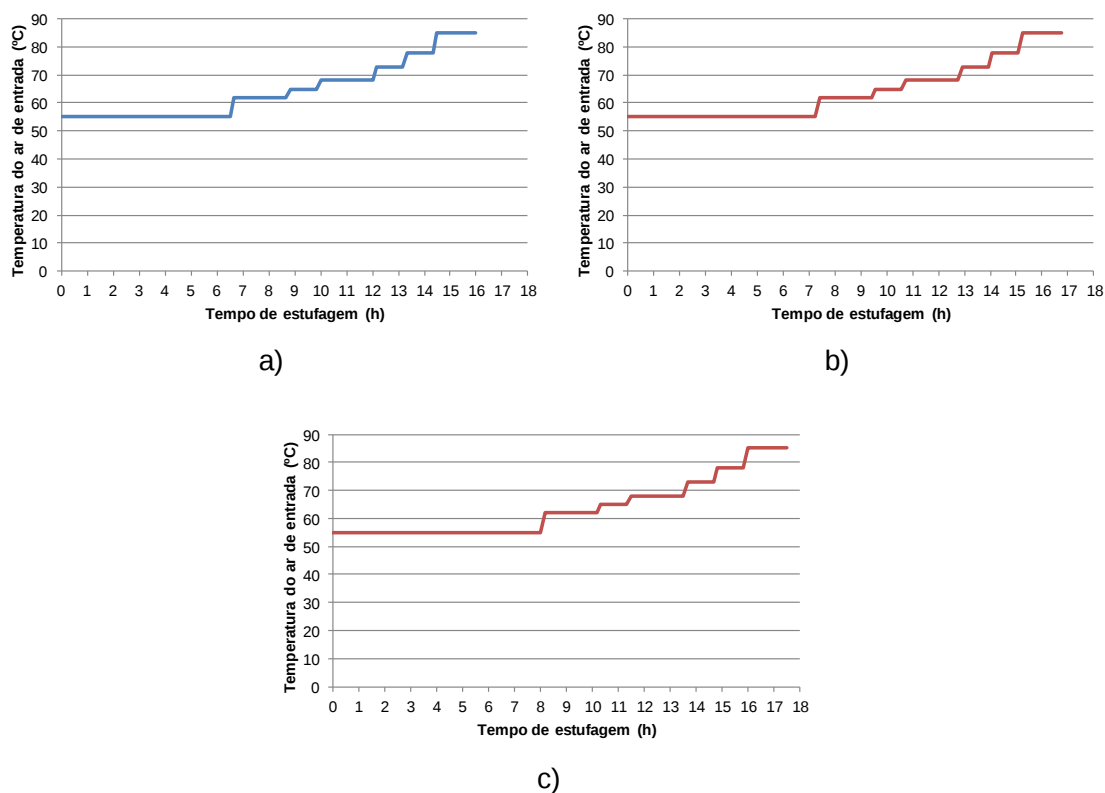


Figura 64. Diagramas de estufagem dos fabricos 5 (a), 10 (b) e 11 (c).

Na **Figura 65** podem observar-se os gráficos que mostram a velocidade da ventoinha de arejamento durante toda a fase de estufagem dos fabricos 10 e 11. À semelhança do perfil da ventilação durante a estufagem do fabrico 5 (**Figura 49**, direita), nestes ensaios, a ventoinha funcionou a 80% da sua capacidade máxima durante toda a fase de aquecimento, aumentando para 100% durante o arrefecimento do malte seco.

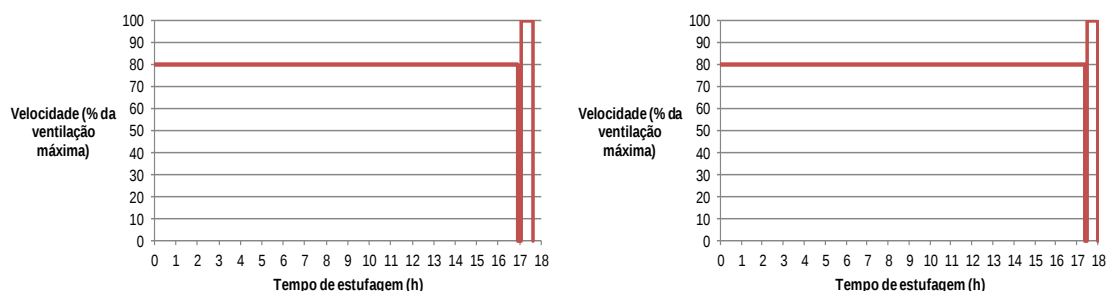


Figura 65. Velocidade da ventoinha de arejamento, em % da sua capacidade máxima, ao longo do tempo de estufagem, para os fabricos 10 (esquerda) e 11 (direita).

3.5.3. Consumos energéticos

Os dados da **Figura 66** (consumo de energia elétrica e térmica) foram calculados com base na informação contida nas **Figuras 64 e 65**. Denota-se que a massa de material que teve de ser seco durante a estufagem terá sido o principal fator determinante da quantidade de energia elétrica e do volume de vapor gastos durante esta fase da maltagem nestes fabricos, uma vez que o ensaio 5, no qual se usou uma quantidade inicial de cevada menor, foi o que acarretou menos consumo de eletricidade (133 kWh) e de vapor (998 UA); o fabrico 11, que partiu de uma quantidade maior de cevada em comparação com os outros dois, foi o que resultou em maiores consumos de energia (149 kWh de eletricidade e 1080 UA de vapor).

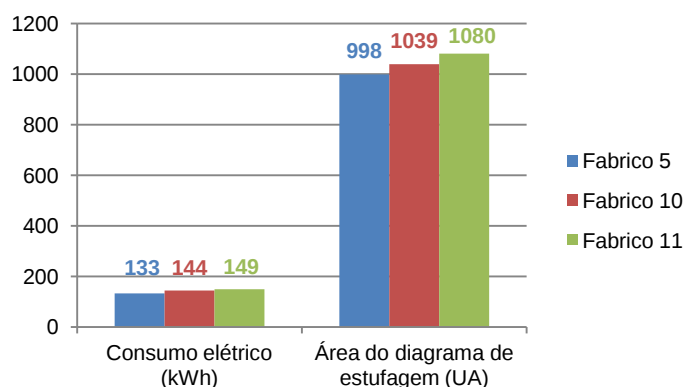


Figura 66. Consumo elétrico (da ventoinha da estufagem) e área do diagrama de estufagem (proporcional ao volume de vapor consumido) calculados para os fabricos 5, 10 e 11.

O que os valores da **Tabela 66** sugerem é, de facto, uma poupança, quer de eletricidade, quer de vapor, nos fabricos a menor humidade durante a germinação relativamente ao ensaio *standard*. A poupança de energia elétrica alcançada foi de 4% no fabrico 10, e 11% no fabrico 11; em relação ao vapor, o volume gasto foi reduzido em 11% durante a estufagem do fabrico 10, e 17% no fabrico 11. De salientar que, apesar de tanto o fabrico 10 como o 11 terem sido mais longos e terem consumido mais energia elétrica e térmica do que o 5 (**Figura 66**), é necessário ter em conta a massa de cevada utilizada em cada um, daí que tenha havido, realmente, uma poupança energética clara. Portanto, o que estes resultados indicam é que, se tivesse sido usada a mesma massa de cevada nos três ensaios, o ensaio 5 teria sido o mais longo e acarretado os maiores consumos de energia. Uma vez que o programa da estufagem foi igual para os três ensaios, estas poupanças energéticas que foram observadas provavelmente devem-se ao menor teor de humidade do malte verde, antes de iniciada a estufagem, nos fabricos 10 e 11: é de esperar que a secagem de um malte à partida menos húmido seja mais rápida do que do que um que possua um teor de humidade mais elevado, sendo afetada nomeadamente a duração do primeiro passo da estufagem (fase *pré-break*). Comparando estes resultados com os que tinham sido obtidos em ensaios de micro-maltagem, no *IFBM* [Schmitt, 2013], observa-se que a poupança alcançada não foi tão significativa, uma vez que se tinham verificado reduções da ordem de 20% de energia nestes ensaios efetuados no *IFBM*; obviamente que a diferença de escala entre estes trabalhos será um fator importante quando se pensa na reprodutibilidade dos resultados, mas muitas outras variáveis estão na origem das diferenças, como a variedade de cevada usada e os programas de maltagem adotados. Retém-se, no entanto, que a abordagem de fazer o grão germinar a uma humidade mais baixa do que é prática comum, resultou, a duas escalas diferentes, em poupança de energia; obviamente que transportar estas poupanças para a escala industrial ainda estará bastante longe, mas estes resultados poderão ser promissores.

Tabela 66. Dados dos consumos energéticos relativos e do teor de humidade do malte verde, para os fabricos 5, 10 e 11

Fabrico	Consumo da ventoinha / massa de cevada (kWh/kg)	Área do diagrama / massa de cevada (UA/kg)	Teor de humidade do malte verde (%)
5	0,135	1,01	44,1
10	0,124	0,90	39,6
11	0,115	0,84	39,8

3.5.4. Parâmetros de qualidade do malte

Considerando os valores de modificação e friabilidade obtidos para o malte destes fabricos (**Figura 67**, esquerda), conclui-se que a modificação sofrida pelo malte dos três foi muito semelhante; apesar de não ter sido determinada a percentagem de modificação do malte do ensaio 11, a friabilidade obtida foi igual à do malte dos outros dois ensaios (92%), o que significa que o valor da modificação será muito semelhante com a do malte dos fabricos 5 e 10. Relativamente aos resultados da determinação da atividade da endo- β -glucanase (**Figura 67**, direita), observa-se que esta é claramente superior no malte do fabrico *standard*, o que pode estar relacionado com o facto de o teor de humidade ter sido sempre baixo durante o período de germinação nos fabricos 10 e 11; assim, o maior teor de humidade no fabrico 5 terá promovido um maior desenvolvimento da atividade da β -glucanase no malte deste ensaio. Sugere-se que o valor da atividade da β -glucanase seja superior para o fabrico 10 em relação ao fabrico 11 (mais 28% de atividade) devido à maior duração da fase de germinação nesse ensaio (29 h mais longa); um maior tempo de germinação poderá ter permitido um maior desenvolvimento da atividade desta enzima. Não foi determinado o teor de β -glucanos no mosto dos fabricos 10 e 11, mas será de esperar que, devido à longa duração da germinação nestes fabricos, os valores sejam baixos, apesar da atividade desta enzima, nos maltes dos fabricos 10 e 11, corresponder a 78% e a 61%, respetivamente, da atividade observada para o malte do ensaio 5.

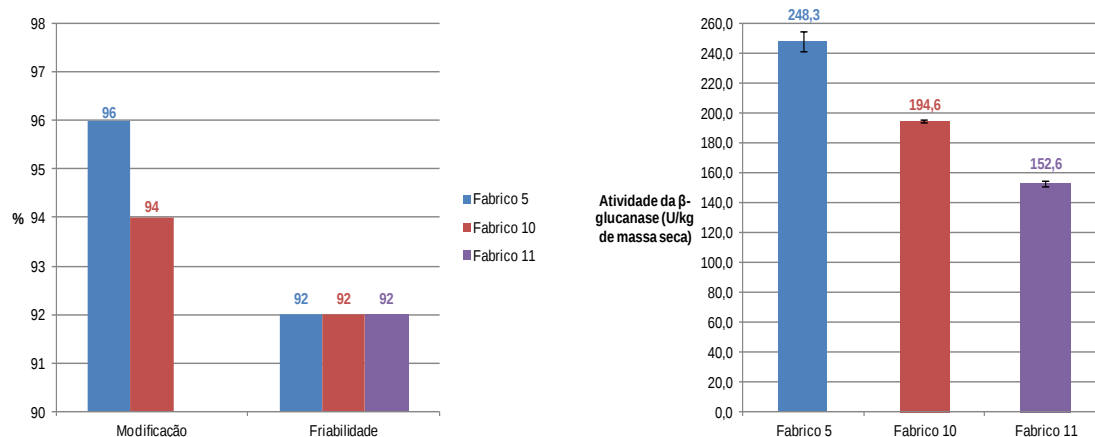


Figura 67. Resultados das análises relacionadas com a degradação citolítica para os fabricos 5, 10 e 11 (especificações: friabilidade > 80% e < 95%; modificação > 85%).

Os resultados das análises relacionadas com a hidrólise do amido nos fabricos 5, 10 e 11 encontram-se, sob a forma de gráficos, na **Figura 68**. Constatase que o malte do fabrico 10 é o que possui maiores valores de atividade das enzimas α -amilase (**Figura 68c**) e β -amilase (**Figura 68d**). Os desvios observados para os resultados relativos ao teor de extrato (**Figura 68a**) são muito elevados. Os resultados

do poder diastásico são muito semelhantes para os três fabricos. Estudos anteriores [Georg-Kraemer *et al.*, 2001] sugerem que a atividade das amilases aumenta com o tempo da germinação, até certo ponto (geralmente o 6º dia), a partir do qual começa a decrescer; sabe-se também que temperaturas de germinação mais baixas promovem a atividade amilolítica. Não esquecendo que a estufagem foi muito semelhante nos três ensaios, e uma vez que os ensaios 10 e 11 tiveram fases de germinação muito longas e que ocorreram a temperatura mais elevada, comparativamente com a germinação do 5º ensaio, seria de esperar que a atividade das amilases fosse mais baixa no malte destes fabricos. De facto, a atividade da β -amilase é superior no malte do 5º ensaio (16,1 UC/g) e a atividade de α -amilase no malte do fabrico 11 é bastante baixa (inferior ao LIE), mas a do malte do 10º fabrico é cerca de 13% superior à do 5º. Estas observações, conjuntamente com o facto de ter sido encontrada uma quantidade de grãos do malte do ensaio 10 com regiões do envelope e do endosperma esverdeadas, podem ser indicativas de contaminação fúngica neste malte, uma vez que microorganismos e fungos que contaminam a cevada geralmente produzem e libertam amilases, aumentando, por isso, a atividade amilolítica no malte [Gjertsen *et al.*, 1965]. Esta contaminação poderia eventualmente resultar da muito longa duração da germinação do fabrico 10 (199 h), que foi também muito quente. Se for realmente este o caso, a atividade da α -amilase no malte do fabrico 10 pode, na realidade, ser muito inferior à obtida pela análise de determinação, dependendo do grau de contaminação. De referir ainda que o limite mínimo especificado para a β -amilase é cumprido pelos três maltes. Porém, apesar de estas grandes diferenças encontradas para a atividade da enzima α -amilase, e para a β -amilase, estas não se refletem no poder diastásico (**Figura 68b**).

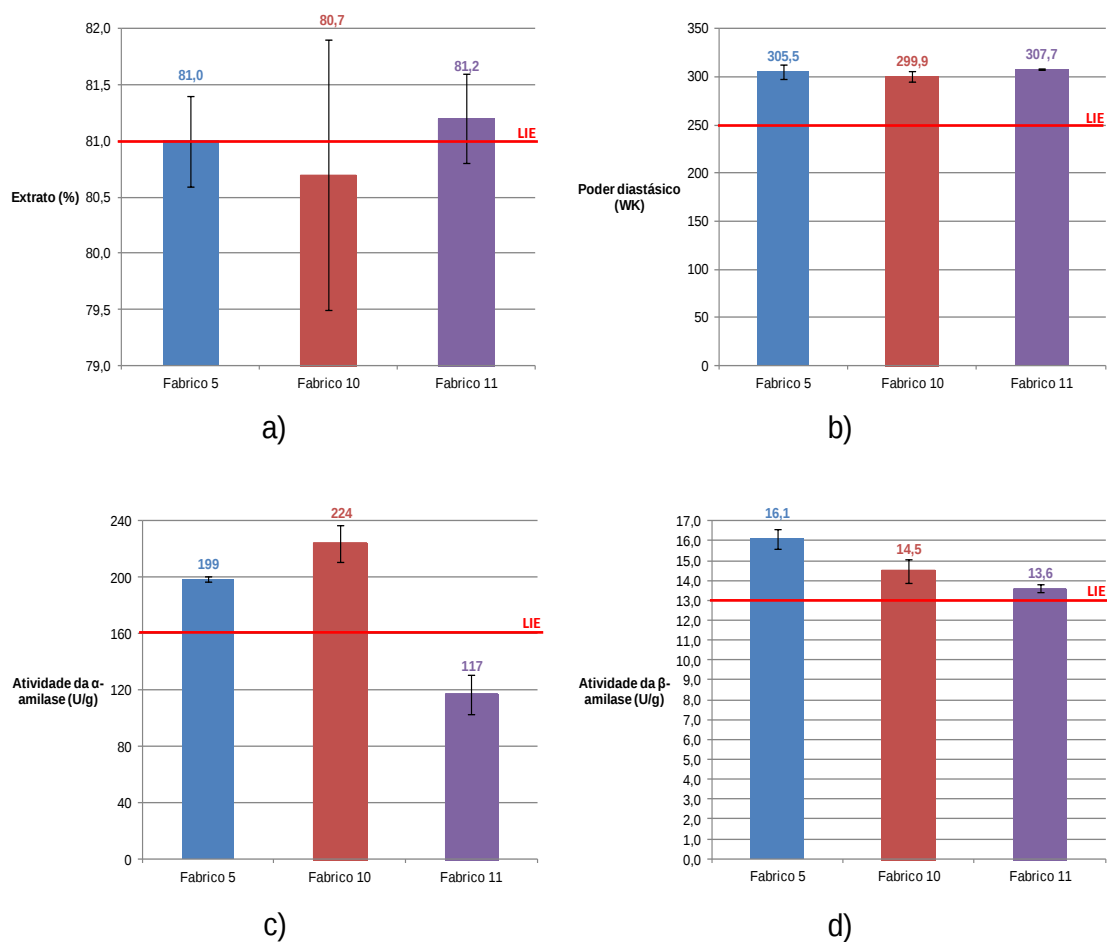


Figura 68. Resultados do teor de extrato, do poder diastásico e das atividades de α - e β -amilase no malte dos fabricos 5, 10 e 11. Para a determinação do extrato, $n=7$ para o fabrico 5, $n=10$ para o fabrico 10, e $n=6$ para o fabrico 11; as análises de determinação do poder diastásico e da atividade de α - e β -amilase foram feitas em duplicados ($n=2$).

À primeira vista, os resultados referentes ao teor de azoto aminado livre no mosto dos ensaios 10 e 11 (**Figura 69**) parecem sugerir que o baixo teor de humidade (redução média de 28% face ao 5º fabrico, inferiores ao LIE) alcançado na germinação possa ser o responsável pelos baixos níveis observados. O facto de existir maior teor de azoto aminado livre no mosto do fabrico 10, em comparação com o do 11, poderá, à semelhança do que foi dito anteriormente, resultar da possível contaminação fúngica do malte, cujas proteases poderão ter contribuído para o aumento dos níveis de produtos da hidrólise enzimática proteica, como sugerem alguns estudos [Noots *et al.*, 2003; Pekkarinen, 2003; Schwarz *et al.*, 2002].

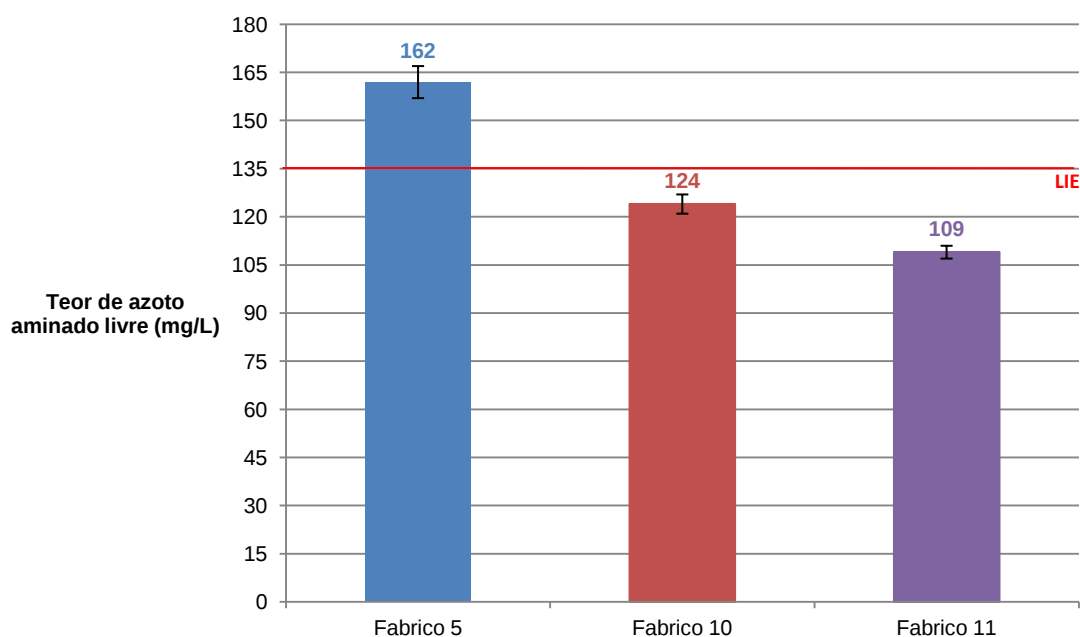


Figura 69. Resultados da determinação do teor de azoto aminado livre no mosto dos fabricos 5, 10 e 11; $n=4$ para os fabricos 5 e 10, e $n=6$ para o fabrico 11.

Segundo os dados da **Tabela 67**, os resultados da triagem do malte dos fabricos 10 e 11 foram bastante semelhantes, apesar da diferença substancial encontrada para a triagem da cevada (**Tabela 60**). Estes valores estão em concordância com os teores de humidade que o grão de ambos os fabricos alcançou na fase de germinação, que foram bastante próximos, uma vez que o tamanho dos grãos no final da maltagem depende exclusivamente da quantidade de água que absorveram no decorrer do processo. Porém, nota-se uma diferença clara relativamente à percentagem de grãos partidos no produto final, a qual é bastante superior no fabrico 10; isto pode estar relacionado com o facto de a germinação neste ensaio ter sido muito mais longa em comparação com o 11, na medida em que a ocorrência de mais revolvimentos do grão contribuem para um maior dano causado ao mesmo [Palmer, 1989]. Os valores de pH do mosto são iguais e cumprem o valor mínimo especificado ($> 5,8$). O malte do fabrico 10 possui uma homogeneidade satisfatória ($> 70\%$); não foi determinada a homogeneidade do malte do fabrico 11.

Tabela 67. Resultados da triagem e da determinação do pH do mosto obtidos para os fabricos 10 e 11, e da determinação da homogeneidade do malte do fabrico 10

Fabrico	Triagem (%)					pH	Homogeneidade (%)
	> 2,8 mm	> 2,5 mm	> 2,2 mm	Resíduos	Grãos partidos		
10	92,6	3,9	1,0	1,0	1,6	6,1	80
11	92,9	4,4	1,0	1,0	0,7	6,1	-

4. Conclusões

No total, foram realizados onze ensaios, não tendo sido considerados os resultados obtidos no ensaio 6 (*standard*, variedade *Tipple*), como consequência da ocorrência de problemas de índole operacional no decurso do mesmo, o que invalidou qualquer conclusão que pudesse ser eventualmente retirada a partir dos resultados que proporcionou. Dos dez que contaram para a discussão, foram realizados quatro fabricos com cevada *Quench* e seis com cevada *Tipple*. A razão para ter sido alterada a variedade de cevada a maltar durante o trabalho foi o esgotamento do *stock* de cevada *Quench* por parte do fornecedor, o que obrigou ao uso de outra variedade (*Tipple*) para os restantes ensaios. Com base nas observações efetuadas para estes dez ensaios foi possível identificar quatro fatores principais capazes de influenciar substancialmente a forma como decorre a maltagem, a qualidade do malte resultante e o próprio consumo energético do processo: são eles a massa inicial de cevada, o teor de humidade do malte, a temperatura de *curing* e a ventilação durante a estufagem.

4.1. *Influência da massa de cevada*

Com exceção de dois fabricos, para os restantes, a massa inicial de cevada nunca foi a mesma. Idealmente, devia ser maltada sempre a mesma quantidade de cevada, de modo a facilitar a comparação dos resultados e a tirar conclusões corretas a partir destes; uma vez que tal não foi possível, por limitações do próprio equipamento/processo industrial, foram realizados ensaios entre os quais a massa inicial de cevada variou (até 25%), mas, na altura de interpretar os resultados, foi tido em conta esse fator, de modo a permitir uma correta formulação de explicações para as várias observações. Os resultados sugerem que quanto maior for a quantidade de material a ser seco, mais tempo (e energia) irá ser necessário para remover a quantidade de água desejada: uma diferença de 19% de massa inicial de cevada resultou em menos 6% de duração da etapa de estufagem do malte, para programas de estufagem idênticos e teores de humidade do malte verde muito aproximados (diferença de 0,4% de humidade). Apesar da normalização dos resultados relativamente à massa de cevada, observou-se que parece não existir linearidade entre a quantidade inicial de cevada e os gastos energéticos da estufagem, visto que existiu uma diferença substancial de consumo energético, por kg de massa, (7% de

eletricidade e 6% de vapor) entre os ensaios de menor humidade durante a germinação (**Figura 71**). Tendo em conta que o programa de estufagem foi igual para os dois ensaios, e que o teor de humidade do malte verde foi muito semelhante entre ambos, levanta-se esta hipótese, na medida em que a quantidade de matéria-prima usada num dos fabricos é muito superior (10%) à que foi maltada no outro. Com base nesta observação, quanto maior a massa de cevada utilizada em maltagem, maior será a poupança de energia conseguida, por kg de cevada, o que é um indicador importante do ponto de vista de maltagem industrial (em que a massa de cevada usada é da ordem das 50 ton); porém, é importante ter em consideração o facto de esta observação ter sido feita para uma realidade de mini-maltagem, com condições / parâmetros operacionais de estufagem específicos, pelo que, de momento, esta extrapolação só é válida neste contexto.

4.2. *Influência do teor de humidade*

O teor de humidade do grão durante a germinação teve impacto no tempo de germinação e na percentagem de modificação do malte verde. As adições de água que foram efetuadas durante as germinações foram as formas de controlo do teor de humidade do grão durante esta etapa. Nos quatro primeiros fabricos, a adição de água foi efetuada com vista ao aumento do teor de humidade do grão para valores superiores a 43%. A partir do 5º ensaio, as adições de água passaram a ser feitas por duas vezes, apenas, como resultado da percentagem de modificação aparentemente excessiva que estava a ser alcançada no final da germinação. Isto conduziu a diferenças (cerca de 2%, em média) no teor de humidade do malte verde entre os fabricos 1-4 e 5-9, como mostra a **Figura 70a**. Tal também acabou por se refletir na duração da germinação (**Figura 70b**), uma vez que nos ensaios 5-9 a germinação foi mais controlada (mais lenta), graças à menor frequência de adições de água, e, por isso, mais longa. Para além de ter sido reduzido o número de adições de água (que permitiu maior controlo do processo), a própria germinação passou a ser interrompida para menores valores de modificação (**Figura 70c**). Como já tinha sido referido, inicialmente, a germinação foi interrompida, para cada fabrico, quando a percentagem de modificação ultrapassou os 80%; com vista a diminuir a modificação do malte final, a partir do ensaio 8, este valor passou a ser de 70%. De notar que, apesar de a germinação passar a ser interrompida para menores valores de modificação do grão (em média, menos 16% de modificação), a duração da germinação não é obrigatoriamente menor (pelo contrário, a duração média da germinação foi 22% maior

nos ensaios 5-9). Em relação aos fabricos de menor humidade (10 e 11), o objetivo foi manter o teor de humidade do grão sempre inferior a 40%; como resultado, as germinações foram mais longas (em média, 42% mais longas comparativamente com os ensaios 1-4, e 26% mais longas relativamente aos ensaios 5-9) e o teor de humidade do malte verde foi mais baixo (menos 5% de humidade do que o teor de humidade médio dos ensaios 1-4, e menos 3% do que o dos ensaios 5-9). Destes resultados se conclui que quanto menor for o teor de humidade do grão, mais tempo deve demorar a etapa de germinação, pois mais lenta é a taxa de modificação.

Na estufagem, quanto maior o teor de humidade do malte verde, mais tempo foi necessário para remover a água do seu interior, ou seja, o teor de humidade do malte verde teve impacto na duração da estufagem e, consequentemente, nos gastos de energia (a poupança de energia média, por kg de cevada, dos ensaios de menor teor de humidade na germinação foi de $8 \pm 5\%$ de eletricidade e $14 \pm 4\%$ de vapor, em relação ao fabrico *standard*). Em relação à influência do teor de humidade na qualidade do malte, quanto maior o teor de humidade durante a germinação, maiores os níveis de azoto aminado livre no mosto: no mosto dos fabricos em que foi diminuída a humidade durante a germinação os níveis de azoto aminado livre foram cerca de 28% inferiores aos observados para o mosto do fabrico *standard*; para além disso, também se observou uma redução média de 30% da atividade da β -glucanase nos fabricos de menor humidade durante a germinação, que também se deverá, em parte, à redução do teor de humidade do grão enquanto germinou.

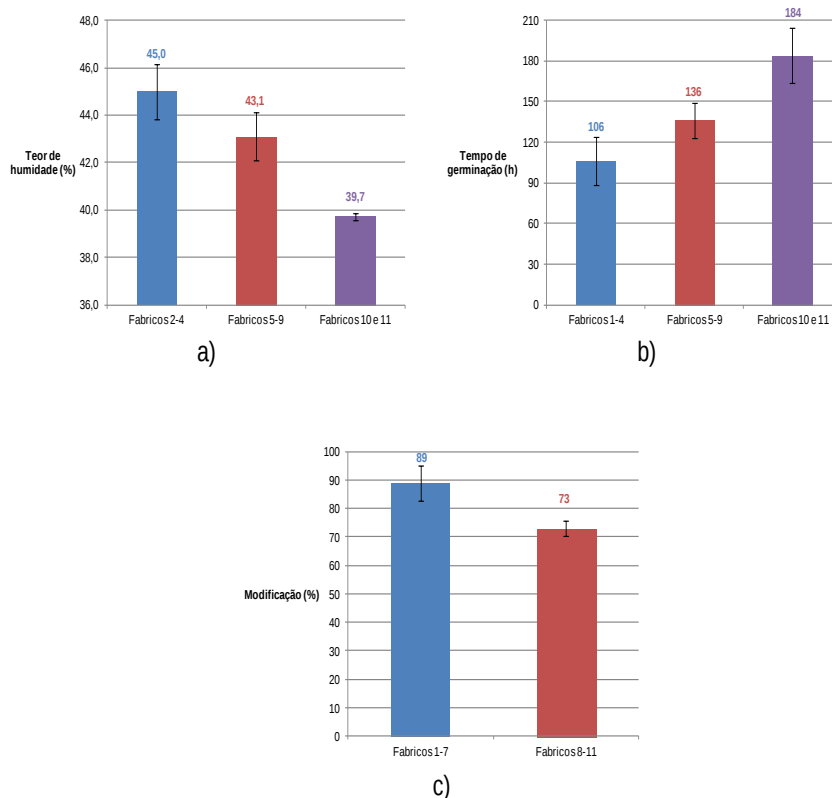


Figura 70. Teor de humidade médio do malte verde obtido nos fabricos 2-4, 5-9 e 10 e 11 (a); tempo de germinação médio dos fabricos 1-4, 5-9 e 10 e 11 (b); e percentagem de modificação média do malte verde obtido nos fabricos 1-7 e 8-11 (c). Nos fabricos 1-4, foi feita a tentativa de manter o teor de humidade durante a germinação acima de 43%; nos fabricos 5-9, foram apenas efetuadas duas adições de água durante a germinação; nos fabricos 10 e 11, o teor de humidade do grão foi sempre mantido abaixo de 40%.

4.3. *Influência da temperatura de curing e da ventilação durante a estufagem*

Em relação aos ensaios em que foi alterado o programa *standard* de estufagem, verificou-se que a temperatura de *curing* teve impacto ao nível de certos parâmetros de qualidade do produto: permitiu uma melhor conservação da atividade da enzima endo- β -glucanase (conseguiu-se obter um aumento máximo de 173% de atividade desta enzima no malte final, por redução da temperatura de *curing* em 10°C) e permitiu valores mais elevados de poder diastásico no malte final (aumento máximo de 37%) e, logicamente, maior atividade das amilases (conseguiu-se um aumento da atividade de α -amilase até 31% e da atividade da β -amilase até 14%).

Observou-se que, entre os fabricos em que foi reduzida a temperatura de *curing*, a realização de toda a estufagem com a ventoinha de arejamento a funcionar à sua capacidade máxima (100%) permitiu reduzir os consumos da estufagem (até 28% da energia elétrica e até 32% de vapor).

4.4. *Consumos energéticos*

Na **Figura 71** estão indicados os consumos de energia elétrica e térmica de cada fabrico, por kg de cevada maltada, estando evidenciados, por setas vermelhas, os fabricos em que foi reduzida a temperatura de *curing*, e, por setas azuis, aqueles em que a germinação decorreu a baixa humidade. Perante os resultados dos fabricos de menor temperatura de *curing*, conclui-se que a única situação que conduziu a poupança energética (ainda que apenas térmica) foi a de realizar a estufagem do malte com a ventilação a funcionar na sua capacidade máxima durante todo o tempo. Os valores de poupança de vapor (poupança média de $19 \pm 1\%$) são muito significativos, tendo em conta o contexto de produção industrial de malte (50 ton por fabrico). O facto de se terem obtido poupanças tão grandes a nível do vapor gasto, mas não se ter conseguido poupar eletricidade indica que o facto de a ventilação durante a estufagem funcionar durante um menor período não se sobrepõe à maior

velocidade com que funciona, não conduzindo a poupança; contudo, a redução da temperatura máxima do processo, aliada ao encurtamento da estufagem, resultaram em poupanças de vapor muito relevantes e que devem ser tidas em conta.

Para os ensaios de menor humidade durante a germinação, foi gasta menos energia, quer elétrica ($8 \pm 5\%$), quer térmica ($14 \pm 4\%$). Quer a poupança de eletricidade quer a de vapor parecem dever-se ao encurtamento da estufagem por causa do menor teor de humidade do malte verde (inferior a 40%); assim, com um programa de estufagem idêntico ao do ensaio *standard*, foi conseguida poupança de energia alterando apenas o teor de humidade com que o malte iniciou esta fase da maltagem.

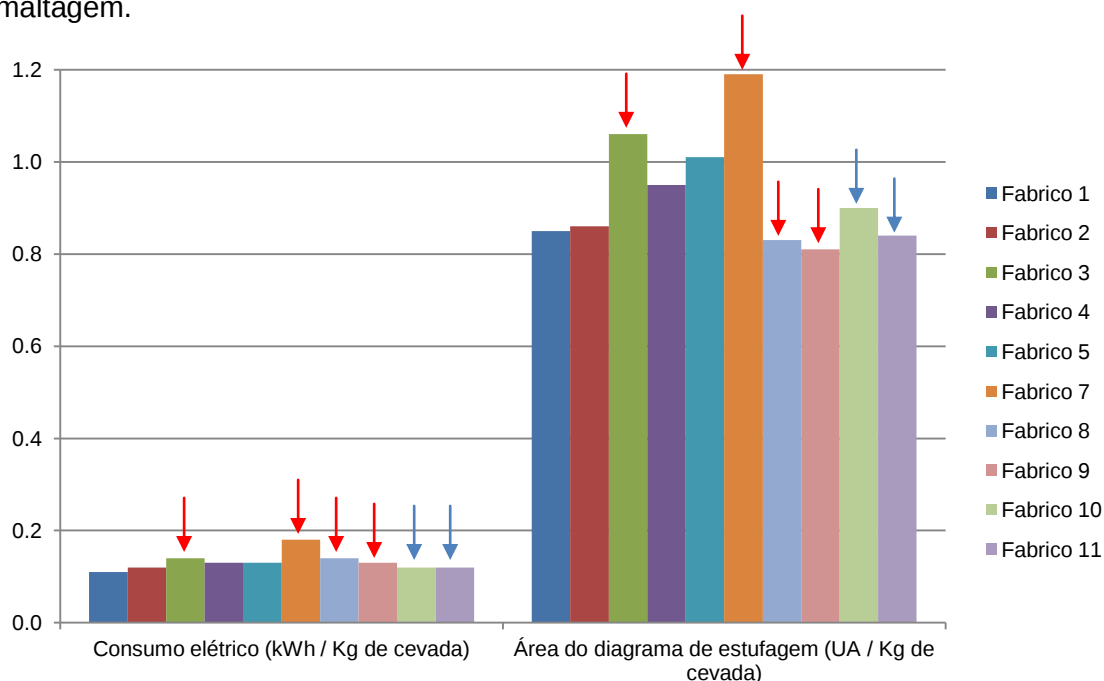


Figura 71. Consumo de energia (elétrica e térmica), por kg de cevada, na estufagem de todos os fabricos de malte efetuados.

4.5. Parâmetros de qualidade do malte

Dois parâmetros de qualidade que se mantiveram muito semelhantes entre todos os fabricos foram a modificação (valores variaram entre 92 e 98%) e a friabilidade (entre 90 e 96%). O que se conclui é que, apesar dos esforços (encurtamento da fase pré-break da estufagem e interrupção mais precoce da germinação), os valores de modificação (e friabilidade) foram sempre muito elevados. Porém, pode-se sugerir que o encurtamento da fase pré-break contribuiu, ainda que ligeiramente, para uma redução da percentagem de modificação do malte final (menos 3,5% face à média dos fabricos). As diferenças observadas para os resultados

relativos ao teor de β -glucanos no mosto parecem estar relacionadas com a duração da etapa de germinação, na medida em que germinações mais longas promoveram a maior degradação dos β -glucanos. Relativamente à atividade da enzima endo- β -glucanase, o que se observou foi que a sua atividade nos fabricos de menor temperatura de *curing* foi maior do que nos ensaios *standard* correspondentes (conseguiu-se aumentar até 173% a atividade da enzima no malte final); porém, o encurtamento da fase *pré-break* causou maior inativação da enzima (redução da atividade em 39%). O interesse destes resultados para a indústria cervejeira prende-se com o facto de a maior atividade de endo- β -glucanase permitir uma maior redução dos níveis de β -glucanos no mosto, o que, por sua vez, contribui para a redução da viscosidade do mosto e consequente facilitação do processo de filtração do mesmo [Gupta *et al.*, 2010]; por isso mesmo, esta maior conservação da atividade desta enzima pela abordagem de redução da temperatura máxima de estufagem para 75°C é de grande interesse para malterias e cervejeiras, não só pela redução de consumos energéticos, mas também pela melhoria da qualidade do produto a este respeito. Por outro lado, observou-se uma redução média de 30% da atividade da β -glucanase no malte dos fabricos cuja humidade durante a germinação foi mantida baixa, pelo que se conclui que, neste caso, o baixo teor de humidade do grão durante a sua germinação terá influenciado negativamente a atividade da endo- β -glucanase.

Em relação às análises referentes à amilólise, apenas um malte não possui extrato suficiente (extrato inferior a 81,0%). Apesar das diferenças encontradas, é de referir o elevado valor do desvio-padrão na maioria dos casos, o que faz com que muitas das diferenças não sejam consideradas significativas. De forma resumida, o que foi sugerido tendo em conta o enquadramento dos resultados e os dados operacionais, é que na maior parte dos ensaios (se não em todos) o teor de extrato saiu prejudicado, pelo excesso de modificação que se observou em todos eles. Por outro lado, o extrato pode não ter sido mais alto devido às próprias características das variedades de cevada utilizadas (Quench e Tipple). Relativamente ao poder diastásico, este foi sempre superior no malte dos ensaios a menor temperatura máxima de estufagem em comparação com o malte fabricado da maneira *standard* (até 37% superior); sugere-se que isto esteja relacionado com uma menor inativação da enzima β -amilase (termossensível) a 75°C comparativamente com o *curing* a 85°C (aumento da atividade até 14%, a 75°C). Comparando as atividades das amilases, estas parecem ser afetadas pela temperatura de *curing*, na medida em que uma estufagem a menor temperatura favoreceu a atividade amilolítica: foi conseguido um aumento de atividade de 31% para α -amilase e 14% para a β -amilase. Uma vez que um dos principais objetivos da brassagem é a produção de extrato (como resultado de uma

forte atividade amilolítica), é de realçar a vantagem que o *curing* a 75°C representa a este nível. Por outro lado, uma germinação mais longa e a temperatura mais elevada afeta de forma negativa a atividade amilolítica do malte verde, tendo-se observado uma redução de até 41% da atividade da α -amilase, e de até 16% da atividade da β -amilase.

De acordo com os resultados das análises associadas à hidrólise proteica, nota-se que é geral o muito baixo teor de azoto solúvel no mosto ($0,33 \pm 0,02\%$). Tendo em conta que o teor de proteínas totais na cevada não é anormal, e que a modificação foi muito elevada em todos os ensaios, será de supor que houve um consumo considerável de produtos da proteólise por parte do embrião. Outra hipótese que se levanta é a de baixa atividade proteolítica. Relativamente ao teor de azoto aminado livre, parece ser tanto menor quanto o teor de humidade do malte verde (foi observada uma redução de até 28%); nesse caso, é de sugerir que a maior quantidade de água promova a atividade das proteases [Palmer, 1989].

Relativamente à homogeneidade do malte, o que os resultados sugerem é que quanto mais curta for a fase *pré-break* da estufagem, maior será a heterogeneidade do malte. Observou-se ainda que os fabricos de menor temperatura de *curing* não conduziram a alterações dos níveis de DMSP no malte final (0%), tendo-se mesmo observado uma redução do teor de DMS (até 21%). Este é um resultado com interesse para o processo cervejeiro, na medida em que demonstra que a redução da temperatura de *curing* não conduz a um maior potencial de DMS na cerveja, o qual é um *off-flavour*, muitas vezes indesejado [The Scandinavian School of Brewing].

Da estufagem a menor temperatura, contam-se como consequências que não contribuem positivamente para a qualidade do malte: o facto de o teor de humidade do produto final ter ficado no limite (5,0%), ou ligeiramente superior ao limite (até 5,3%) do que é admissível para um malte que tem de ser armazenado em segurança, e o encurtamento da fase *pré-break* parece ter resultado em perda de homogeneidade do produto. Apesar disso, estes ensaios contribuíram positivamente para a atividade das amilases (e poder diastásico) no malte final, não alteraram o teor de DMSP no malte e conduziram ao aumento da atividade da endo- β -glucanase no malte. Porém, houve impactos negativos para a qualidade do malte nos fabricos de menor teor de humidade durante a germinação: o menor teor de humidade parece contribuir para uma redução do teor de azoto aminado livre e para a diminuição da atividade das enzimas β -glucanase e β -amilase.

4.6. *Perspetivas futuras*

Seria importante que mais fabricos fossem realizados, de modo a, não só confirmar a influência que certas alterações poderão ter nos diversos parâmetros de qualidade do malte, mas também identificar outras eventuais alterações que permitiriam melhorar a qualidade do produto. Para além disso, o estudo de um maior número de parâmetros (como a investigação da atividade das proteases, ou métodos de procura de contaminações microbiológicas) poderia auxiliar a interpretação de certos resultados. Obviamente que o uso de uma maior gama de variedades de cevada e de quantidades de cevada usada por fabrico, isto é, a introdução de um maior número de variações no processo, também permitiria tirar mais conclusões e elaborar generalizações.

As estimativas efetuadas para a determinação dos consumos de energia são satisfatórias no que diz respeito à comparação entre os valores obtidos, mas não têm utilidade se o objetivo for determinar valores absolutos de gastos energéticos. Assim, uma implementação importante seria a de contadores energéticos na Instalação Piloto de Mini-maltagem, de modo a otimizar a quantificação da energia gasta por mini-fabrico. À semelhança do controlo da temperatura do ar_{on} que é feito durante a germinação, por refrigeração (solução 30% glicol-água a -3°C), seria também importante a implementação de um sistema de aquecimento deste ar, uma vez que se pode tornar difícil o controlo da temperatura do ar que entra no tanque, nomeadamente durante o Inverno, quando a temperatura ambiente é mais baixa (como se observou nos primeiros dias da germinação do 1º fabrico). Sugere-se ainda a inclusão de um fluxímetro no interior do tanque de germinação/estufagem, de modo a monitorizar o fluxo de ar que atravessa o grão, quer durante a germinação, quer durante a estufagem, o que permitiria tirar conclusões mais concretas relativamente ao efeito da quantidade (massa) de grão nestas fases da maltagem, e também em relação à homogeneidade (ou heterogeneidade) das condições a que grãos em diferentes posições no interior do tanque estão expostos. Por fim, outra adição seria a de sensores de humidade do ar posicionados, quer antes de o ar entrar no tanque de germinação/estufagem, quer depois de o abandonar; isto permitiria otimizar a fase de germinação e os consumos de energia na estufagem, visto que providenciaria mais informações em relação às alturas em que a recirculação do ar durante a germinação deve ser alterada e permitiria saber também quando iniciar a recirculação do ar na fase de estufagem do malte (deve-se iniciar quando o ar_{off} deixa de estar saturado).

É também fulcral reter que este trabalho está adaptado à escala de mini-maltagem, e que ainda seria necessário um grande passo para fazer uma adaptação

de quaisquer resultados que se obtenham por uso deste modelo para a realidade industrial em grande escala. Ressalva-se que são ensaios preliminares, mas cujos resultados possuem um grande valor para a indústria cervejeira, tendo em conta a grandeza das poupanças aparentes; obviamente que estes programas de maltagem estão sujeitos a refinação, e que muitos parâmetros deverão ser ajustados, numa primeira instância, para tornar definitivamente mais rentável o mini-fabrico de malte, e, eventualmente, no futuro, para ser feita uma adaptação que permita que maltagens em grande escala possam usufruir deste tipo de poupança energética, cuja importância acresce na medida em que representa também substanciais reduções de custos monetários associados.

5. Bibliografia

Anderson K, Gjertsen P, Trolle B. 1967. *The microflora of barley and its effect on wort and beer. Brew Dig* 42(8): 76-81.

Axcell BC, Tulej R, Mulder CJ. 1986. *The influence of the malting process on malt fermentability performance. Proc Conv Inst Brew Aust NZ Sect* 63-69.

Bamforth CW. 2009. *Current perspectives on the role of enzymes in brewing. J Cereal Sci* 50: 353-357.

Beck R, Lepschy J, Steinke S, Suss A. 1991. *Investigations into the microbiology of malting barley and wheat. Part 1: The composition of the microflora on freshly harvested grain. Brauwelt* 131: 2474-2479.

Boivin B, Malanda M. 1993. *Influence of starter cultures in malting on the microflora development and malt quality. Proc 24th Congr Eur Brew Conv, Oslo. IRL Press, Oxford* 95-102.

Boivin B, Malanda M. 1997a. *Improvement of malt quality and safety by adding starter culture during the malting process. Tech Q Master Brewers Assoc Americas* 34: 358-363.

Boivin P, Malanda M. 1997b. *Pitching of a fermenting agent during malting: a new process to improve the sanitary and biophysical quality of malt. Proc 26th Congr Eur Brew Conv, Maastricht. IRL Press, Oxford* 117-126.

Bol J, Klopper WJ, Vermeire HA, Motshagen ME. 1985. *Relation between the microflora of barley and malt quality. Proc Congr Eur Brew Conv* 20: 643-650.

Briggs DE, Woods JL, Favier JF. 1994. *Drying and storage treatments for overcoming dormancy in malting barley. J Inst Brew* 100: 271-278.

Brissart R, EBC, Technology and Engineering Forum. 2000. *Malting Technology. Getränke-Fachverlag Hans Carl.*

Cook NC, Sammon S. 1996. *Flavonoids, chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources*. *Nutr Biochem* 7: 66-77.

Cui W, Wood PJ, Blackwell B, Nikiforuk J. 2000. *Physicochemical properties and structural characterization by two-dimensional NMR spectroscopy of wheat β -D-glucans - comparison with other cereal β -D-glucans*. *Carbohydr Poly* 41(3): 249-258.

de Pinho Ferreira Guiné R, dos Reis Correia PM. 2013. *Engineering Aspects of Cereal and Cereal-Based Products*. *Taylor and Francis*.

Douglas PE, Flannigan B. 1988. *A microbiological evaluation of barley malt production*. *J Inst Brew*. 94: 85-88.

Etchevers GC, Banasi OJ, Watson CA. 1977. *Microflora of barley and its effects on malt and beer properties: A review*. *Brew Dig* 52(1): 46-50.

European Brewing Convention Analysis Comitee. 2008. *Analytica-EBC*. Verlag Hans Carl.

Evans DE, Nischwitz R, Stewart DC, Cole N, MacLeod LC. 1999. *The influence of malt foam-positive proteins and non-starch polysaccharides on beer foam quality*. *Monogr Eur Brew Conv* 27: 114-128.

Georg-Kraemer JE, Mundstock EC, Cavalli-Molina S. 2001. *Developmental Expression of Amylases During Barley Malting*. *J Cereal Sci* 33: 279-288.

Gjertsen P, Trolle B, Anderson K. 1965. *Studies on gushing caused by microorganisms, specially Fusarium sp..* *Proc Congr Eur Brew Conv* 10: 428-438.

Global Beverage Solutions. Raw Materials – The Malting Process.

Goupy P, Hugues M, Boivin P, Amiot MJ. 1999. *Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds*. *J Agric Food Chem* 79: 1625-1634.

Grime KH, Briggs DE. 1995. *Release and activation of barley β -amylase*. *J I Brewing* 101: 337-343.

Guerin JR, Lance RCM, Wallace W. 1992. *Release and activation of barley beta-amylase by malt endo-peptidases. J Cereal Sci* 15: 5-14.

Gupta M, Nissreen A, Gallagher E. 2010. *Barley for Brewing: Characteristic Changes during Malting, Brewing and Applications of its By-Products. Compr Rev Food Sci F* 9: 318-328.

Gyllang H, Sätmark L, Martinson E. 1977. *The influence of some fungi on malt quality. Proc Congr Eur Brew Conv* 16: 245-254.

Haikara A, Makinen V, Hakulinen R. 1977. *On the microflora of barley after harvesting, during storage and in malting. Proc Congr Eur Brew Conv.* 16: 35-46.

Haikara A, Uljas H, Suurnäkki A. 1993. *Lactic starter cultures in malting - a novel solution to gushing problems. Proc 24th Congr Eur Brew Conv, Oslo. IRL Press, Oxford* 163-172.

Haikara A, Laitila A. 1995. *Influence of lactic acid starter cultures on the quality of malt and beer. Proc 25th Congr Eur Brew Conv, Brussels. IRL Press, Oxford* 249-256.

Hoy JL, McCauley BJ, Fincher B. 1981. *Cellulases of plant and microbial origin in germinating barley. J Inst Brew* 87: 77-80.

Jones, BL. 2005. *Endoproteases of Barley and Malt. J Cereal Sci* 42: 139-156.

Kanauchi M, Bamforth CW. 2002. *Growth of Trichoderma viride on crude cell wall preparations from barley. J Agric Food Chem* 49: 883-887.

Kleinwächter M, Meyer A, Selmar D. 2012. *Malting revisited: Germination of barley (Hordeum vulgare L.) is inhibited by both oxygen deficiency and high carbon dioxide concentrations. Food Chem* 132: 476-481.

Kotheimer JB, Christensen CM. 1961. *Microflora on barley kernels. Wallerstein Lab Commun* 24: 21-27.

Kunze W, Mieth HO. 1999. *Technology Brewing and Malting, translated by Dr. Trevor Wainwright. VLB.*

Lauro M, Suortti T, Autio K, Linko P, Poutanen K. 1993. *Accessibility of barley starch granules to α -amylase during different phases of gelatinisation*. *J Cereal Sci* 17(2):125-136.

Megazyme. *Beta-amylase Assay Procedure (Betamyl-3 Method) – K-BETA3 10/10*. Megazyme International Ireland 2010.

Megazyme. *Malt & Bacterial Beta-glucanase and Cellulase Assay Procedure (Azo-Barley Glucan Method) – K-MBGL 03/11*. Megazyme International Ireland 2011.

Megazyme. *Alpha-amylase Assay Procedure (Ceralpha Method) For The Measurement of Plant and Microbial Alpha-amylases – K-CERA 01/12*. Megazyme International Ireland 2012.

Muslin EH, Kanikula AM, Clark SE, Henson CA. 2000. *Overexpression, purification, and characterization of a barley alpha-glucosidase secreted by Pichia pastoris*. *Protein Expres Purif* 18: 20-26.

Noots I, Derycke V, Jensen HE, Decour JA, Coppens T. 2003. *Studies on barley starchy endosperm cell wall degradation by Rhizopus VII*. *J Cereal Sci* 37: 81-90.

O'Rourke T. 2002. *Malt Specifications & Brewing Performance*. *The Brewer International* 2(10): 27-30.

Palmer GH. 1989. *Cereal Science and Technology*. Aberdeen University Press.

Palmer, GH. 1994. *Standardization of homogeneity*. *European Brewery Convention Monograph XXIII* 2-43.

Pekkarinen A. 2003. *The serine proteinases of Fusarium grown on cereal proteins and in barley grain and their inhibition by barley proteins*. *VVT Publ* 487: 74-90.

Perata P, Loreti E, Guglielminetti L, Alpi A. 1998. *Carbohydrate metabolism and anoxia tolerance in cereal grains*. *Acta Bot Neerl* 47: 269-283.

Prentice N, Sloey W. 1960. *Studies on barley microflora of possible importance to malting and brewing quality. I: The treatment of barley during malting with selected microorganism. Proc Am Soc Brew Chem* 28-34.

Runkel, UD. 1975. *Malt kilning and its influence on malt and beer quality. European Brewery Convention Monograph II* 222-233.

Sarlin T, Laitila A, Pekkarinen A, Haikara A. 2005. *Effects of Three Fusarium Species on the Quality of Barley and Malt. J Am Soc Brew Chem* 63(2): 43-49.

Schmitt, M. 2013. *Malting at Low Moisture to Save Energy. EBC 34th Congress.*

Schuurink RC, van Beckum JMM, Heidekamp F. 1992. *Modulation of grain dormancy in barley by variation of plant growth conditions. Hereditas* 117: 137-143.

Schwarz PB, Jones BL, Steffenson BJ. 2002. *Enzymes associated with Fusarium infection of barley. J Am Soc Brew Chem* 60:130-134.

Sopanen T, Laurière C. 1989. *Release and activity of bound β -amylase in a germinating barley grain. Plant Physiol* 89: 244-249.

The Scandinavian School of Brewing. 2005/2006. Diploma Brewmaster Course - Raw Materials and Wort Production Module 1.

Van Nierop SNE, Rautenbach M, Axcell BC, Cantrell IC. 2006. *The Impact of Microorganisms on Barley and Malt Quality - A Review. J Am Soc Brew Chem* 64(2): 69-78.

Woonton BW, Jacobsen JV, Sherkat F, Stuart IM. 2005. *Changes in Germination and Malting Quality During Storage of Barley. J Inst Brew* 111(1): 33-41.

Webgrafia

http://5e.plantphys.net/images/ch20/wt2002c_s.jpg

http://altavina.ru/images/blog_url/89.jpeg

<http://brejadobreda.blogspot.pt/2013/05/maltear-ou-torrar-eis-questao.html>

http://culturingscience.files.wordpress.com/2010/07/2010_07_18_dmsp_dms_vanalstyne2001.jpg

[http://en.wikipedia.org/wiki/Bere_\(grain\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Bere_(grain))

<http://hotelmule.com/html/85/n-1785-26.html>

<http://www.coleparmer.com/buy/product/34208-trans-2-nonenal-95-25ml-ac298310250.html>

http://www.e-malt.com/en_special_malt_frames.htm

<http://www.graintec.com.au/malt-friabilimeter.html>

<http://www.maison-de-stuff.net/john/pictures/EdinburghAndIslay/05/>

http://www.mopos.com/production-programme/malt_plants.htm?lang=en

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282005000400011

<http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates2.html>