DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

UTILIZZO DI MATERIE PRIME INNOVATIVE E COADIUVANTI PER LA PRODUZIONE DI BIRRA.
Differenze nel processo di produzione e valutazione degli effetti sulla composizione chimica.

USE OF INNOVATIVE RAW MATERIALS AND FOOD ADDITIVES FOR BEER PRODUCTION.
Differences in the production process and evaluation of the effects on the chemical composition.

TIPO TESI: compilativa

Studente:
ANDREA MASSETTI

Relatore:
DOTT.SSA ROBERTA FOLIGNI

Correlatore:
DOTT.SSA CINZIA MANNOZZI

ANNO ACCADEMICO 2019-2020

Alla musica, l'Unica ed eterna.

Sommario

In questo elaborato verranno esposte ed analizzate le principali materie prime e tecniche di produzione alternative utilizzate nell'industria della birra. Nella prima parte vengono descritte le materie prime, i coadiuvanti e l'impatto che possono avere sulla composizione chimico-fisica e sul profilo aromatico del prodotto finale. Nella seconda parte dell'elaborato vengono riportati alcuni esempi di processi produttivi e i rispettivi dati delle prove, estrapolati dagli studi analizzati.

INDICE

1 Introduzione 1
1.1 Storia della birra 2
1.1.1 Diffusione e importanza della birra 3
2 Le materie prime 3
2.1 Orzi e sostituti 4
2.1.1 Orzo (*Hordeum vulgare o sativum*) 5
2.1.2 Avena (*Avena sativa*) 6
2.1.3 Frumento (*Triticum estivum*) 6
2.1.4 Mais (*Zea mais*) 7
2.1.5 Miglio (*Panicum miliaceum*) 7
2.1.6 Riso (*Oryza sativa*) 7
2.1.7 Sorgo (*Sorghum bicolor*) 8
2.1.8 Tritordeum (*X Tritordeum martinii*) 8
2.1.9 Pseudocereali 9
2.2 Luppolo (*Humulus lupulus*) 10
3 Tecnologie di produzione standard 10
3.1 La maltificazione 10
3.2 La preparazione del mosto 11
3.3 La fermentazione primaria 11
3.4 La fermentazione secondaria 12
3.5 Condizionamento e imbottigliamento 13
4 i coadiuvanti 13
4.1 Sciroppi 14
4.2 Proporzione dei coadiuvanti 14
4.3 attività enzimatica 15
4.4 Fermentescibilità 15

5 I parametri di qualità della birra 16
5.1 Principali molecole caratterizzanti 16
5.1.1 Azoto assimilabile (FAN – free amino nitrogen) 16
5.1.2 Dimetil-solfuro (DMS) 18
5.1.3 Polifenoli 18
5.1.4 Beta-glucani 20
5.2 Parametri fisici importanti 21
5.2.1 pH 21
5.2.2 Stabilità della schiuma 21
5.3 Pro e contro dell'utilizzo di coadiuvanti 22
6 Produzione di birra con malto tritordeum 23
6.1 Macinazione, ammostamento e filtraggio 23
6.2 Bollitura 24
6.3 Inoculo e fermentazione 24
6.4 Parametri del cereale 24
6.5 Ammostamento e filtrazione 25
6.6 Analisi del mosto 26
6.6.1 Fermentazione del mosto 28
6.7 Analisi del prodotto finale 29
7 Produzione di birra lager arricchita con malto di grano saraceno in aggiunta 31
7.1 Maltatura, molitura e ammostamento 31
7.1.1 Analisi delle attività di α-amilasi e β-amilasi 32
7.2 Lauterizzazione e bollitura del mosto 32
7.3 Fermentazione, filtrazione e imbottigliamento 32
7.4 Contenuto di rutina e quercetina di diverse specie di grano saraceno 32
7.5 Analisi del mosto 33
7.6 Analisi del prodotto finale 34
7.6.1 Contenuto di rutina, quercetina e flavonoidi totali nei muri e nelle birre di grano saraceno 35
7.6.2 Stabilità ossidativa delle birre 36
7.6.3 Valutazione sensoriale 38
8 Produzione di birra con aggiunta di sorgo 39
8.1 Metodica di produzione 40

8.1.2 Cambiamenti nei composti bioattivi e bioattività durante il processo di fermentazione 40
8.2 Caratteristiche della birra di sorgo bianco 40
8.2.1 Contenuto di GABA 40
8.2.2 Contenuto di amminoacidi liberi 41
8.2.3 Composti fenolici 42
9 produzione con il 100% delle materie prime non maltate 44
9.1 L'utilizzo degli enzimi esogeni 44
9.2 Metodica di produzione 45
9.3 Caratteristiche del mosto 46
9.4 Caratteristiche delle birre 47
10 conclusioni 50
Bibliografia 52

Elenco delle figure

Figura 1 - il kit base per l'homebrewing (Link) 3
Figura 2 - Un microbirrificio di modeste dimensioni (Link) 3
Figura 3 - Chicchi di grano non maltato (Link) 4
Figura 4 – Orzo (Link) 5
Figura 5 – Avena (Link) 6
Figura 6 – Frumento (Link) 6
Figura 7 – Mais (Link) 7
Figura 8 – Miglio (Link) 7
Figura 9 – Riso (Link) 8
Figura 10 – Sorgo (Link) 8
Figura 11 – Tritordeum (Link) 8
Figura 12 – Quinoa (Link) 9
Figura 13 - Grano saraceno (Link) 10
Figura 14 – Luppolo (Link) 10
Figura 15 - Il malto (Link) 11
Figura 16 - Fermentazione primaria del mosto (Link) 12
Figura 17 - Seconda fermentazione in tank (Link) 12
Figura 18 - Sistema di imbottigliamento uniblocco Bertolaso (Link) 13
Figura 19 - Endozym Glucacel UHT - 250 gr (Link) 14
Figura 20 – Prolina (Link) 16
Figura 21- Dimetil solfuro (Link) 18
Figura 22 - Strutture dei principali polifenoli presenti nella birra (Link) 19
Figura 23 - Struttura generica del β-glucano (Link) 20

Figura 24 - La perdita giornaliera di peso/rilascio di CO2 durante le prove di fermentazione del mosto (0%, 10%, 50%, 100% malto tritordeum)..... 29
Figura 25 - Cambiamenti nell'attività di scavenging del DPPH (A) e nel valore del FRAP (B) in diversi campioni di birra durante un periodo di invecchiamento forzato di 15 giorni [5]. 37
Figura 26 - Alcune delle più famose birre Lambic (Link) 38
Figura 27 - Contenuto di GABA ottenuto con il processo di fermentazione del sorgo bianco. Lettere diverse indicano differenze significative (P <0,05) tra i campioni..... 41
Figura 28 - Reazione generica di transaminazione tra un α-amminoacido e un α-chetoacido (Link)..... 42
Figura 29 - Ondea® Pro Novozymes (Link) 45
Figura 30 - Concentrazioni di carboidrati fermentescibili in diversi tipi di mosto. I dati rappresentano la media dei campioni duplicati, con barre di errore che mostrano l'intervallo dei duplicati [86]. 47
Figura 31 - Diminuzione del peso specifico durante la fermentazione di diversi tipi di mosto in funzione del tempo. I punti dati rappresentano la media dei campioni duplicati, con barre di errore che mostrano l'intervallo dei duplicati 48

Elenco delle tabelle

Tabella 1 – Analisi del malto da tritordeum e orzo. 25
Tabella 2 - Parametri chimico-fisici del primo mosto e del mosto freddo che dipendono dalla proporzione di tritordeum nella miscela del malto 26
Tabella 3 - Parametri chimico-fisici della birra prodotta con differenti proporzioni di tritordeum nella miscela di malto. 30
Tabella 4 - Determinazione del contenuto di rutina, quercetina e flavonoidi totali nei malti di grano saraceno, nel mosto e nelle birre* 33
Tabella 5 - Caratteristiche del mosto luppolato prodotto con malto d'orzo e malto di grano saraceno in diverse proporzioni con i due metodi di ammostamento*. 34
Tabella 6 - Principali caratteristiche chimico-fisiche delle birre finite prodotte con malto d'orzo e malto di grano saraceno in proporzioni diverse utilizzando i due metodi di ammostamento *..... 35
Tabella 7 - I profili sensoriali di diverse birre prodotte con malto d'orzo e malto di grano saraceno in proporzioni diverse utilizzando due metodi di ammostamento..... 39
Tabella 8 - Contenuto di amminoacidi liberi per sorgo maltato (MS), mosto (W), mosto luppolato (HW), birra di prima fermentazione (FF) e sorgo (SB)..... 42
Tabella 9 - Contenuto di composti fenolici da sorgo maltato (MS), mosto (W), mosto luppolato (HW), prima fermentazione (FF) e birra di sorgo (SB)..... 43
Tabella 10 - principali caratteristiche del mosto 46
Tabella 11 - Principali caratteristiche delle birre..... 49
Tabella 12 - Sommario dei principali alcoli ed esteri nelle birre 50

1 INTRODUZIONE

Il mercato mondiale della birra è estremamente competitivo, e lo è diventato sempre di più negli ultimi anni poiché Europa, Nord America e Giappone hanno assistito a un calo delle vendite, in parte associato all'espansione in questi mercati della birra chiara. In risposta, molti birrifici hanno tentato di ampliare le loro offerte sviluppando prodotti nuovi e innovativi per soddisfare la domanda dei consumatori [1, 2]. I produttori sono stati quindi spinti a produrre birra di qualità elevata a un costo inferiore. Di conseguenza, hanno sempre più sostituito il malto con varie alternative meno costose [3]. Le materie prime più importanti per la produzione di birra sono il malto d'orzo, l'acqua, il luppolo e il lievito. Tuttavia, al giorno d'oggi, le birre prodotte con additivi o esclusivamente a base di ingredienti diversi dal malto d'orzo stanno diventando sempre più popolari. Si stima che fino all'85-90% circa delle birre sul mercato siano prodotte con additivi [3]. I nuovi cereali utilizzati per la produzione (crudi o maltati) possono introdurre nuove caratteristiche organolettiche alla birra e conferirle altre proprietà positive. Secondo [4] la birra bianca di sorgo contiene almeno il doppio di composti fenolici della birra di malto d'orzo ed è caratterizzata dalla capacità di inibire l'α-*glucosidasi*, che combinata con le attività antiossidanti e anti-ipertensive la rende una bevanda interessante con un contenuto alcolico di circa il 2%. D'altra parte, [5] nella loro ricerca sull'uso del malto d'avena nell'industria della birra hanno dimostrato che la birra risultante è simile alla birra al malto d'orzo con un forte sapore di frutti di bosco. Inoltre, è stato suggerito il suo utilizzo per la produzione di birre senza glutine. La birra d'avena sottoposta al test di invecchiamento forzato contiene meno composti stalanti rispetto alla birra d'orzo (questo potrebbe spiegare la sua maggiore stabilità sensoriale). Il potenziale dell'avena come materia prima adatta per il malto e la produzione di birra è stato dimostrato anche da [6]. Un'altra materia prima molto importante è il malto di grano saraceno, che, analogamente al malto di avena, è apprezzato per il suo valore nutritivo. In uno studio di [7] hanno dimostrato che il processo di produzione della birra di grano saraceno è simile a quello della birra d'orzo e il prodotto finale può soddisfare le aspettative dei consumatori che cercano una birra dal carattere classico. Allo stesso modo, [8] hanno concluso che la birra di grano saraceno è accettabile in termini di parametri di qualità, come sapore e aroma. Altri studi sui sostituti del malto d'orzo hanno dimostrato che anche il malto triticale può essere una materia prima economica che sostituisce il costoso malto d'orzo nella produzione di birra europea. Inoltre, è stato dimostrato che l'uso di quest'ultimo (con una quota del 30% o addirittura del 100%) nella produzione aumenta la quantità di zuccheri fermentescibili, pur mantenendo la stessa attività enzimatica. Sebbene l'uso di sostituti del malto d'orzo presenti molti indubbi vantaggi, è opportuno tenere conto di alcuni inconvenienti associati al cambiamento della composizione della materia. La produzione di birra da malti diversi dall'orzo, senza integrazione di enzimi esogeni, può causare seri problemi tecnologici e qualitativi nelle varie fasi della produzione. Le principali proprietà indesiderabili, a seconda della materia prima, includono problemi con la filtrazione del mosto, seguita dalla filtrazione della birra, dal recupero dell'estratto, nonché dalla previsione e dal ridimensionamento della produzione. Sulla base di altri risultati della ricerca, ci si possono aspettare tempi di saccarificazione più

lunghi e estratti di malto inferiori. L'ottenimento di un livello di estratto inferiore può di conseguenza portare a un contenuto alcolico inferiore nella birra rispetto all'utilizzo del 100% di orzo. In quest'ottica, la selezione delle materie prime deve essere effettuata con molta attenzione e la loro origine e composizione chimica deve essere conosciuta. Sulla base dei risultati di studi precedenti sulla composizione chimica e l'origine di cereali relativamente nuovi [9], il tritordeum sembra essere una materia prima molto interessante per la produzione della birra. Il Tritordeum (*X Tritordeum martinii A. Pujadas nothosp. Nov*) è prodotto incrociando orzo selvatico (*Hordeum chilense Roem. & Schult., Genomi HchHch*) con frumento tetraploide (*Triticum turgidum L. ssp. Durum Desf ., genomi AABB*) o grano esaploide (*Triticum aestivum L. em. Thell., genomi AABBDD)*. Le sue comprovate proprietà positive nell'industria dei prodotti da forno, così come per la produzione di torte, pasta e croissant [10] diventa uno dei tanti argomenti per estenderne l'uso alla produzione di birra [11]. Il presente studio si divide in due parti: nella prima, dopo una breve introduzione sul processo standard di produzione, vengono riportate tutte le principali caratteristiche dei coadiuvanti utilizzati attualmente nella produzione e i loro effetti sul prodotto finale e sull'intero processo produttivo; nella seconda parte, vengono riportati degli studi sulla sperimentazione e produzione di birre utilizzando materie prime differenti dal malto d'orzo, considerando l'impatto sul profilo aromatico e sulla componente chimico-fisica del prodotto finale.

1.1 STORIA DELLA BIRRA

I sumeri produssero la prima birra, chiamata se-bar-bi-sag, ovvero "la bevanda che fa vedere chiaro", di cui si hanno notizie documentate nelle tavolette scritte a caratteri cuneiformi. Pare probabile che l'origine della birra sia in qualche modo connessa con quella del pane d'orzo, tanto che forse a questo pane, accidentalmente bagnato e poi fermentato spontaneamente, andrebbe fatta risalire la scoperta casuale della bevanda. Come nel caso della birra sumera, anche per gli Egizi la birra origina dal pane ed è stato ipotizzato che venissero prodotti appositi "pani da birra" per la produzione del mosto da fermentare. In sostanza il pane veniva sbriciolato e si aggiungeva acqua e forse datteri, dopo un po' di tempo si filtrava il liquido e lo si lasciava fermentare. È tutt'ora in discussione l'ipotesi che gli Egizi sapessero produrre il malto. Le scoperte archeologiche in diversi contenitori di birra suggeriscono, comunque, che oltre all'orzo venissero usati diversi cereali come il farro e qualche tipo di frumento per la produzione della birra. Nel medioevo, la produzione della birra, come molte altre tecnologie agrarie e alimentari, si concentrò nei monasteri benedettini, dove si ebbero anche innovazioni produttive e miglioramenti qualitativi che portarono la birra a essere una buona bevanda alla portata dei poveri. Nel corso del XV secolo vennero sviluppati e sottoposti a normativa i sistemi produttivi e anche gli additivi, fra cui il "*gruyt*", una miscela di spezie, e soprattutto il luppolo. Nel 1516 Guglielmo IV di Baviera emana il famoso editto sulla purezza (*Reinheitsgebot*), che obbliga all'uso esclusivo di malto d'orzo, acqua e luppolo, per evitare l'uso di frumento a causa di un raccolto disastroso verificatosi in quell'anno. Da allora il decreto è rimasto in vigore e a esso si uniformano le birre tedesche e molte birre straniere. Nel corso del XVIII secolo vengono introdotti nuovi strumenti di controllo e nuove macchine come il termometro (poco dopo il 1714), la macchina a vapore per agevolare le varie operazioni e per attivare le pompe (1785), la macchina per tostare il malto inventata da D. Wheeler nel

1817, il raffreddatore di mosto di J.L Baudelot nel 1856. Più o meno in questo periodo si afferma la bottiglia di vetro. Intanto a metà dell'800 A. Dreher aveva identificato i lieviti come agenti della fermentazione della birra e aveva cominciato a razionalizzarne l'uso. Le sue intuizioni presero piede soprattutto dopo i lavori fondamentali di L. Pasteur e dopo la messa a punto della cultura pura da parte di E.C. Hansen nel 1885. Il XX secolo è caratterizzato da moltissimi altri miglioramenti tecnologici e dalla diffusione di grandi birrerie industriali con la conseguente contrazione e sparizione delle molte piccole birrerie che avevano fatto la storia di questa bevanda [12].

1.1.1 Diffusione e importanza della birra

I dati al 2008 indicano che annualmente vengono prodotti circa 180 milioni di litri di birra e che in Europa il consumo si attesta attorno ai 70 litri pro capite, con circa 150 litri pro capite in Irlanda e 29 in Italia. Di fatto esiste una grande variabilità geografica sul consumo della birra, che è diffuso in Europa, Stati Uniti, Australia e Giappone. In questi ultimi anni sta nascendo la tendenza a costruire piccole birrerie, talvolta per l'esclusivo uso di un singolo locale di mescita, e di produrre la birra in casa con appositi kit [12].

Figura 1 - il kit base per l'homebrewing (Link)

Figura 2 - Un microbirrificio di modeste dimensioni (Link)

2 LE MATERIE PRIME

Circa l'85-90% di birra nel mondo è prodotta con materie prime differenti dall'orzo. Tuttavia, esistono molte varianti nell'uso di queste nei vari continenti. Nei paesi europei, circa il 10-30% del malto è sostituito da succedanei e pseudocereali, negli

Stati Uniti e Australia la percentuale si aggira intorno al 40-50% mentre in Africa addirittura fino al 75% (per via delle condizioni climatiche che non sono favorevoli per la crescita dell'orzo). La sostituzione del malto d'orzo con succedanei e pseudocereali è un modo per limitare la produzione sull'importazione del malto a caro prezzo, riducendo il costo delle materie prime. Questi cereali sono spesso usati non maltati, poiché anche le condizioni climatiche in Africa non sono molto adatte per il malto. Anche negli altri continenti, l'utilizzo di cereali non maltati ha ridotto la necessità di lavorare malto di scarsa qualità, che può essere influenzato da condizioni metereologiche avverse in particolari annate, e può addirittura mitigare le carenze di malto sul mercato mondiale. I cereali autoctoni sono solitamente usati come coadiuvanti, a sostegno dell'agricoltura locale. Il sorgo è il più utilizzato in Africa, il riso in Asia, il mai in America. In Europa, l'orzo e il mais sono le aggiunte più importanti. L'inclusione anche di una piccola materia prima non maltata nella farina può alterare le proprietà sensoriali della birra. In questo modo è possibile ottenere un prodotto con un nuovo sapore e aroma senza dover necessariamente cambiare la linea di produzione. Si stima che una sostituzione del 30% del malto con mais non maltato con senta una fino all'8% del costo di produzione della birra. L'aggiunta di zucchero o zucchero semolato fornisce un modo semplice per aumentare la gravità del mosto. La fermentazione ad alta gravità (*High-gravity fermentation*) è più conveniente ed è ormai una pratica comune nell'industria della birra. L'utilizzo di sostanze aggiunte può influire sul prezzo del prodotto finale a causa delle normative fiscali, come in Giappone dove l'imposta sui liquori viene calcolata in base all'uso del malto. In Germania, Svizzera e Grecia, dove è applicabile il *Reinheitsgebot,* la birra può essere prodotta esclusivamente con l'utilizzo di malto, acqua, luppolo e lievito; sono vietate altre fonti di amido e zucchero. Tuttavia, oggi è possibile produrre birra assumendo anche l'orzo crudo come unica fonte di estratto. L'integrazione dei grani con preparati enzimatici esogeni è necessaria per abbattere l'amido, le proteine e i componenti della parete cellulare nei chicchi [12].

Figura 3 - Chicchi di grano non maltato (Link)

2.1 ORZI E SOSTITUTI

I sostituti del malto di orzo vengono impiegati come fonte alternativa di estratto fermentescibile; sono utilizzati dovunque, salvo in Germania dove esiste l'editto sulla purezza del 1516 (*Reinheitsgebot*) mai abrogato. La legislazione italiana permette la

sostituzione del malto d'orzo o di frumento con altri cereali o con altre materie prime amidacee e zuccherine, purché essi non superino il 40% calcolato sull'estratto secco. [12] L'inclusione anche di una piccola materia prima non maltata nel macinato può alterare le proprietà sensoriali della birra. In questo modo è possibile ottenere un prodotto con un nuovo sapore e aroma senza dover necessariamente cambiare la linea di produzione [13; 14; 15]. Si stima che una sostituzione del 30% del malto con mais non maltato consenta una riduzione dell'8% dei costi di produzione della birra [16]. L'aggiunta di sciroppi di zucchero o zucchero semolato, nel frattempo, fornisce un modo semplice per aumentare la gravità del mosto. L'uso di pseudocereali può anche influenzare il prezzo del prodotto finale a causa di normative fiscali, come in Giappone dove la tassa sui liquori è calcolata in base all'uso del malto [17]. Tuttavia, al giorno d'oggi è possibile produrre birra prendendo anche l'orzo crudo come unica fonte di estratto [18; 19; 20; 3].

2.1.1 Orzo (*Hordeum vulgare o sativum*)

È una pianta erbacea annua coltivata nelle sue diverse varietà che si distinguono in distiche e polistiche. I migliori orzi coltivati in Europa sono quelli distici e primaverili con cariossidi ben sviluppate e regolari, glumelle più fini e minor tenore in polifenoli, proteine e β-glucani. L'orzo è il cereale più adatto alla fabbricazione della birra poiché germinando produce una maggiore quantità di enzimi rispetto ad altri cereali, ha una composizione chimica più idonea e ha una cariosside vestita che può resistere alle varie manipolazioni durante il maltaggio. L'orzo da birra in Europa è soggetto generalmente a programmi continui di miglioramento genetico per ottenere una materia prima che al contempo sia altamente produttiva e fornisca un'accettabile quantità di malto fermentescibile. Più in particolare si tende a ottenere alte rese di estrazione (80 kg di malto per 100 kg di granella), alta attività enzimatica proteolitica e citolitica, capacità germinativa maggiore del 96% dopo tre giorni, ottimo riempimento dei chicchi, glumelle sottili (contenuti dell'involucro inferiori all'11%), contenuto di proteine inferiore o pari all'11,5%. [12] Per la lavorazione di coadiuvanti d'orzo in quantità inferiori al 10-20% è sufficiente l'attività enzimatica del malto d'orzo. Quantità maggiori di coadiuvanti d'orzo richiedono l'uso di *β-glucanasi* microbica per evitare problemi di filtrazione [21;22]. A livelli di coadiuvanti superiori al 25%, è richiesta anche la *proteinasi esogena*, e a livelli superiori al 50% sono necessari altri enzimi, inclusa l'α-*amilasi* [21]. Tuttavia, è stato riportato che la produzione di birra con fino al 50% di coadiuvanti d'orzo ed enzimi può produrre birra con una buona attenuazione e stabilità del sapore [23;3].

Figura 4 – Orzo (Link)

2.1.2 Avena (*Avena sativa*)

Durante il medioevo era il cereale base per la fabbricazione della birra, ma attualmente ha perso quasi completamente significatività. Soltanto alcuni tipi speciali di avena, che hanno un ridotto contenuto in β-glucani, possono rivestire un certo interesse per caratterizzare birre speciali (tostate, aroma di biscotto). [12] La lavorazione dell'avena utilizzata in quantità fino al 20% consente la produzione di mosto di buona qualità, senza la necessità di enzimi esogeni [24]. È anche possibile produrre birre accettabili con un massimo del 40% di avena e senza enzimi esogeni, ma a condizione che l'avena venga macinata a martello (25). Tuttavia, la sostituzione del 20-40% di malto d'orzo con avena macinata a martello aumenta il contenuto di β-glucano del mosto e riduce significativamente la velocità di filtrazione [26; 25; 3].

Figura 5 – Avena (Link)

2.1.3 Frumento (*Triticum estivum*)

Grazie all'alta resa in estratto e all'elevato contenuto proteico dei malti di frumento, questi vengono usati particolarmente per la produzione di birre torbide, poiché molti consumatori considerano positiva e desiderabile questa caratteristica. [12] La farina di frumento può essere utilizzata direttamente nelle puree per infuso. Per ottenere un estratto più elevato, tuttavia, la farina può essere pre-ammollata o precotta, solitamente a 96 ° C per evitare la formazione di schiuma [27]. Questo assicura anche la gelatinizzazione dei suoi piccoli granuli di amido. La farina di frumento si ottiene quasi completamente dall'endosperma. Il germe e la crusca vengono rimossi, con conseguente aumento del contenuto di amido e diminuzione del contenuto di proteine, ceneri e grassi, con di conseguenza una maggiore resa dell'estratto [29]. Trattare con la farina può essere difficile, poiché richiede attrezzature specializzate, come tramogge e trasportatori speciali [27; 3].

Figura 6 – Frumento (Link)

2.1.4 Mais (*Zea mais*)

È il cereale più grande rispetto all'altezza della pianta e alle dimensioni del seme; è comunemente usato ovunque come aggiuntivo. In Italia è quello più usato. Fornisce un buon estratto e ha un basso contenuto proteico (7-9%). L'aggiunta di derivati di mais ha un impatto significativo sulle caratteristiche sensoriali della birra. [12] Con il mais si ottiene una birra dal gusto più pieno. Prima che il mais possa essere trasformato in grana o fiocchi per la fermentazione, i germi ricchi di olio devono essere rimossi [28; 21; 15]. Quando un birrificio utilizza un tino di filtrazione, non possono esserci quantità eccessive di riso o mais nella farina, perché il riso utilizzato è decorticato e la semola di mais non contiene bucce, che fungono da strato filtrante [21; 3].

Figura 7 – Mais (Link)

2.1.5 Miglio (*Panicum miliaceum*)

Cereale proveniente dalla Cina, si espanse in Oriente nell'Europa occidentale dove perse la sua importanza solo dopo l'introduzione della patata. Può essere usato per produrre birre speciali ad alta fermentazione che sono contraddistinte da un insolito ma piacevole odore dolciastro [12].

Figura 8 – Miglio (Link)

2.1.6 Riso (*Oryza sativa*)

Il riso contiene l'85-90% di amido. Non è di facile utilizzazione per la fabbricazione della birra. Tuttavia, quando si usa, conferisce al prodotto un sapore pieno e un profilo sensoriale unico. Se poi si usa il "riso nero" la birra assume anche un intenso colore rosso. [12] Attualmente, l'utilizzo del riso è per lo più limitato ai paesi asiatici, a causa del suo prezzo elevato. Vengono utilizzati chicchi spezzati, un sottoprodotto del riso coltivato per il consumo umano. Prima dell'ulteriore lavorazione, sono necessarie la rimozione della mondatura e la degermatura [29]. Di solito viene fornita una miscela di diverse varietà, il che si traduce in notevoli oscillazioni in termini di temperatura di

gelatinizzazione dell'amido e durata della separazione del mosto. Si ritiene che il riso conferisca alla birra un sapore neutro, secco, leggero e pulito [30; 3].

Figura 9 – Riso (Link)

2.1.7 Sorgo (*Sorghum bicolor*)

È molto diffuso nelle regioni più calde e siccitose dell'Africa, dove rappresenta il cereale più utilizzato per la fabbricazione della birra e, in particolare, delle birre lager. [12] Diversi studi hanno dimostrato che è nutrizionalmente superiore ad altri cereali come riso e frumento. È una buona fonte di nutrienti e contiene anche componenti speciali come i composti fenolici [4].

Figura 10 – Sorgo (Link)

2.1.8 Tritordeum (*X Tritordeum martinii*)

È l'anfiploide derivato dall'incrocio tra un orzo selvatico sudamericano (*Hordeum chilense Roem*. Et Schulz.) e il grano. Poiché questo anfiploide è ottenuto sia con frumento tenero (*Trilicum aestivum L.* em. Thell.) [31], che con il grano duro (*T. turgidum conv. durum Desf.* em. M.K.) [32], esistono tritordeum octoploidi ed esaploidi.

Figura 11 – Tritordeum (Link)

La loro produttività e il contenuto proteico sono stati determinati [31], ma non sono stati stabiliti altri parametri relativi alla qualità del grano. Il tritordeum esaploide è molto simile al grano tenero. Un valore medio di durezza del 35% per il tritordeum indica una macinazione morbida, mentre il contenuto di glutine è relativamente elevato (paragonato al grano duro e al grano tenero). Il valore medio di sedimentazione SDS del Tritordeum è accettabile per un frumento tenero (51 mL) e all'alveografo si evince che la farina macinata da questo cereale è molto forte rispetto al grano saraceno ma non rispetto al triticale. Il tritordeum presenta caratteristiche di grano e farina più simili a quelle del grano tenero rispetto a quelle del grano duro o del triticale [10].

2.1.9 Pseudocereali

I rappresentanti principali di questa categoria, ormai universalmente così definita, sono amaranto (*Amaranthus hypocondriacus* e *A. caudatus*), quinoa (*Chenopodium quinoa*) e grano saraceno (*Fagopyrum esculentum*). Questi pseudocereali condividono con il mais, il miglio, il riso e il sorgo la mancanza di glutine, sicché tutti possono essere convenientemente usati per l'ottenimento di birre *gluten-free* [12].

2.1.9.1 Grano saraceno

È una coltura comunemente coltivato in Asia e nell'Europa centrale e orientale, condivide somiglianze con l'orzo. I semi di grano saraceno sono costituiti prevalentemente da endosperma amidaceo commestibile e da uno strato di aleurone non amidaceo. Il grano saraceno comune (Fagopyrum esculentum) e il grano saraceno tartaro (Fagopyrum tataricum) sono i tipi di grano saraceno coltivati per il consumo umano. Come già riportato, il grano saraceno è utilizzato per la produzione di birre senza glutine ed è quindi importantissimo per la popolazione affetta da patologie come la celiachia. È anche riconosciuto come una buona fonte di proteine con alto valore biologico e composizione equilibrata di aminoacidi, lipidi, fibre alimentari e minerali. Combinato con altri composti benefici dal punto di vista medico, come flavonoidi, fagopirina e steroli di grano saraceno, ha recentemente attirato una crescente attenzione come coltura alternativa per la coltivazione biologica e come ingrediente per prodotti alimentari salutari. La rutina (quercetina-3-rutinoside), il principale flavonoide del grano saraceno, funge da ingrediente bioattivo nei prodotti farmaceutici come scavenger di radicali liberi e ha notevoli effetti antinfiammatori e immunomodulatori. La rutina non si trova in nessun cereale o pseudocereale ad eccezione del grano saraceno, quindi può essere usata come una buona fonte di rutina alimentare [8].

Figura 12 – Quinoa (Link)

Figura 13 - Grano saraceno (Link)

2.2 LUPPOLO (*HUMULUS LUPULUS*)

Il luppolo (*Humulus lupulus*) è una Cannabinacea dioica piuttosto diffusa, le cui infiorescenze femminili contengono sostanze aromatiche tra cui delle resine (umulone e lupolone) dotate di attività antisettiche e conservanti, dal caratteristico sapore amaro. Grazie a queste resine il mosto diviene più stabile e la birra assume quel caratteristico sapore amarognolo che la contraddistingue [12].

Figura 14 – Luppolo (Link)

3 TECNOLOGIE DI PRODUZIONE STANDARD

3.1 LA MALTIFICAZIONE

Il malto è il prodotto della modificazione enzimatica dell'orzo. Se ne possono avere di tre tipi: il malto primaverile, quello maggiormente usato, ricavato da orzo distico primaverile; il malto invernale proveniente da orzo esastico coltivato in inverno; il malto colorante, che ha subito un colpo di calore con conseguente caramellizzazione degli zuccheri, usato nella fase di cottura per correggere il colore del mosto finito. Per maltaggio si intende il processo di germinazione controllata. Le cariossidi sono immerse in vasche contenenti acqua alla temperatura di 10-16 °C per il tempo necessario a che l'umidità interna delle cariossidi raggiunga valori oscillanti tra il 42 e il 46%. Di solito sono richiesti da 6 a 9 giorni, durante i quali avviene la germinazione e la liberazione degli enzimi amilacei. Una corrente d'aria a temperatura stabilita e umidificata che attraversa le cariossidi stratificate porta alla modificazione richiesta dal tipo di birra che si vuole produrre. Il maltaggio si interrompe con l'asciugatura, detta anche torrefazione, che dura dalle 2 alle 4 ore e si divide nella fase di essicazione vera e propria e nel cosiddetto colpo di calore. La torrefazione riduce il tenore di

umidità, interrompendo la germinazione e orienta il colore, l'aroma e il gusto del prodotto finito [12].

Figura 15 - Il malto (Link)

3.2 LA PREPARAZIONE DEL MOSTO

Il malto deve essere macinato e miscelato con acqua. Per la macinazione si usano mulini e cilindri: comunemente a quattro cilindri, a sei per le birre lager. L'acqua svolge un ruolo fondamentale nel determinale la qualità del prodotto finito perché costituisce il 90-92% della birra; i Sali minerali in essa contenuti influenzano tutti i parametri organolettici, le reazioni enzimatiche e gli equilibri delle sostanze colloidali del mosto nel corso dell'intero processo. La durezza dell'acqua influenza il pH del mosto e il gusto della bevanda. Un valore di pH superiore a 5,5-5,6 durante le fasi di ammostamento e filtrazione provoca una maggiore estrazione delle sostanze polifenoliche e tanniche, le quali fanno imbrunire troppo la birra e le conferiscono un sapore molto astringente. Livelli troppo elevati di pH influenzano negativamente anche la coagulazione e la precipitazione delle proteine con il risultato di rendere il prodotto finito più torbido e instabile. È necessario disporre pertanto di un'acqua di processo che presenti adeguati valori di durezza e di pH. La saccarificazione è un processo diviso in due parti ben distinte. La prima parte, quella più delicata, vede riattivarsi gli enzimi del malto e deve essere attentamente monitorata. La seconda parte, meno critica, consiste in una semplice filtrazione al termine della quale il malto, ormai esausto, è separato dal mosto al quale si aggiunge il luppolo. Il mosto è pronto per essere "bollito". La bollitura (cottura) favorisce l'evaporazione dell'acqua in eccesso, l'estrazione dei componenti del luppolo e l'isomerizzazione dell'umulone, la precipitazione delle sostanze proteiche indesiderate, la disattivazione degli enzimi endogeni del malto o di quelli aggiunti e la sterilizzazione del mosto. Dopo la bollitura il mosto viene filtrato per la separazione del luppolo, chiarificato e raffreddato con scambiatori di calore a piastre o a cilindri; a questo punto, nella maggioranza dei casi, il mosto passa direttamente nei tini, dove viene aggiunto il lievito starter e dove avverrà la fermentazione primaria [12].

3.3 LA FERMENTAZIONE PRIMARIA

Nella birrificazione si distinguono tre tipi di fermentazione: la fermentazione alta, usata nella fabbricazione di birre tipo *Ale*, la fermentazione bassa, utilizzata per produrre birre di tipo *Lager* e la fermentazione spontanea. In entrambi i casi di

fermentazione controllata lo starter deve consentire una densità iniziale nel mosto intorno ai 15-20 milioni di cellule/mL e può consistere in una porzione di birra in attiva fermentazione (*kräusen*) oppure in una sospensione microbica molto densa preparata *ad hoc* in fabbrica. In alternativa si usa come inoculo una qualche forma di lievito conservato in pasta o come secco attivo. I due tipi di fermentazione controllata si differenziano essenzialmente per le temperature e per i lieviti adoperati; il resto dei processi è pressoché comune e consiste, tra l'altro, in: raccolta asettica del mosto, fermentazione a temperatura e pressione controllate, raccolta dell'anidride carbonica in eccesso e dissoluzione della medesima fino al livello desiderato, raffreddamento controllato fino al 3 °C e oltre per favorire la sedimentazione del lievito [12].

Figura 16 - Fermentazione primaria del mosto (Link)

3.4 LA FERMENTAZIONE SECONDARIA

Terminata la fermentazione primaria, la birra viene trasferita in grossi tini di maturazione a una temperatura compresa tra 0 e 2 °C per la durata di almeno 4-6 settimane per far depositare quanto è ancora in sospensione e far amalgamare il più possibile i componenti della birra. Durante la fase di maturazione la birra deve essere chiarificata o con un trattamento di prefiltrazione o con l'aggiunta di coadiuvanti tipo colla di pesce. Si rende necessario anche un trattamento di stabilizzazione per rendere la birra stabile dal punto di vista fisicho-chimico durante lo stoccaggio nei depositi [12].

Figura 17 - Seconda fermentazione in tank (Link)

3.5 CONDIZIONAMENTO E IMBOTTIGLIAMENTO

Il condizionamento della birra è diverso a seconda se il prodotto sia destinato a essere imbottigliato o messo in fusti per il consumo alla spina. Se si tratta di birra da consumarsi torbida (come la *Weissbier*) si procede direttamente all'imbottigliamento. Per le altre birre si effettua in condizioni iperbariche (per evitare la perdita di CO_2) la filtrazione e l'imbottigliamento seguito dalla pastorizzazione in bottiglia. In certi altri casi si può effettuare una pastorizzazione prima dell'imbottigliamento [12].

Figura 18 - Sistema di imbottigliamento uniblocco Bertolaso (Link)

4 I COADIUVANTI

La definizione di coadiuvante è cambiata nel corso degli anni. Attualmente, le aggiunte sono descritte come fonti di estratto diverso dal malto [33; 27]. Le aggiunte possono essere suddivise in base al loro stato della materia, in solidi e liquidi. Il primo gruppo comprende cereali non maltati come orzo, mais, riso e (di minore importanza) frumento, avena, sorgo, segale e triticale, insieme a pseudocereali non maltati (grano saraceno, amaranto, quinoa), manioca, teff e zucchero semolato (saccarosio) [23; 22]. Tutti tranne lo zucchero semolato richiedono di essere idrolizzati nel processo di ammostamento con malto o enzimi microbici esogeni. Gli additivi liquidi includono sciroppi a base di saccarosio, derivati dalla canna da zucchero o dalla barbabietola da zucchero e sciroppi di amido idrolizzato (estensori di mosto), nonché estratti di malto e sciroppi ottenuti da cereali idrolizzati (sostituti del mosto). Questi ultimi, oltre ai carboidrati, contengono composti azotati e minerali e la loro composizione è simile a quella del mosto di birra. Gli estratti di malto, forniti come luppolati e non luppolati, sono popolari tra i birrai casalinghi e i micro-birrifici. Le aggiunte liquide e lo zucchero semolato contengono zuccheri solubili e possono essere aggiunti al mosto finito bollente. Sono quindi chiamati coadiuvanti di rame o bollitore. Questi sono comunemente usati per produrre mosto ad alta gravità, che servono ad aumentare la resa del processo e di conseguenza la capacità di produzione dell'intero birrificio. La loro applicazione consente inoltre di regolare facilmente la fermentescibilità del mosto [14; 34]. Viene utilizzato anche il saccarosio, sia in forma solida che liquida, come disaccaride o zucchero invertito dopo l'idrolisi (una miscela di glucosio e fruttosio). Tuttavia, le soluzioni concentrate di zucchero tendono a cristallizzare, il che richiede una manipolazione e una conservazione a una temperatura costante di 40° o 50° C [27; 3].

4.1 SCIROPPI

Può essere utilizzata un'ampia varietà di sciroppi, con diverse composizioni di zuccheri fermentescibili (glucosio, maltosio, maltotriosio) e non fermentabili (maltotetraosio e oligosaccaridi superiori), a seconda del grado di idrolisi dell'amido a cui sono stati sottoposti. Gli sciroppi sono spesso classificati in base al loro valore equivalente di destrosio (valore DE), che corrisponde al contenuto percentuale di zuccheri riducenti, calcolato come glucosio (sebbene questo non fornisca un quadro completo dello spettro zuccherino nello sciroppo e di conseguenza della fermentabilità di il mosto integrato) [29]. Gli sciroppi ricchi di maltosio sono preferibili agli sciroppi ricchi di glucosio. Nel mosto ricco di glucosio, i lieviti hanno difficoltà ad adattarsi a metabolizzare maltosio e maltotriosio, che rallenta o arresta la fermentazione. Al giorno d'oggi, gli sciroppi derivati dall'amido sono ampiamente utilizzati dai birrifici su larga scala [14]. Gli sciroppi consentono di aumentare la gravità del mosto senza ulteriori investimenti nel birrificio. Inoltre, questi coadiuvanti consentono di superare i problemi di eterogeneità dei chicchi crudi, garantendo la composizione omogenea del mosto e della birra. Riducono anche lo spazio necessario per immagazzinare le materie prime dei cereali. L'uso di sciroppi o zucchero può consentire risparmi in termini di energia e materiali. Quando si utilizzano sciroppi o zucchero, il mosto può essere più diluito, facilitando l'estrazione e la separazione del mosto dalle materie prime. A causa della minore quantità di fanghi nel mosto vegetale, si riduce anche lo sporco delle cellule di lievito durante la fermentazione [3].

Figura 19 - Endozym Glucacel UHT - 250 gr (Link)

4.2 PROPORZIONE DEI COADIUVANTI

Come già accennato, la composizione chimica di particolari coadiuvanti varia, il che ha un impatto sulla qualità della birra. È essenziale comprendere queste relazioni al fine di regolare il processo di produzione, ad esempio selezionando preparati enzimatici appropriati o il programma di ammostamento ottimale [35; 36; 37]. La proporzione dei coadiuvanti del mosto nella macinatura dipende da molti fattori, tra cui il tipo e la qualità del coadiuvante, il metodo di pretrattamento, l'uso di preparati enzimatici, la qualità del malto, la procedura di ammostamento e il sistema di separazione del mosto. Quando si utilizzano grandi quantità di coadiuvanti di cereali, si consiglia di utilizzare filtri per mosto per ridurre il tempo di separazione del mosto. Senza l'uso di preparati enzimatici durante l'ammostamento, la proporzione di semola di mais o di riso nella farina non dovrebbe superare il 30-40%. Livelli di sostituzione

del malto superiori al 40% richiedono l'applicazione di *α-amilasi* [21; 38]. Tuttavia, con tali miscele di polvere la separazione del mosto nel tino di filtrazione può essere difficile [3].

4.3 ATTIVITÀ ENZIMATICA

Durante la maltazione vengono sintetizzati e attivati gli enzimi responsabili della degradazione dei componenti insolubili ad alto peso molecolare nei grani in composti solubili a basso peso molecolare. Le aggiunte mancano prevalentemente o totalmente di enzimi idrolitici. Inoltre, le loro strutture sono compatte, piuttosto che modificate (come nel malto), il che ostacola l'azione degli enzimi [39; 26; 20]. L'applicazione di coadiuvanti per il mosto di solito porta a una diminuzione del contenuto di estratto nel mosto. Livelli più bassi di malto nella farina generano un pool più piccolo di enzimi coinvolti nell'idrolisi dei componenti del malto come l'amido o le proteine e i componenti delle pareti cellulari [40]. Tuttavia, in un malto di buona qualità c'è un leggero eccesso di enzimi, che può anche degradare i composti introdotti tramite l'aggiunta di coadiuvanti [41]. Quando vengono sostituite quantità maggiori di malto, diventa necessario l'uso di preparati enzimatici esogeni. La gelatinizzazione dell'amido eseguita a temperature più elevate rispetto al mosto tipico contribuisce anche alla scomposizione dell'amido da parte degli enzimi amilolitici. L'uso di frumento, avena o orzo crudo in quantità superiori al 20% senza l'applicazione di enzimi esogeni provoca una diminuzione del contenuto di estratto di mosto e di conseguenza abbassa il contenuto alcolico finale nella birra [42; 43; 44; 24]. Le preparazioni enzimatiche possono contrastare questo problema. In virtù dell'alto contenuto di amido nel mais (73%) e nel riso (75%), al contrario, la loro aggiunta si traduce in un più alto livello di estratto nel mosto e in una maggiore attenuazione [3].

4.4 FERMENTESCIBILITÀ

Il cambiamento nella composizione zuccherina del mosto che risulta dall'introduzione di aggiunte può avere un'influenza significativa sulla crescita del lievito e sulle prestazioni di fermentazione [45]. Pertanto, un'elevata concentrazione di saccarosio o glucosio nel mosto, come conseguenza dell'applicazione di glucosio o sciroppi di saccarosio al mosto o allo zucchero semolato per ottenere mosto ad alta gravità, può ritardare o addirittura sopprimere l'utilizzo di maltosio e maltotriosio durante la fermentazione [46; 34]. Ciò è particolarmente importante quando i lieviti immagazzinati vengono utilizzati nel mosto, poiché solo i lieviti raccolti immediatamente dopo la fermentazione principale e inoculati in mosto nuovo sono adatti a metabolizzare maltosio e maltotriosio [45]. Inoltre, l'aumento della gravità del mosto rappresenta una minaccia per le prestazioni della fermentazione. È associato sia a una pressione osmotica elevata che alla diluizione di nutrienti essenziali come aminoacidi, minerali, acidi grassi e vitamine [45; 47]. Un deterioramento della vitalità del lievito, della crescita e delle prestazioni di fermentazione è stato osservato in terreni altamente concentrati da [48] e [49]. Studi di [14] confermano anche che l'aumento della gravità del mosto, causato dall'aggiunta di glucosio o sciroppi di maltosio, provoca una diminuzione del tasso di crescita del lievito, un allungamento della fase di latenza che precede la sintesi dell'etanolo, un assorbimento incompleto di zucchero e un aumento delle concentrazioni di acetato di etile e acetato di isoamile nella birra.

Inoltre, quando sono state confrontate le prestazioni di fermentazione dei mosti integrati con glucosio e sciroppi di maltosio, è stato riscontrato che il mosto arricchito con maltosio fornisce un tasso di crescita delle cellule di lievito più elevato, una migliore fermentabilità del mosto e una qualità del sapore del prodotto finale superiore [14]. È stato anche dimostrato che la vitalità del lievito coltivato nel mezzo di maltosio è superiore a quella del mezzo di glucosio [29]. Questo spiega perché gli sciroppi di maltosio sono preferiti per la produzione di birra ad alta gravità [4].

5 I PARAMETRI DI QUALITÀ DELLA BIRRA

5.1 PRINCIPALI MOLECOLE CARATTERIZZANTI

5.1.1 Azoto assimilabile (FAN – free amino nitrogen)

L'azoto assimilabile (FAN) viene utilizzato per la sintesi di proteine enzimatiche e strutturali, necessarie per la crescita del lievito e per altre reazioni metaboliche. Un livello adeguato di FAN è necessario per una moltiplicazione efficiente del lievito e una buona prestazione di fermentazione. Gli amminoacidi, come gli zuccheri, vengono utilizzati in sequenza. Secondo l'ordine di assorbimento, sono classificati in quattro gruppi. Arginina, asparagina, aspartato, glutammato, glutammina, lisina, serina e treonina (gruppo A) vengono assorbite per prime, seguite da istidina, isoleucina, leucina, metionina e valina (gruppo B). Alanina, glicina, fenilalanina, tirosina, triptofano (gruppo C) e ammoniaca vengono utilizzati solo dopo l'esaurimento degli amminoacidi del gruppo A. La prolina da sola rappresenta il gruppo D. Nonostante sia presente in grandi quantità nel mosto, la prolina può essere assimilata solo dal lievito di birra durante la fermentazione in condizioni limitate di azoto. I sostituti del malto, siano essi utilizzati per l'ammostamento o aggiunti durante la bollitura, riducono il contenuto di sostanze contenenti azoto, inclusi sia i composti ad alto peso molecolare che le fonti di azoto per il lievito di birra. A causa della limitata attività proteolitica extracellulare del lievito, sono assimilabili solo gli amminoacidi, gli ioni ammonio e alcuni di e tripeptidi. L'utilizzo di coadiuvanti può modificare la proporzione dei diversi amminoacidi nel mosto. In uno studio di [18], la sostituzione completa del malto con l'orzo non maltato porta ad un aumento del 15% degli amminoacidi ad assorbimento rapido e ad una diminuzione dall'8% al 28-30% dell'amminoacido non adsorbito (prolina) [3].

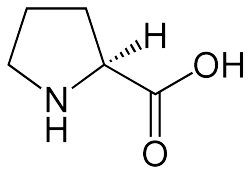

Figura 20 – Prolina (Link)

5.1.1.1 Sostanze azotate e lievito

Quando le fonti di azoto disponibili sono limitate nel mosto prodotto con l'aggiunta, l'assorbimento di amminoacidi specifici da parte del lievito procede in modo diverso da quello del mosto di malto e il grado di utilizzo FAN è più alto. La limitazione degli amminoacidi nel mosto può stimolare l'utilizzo di peptidi. La crescita del lievito è deteriorata nei terreni contenenti dipeptidi rispetto ai terreni in cui gli amminoacidi o

il solfato di ammonio sono le uniche fonti di azoto. Si ritiene che fino a 400 dipeptidi diversi e 8000 tripeptidi siano presenti nel mosto di malto. Tale complessità rende più difficile capire come vengono utilizzati questi composti. Si ritiene inoltre che i peptidi a basso peso molecolare abbiano un'influenza negativa sulla stabilità della schiuma. Il livello di FAN inferiore ottenuto con l'aggiunta di cereali grezzi deriva dall'attività trascurabile degli enzimi che degradano le proteine ad alto peso molecolare, rendendole spesso insolubili nel mosto da cui vengono separate durante la filtrazione con altri materiali insolubili. Inoltre, alcuni cereali, come il mais e il riso, non sono ricchi di proteine come l'orzo crudo e di conseguenza il malto d'orzo. Gli sciroppi e lo zucchero semolato, nel frattempo, non introducono alcun nutriente, come i composti azotati, diversi dai carboidrati [29]. La limitazione dell'azoto osservata nei mosti ottenuti con l'aggiunta di coadiuvanti, in particolare nei mosti ad alta gravità, può portare a una scarsa vitalità del lievito e alla fermentazione ritardata o lenta. Tuttavia, le aggiunte possono anche modificare la composizione dei composti azotati nel mosto in modo significativo, determinando ad esempio quali amminoacidi o peptidi diventano predominanti. Va notato che a causa dell'utilizzo del coadiuvante viene alterata anche la concentrazione di altri nutrienti, come ioni inorganici o vitamine, il che ha un ulteriore impatto sulla crescita del lievito [3].

5.1.1.2 Sostanze azotate e caratteristiche organolettiche

La concentrazione di alcuni singoli amminoacidi nel mosto può anche avere un impatto sul sapore della birra. Si ritiene che concentrazioni più elevate di valina nel mosto e di conseguenza un maggiore assorbimento di valina e concentrazione intracellulare nelle cellule di lievito causino una minore produzione di diacetile durante la fermentazione. Il diacetile conferisce un aroma di burro associato al sapore della birra acerba. I cambiamenti nella composizione e nella quantità di amminoacidi che risultano dall'uso di coadiuvanti possono quindi alterare il sapore della birra. Ciò è principalmente correlato in primis alla formazione di alcoli superiori, e poi agli esteri, in quantità diverse rispetto alla birra prodotta completamente con il malto. Le concentrazioni più basse di aminoacidi e piccoli peptidi nei mosti prodotti con aggiunte possono conferire alle birre un gusto molto più delicato. Possono influire sul sapore anche la struttura e la quantità di carboidrati. La produzione di birra ad alta gravità è associata a concentrazioni sproporzionatamente elevate di esteri, principalmente acetato di etile e acetato di isoamile. Gli esteri dell'acetato, inclusi l'acetato di etile e l'acetato di isoamile, sono gli esteri predominanti nella birra. L'acetato di etile conferisce un sapore fruttato e l'acetato di isoamile un sapore di banana. Si ritiene che concentrazioni eccessive di questi esteri abbiano un'influenza negativa sul sapore della birra. Durante la fermentazione del mosto integrato con sciroppi di glucosio, vengono prodotte quantità più elevate di esteri dell'acetato rispetto al mosto di malto o al mosto integrato con sciroppi di maltosio, anche nel caso di livelli FAN simili. La ragione di ciò non è completamente compresa; può essere collegato all'inibizione da parte del maltosio del trasporto di composti volatili dalle cellule di lievito o alla formazione di quantità inferiori di acetil-CoA durante il metabolismo del maltosio. Pertanto, a causa della disponibilità limitata di acetil-CoA, che è un substrato nella produzione di esteri, vengono prodotte quantità minori di esteri. Per i mosti a gravità normale, l'integrazione con aggiunte liquide porta anche a un contenuto di esteri più elevato nella birra. Anche i composti azotati a basso peso molecolare, in particolare gli amminoacidi e i peptidi

a basso peso molecolare, hanno un impatto sul colore della birra, poiché prendono parte alle reazioni di Maillard e Strecker. I composti di Maillard includono composti eterociclici, che si formano in reazioni complesse e differenziali tra zuccheri riducenti e proteine, peptidi, amminoacidi e ammine. Concentrazioni eccessivamente elevate di composti di Maillard portano all'oscuramento, all'invecchiamento prematuro e alla comparsa di un sapore di pane e stantio. Pertanto, una minore concentrazione di composti azotati a basso peso molecolare, come risultato dell'applicazione aggiuntiva, può limitare la formazione di composti che deteriorano l'aroma, il gusto e il colore della birra. Negli studi di [23] il malto d'orzo nel macinato è stato sostituito con l'orzo crudo in proporzioni dal 10 al 90%. È stato osservato che all'aumentare della quantità di orzo non maltato nel macinato, la stabilità ossidativa della birra migliorava grazie al contenuto inferiore di specifici prodotti di reazione Maillard intermedi, che accelerano la generazione di radicali. Inoltre, durante la conservazione della birra sono state sintetizzate quantità inferiori di indicatori ossidativi specifici (2-metil- e 3-metil-butanale). Studi di [20] hanno mostrato una riduzione quasi doppia nella formazione di composti di invecchiamento nella birra prodotta completamente con orzo non maltato rispetto alla birra tutto malto. La diminuzione del contenuto di FAN significa anche un pool più piccolo di precursori per le aldeidi di Strecker, che vengono generate durante l'invecchiamento della birra. Le aggiunte determinano non solo livelli di FAN inferiori nel mosto rispetto al malto, ma generano anche meno reazione di Maillard prodotti e aldeidi di Strecker che si formano durante l'essiccazione del malto [3].

5.1.2 Dimetil-solfuro (DMS)

Il dimetil-solfuro ad alte concentrazioni conferisce alla birra il sapore del mais dolce cotto. Si dice che il malto d'orzo sia la principale fonte di S-metilmetionina (SMM), che è un precursore del DMS [50]. Pertanto, una percentuale inferiore di malto nella farina può diminuire il contenuto di DMS nel mosto. D'altra parte, i precursori di DMS sono presenti anche in aggiunte come i cereali non maltati [51]. È stato dimostrato che i precursori del DMS nel mais, ad esempio, possono essere completamente convertiti in DMS durante l'ebollizione del mosto. Inoltre, va ricordato che i cereali che contengono amido con alte temperature di gelatinizzazione, devono essere gelatinizzati in pentole per cereali prima di essere mescolati al mosto. Questo passaggio accelera la degradazione dei precursori del DMS e la sua successiva evaporazione [16]. Pertanto, la sostituzione del malto con un'aggiunta può alterare la concentrazione di DMS nella birra [3].

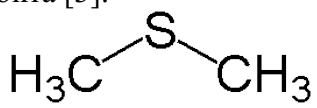

Figura 21- Dimetil solfuro (Link)

5.1.3 Polifenoli

I polifenoli sono metaboliti secondari delle piante, che contengono almeno un anello aromatico legato al gruppo idrossile o altri elementi strutturali. Possono essere suddivisi in quattro categorie, a seconda del tipo e del numero dei loro residui fenolici: acidi fenolici, flavonoidi, stilbeni e lignani. Nella birra, il 70-80% dei polifenoli deriva dal malto d'orzo e il resto dal luppolo. La sostituzione del malto con dei coadiuvanti porta solitamente ad una diminuzione del contenuto di polifenoli, e non solo nel caso dei coadiuvanti liquidi, che sono composti principalmente da zuccheri e privi di

polifenoli. Nella ricerca di [42], l'uso del 40% di grano non maltato nel macinato ha causato una riduzione fino a due volte del contenuto di polifenoli della birra. Negli studi di [52], è stata ulteriormente osservata una diminuzione del contenuto di polifenoli nel prodotto finale con l'uso di orzo crudo, anche se solo con un'alta percentuale di orzo (75 o 90%). Ad esempio, nella birra prodotta con il 75% di orzo, il contenuto di polifenoli era di 143 mg/L, contro 157 mg/L della birra tutto malto. È stato ampiamente descritto che i polifenoli sono potenti antiossidanti. Tuttavia, vi è disaccordo sul ruolo dei polifenoli come antiossidanti nel mosto e nella birra. I polifenoli costituiscono numerose molecole con strutture differenti e agiscono attraverso vari meccanismi. I polifenoli a basso peso molecolare sono generalmente considerati dotati di capacità antiossidante: all'aumentare del loro peso molecolare, la loro attività diminuisce. I polifenoli possono funzionare come scavenger di radicali liberi, agenti riducenti, quencher di ossigeno singoletto e chelanti di metalli di transizione bivalenti come ferro e rame. I polifenoli possono rilasciare elettroni facilmente alle specie di radicali liberi, generando radicali fenossi, che sono relativamente stabili [53]. D'altra parte, possono anche agire come pro-ossidanti, trasferendo elettroni a ioni di metalli di transizione. Possono ridurre Fe (III) a Fe (II) e Cu (II) a Cu (I), metalli che sono inclini all'ossidazione tramite reazioni di Fenton e Haber-Weiss. Proantocianidine e flavonoli possono potenzialmente promuovere la formazione di specie di ossigeno radicale [3].

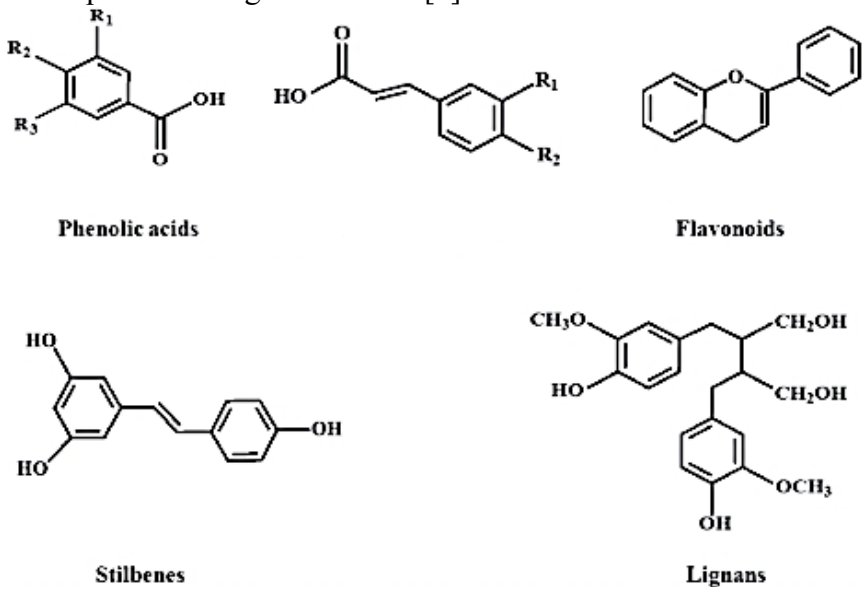

Figura 22 - Strutture dei principali polifenoli presenti nella birra (Link)

5.1.3.1 Polifenoli e proprietà organolettiche

I polifenoli hanno anche un'influenza sul sapore della birra. I flavonoidi conferiscono alla birra astringenza e influiscono sull'aroma generale del luppolo. Pertanto, il livello di questi composti nella birra può influenzare sia il sapore che la stabilità del sapore. I polifenoli ad alto peso molecolare svolgono un ruolo nella formazione di torbidità. Durante il processo di fermentazione, i polifenoli dovrebbero legare proteine ricche di prolina attiva in complessi stabili, che precipitano e possono essere rimossi. Tuttavia, senza un trattamento adeguato, può formarsi torbidità attraverso la formazione di complessi proteine-polifenoli durante la conservazione della birra. La torbidità "fredda" (non permanente) scompare dopo il riscaldamento, ma durante l'ulteriore

conservazione si possono formare forti legami tra i polifenoli condensati (chiamati tannoidi) e le proteine, portando a una torbidità irreversibile. Pertanto, ci sono due modi in cui i coadiuvanti possono influenzare la stabilità colloidale. Possono contribuire ad abbassare sia la quantità di proteine attive per la torbidità, a causa della ridotta attività proteolitica e di polifenoli nella birra. Questo di solito si traduce in una migliore stabilità colloidale della birra. Studi di [42] mostrano che la sostituzione del malto con il 40% di frumento riduce il rischio di formazione di foschia permanente in modo più efficace rispetto a una sostituzione del 20%. L'applicazione del riso dà un effetto simile. L'uso di sciroppi, privi di polifenoli e proteine, può anche migliorare la stabilità colloidale della birra [3].

5.1.4 Beta-glucani

Durante la maltazione, vengono sintetizzati e attivati enzimi che degradano i componenti delle pareti cellulari (inclusi b-glucano e arabinoxilani). A causa della mancanza di questi enzimi, il β-glucano non degradato è presente nei cereali non maltati e nel mosto vengono rilasciate quantità maggiori di β-glucano rispetto a quando si utilizza solo malto. In particolare, è possibile estrarre quantità maggiori di β-glucano se per l'ammostamento vengono utilizzati grani finemente macinati [54; 55]. Il β-glucano può causare problemi come mosto viscoso, separazione lenta del mosto, basso recupero di estratto, filtrazione lenta della birra, rischio di torbidità e necessità di grandi quantità di coadiuvanti di filtrazione. Questi effetti sono stati confermati da [36; 13; 52; 26] in processi che coinvolgono orzo, triticale o avena. Per ridurre al minimo l'impatto indesiderato del β-glucano, è necessario utilizzare malto con elevata attività *β-glucanasi* o applicare la *β -glucanasi* microbica o la *cellulasi* al mosto. Mais, frumento e riso, che hanno livelli molto più bassi di β-glucano rispetto al malto d'orzo, non dovrebbero aumentare la viscosità del mosto e della birra. Nei purè fatti con grano, segale o triticale, i pentosani possono più comunemente dare origine a problemi di produzione. L'uso di sciroppi, che non contengono né β-glucani né arabinoxilani, non causa tali problemi e può addirittura ridurre le difficoltà derivanti dalla lavorazione di malti poco modificati o disomogenei. D'altra parte, il β-glucano può contribuire positivamente al sentore di corposità al palato [3].

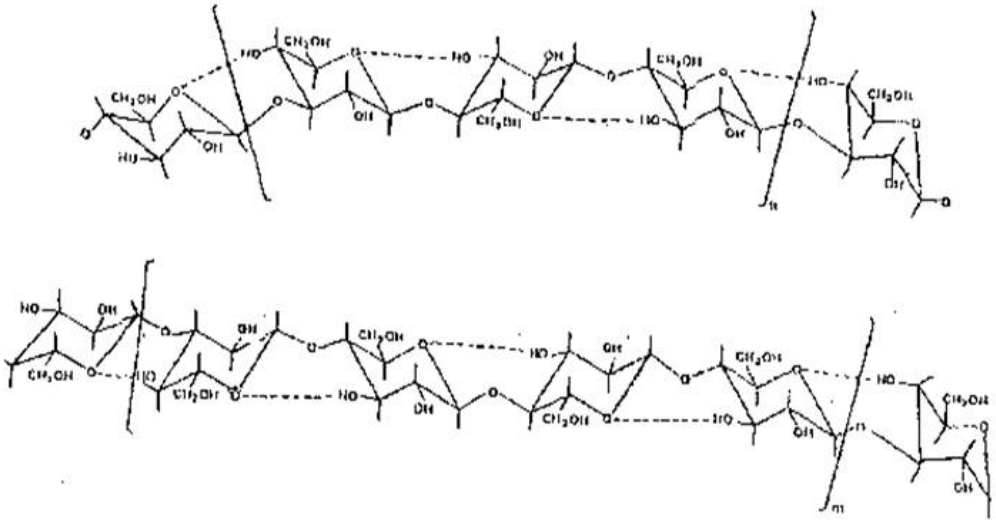

Figura 23 - Struttura generica del β-glucano (Link)

5.2 PARAMETRI FISICI IMPORTANTI

5.2.1 pH

Le aggiunte di solito hanno un'influenza sul pH del mosto e del mosto a causa del loro ridotto potere tampone. Il valore del pH del mosto è molto importante per l'attività enzimatica e di conseguenza per il recupero dell'estratto. Si consiglia di acidificare i pastoni aggiunti fino a un valore di pH di circa 5.4-5.5. Ciò si traduce anche in una ridotta viscosità e una migliore filtrazione. L'acidificazione aiuta inoltre a mantenere livelli accettabili di colorante durante l'ebollizione e potenzia l'attività delle fosfatasi, aumentando così il potere tampone del mosto. Un'ulteriore acidificazione del mosto bollente è desiderabile prima della colata, poiché è utile per la precipitazione di proteine instabili e conferisce una piacevole amarezza alla birra senza danneggiare la resa dell'amaro. Una capacità tampone inferiore si traduce in una maggiore diminuzione del pH durante la fermentazione e, di conseguenza, fornisce alla birra un valore di pH inferiore. Il pH basso favorisce la scomposizione dell'α-acetolattato, noto come "potenziale diacetile", in diacetile libero, che viene poi ridotto dal lievito ad acetoina e 2,3-butandiolo. La degradazione del diacetile al di sotto della sua soglia aromatica è un prerequisito per la maturazione della birra. Valori di pH inferiori possono quindi ridurre il tempo di maturazione necessario per la riduzione del diacetile. Per quanto riguarda l'influenza di particolari coadiuvanti sul mosto pH, la letteratura sull'orzo crudo è ambigua. È noto che l'introduzione di orzo non maltato produce mosto con pH sia più alti che più bassi e l'uso di avena o sorgo aumenta il pH del mosto [3].

5.2.2 Stabilità della schiuma

La stabilità della schiuma della birra dipende principalmente dall'interazione di proteine/polipeptidi provenienti dal malto e iso-α-acidi dal luppolo. Le proteine/polipeptidi ad alto peso molecolare, tra cui la proteina Z, la proteina di trasferimento dei lipidi 1 (LTP1), le ordeine e l'inibitore-1 della *α-amilasi* dimerica dell'orzo (BDAI-1) si sono dimostrati efficaci nello stabilizzare la schiuma della birra. Il malto è una fonte non solo di proteine che promuovono la schiuma, ma anche di altri componenti schiumogeni e negativi, come β-glucano, melanoidine, polifenoli e lipidi. Se si utilizzano cereali non maltati per sostituire il malto nella macinatura, la composizione chimica del mosto e della birra viene alterata, compreso il contenuto di proteine/polipeptidi e lipidi, che sono della massima importanza per la stabilità della schiuma. I cereali non maltati contengono proteine che non vengono degradate durante la maltazione e il mosto può quindi contenere proteine/polipeptidi ad alto peso molecolare, che possono avere un effetto positivo sulla stabilità della schiuma di birra. È stato dimostrato che più i chicchi d'orzo vengono modificati durante la maltazione (cioè più alto è l'indice di Kolbach), minore è la stabilità della schiuma della birra. Tuttavia, la ricerca non è stata conclusiva riguardo all'impatto di particolari coadiuvanti sulla stabilità della schiuma. È stato affermato, ad esempio, che nonostante il contenuto proteico simile nel grano e nell'orzo, il grano apporta al mosto una maggiore quantità di proteine ad alto peso molecolare [3]. [42] hanno dimostrato che il grano possiede composti schiumogeni che migliorano la stabilità della schiuma della birra prodotta da malto eccessivamente modificato, ma quando la farina di frumento è stata mescolata con malto ad alto potenziale schiumogeno, la stabilità della schiuma

della birra si è deteriorata. Altri studi hanno indicato che i β-glucani e gli arabinoxilani del grano possono ridurre il drenaggio del liquido dalla schiuma aumentando la viscosità della birra e di conseguenza aumentare la stabilità della schiuma. [56; 57] hanno scoperto che la sostituzione del malto con il 20 o il 40% di orzo grezzo migliorava la stabilità della schiuma fino al 20%. Ciò può essere associato alla maggiore quantità di proteine ad alto peso molecolare nel mosto prodotto con l'orzo non maltato. Questi autori hanno anche riscontrato che l'uso di sciroppi è dannoso per la stabilità della schiuma, ma solo se utilizzato in quantità superiori al 25%. Ciò può essere sorprendente, se si tiene conto del fatto che gli sciroppi non apportano alcun composto positivo dal punto di vista della stabilità della schiuma. Tuttavia, non contengono nemmeno componenti che danneggiano la schiuma come i lipidi, diluendo i loro livelli nel prodotto finale. Inoltre, come mostrato negli studi di [58; 59], nella birra tutto malto possono esserci da due a tre volte più composti che promuovono la schiuma di quelli necessari per generare una schiuma stabile. In conclusione, la stabilità della schiuma della birra prodotta con l'aggiunta di piccole quantità di coadiuvanti non dovrebbe deteriorarsi. Tuttavia, quantità maggiori di aggiunte, in particolare a basso contenuto proteico come mais o riso, possono avere un impatto negativo sulla stabilità della schiuma del prodotto finale. Il contenuto di lipidi nell'aggiunta non è meno importante. L'uso di materie prime ricche di lipidi, come il mais, richiede la rimozione preventiva degli strati di grano in cui si trovano i lipidi [3].

5.3 PRO E CONTRO DELL'UTILIZZO DI COADIUVANTI

L'utilizzo di coadiuvanti può ridurre i costi di lavorazione, poiché producono un estratto meno costoso del malto. Le aggiunte possono anche aiutare a risparmiare energia e acqua, eliminando la necessità di processi di essiccazione, germinazione e macerazione. Di conseguenza, l'impronta di carbonio della produzione di birra potrebbe essere ridotta. L'uso di aggiunte liquide o zucchero consente di aumentare la forza del mosto e della birra, senza ulteriori investimenti nel birrificio. L'uso di aggiunte liquide o zucchero può anche ridurre la durata del processo di fermentazione. Questi coadiuvanti consentono inoltre di superare alcuni problemi di utilizzo dei cereali crudi, come l'eterogeneità, garantendo la composizione omogenea del mosto e della birra. Riducono inoltre lo spazio necessario per conservare le materie prime dei cereali. L'uso di accessori in rame può fornire risparmi in termini di energia e materiali. Quando si utilizzano aggiunte di rame, il mosto può essere più sottile, facilitando l'estrazione e la separazione del mosto dalle materie prime. A causa della minore quantità di fanghi nel mosto vegetale, si riduce anche lo sporco delle cellule di lievito durante la fermentazione. L'uso di coadiuvanti può inoltre essere benefico per le proprietà della birra. La preparazione con le aggiunte di solito produce birre con una migliore stabilità colloidale. Ciò è attribuibile al loro contenuto proteico inferiore, in particolare quando vengono utilizzati coadiuvanti di rame o cereali scarsamente proteici, come mais o riso. La stabilità colloidale è ulteriormente rafforzata dalle riduzioni del contenuto di polifenoli che si verificano quando il malto d'orzo viene sostituito con coadiuvanti di rame (che non contengono polifenoli) o con coadiuvanti di cereali (che contengono livelli inferiori di polifenoli estraibili). La sostituzione del malto con aggiunte, inoltre, rende la birra più leggera, il che nella maggior parte dei casi è favorevole. Una benefica diminuzione dei precursori del sapore stagnante nella birra è un altro risultato dell'uso aggiuntivo, a causa dei livelli di azoto più bassi. Infine,

alterando gli spettri di zuccheri e amminoacidi che risultano dall'uso di materie prime non maltate, è possibile apportare modifiche ai profili di sapore delle birre. Questo dà ai birrai la capacità di sviluppare prodotti finali con nuove caratteristiche sensoriali. D'altra parte, bassi livelli di proteine solubili possono comportare una birra meno corposa e una minore ritenzione di schiuma. L'assenza di trebbie in molte aggiunte può essere un altro problema, limitandone l'uso se il mosto deve essere separato nel tino di filtrazione. Alcuni cereali grezzi introducono carboidrati ad alto peso molecolare e non fermentabili rendere l'elaborazione più difficile. Un rischio quando si usano i contenitori per il mash è che potrebbero esserci quantità insufficienti di enzimi dal malto per eseguire la saccarificazione dell'amido o per degradare le trebbie e l'emicellulosa, causando problemi di filtrazione. Potrebbe anche esserci una quantità insufficiente di enzimi per abbattere le proteine e garantire un livello appropriato di FAN nel mosto e di polipeptidi schiumogeni nella birra. Uno degli svantaggi più significativi dell'uso dei coadiuvanti è, infatti, il basso contenuto di composti azotati assimilabili disponibili per il lievito. Questo può avere un'influenza negativa sulla fermentazione della birra. La maggior parte dei problemi legati alla scomposizione inefficace dei polimeri dai grani grezzi possono essere superati, tuttavia, mediante l'applicazione di enzimi esogeni [3].

6 PRODUZIONE DI BIRRA CON MALTO TRITORDEUM

Tecnica di produzione e dati estrapolati dall'articolo scientifico [11].

Lo scopo dello studio preso in esame è quello di studiare il potenziale del malto al tritordeum nella produzione di birra. Inizialmente lo studio si è concentrato sull'analisi del grano e poi sull'influenza della quantità di malto tritordeum nella miscela sull'andamento delle fasi successive della produzione della birra. I campioni includono una proporzione dello 0% (campione di controllo, composto esclusivamente da malto d'orzo), una piccola aggiunta (10%) di malto tritordeum, una proporzione del 50% e birra a base di malto tritordeum al 100%. I risultati ottenuti sono tanto più interessanti perché ad oggi gli autori non hanno familiarità con altre ricerche scientifiche sul tritordeum nella produzione di birra [11].

6.1 MACINAZIONE, AMMOSTAMENTO E FILTRAGGIO

I mash a base di malto vengono preparati in un bagno di ammostamento chiamato MashBathR12 (Il bagno di ammostamento è un'apparecchiatura popolare utilizzata principalmente nei laboratori di birrerie e aziende di malto. Lo scopo principale di questa apparecchiatura è quello di schiacciare i grani a una temperatura compresa tra 45° C e 72° C. A questa temperatura, i chicchi schiacciati vengono poi convertiti in zucchero tramite reazioni enzimatiche [60]) collegato a un PC (1-CUBE, Havlíˇckův Brod, Repubblica Ceca) secondo il metodo EBC 4.5.1. (Analytica EBC, European Brewery Convention, 1998). A tal fine, 50 g di miscele di malto (10%, 50%, 100% di malto tritordeum) e 50 g di campione di riferimento (100% di malto d'orzo) vengono macinati in un mulino a dischi e pesati in contenitori di poltiglia catramata, posto in un apparecchio riscaldato ad acqua a 45° C. Successivamente, vengono versati

200 mL di acqua distillata a 45 ° C e viene tenuta costante la temperatura per almeno 30 minuti. Successivamente, viene aumentata la temperatura a una velocità di 1° C/min fino a raggiungere i 70° C, con costante agitazione dei campioni. Quando l'apparecchio raggiunge i 70° C, vengono riscaldati alla stessa temperatura 100 mL di acqua e vengono aggiunti alle tazze, Per poi mantenere la temperatura costante per 1 ora. I contenitori vengono poi raffreddati a 20° C e riempiti con acqua distillata fino a una massa di 450 g e filtrati attraverso un filtro di carta. Per garantire un'elevata limpidezza, le prime porzioni del filtrato vengono fatte ricircolare. Prima dell'ebollizione, si analizzano i principali parametri di qualità del mosto [11].

6.2 BOLLITURA

II mosto ottenuto (200 g) viene bollito in palloni a fondo tondo riscaldato fino al punto di ebollizione (entro circa 10 minuti) in un mantello riscaldante. All'inizio del processo di ebollizione, al mosto viene aggiunto luppolo della varietà Lomik (4,6% di alfa acidi) alla quantità di 3,5 g/L. Per ridurre l'evaporazione, sono stati utilizzati condensatori a riflusso. Dopo 60 minuti di ebollizione, le trebbie calde vengono rimosse dal mosto mediante un filtro di carta, successivamente i campioni vengono raffreddati a 20° C. Prima dell'inoculazione, vengono analizzati i parametri di qualità chiave del mosto [11].

6.3 INOCULO E FERMENTAZIONE

140 g di mosto luppolato vengono inoculati direttamente con 0,58 g di sostanza secca/L di *S. cerevisiae* (US05) e fermentati in fiasche Erlenmeyer con tappo di gomma con tubi di fermentazione. I campioni vengono fermentati a 20° C in una camera termostatica Q-CELL con misurazioni giornaliere della perdita di peso. Quando si ottiene una perdita di peso inferiore a 0,2 g/L/giorno si è al termine della fermentazione primaria e si procede quindi con l'analisi della birra. Tutte le attività durante le fasi di inoculo e fermentazione vengono eseguite in condizioni sterili. I risultati sono presentati come la media di tre o più esperimenti replicati indipendenti con le barre che rappresentano la deviazione standard [11].

6.4 PARAMETRI DEL CEREALE

La prima fase della valutazione del potenziale del malto tritordeum nella produzione di birra è stata l'analisi dei cereali. La tabella 1 mostra un confronto dei parametri di qualità del malto tritordeum con quelli del malto d'orzo (riferimento). In generale, i grani di tritordeum hanno valori simili dei parametri analizzati, sebbene alcuni di essi siano statisticamente significativamente differenti dal campione di controllo. L'umidità osservata del malto tritordeum (6,85%) è superiore a quella del malto d'orzo (6,47%). Queste differenze possono essere dovute più alle condizioni di trasporto e conservazione del grano che all'ultima fase della maltazione, cioè l'essiccazione. Di solito il contenuto di umidità dei malti è dell'1,5-6%; nel caso del campione di controllo è stato anche leggermente superato. Nella produzione commerciale di malto, l'umidità è raramente troppo bassa, con conseguente eccessiva frattura del grano. Poiché il malto è igroscopico, è importante determinare il limite di umidità superiore, poiché può variare nel tempo. Inoltre, molti dei parametri di qualità sono espressi per

unità di sostanza secca invece che per massa del campione, che oscilla. Non ci sono differenze statisticamente significative tra il peso di mille chicchi (circa 37 g) ottenuto per il tritordeum e l'orzo. Il peso di mille chicchi è correlato alla granulometria e al contenuto di amido. Per il malto d'orzo, di solito ammonta a circa 28-38 g nel caso del malto essiccato all'aria che è simile ad es. per il sorgo (solitamente superiore a 28 g) ma alcune varietà di sorgo bianco possono mostrare valori inferiori (anche 17 g), il che è indesiderabile nella produzione di birra. In uno studio di [10] sull'uso del tritordeum nell'industria alimentare, il peso di mille chicchi di tritordeum era in un ampio intervallo da 28 a 44 g. Tuttavia, la loro granulometria più omologa consente di macinare anche il malto senza il rischio di lasciare i chicchi non macinati o, al contrario, macinati in farina. In caso di successivo utilizzo di un tino di filtrazione, la farina aumenterebbe notevolmente il tempo di filtrazione. Il valore di valutazione dovrebbe essere almeno dell'85% [61]. In questo test, una quantità molto elevata di grani di tritordeum (97%) è rimasta sopra ai 2,5 mm (grado 1), il che dimostra un alto valore tecnologico di questo cereale per la produzione di birra, in relazione al parametro misurato. Inoltre, i grani di tritordeum, analogamente al campione di controllo, erano farinosi (vetrosità inferiore al 2%), il che può dimostrare un alto contenuto di amido e una grande quantità di estratto nel mosto in una fase successiva. [11]

Tabella 1 – Analisi del malto da tritordeum e orzo.

Malto	Umidità (%)	Peso di 1000 grani (g)	Vetrosità (%)	Classificazione >2,5 mm (%)	Temp. di gelatinizzazione (C°)
Tritordeum	6,85 ± 0,01[a]	37.07 ± 0,21	1,06 ± 0,57[a]	96,98 ± 0,02[a]	65,6 ± 1,9
Orzo	6,47 ± 0,09[b]	36,00 0,40	1,26 ± 0,06[b]	94,00 ± 0,55[b]	64,7 ± 0,25
sig.*	***	ns	**	***	ns

a Sig.: significativo; * indica la significatività allo 0,5% per la differenza meno significativa; ns: non significativo. I valori con diverse lettere romane in apice (a – b) nella stessa colonna sono significativamente differenti in base al test di intervallo di Tukey (p <0,05).*

6.5 AMMOSTAMENTO E FILTRAZIONE

All'inizio dell'ammostamento, la farina viene mescolata con l'acqua. Durante un graduale aumento della temperatura (schiacciamento per infusione), gli enzimi del malto scompongono i composti complessi in quelli più piccoli. Il tempo che intercorre tra il raggiungimento di 70° C e la decomposizione dell'amido è chiamato tempo di saccarificazione. È una misura generale della destrinizzazione dell'amido dipendente dall'attività *a-amilasi* del malto. È stato notato durante lo studio che, indipendentemente dall'aggiunta di tritordeum utilizzata, il tempo di saccarificazione è simile per ciascuna delle varianti analizzate (Tabella 2). Questa è una delle qualità del tritordeum che dimostra il suo altissimo potenziale nella produzione della birra. Inoltre, un tempo di saccarificazione simile può derivare da un'attività dell'*α-amilasi* di 50 (ASBC) su base secca paragonabile a quella del malto d'orzo (55). Questo valore è significativamente più alto rispetto ad altri cereali, ad es. miglio (11), mais blu (7), riso nero (6), segale (18), avena (24), sorgo (8), ecc. [62]. Inoltre, un fattore molto importante nella decomposizione dell'amido di malto è la sua temperatura di gelatinizzazione (GT). Il malto tritordeum ottenuto è simile all'amido di malto d'orzo (Tabella 1), quindi non era necessario bollirlo e aggiungere enzimi commerciali alla

materia prima dell'ammostamento, come quando, ad esempio, si utilizza mais o sorgo [11].

Tabella 2 - Parametri chimico-fisici del primo mosto e del mosto freddo che dipendono dalla proporzione di tritordeum nella miscela del malto

Fase del processo	Parametri	Porzione di tritordeum nella miscela del malto (%) 0	10	50	100	Sig.*
Primo mosto	Tempo di saccarificazione [min.]	<10	<10	<10	<10	ns
	Massa del mosto ottenuto [g]	346.2 ± 17.4	337.2 ±12.4	353.5 ± 2.8	350.9 ± 7.5	ns
	Tempo di filtrazione [min.]	30	30	30	30	ns
	Estrattività [%, d.m.]	80.7 ± 0.6a	79.1 ± 0.0^{a}	78.5±0.6^{b}	79.4±1.7	ns
	pH	6.10 ± 0.03	6.06 ± 0.01	5.95 ± 0.01	5.85 ± 0.04	***
	Torbidità [EBC]	7.01 ± 0.68	8.30 ± 1.44	7.78 ± 2.21	4.88 ± 0.75	ns
	Colore del mosto [EBC]	4.3 ± 0.2	4.3 ± 0.2	4.2 ± 0.2	4.3 ± 0.1	ns
	Estratto di mosto [° P]	8.56 ± 0.06	8.40 ± 0.00	8.30 ± 0.06	8.40 ± 0.16	ns
	FAN (azoto assimilabile) [mg/L]	85.16 ± 4.13^{a}	87.08 ±3.96°	87.93 ± 2.90^{a}	96.91 ± 1.13^{b}	***
	Glucosio [µg/mL]	9345.2 ± 712.0^{b}	8163.4 ± 1120.2b	6867.4 ± 298.6^{a}	6824.2 ± 586.0^{a}	***
	Maltosio [µg/mL]	22548.97 ± 2980.12	21931.51 ± 3369.97	20379.81 ± 3604.51	19445.42 ± 3744.54	ns
	Maltotriosio [µg/mL]	3976.00 ± 389.00	4144.96 ± 467.68	4012.97 ± 100.98	4331.35 ± 386.97	ns
	Faction > 10 KDa [%]	39.1 39.1 ± 3.2	42.5 ± 1.7	39.6 ± 7.3	40.6 ± 6.5	ns
	Faction < 10 KDa [%]	60.8 ± 3.2^{a}	57.3 ± 1.5^{a}	60.3±7.3^{a}	59.3±6.5	ns
Mosto freddo	pH dopo l'ebollizione	5.8 ± 0.05	5.79 ± 0.01	5.77 ± 0.03	5.67 ± 0.03	***
	Colore del mosto post ebolliz.	7.6 ± 1.6	6.7 ± 0.2	7.4 ± 1.9	5.8 ± 1.4	ns
	[EBC]	8.83 ± 0.06^{a}	8.83 ± 0.06^{a}	8.50 ± 0.10^{b}	8.40 ± 0.17^{b}	***
	Estratto del mosto post ebolliz. [°	38.80 ± 12.20^{a}	58.00 ± 12.01^{a}	74.41 ± 21.39^{a}	124.17 ± 4.14^{b}	***
	P]	74.68 ± 4.02	73.60 ± 6.82	78.31 ± 8.49	86.51 ± 3.41	ns
	Torbidità post ebolliz [EBC]	8529.3 ± 1048.7	8099.4 ± 1273.5	7485.4 ± 832.6	5067.6 ± 391.0	***
	FAN [mg/L]	22431.42 ± 3751.30	21392.36 ± 3112.73	19981.25 ± 2998.69	20124.53 ± 3425.64	ns
	Glucosio [µg/mL]	3379.77 ± 278.74a	4511.36 ± 519.52^{b}	3978.84 ± 394.49^{b}	5146.38 ± 173.12^{c}	***
	Maltosio [µg/mL]	51.5 ± 9.4	34.9 ± 29.4	49.2 ± 10.5	51.0 ± 6.0	ns
	Maltotriosio [µg/mL]	48.4 ± 9.4	65.0 ± 29.4	50.8 ± 10.6	54.0 ± 1.1	ns
	Fraction > 10 kDa [%]	43.23 ± 1.25	55.39 ± 19.9	47.88 ± 8.81	47.67 ± 6.99	ns
	Fraction < 10 kDa [%]	2.30 ± 0.79	2.42 ± 1.01	2.15 ± 0.24	2.21 ± 0.19	ns
	Ca mg/L	123.28 ± 2.68	156.82 ± 60.12	147.86 ± 31.13	137.49 ± 23.09	ns
	Zn mg/L					
	Mg mg/L					

a Sig.: significativo; * indica la significatività allo 0,5% per la differenza meno significativa; ns: non significativo. I valori con diverse lettere romane in apice (a – b) nella stessa colonna sono significativamente differenti in base al test di intervallo di Tukey (p <0,05).*

La fase successiva all'ammostamento è il raffreddamento del mosto a 20° C e l'aggiunta di acqua fino a raggiungere 450g secondo la metodologia EBC. Sono stati misurati il tempo di filtrazione e la quantità di mosto ottenuto. Non sono state osservate differenze significative tra i tempi di filtrazione (circa 30 min) e la quantità di mosto ottenuto (circa 345g). Il tempo di filtrazione dipende in gran parte dalla composizione della materia prima, dal contenuto di *β-glucani* e dalla viscosità del mosto. Negli studi su materie prime non convenzionali per la produzione di birra o additivi aggiuntivi, è stato osservato un aumento significativo della viscosità del mosto, ad es. 5,15 mPa × s per la segale rispetto a 1,52 mPa × s per il campione di controllo, con conseguente filtrazione più lunga; nel caso in cui si verifichino tempi di filtrazione più lunghi, è consigliato l'uso di enzimi esogeni (*β-glucanasi*) che consentono la decomposizione dei β-glucani (tuttavia, nello studio preso in esame, non è stato necessario utilizzare enzimi esogeni per migliorare la distribuzione dell'amido o abbreviare il tempo di filtrazione osservato) [11].

6.6 ANALISI DEL MOSTO

La caratteristica distintiva più importante del malto, che influisce sulla redditività della produzione di birra, è la sua estraibilità. I risultati ottenuti dimostrano che l'uso del tritordeum non ha influenzato in modo significativo il contenuto di estratto nel mosto (Tabella 2). Valori comparabili di estraibilità (sulla sostanza secca) sono stati presentati in uno studio precedente [62], dove il tritordeum ha raggiunto il livello dell'81,4%, rispetto all'82,0% del malto d'orzo. I risultati ottenuti erano diversi da quelli ottenuti per altri malti, ad es. malto di grano saraceno, dove i livelli medi erano circa del 65%, rispetto all'80% del campione di controllo [63]. D'altra parte, l'uso del sorgo ha determinato un'estrattività che va dal 64% all'81% per il grano crudo fino

all'85% circa per il campione di malto [64]. Il contenuto di azoto assimilabile (FAN) è un parametro molto importante. Si ritiene che il contenuto di FAN per il mosto 12° P dovrebbe essere almeno 150 mg/L [62], e nel caso dell'uso di additivi aggiuntivi non maltati (coadiuvanti dello sciroppo), il livello richiesto aumenta. I risultati ottenuti sono inferiori ai valori ipotizzati per il mosto (Tabella 2). Ciò è probabilmente dovuto alla maggiore proporzione di acqua al malto e quindi all'estratto molto inferiore. Tuttavia, sono state osservate differenze statistiche significative tra i campioni contenenti malto d'orzo e il campione di tritordeum al 100%. Il mosto di tritordeum al 100% era caratterizzato da un valore FAN significativamente più alto (97 mg/L), rispetto agli altri campioni (85-88 mg/L), che potrebbe tradursi in una migliore condizione della biomassa di lievito durante il processo di fermentazione. Va tenuto presente che il processo di ammostamento è stato condotto a 45°C, il che, come confermato da [65], influisce sull'aumento del livello di FAN, probabilmente determinato dall'attività degli enzimi proteolitici. Gli autori hanno anche dimostrato che la temperatura del mash-in influisce sui parametri di qualità del mosto. Modificando il profilo di mash-in dalla temperatura iniziale di 45°C alla finale di 65° C, il tasso di estrazione è stato ridotto dall'80,1% al 79,0% e il FAN di circa il 10% [11]. Ulteriori studi, esaminando l'effetto della temperatura di mash-in nell'intervallo 62,5–75,0° C sull'estratto e sul livello FAN, hanno dimostrato una leggera ma significativa diminuzione dell'estratto e una significativa diminuzione di FAN all'aumentare della temperatura. È da notare che anche una leggera diminuzione dell'estrattività è importante dal punto di vista dell'economia di processo e della valutazione della qualità del malto [65]. Un altro parametro del mosto esaminato è stato il pH. In mosti con una proporzione maggiore di tritordeum, cioè 50 e 100%, sono stati ottenuti valori di pH significativamente inferiori, rispettivamente di 0,15 e 0,25 unità. L'abbassamento del pH è considerato benefico, poiché molti processi avvengono più velocemente e meglio a pH più basso (ad esempio, è favorita l'attività degli enzimi del malto). Molti metodi vengono utilizzati per regolare il pH, ad esempio l'aggiunta di acidi, malti acidi o anche speciali mosti acidi. Il colore del mosto per tutte le varianti non era statisticamente significativo, il che dimostra che la materia prima utilizzata è adatta anche alla produzione di birre chiare. I valori di torbidità del mosto ottenuti erano a un livello iintorno a 7 EBC (mosto chiaro) caratteristico per il corretto funzionamento del tino di filtrazione e molto più chiaro sia del mosto di controllo (40 EBC) che di quello torbido (80 EBC) da [66]. Rispetto agli zuccheri analizzati, sono state osservate differenze significative nel contenuto di glucosio nel primo mosto. I campioni ottenuti utilizzando una proporzione maggiore (50%) di tritordeum e quelli a base di malto tritordeum al 100% avevano un contenuto di glucosio inferiore di circa il 20% rispetto al controllo e al campione con aggiunta del 10% di tritordeum [11]. Non sono state osservate differenze significative tra i campioni per il maltosio e il maltotriosio. Secondo [61], il contenuto usuale di zuccheri fermentescibili nel mosto è il seguente: maltosio 65,4%, maltotriosio 17,6%, glucosio e fruttosio 11,2%, saccarosio 5,1%. Non sono state osservate differenze significative tra i campioni sia per <10 KDa che per> 10 KDa. Tuttavia, devono essere prese in considerazione deviazioni standard molto ampie tra i livelli dei componenti nei singoli campioni. La tabella 2 mostra il contenuto di ioni metallici dei mosti ottenuti. Il magnesio svolge un importante ruolo strutturale e funzionale nelle cellule di lievito ed è particolarmente importante nei processi di fermentazione. Le differenze nel contenuto di magnesio nei

mosti ottenuti nei singoli campioni non erano statisticamente significative (86-120 mg/L). Lo stesso è stato osservato per gli ioni calcio (35–44 mg/L) e zinco (2,15–2,42 mg/L). In uno studio condotto da [67] il contenuto di magnesio dei mosti di malto d'orzo prodotto in condizioni industriali era di 103,20 mg/L. I valori più simili sono stati rilevati nel caso di mosto prodotto con il 50% e il 100% di malto tritordeum. Dopo 60 minuti di ebollizione dei campioni con il luppolo, è stata osservata una diminuzione del pH di tutti i mosti rispetto ai campioni prima dell'ebollizione. Il valore di pH più basso è stato determinato nel campione di tritordeum al 100% ed era significativamente diverso dagli altri. Come risultato dell'ebollizione, l'estratto aumenta a causa dell'evaporazione dell'acqua [61]. Questo fenomeno è limitato dall'uso di condensatori a riflusso. Le differenze nei risultati ottenuti per l'estratto (circa 8,4° P) e per il FAN (circa 80 mg/L) non sono statisticamente significative. Tuttavia, nel campione al 100% di tritordeum è stata ottenuta la concentrazione di glucosio più bassa (in media circa il 35% in meno rispetto alle altre varianti), così come il più alto contenuto di maltotriosio (circa il 20% in più rispetto al 10% e il 50% di tritordeum campioni e circa il 50% in più rispetto al 100% di malto d'orzo). L'ebollizione ha determinato un'intensificazione del colore di tutti i campioni testati da circa 4 a circa 7 EBC. Al contrario, la torbidità del campione di tritordeum al 100% era significativamente più alta (124 EBC) rispetto al mosto di malto d'orzo (39 EBC). Nella fase successiva, sono state rimosse le trebbie calde: dopo la loro rimozione, non è stata osservata alcuna diminuzione dell'estratto di mosto [11].

6.6.1 Fermentazione del mosto

L'andamento della fermentazione è stato monitorato sulla base della quantità di anidride carbonica/perdita di massa dei fiaschi nei giorni successivi del processo (Fig. 16). È stato notato che i campioni contenenti malto d'orzo hanno fornito un ambiente leggermente migliore per l'inizio della fermentazione, mentre nel campione di tritordeum al 100% la fermentazione è iniziata in modo meno intenso. Sulla base dei risultati ottenuti dalla cinetica di processo, si può vedere che l'uso del solo malto tritordeum ha avuto un chiaro effetto nel ritardare il processo di fermentazione. L'inizio della fermentazione dipende da molti fattori, principalmente dal ceppo di lievito, dalla sua capacità di adattarsi al nuovo ambiente, dalla resistenza ai componenti del luppolo, dalla temperatura del processo, ecc. Anche il profilo dello zucchero è molto importante. Per alcuni ceppi non *Saccharomyces*, il processo di fermentazione inizia rapidamente solo se sono presenti monosaccaridi nel mezzo di fermentazione (ciò è dovuto al fatto che alcuni di loro non hanno la capacità di fermentare il maltosio). Al contrario, altri studi hanno dimostrato che, a volte, anche i ceppi di *Saccharomyces* necessitano di un tempo più lungo per adattarsi alle nuove condizioni ambientali rispetto ad alcuni dei non *Saccharomyces* [68]. Nel caso di esperimenti con tritordeum, lo zucchero principale in tutti i mosti è lo zucchero presente in maggior quantità (Tabella 2) e le fermentazioni sono state eseguite con successo dai ceppi di *Saccharomyces*. Oltre a questo, sono stati fermentati anche il glucosio e il maltotriosio. L'andamento della fermentazione nei giorni successivi è stato molto simile in tutti i campioni, ad eccezione del campione 100% tritordeum. In questo campione, il processo è iniziato in modo meno intensivo e il valore finale della perdita di peso ottenuta era inferiore a quello degli altri campioni. Ciò può essere spiegato dal contenuto di glucosio inferiore rispetto ad altri mosto. Dal terzo giorno alla fine del

processo, il campione che conteneva il 50% di tritordeum ha ridotto l'intensità della fermentazione rispetto ai campioni 0% e 10%, ma era ancora più veloce di quello del tritordeum al 100%. Sulla base della perdita di peso giornaliera ottenuta, si è concluso che il processo di fermentazione è terminato tra il sesto (0% di malto tritordeum in miscela) e l'ottavo giorno (50% e 100% di malto tritordeum in miscela) [11].

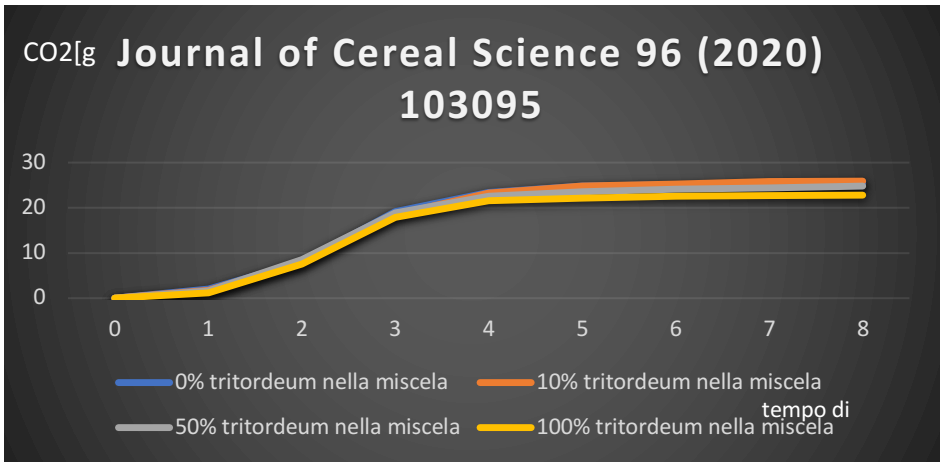

Figura 24 - La perdita giornaliera di peso/rilascio di CO2 durante le prove di fermentazione del mosto (0%, 10%, 50%, 100% malto tritordeum).

6.7 ANALISI DEL PRODOTTO FINALE

Le birre ottenute dal malto tritordeum non differiscono dalle birre di malto d'orzo in termini di estratto reale, estratto apparente, contenuto alcolico, valore calorico e quota della frazione proteica, mentre sono state osservate differenze significative di colore, pH, FAN, zuccheri e contenuto di ioni. Un parametro distintivo molto importante è l'etanolo, il cui contenuto non è influenzato dall'uso del tritordeum. L'ottenimento di risultati simili di questo composto e dell'estratto residuo si traduce direttamente in un valore calorico comparabile del prodotto. Nel caso della quantità di FAN rimasta al termine della fermentazione, si può osservare che un livello relativamente basso di questo composto si è rivelato sufficiente per il corretto svolgimento del processo. Inoltre, l'ottenimento di concentrazioni più elevate di FAN potrebbe indicare una minore stabilità sensoriale del prodotto. Sono state notate differenze significative solo tra il campione di tritordeum al 50% (32 mg/L) e i campioni con 0% e 10% (21–24 mg / L). Il colore del mosto è una conseguenza dei prodotti derivanti dalla reazione di Maillard dei composti FAN e degli zuccheri riducenti. Negli studi condotti da [20] un contenuto più elevato di FAN nel malto d'orzo al 100% ha causato un aumento della colorazione della birra a causa proprio della reazione di Maillard. Le birre più chiare sono state ottenute con il 100% di malto tritordeum, dove il contenuto di FAN è il più alto. Quando si studia il potenziale di una nuova materia prima per la produzione di birra, è importante il grado di attenuazione del mosto che può essere definito come ADF (grado apparente di fermentazione) o AAL (Limite apparente di attenuazione) se basato su un estratto apparente, o RDF (grado di fermentazione reale) in caso di estratto reale. Secondo [65] sembra che non solo la materia prima, ma anche la scelta dei parametri di processo influiscano sul valore AAL. Ad esempio, modificando il profilo di mash-in da 45°C a 65° C, gli autori hanno ottenuto un aumento dell'AAL dall'82,4% all'88,9% utilizzando la stessa materia prima. Ulteriori studi hanno

dimostrato che con delle temperature comprese tra 62,5° C e 75° C, l'AAL più alto è stato ottenuto per il mash-in a 65° C e il più basso a 75° C. L'RDF è un indicatore importante delle prestazioni di produzione della birra. Più basso è l'RDF, più il prodotto risulta corposo [69]. Nello studio preso in esame, il valore medio RDF è di circa il 65% per tutti i campioni. I risultati presentati, convertiti in ADF sono quasi gli stessi di quelli dell'Handbook of Brewing [61], dove il limite di attenuazione per il tritordeum è del 79,2%, mentre per il malto d'orzo era dell'82,1%. La tabella 3 mostra il contenuto di ioni della birra ottenuta. Macro e microelementi svolgono un ruolo chiave nel processo di fermentazione della birra, contribuendo alla crescita dei lieviti e al loro corretto metabolismo. Gli ioni calcio provengono principalmente dall'acqua utilizzata nella preparazione della birra e reagiscono con i componenti del malto, come i fosfati e le proteine, durante il processo di mash-in, che riduce anche il pH [11].

Tabella 3 - Parametri chimico-fisici della birra prodotta con differenti proporzioni di tritordeum nella miscela di malto.

Parametri	Porzione di tritordeum nella miscela del malto (%) 0	10	50	100	Sig.*
Colore [EBC]	6,5 ± 0,65^{a}	6,7 ± 0,57^{a}	6,1 ± 0,35^{a}	4,9 ± 0,26^{b}	***
pH	4,18 ± 0,02°	4,17 ± 0,01^{a}	4,23 ± 0,02^{a}	4,27 ± 0,01^{b}	***
Alcol (% v/v)	3,49 ±0,05	3,50 ± 0,09	3,50 ± 0,5	3,38 ± 0,11	ns
Estratto reale [% p/p]	3,00 ± 0,00	2,96 ± 0,05	2,92 ± 0,29	2,98 ± 0,09	ns
Estratto apparente [% p/p]	1,70 ± 0,02	1,66 ± 0,03	1,62 ± 0,12	1,73 ± 0,12	ns
RDF [%]	65,40 ± 0,34	65,69 ± 0,35	66,01 ± 1,04	64,74 ± 1,33	ns
Calorie [kJ/100mL]	125,16 ± 1,18	124,73 ± 2,89	124,14 ± 16,09	122,43 ± 2,12	ns
FAN [mg/L]	23,77 ± 2,24°	21,14 ± 2,63^{a}	31,82 ± 3,20^{b}	30,22 ± 5,76^{ab}	*
Glucosio [µg/mL]	182,7 ± 34,0^{a}	392,8 ± 52,2^{b}	604,0 ± 26,2^{b}	424,0 ± 74,3^{b}	***
Maltosio [µg/mL]	751,32 ± 87,00	961,64 ± 66,16	789,00 ± 132,00	815,58 ± 112,00	ns
Maltotriosio [µg/mL]	259 ± 76,00^{a}	236,64 ± 88,99^{a}	442,84 ± 41,3^{b}	537,70 ± 8,43^{b}	***
Frazione > 10 kDa [%]	56,0 ± 0,9	60,5 ± 4,7	62,4 ± 5,1	64,9 ± 3,5	ns
Frazione < 10 kDa [%]	44,0 ± 0,9	39,5 ± 4,7	37,6 ± 5,1	35,13,5	ns
Ca^{2+} [mg/L]	44,36 ± 5,10^{a}	39,80 ± 0,63^{a}	34,60 ± 2,23^{b}	35,60± 2,30^{b}	**
Zn^{2+} [mg/L]	2,52± 1,45	1,55 ± 0,59	3,44 ± 3,82	2,92 ± 1,55	ns
Mg^{2+} [mg/L]	98,12 ± 5,70	91,02 ± 3,92	109,00 ± 18,90	109,17 ± 15,87	ns

** Sig.: significativo; *** indica la significatività allo 0,5% per la differenza meno significativa; ns: non significativo. I valori con diverse lettere romane in apice (a – b) nella stessa colonna sono significativamente differenti in base al test di intervallo di Tukey (p <0,05).*

Secondo i dati della letteratura forniti da [70], il contenuto di calcio della birra dovrebbe essere compreso tra 40 e 140 mg/L. Tali valori sono osservabili in campioni prodotti da malto d'orzo al 100% e nella birra con aggiunta del 10% di tritordeum (Tabella 3). Negli altri campioni sono stati quantificati livelli significativamente inferiori di questo elemento. Gli ioni di magnesio sono essenziali per una corretta fermentazione del lievito; inoltre, proteggono le cellule di lievito dallo stress nella produzione di bevande alcoliche e prevengono la morte cellulare a causa dello shock termico [71]. La dinamica dell'azione del magnesio sulle pareti cellulari del lievito dipende anche dal pH, dal numero di cellule viventi e dal contenuto di altri ioni. Durante la fermentazione, i lieviti hanno utilizzato la più alta quantità di ioni magnesio nei campioni con una proporzione del 10% di malto tritordeum (41,95%). La più piccola quantità di magnesio è stata osservata nel campione di malto d'orzo (20,4%) e nella birra prodotta con il 100% di malto tritordeum (20,6%). Il contenuto medio di magnesio della birra dovrebbe essere di 60-200 mg/L [70]. Tutti i campioni analizzati hanno una quantità di ioni magnesio nella norma (Tabella 3). L'ultimo elemento analizzato è lo zinco. Il contenuto di zinco nella birra deve essere compreso tra 0,01 e 1,48 mg/L [70]. Tutti i campioni hanno un contenuto più elevato di questo elemento. La quantità più alta di zinco è stata determinata nel campione con una percentuale del 50% di malto tritordeum (3,44 mg/L) [11].

7 PRODUZIONE DI BIRRA LAGER ARRICCHITA CON MALTO DI GRANO SARACENO IN AGGIUNTA

Tecnica di produzione e dati estrapolati dall'articolo scientifico [8].

La preparazione con grano saraceno come ingrediente ha dimostrato di avere successo in diversi studi precedenti. Tuttavia, pochi di essi si sono concentrati sugli effetti del grano saraceno sul contenuto di rutina e sull'attività antiossidante della birra. Al fine di sviluppare una birra chiara con un alto contenuto di rutina e caratteristiche sensoriali desiderabili, è stato utilizzato il malto di grano saraceno tartaro come coadiuvante della birra. I risultati hanno mostrato che l'enzima degradante della rutina era il fattore chiave che influenzava il contenuto di rutina nel mosto e nella birra. Rispetto alla birra prodotta utilizzando il metodo di ammostamento comune, il contenuto di rutina nelle birre di grano saraceno prodotte utilizzando un metodo di ammostamento migliorato era superiore di circa 60 volte. Anche il contenuto totale di flavonoidi nelle birre di grano saraceno dipendeva fortemente dai metodi di ammostamento, compresi tra 530,75 e 1.704,68 mg QE/L. Le birre ricche di rutina hanno anche mostrato una migliore stabilità ossidativa durante l'invecchiamento forzato. Le birre di grano saraceno sono risultate quindi accettabili in termini di qualità, sapore e gusto principali. Studi recenti hanno dimostrato che il grano saraceno ha il potenziale per essere utilizzato come materia prima nella produzione di birra senza glutine. Tuttavia, tutti questi studi hanno rilevato un'attività enzimatica significativamente inferiore nel malto di grano saraceno rispetto al malto d'orzo. A causa dei bassi livelli di α e *β-amilasi*, l'ammostamento utilizzando il 100% di malto di grano saraceno senza l'aggiunta di enzimi commerciali può portare a proprietà indesiderate come bassi rendimenti di estratto, elevata viscosità del mosto e velocità di fermentazione ridotte [8].

7.1 MALTATURA, MOLITURA E AMMOSTAMENTO

Il grano saraceno tartaro e quello comune vengono maltati: macerazione (20° C / 8 ore), germinazione (20 ° C / 88 ore) e cottura (60° C / 22 ore). La macinazione dei materiali da infusione è stata eseguita immediatamente prima dell'ammostamento. È stato preparato un totale di 4 kg di cereali composti da malto d'orzo e malto di grano saraceno in diverse proporzioni (100: 0, 80:20 e 60:40), quindi macinati con un mulino a due rulli a una temperatura di 0,2 mm. I metodi per la procedura di ammostamento utilizzati sono due, denominati A e B. Il metodo di ammostamento A prevede una procedura per infusione ampiamente utilizzata che coinvolge quattro pause successive. Per prima cosa, il malto macinato viene schiacciato con acqua a 50° C in un rapporto in volume di 1:4 (peso/volume), agitata e mantenuta in questo stato per 20 min. Successivamente, il mosto viene riscaldato a 64° C a una velocità di circa 1° C/min, lasciato a riposo per 70 minuti, riscaldato di nuovo a 72° C e lasciato riposare per 20 minuti. Come fase finale, il mosto viene riscaldato a 78° C e mantenuto per 10 minuti. Il metodo B, ovvero il metodo di ammostamento migliorato, prevede un totale di cinque pause successive. Per prima cosa, il malto di grano saraceno macinato va mescolato con acqua calda a 80° C, mantenuto alla stessa temperatura per 20 minuti e poi raffreddato a una temperatura inferiore a 50° C. Successivamente, un malto d'orzo

macinato viene aggiunto a questo mosto di grano saraceno e mantenuto a 50° C per 20 min. È stato utilizzato un rapporto costante di malto e acqua di 1:4 (peso/volume). I seguenti tre passaggi della procedura sono gli stessi del metodo di ammostamento A sopra menzionato, con i regimi temperatura-tempo adottati sul mosto totale rispettivamente di 64, 72 e 78° C con tempi di mantenimento di 70, 20 e 10 minuti. Le birre di grano saraceno sono state prodotte rispettivamente con l'aggiunta del 20 e del 40% di malto di grano saraceno utilizzando i due metodi di ammostamento sopra menzionati, mentre la birra prodotta con il 100% di malto d'orzo di base è stata prodotta utilizzando solo il metodo di ammostamento A e quindi utilizzata come controllo [8].

7.1.1 Analisi delle attività di α-amilasi e β-amilasi

Entrambe le attività dell'*α-amilasi* e della *β-amilasi* sono state analizzate in tutti e cinque i mosti dopo il trattamento (a 64 ° C per 70 min.) durante l'ammostamento. Per misurare l'attività *dell'α-amilasi*, è stato adottato il metodo standard n. 303 della International Association for Cereal Chemistry (ICC) utilizzando un kit enzimatico (Megazyme, Bray, Irlanda) [8].

7.2 LAUTERIZZAZIONE E BOLLITURA DEL MOSTO

Il mosto viene lasciato riposare per alcuni minuti prima che il surnatante venga trasferito nel bollitore del mosto. Successivamente, il sedimento va lavato due volte con acqua calda (70° C) per ottenere un volume finale di 20 L di mosto. Il mosto viene quindi bollito per 60 min, seguito dall'aggiunta di pellet di luppolo (0,4 g/l) e da processi di whirlpool e raffreddamento. I pellet di luppolo sono addizionati in due fasi: durante il processo di ebollizione del mosto, sono stati aggiunti rispettivamente 5g di pellet a cascata e 3 g di pellet a cascata dopo 5 e dopo 40 minuti di ebollizione [8].

7.3 FERMENTAZIONE, FILTRAZIONE E IMBOTTIGLIAMENTO

Il mosto luppolato finale (circa 11° P) viene trasferito direttamente in serbatoi di acciaio da 25 L e conservato a 15° C. Prima della fermentazione, 16 g di lievito, Saflager S-23, vengono aggiunti al mosto (previa reidratazione secondo le istruzioni del produttore). In questa prova, la fermentazione primaria ha avuto una durata di otto giorni a 10° C mentre la fermentazione secondaria è durata quattro giorni a 12° C. Il fluido di fermentazione è stato quindi filtrato per centrifugazione a 6.000 ×g per 15 minuti per ottenere la birra chiarificata. Infine, la birra viene travisata in bottiglie di vetro ambrato da 500 mL con tappi a scatto e quindi conservata a 4° C al buio per 14 giorni prima di iniziare gli esperimenti [8].

7.4 CONTENUTO DI RUTINA E QUERCETINA DI DIVERSE SPECIE DI GRANO SARACENO

Diverse cultivar di grano saraceno possono avere diversi contenuti di rutina, pertanto, sono state confrontate le analisi quantitative di rutina e quercetina nei due malti di grano saraceno utilizzati nello studio riportato. Il contenuto medio di rutina e quercetina differisce in modo significativo tra il malto di grano saraceno comune e il malto di grano saraceno tartaro. Il contenuto di rutina e quercetina nel malto di grano

saraceno tartaro è rispettivamente quasi 52 e 250 volte superiore a quello del malto di grano saraceno comune (Tabella 4). Molti studi hanno esaminato la differenza nel contenuto di rutina tra grano saraceno comune e grano saraceno tartaro. Il grano saraceno tartaro contiene generalmente alti livelli di rutina nei semi (circa 1 mg/g di peso secco). Quindi, è evidente che per una produzione di birra con alto contenuto di rutina, deve essere utilizzato il malto di grano saraceno tartaro [8].

*Tabella 4 - Determinazione del contenuto di rutina, quercetina e flavonoidi totali nei malti di grano saraceno, nel mosto e nelle birre**

Campione	Metodo di ammostamento (A o B)	Quantità rutina [mg/g o mg/100mL]	Quantità quercetina [mg/100mL]	Contenuto totale di flavonoidi [mg QE/L]
Malto di grano saraceno comune	/	0.13 ± 0.07a	0.02 ± 0.01a	ND
Malto di grano saraceno tartaro	/	6.70 ± 0.03b	5.12 ± 0.05b	ND
Mosto da 100% malto d'orzo	A	0.58 ± 0.02c	0.15 ± 0.01c	294.75 ± 15.42a
Birra da 100% malto d'orzo		1.60 ± 1.39c	0.13 ± 0.01c 4	303.69 ± 20.14a
Mosto da 20% malto di grano saraceno	A	0.34 ± 0.02c	.93 ± 0.06d	516.75 ± 28.19b
Birra da 20% malto di grano saraceno		0.34 ± 0.01c	2.47 ± 0.06d	530.75 ± 19.13b
Mosto da 40% malto di grano saraceno		0.65 ± 0.02c	4.39 ± 0.06d	876.75 ± 30.44c
Birra da 40% malto di grano saraceno		0.55 ± 0.01c	2.62 ± 0.04d	855.30 ± 21.95c
Mosto da 20% malto di grano saraceno	B	23.40 ± 0.10d	2.97 ± 0.04d	1,096.45 ± 40.55d
Birra da 20% malto di grano saraceno		21.00 ± 0.10d	1.82 ± 0.04d	1,180.23 ± 34.06d
Mosto da 40% malto di grano saraceno		41.40 ± 1.20e	3.91 ± 0.05d	1,758.46 ± 38.98e
Birra da 40% malto di grano saraceno		30.80 ± 0.50e	3.36 ± 0.06d	1,704.68 ± 40.49e

** I valori sono le medie ± deviazioni standard di misurazioni in triplicato. Lettere diverse che seguono i numeri sulla stessa riga indicano la separazione dei mezzi in p <0,05. ND: nessun rilevamento.*

7.5 ANALISI DEL MOSTO

Gli effetti dei due diversi metodi di ammostamento (metodi A e B) sulle proprietà del mosto di grano saraceno sono stati valutati determinando la viscosità, il pH, l'azoto assimilabile (FAN) e il profilo dei carboidrati totali. Come mostrato nella Tabella 5, la viscosità del mosto aumenta in modo significativo quando si sostituisce il 20% o il 40% di malto d'orzo con il malto di grano saraceno tartaro utilizzando entrambi i metodi di ammostamento A e B. Sebbene i valori di viscosità del mosto di grano saraceno differiscono leggermente, rientrano tutti nell'intervallo (1-2 mPa s) che non si ritiene causi problemi di preparazione quando si utilizza il grano saraceno come aggiunta. Al contrario, non c'è alcun cambiamento significativo nel valore del pH dei quattro mosti di grano saraceno rispetto al mosto d'orzo maltato al 100% come è stato trovato in precedenza. La quantità di FAN nel mosto influenza la crescita del lievito e le proprietà aromatiche finali della birra. La sostituzione del 20% di malto d'orzo con malto di grano saraceno ha portato a una riduzione significativa del livello FAN dei mosti finali prodotti utilizzando entrambi i metodi di ammostamento da 235 mg/l (100% orzo maltato) a 203-210 mg/l (Tabella 2). Le diverse procedure di ammostamento influenzano a malapena il livello di FAN nei mosti di grano saraceno. Raddoppiare la concentrazione aggiuntiva dal 20% al 40% di grano saraceno maltato porta ad un'ulteriore riduzione dell'azoto assimilabile nel mosto fino a 179-186 mg/L.

Tuttavia, livelli di FAN superiori a 160 mg/L sono adeguati per una crescita ottimale del lievito e una fermentazione efficiente. Il profilo dei carboidrati totali è riassunto nella Tabella 2. Rispetto al mosto d'orzo maltato al 100%, non sono state osservate differenze significative nella concentrazione totale di zuccheri fermentescibili in tutti i campioni di mosto di grano saraceno. Sono state osservate differenze statistiche solo per la concentrazione di maltosio e maltotriosio ($p < 0,05$). Ciò potrebbe essere dovuto alla ridotta attività di *α-amilasi* e *β-amilasi* presenti nel grano saraceno [8].

Tabella 5 - Caratteristiche del mosto luppolato prodotto con malto d'orzo e malto di grano saraceno in diverse proporzioni con i due metodi di ammostamento.*

Parametri	Mosto da 100% malto d'orzo	Mosto da 20% malto di grano saraceno (metodo A)	Mosto da 20% malto di grano saraceno (metodo B)	Mosto da 40% malto di grano saraceno (metodo A)	Mosto da 40% malto di grano saraceno (metodo B)
Viscosità (mPa s)	1.24 ± 0.01a	1.58 ± 0.01b	1.79 ± 0.02b	1.95 ± 0.02c	1.86 ± 0.01c
pH	5.66 ± 0.01a	5.72 ± 0.01a	5.69 ± 0.01a	5.68 ± 0.02a	5.70 ± 0.02a
FAN [mg/L]	235 ± 4a	210 ± 5b	203 ± 2b	179 ± 4c	186 ± 5c
Composizione di zuccheri fermentabili [g/L]					
Glucosio	19.7 ± 0.5a	20.1 ± 0.2a	19.9 ± 0.3a	20.3 ± 0.3a	20.4 ± 0.1a
Fruttosio	1.2 ± 0.1a	0.8 ± 0.1a	0.7 ± 0.0a	0.6 ± 0.2a	0.8 ± 0.1a
Saccarosio	1.9 ± 0.3a	2.0 ± 0.2a	1.8 ± 0.2a	1.8 ± 0.1a	1.9 ± 0.2a
Maltosio	56.3 ± 2.1a	52.0 ± 1.5b	51.4 ± 1.6b	50.7 ± 1.0bc	50.9 ± 1.8bc
Maltotriosio	10.1 ± 1.0	13.2 ± 0.8b	13.0 ± 0.9b	14.0 ± 0.6c	14.1 ± 1.0c
Attività enzimatica					
α-amilasi [103U/L]	8.0 ± 0.2a	8.0 ± 0.2a	7.7 ± 0.2a	7.5 ± 0.3a	7.5 ± 0.2a
β-amilasi [103U/L]	8.0 ± 0.2a	84.2 ± 0.4b	82.9 ± 0.2b	79.2 ± 0.3b	79.1 ± 0.4b

** I valori sono le medie ± deviazioni standard di misurazioni in triplicato. Lettere diverse che seguono i numeri sulla stessa riga indicano la separazione dei mezzi in $p < 0,05$. ND: nessun rilevamento.*

Sono state analizzate anche le attività di *α-amilasi* e *β-amilasi* nei cinque mosti dopo la fase di ammostamento (a 64 ° C per 70 min). Il mosto d'orzo maltato al 100% ha mostrato una maggiore attività dell'*α-amilasi* e un'attività *β-amilasi* particolarmente elevata rispetto a quelli del mosto di grano saraceno maltato (Tabella 5). I risultati indicano che i principali attributi di qualità del mosto sono accettabili quando si sostituisce parzialmente il malto d'orzo con malto di grano saraceno e che le prestazioni del lievito non vengono influenzate [8].

7.6 ANALISI DEL PRODOTTO FINALE

Sono state confrontate le principali caratteristiche fisico-chimiche dei campioni di birra prodotti con malto d'orzo e malto di grano saraceno in proporzioni diverse utilizzando i due metodi di ammostamento. Come mostrato nella Tabella 6, la gravità originale, il contenuto di etanolo, lo zucchero residuo e il pH sono simili tra tutte e cinque le birre. Tuttavia, il valore del colore della birra aumenta da 3,9 EBC (riferimento al 100% di malto d'orzo) a circa 4,5 EBC quando si utilizza il 20% del malto di grano saraceno tartaro. Raddoppiare la quantità aggiuntiva dal 20% al 40% di malto di grano saraceno porta ad un ulteriore aumento del colore della birra a circa 5,1 EBC. Anche i valori di amaro e torbidità colloidale delle birre di grano saraceno sono leggermente aumentati rispetto a quelli della birra d'orzo maltata al 100%. Poiché viene utilizzato lo stesso regime di luppolo, il contenuto di isoumulone è simile in tutte e cinque le birre. La stabilità della schiuma, che è uno dei primi indicatori di qualità incontrati dal consumatore, è influenzata dai livelli di proteine presenti nella birra. La stabilità della schiuma delle birre prodotte con il 20% o il 40% di grano saraceno maltato utilizzando entrambi i metodi di ammostamento A e B è inferiore a quella della

birra al 100% di malto d'orzo (Tabella 6). Rispetto al metodo di ammostamento A, la birra prodotta con il metodo di ammostamento B ha mostrato una migliore stabilità della schiuma quando è stata utilizzata la stessa quantità di malto di grano saraceno. È stata notata una riduzione della stabilità della schiuma di birra quando si utilizza il malto di grano saraceno al 100%, molto probabilmente causata dalle ridotte quantità di FAN e proteine ad alto peso molecolare. Tuttavia, i livelli di stabilità della schiuma di queste birre di grano saraceno ottenuti sono ancora del tutto accettabili. È noto che gli alcoli e gli esteri superiori danno un contributo cruciale al sapore e all'aroma caratteristici della birra. Tra questi, esteri come acetato di etile, acetato di isoamile, esanoato di etile e caprilato di etile sono responsabili del sapore "fruttato". Come mostrato nella Tabella 6, i contenuti di acetato di etile e acetato di isoamile nelle birre di grano saraceno al 20% prodotte utilizzando entrambi i metodi di ammostamento A e B sono aumentati leggermente, mentre i contenuti di etil esanoato e etil caprilato sono scarsamente influenzati rispetto a quelli del controllo birra (100% malto d'orzo). Con l'aumento della quantità di malto di grano saraceno, le concentrazioni di acetato di etile e acetato di isoamile sono aumentate rispettivamente a 14,73 e 1,58 mg/l. Per quanto riguarda gli alcoli superiori, ad eccezione dell'isobutanolo, è stata ottenuta una leggera diminuzione in tutte e quattro le birre di grano saraceno rispetto all'orzo maltato al 100%. Inoltre, il contenuto di diacetile e acetaldeide è pressoché simile in tutti e cinque i campioni di birra [8].

*Tabella 6 - Principali caratteristiche chimico-fisiche delle birre finite prodotte con malto d'orzo e malto di grano saraceno in proporzioni diverse utilizzando i due metodi di ammostamento *.*

Parametri	Birra da 100% malto d'orzo	Birra da 20% malto di grano saraceno (metodo A)	Birra da 20% malto di grano saraceno (metodo B)	Birra da 40% malto di grano saraceno (metodo A)	Birra da 40% malto di grano saraceno (metodo B)
Gravità originale [°P]	11.06 ± 0.03a	11.10 ± 0.03a	11.08 ± 0.02a	11.05 ± 0.02a	11.09 ± 0.02a
Etanolo [% v/v]	4.6 ± 0.1a	4.7 ± 0.1a	4.6 ± 0.0a	4.5 ± 0.1a	4.7 ± 0.0a
Zucchero residuo [°Bx]	6.05 ± 0.02a	6.07 ± 0.03a	6.05 ± 0.01a	6.06 ± 0.01a	6.07 ± 0.02a
pH	4.43 ± 0.04a	4.46 ± 0.07a 4	4.44 ± 0.05a	4.45 ± 0.04a	4.46 ± 0.05a
Colore [EBC]	3.9 ± 0.0a	.5 ± 0.1b	4.4 ± 0.1b	5.0 ± 0.2c	5.1 ± 0.2c
Amarezza [IBU]	10.25 ± 0.12a	11.33 ± 0.09b	11.34 ± 0.11b	11.37 ± 0.10b	11.42 ± 0.09b
Contenuto di isoumulone	8.93 ± 0.05a	9.04 ± 0.03a	9.01 ± 0.04a	8.96 ± 0.03a	9.02 ± 0.06a
Torbidità colloidale [EBC]	0.15 ± 0.03a	0.21 ± 0.04ab	0.25 ± 0.05b	0.24 ± 0.04bc	0.28 ± 0.03c
Stabilità della schiuma [s/3 cm	227 ± 5a	213 ± 4b	218 ± 4bc	201 ± 2d	209 ± 4e
Diacetile [µg/L]	83.4 ± 2.5a	85.7 ± 1.8a	80.9 ± 2.1a	86.7 ± 1.9a	84.4 ± 2.0a
Acetaldeide [mg/L]	6.75 ± 0.54a	7.12 ± 0.33a	6.42 ± 0.50a	7.01 ± 0.46a	6.88 ± 0.38a
Etil acetato [mg/L]	12.18 ± 0.31a	13.90 ± 0.22b	14.02 ± 0.34b	14.69 ± 0.26c	14.73 ± 0.30c
Acetato di isoamile [mg/L]	0.99 ± 0.15a	1.10 ± 0.12ab	1.12 ± 0.24ab	1.43 ± 0.21bc	1.58 ± 0.25c
Esanoato di etile [mg/L]	0.17 ± 0.04a 0	0.13 ± 0.05a	0.14 ± 0.06a	0.13 ± 0.05a	0.12 ± 0.04a
Caprilato di etile [mg/L]	.19 ± 0.08a	0.16 ± 0.07a	0.17 ± 0.09a	0.16 ± 0.07a	0.15 ± 0.08a
Propanolo [mg/L]	8.12 ± 0.31a	9.15 ± 0.18b	8.84 ± 0.19c	9.11 ± 0.22bc	9.07 ± 0.24bc
Isobutanolo [mg/L]	10.10 ± 0.15a	9.99 ± 0.12a	10.05 ± 0.31a	10.12 ± 0.10a	10.09 ± 0.11a
Alcol isoamile [mg/L]	53.81 ± 0.40a	55.12 ± 0.41b	56.25 ± 0.40b	56.07 ± 0.25b	56.10 ± 0.28b

** I valori sono le medie ± deviazioni standard di misurazioni in triplicato. Lettere diverse che seguono i numeri sulla stessa riga indicano la separazione dei mezzi in p <0,05. ND: nessun rilevamento.*

7.6.1 Contenuto di rutina, quercetina e flavonoidi totali nei muri e nelle birre di grano saraceno

I risultati del contenuto di rutina, quercetina e flavonoidi totali nel mosto di grano saraceno e nelle birre sono presentati nella Tabella 4. Il contenuto di rutina varia in modo significativo nei quattro campioni di mosto di grano saraceno a seconda delle condizioni di ammostamento. Poiché i mosti di grano saraceno contengono almeno il

20% di malto di grano saraceno, la quantità prevista di rutina nel mosto di grano saraceno finale dovrebbe essere superiore a quella del mosto d'orzo maltato al 100%. Tuttavia, sono stati trovati contenuti molto piccoli di rutina nel mosto con 20% e nel 40% di grano saraceno preparato utilizzando il metodo di ammostamento A. Al contrario, la quantità effettiva di rutina estratta dal mosto con 20% di grano saraceno prodotto con il metodo B raggiunge 23,40 mg/100 mL. Con una quantità crescente di malto di grano saraceno, il contenuto di rutina aumenta ulteriormente fino a 41,40 mg/100 mL. Una possibile spiegazione di ciò è la presenza dell'enzima degradante la rutina, il *flavonolo 3-glucosidasi* (f3g). L'enzima f3g è stato originariamente isolato dal grano saraceno tartaro, ma recentemente è stato trovato anche nei chicchi di grano saraceno comune. La presenza del f3g nel grano saraceno catalizza la conversione della rutina in quercetina. Questo potrebbe spiegare perché i campioni con il 20% e il 40% di mosto di grano saraceno hanno contenuti di quercetina sostanzialmente più elevati (rispettivamente 4,93 e 4,39 mg/100 mL) rispetto al mosto di controllo dell'orzo maltato al 100% (0,15 mg/100 mL). Tuttavia, la stabilità della rutina contro la degradazione ossidativa è molto più alta della quercetina, prodotta dalla sua degradazione. [72] ha anche notato che quasi nessuna quantità di rutina poteva essere rilevata nella birra commerciale di grano saraceno e nei prodotti a base di aceto. Inoltre, studi precedenti hanno riportato che l'attività di f3g è ottimale a 40-50° C e pH 5,0. La temperatura e il pH ottimali sono estremamente simili alle condizioni di ammostamento utilizzate nella prima fase del metodo A. Di conseguenza, si evince che la rutina viene degradata da f3g nel comune processo di ammostamento. Contrariamente al metodo A, il trattamento ad alta temperatura (80° C) nella prima fase del metodo di ammostamento B sembra portare all'inattivazione del f3g. Queste congetture sono confermate dal fatto che l'attività dell'enzima f3g può ancora essere rilevata nel malto di grano saraceno non trattato, piuttosto che nel malto di grano saraceno trattato termicamente (a 80° C per 20 min). Inoltre, quantità simili di quercetina sono state trovate nelle birre con 20% e 40% di grano saraceno prodotte utilizzando il metodo di ammostamento B dopo la degradazione della rutina. Ciò è potenzialmente correlato alla solubilità in acqua della quercetina, poiché è noto che la quercetina è di natura estremamente lipofila e scarsamente solubile in acqua. Il contenuto totale di flavonoidi nei campioni di mosto di grano saraceno dipende fortemente dai metodi di ammostamento, compresi tra 516,75 e 1.758,46 mg QE/L. Il contenuto totale di flavonoidi è significativamente maggiore nei mosti prodotti utilizzando il metodo B. Con l'aumento della quantità di grano saraceno nel malto (dal 20% al 40%), anche il contenuto totale di flavonoidi aumenta. Inoltre, non sono stati osservati cambiamenti significativi nelle concentrazioni di rutina, quercetina e flavonoidi totali tra i mosti e le corrispondenti birre finite. Tra tutti i campioni, il più alto contenuto di rutina e flavonoidi totali (rispettivamente 617,45 mg/L e 1.704,68 mg QE/L) sono stati entrambi ottenuti nella birra di grano saraceno al 40% prodotta utilizzando il metodo di ammostamento B [8].

7.6.2 Stabilità ossidativa delle birre

In generale, i test che misurano la capacità antiossidante della birra possono essere suddivisi in due categorie principali: test che misurano la capacità antiossidante, come il test DPPH, e altri test che misurano la capacità riducente, come il test FRAP. I radicali DPPH sono stati ampiamente utilizzati come sistemi modello per studiare le

capacità di eliminazione dei radicali dei composti antiossidanti. L'attività di eliminazione dei radicali DPPH è quindi importante per la stabilità del sapore; in genere il deterioramento della birra è tipicamente dovuto all'ossidazione dei lipidi e successiva formazione di 3-metilbutanale, trans-2-nonenale e altre aldeidi saturi e insaturi. Come mostrato in Fig. 1, i valori di attività dei cinque campioni di birra fresca (al giorno 0) variano da 0,66 a 3,19 mmol TE/L. Sono evidenti, anche a seconda delle condizioni di ammostamento con il livello più alto nella birra di grano saraceno al 40% con metodo di ammostamento B, differenze significative nell'attività di eliminazione dei radicali DPPH delle quattro birre di grano saraceno. Nelle stesse condizioni di ammostamento, l'attività di eliminazione dei radicali DPPH viene migliorata con un aumento della quantità di malto di grano saraceno dal 20% al 40%. L'attività di eliminazione dei radicali DPPH di ciascun campione di birra è diminuita rapidamente entro i primi nove giorni e successivamente si è gradualmente stabilizzata. Tutte e quattro le birre di grano saraceno mostrano attività di eliminazione dei radicali DPPH più forti rispetto alla birra d'orzo maltata al 100% nello stesso giorno durante il periodo di invecchiamento forzato.

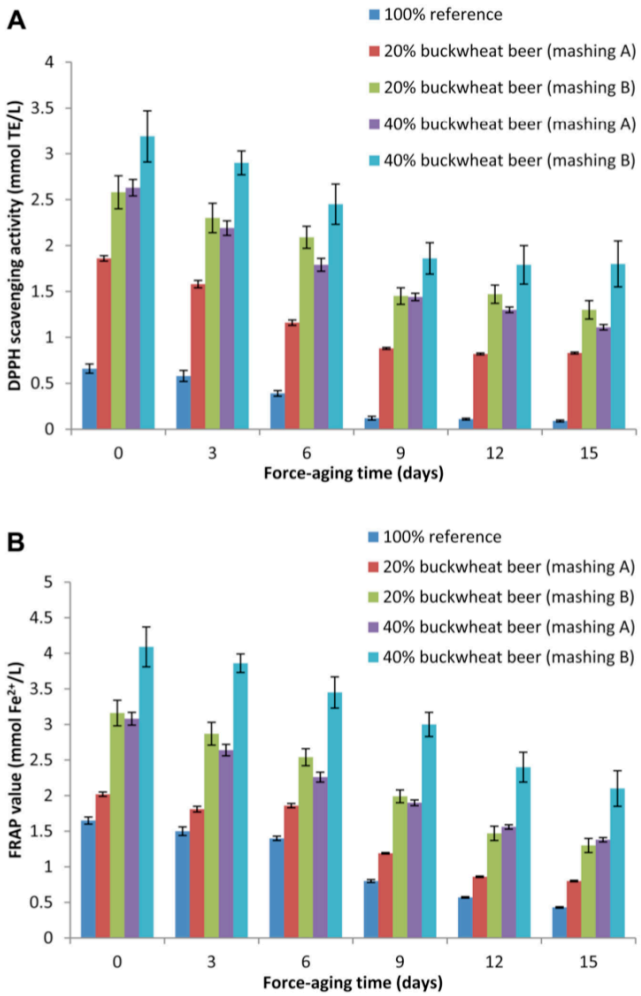

Figura 25 - Cambiamenti nell'attività di scavenging del DPPH (A) e nel valore del FRAP (B) in diversi campioni di birra durante un periodo di invecchiamento forzato di 15 giorni [5].

Rispetto al metodo A, le attività di eliminazione dei radicali DPPH nelle birre di grano saraceno prodotte utilizzando il metodo di ammostamento B sono maggiori dopo 15 giorni di invecchiamento forzato quando si utilizza la stessa quantità di malto di grano saraceno, indicando un effetto considerevole delle condizioni di ammostamento sull'eliminazione dei radicali DPPH. Osservazioni simili provengono anche dai risultati dell'analisi dell'attività FRAP. Tra questi campioni, la maggiore diminuzione del valore FRAP viene ottenuta nell'campione con 100% di orzo dopo 15 giorni di invecchiamento forzato. Durante l'intero periodo di invecchiamento forzato, le birre di grano saraceno prodotte con il metodo di ammostamento B mostrano attività FRAP significativamente più elevate rispetto a quelle prodotte con il metodo A quando è stata utilizzata la stessa quantità di malto di grano saraceno. I valori FRAP variavano da 0,43 mmol FE/L per il riferimento a 2,10 mmol FE/L per la birra di grano saraceno al 40% prodotta utilizzando il metodo di ammostamento B al 15° giorno di invecchiamento forzato. I dati mostrano una buona correlazione tra l'attività antiossidante e il contenuto di rutina o il contenuto totale di flavonoidi nelle birre di grano saraceno. La birra con il più alto contenuto di rutina e flavonoidi totali ha avuto la massima stabilità ossidativa durante l'invecchiamento forzato. Numerosi studi hanno valutato le capacità antiossidanti di varie birre. Questi risultati pubblicati hanno riportato che l'attività antiossidante della birra è strettamente correlata al contenuto di polifenoli e flavonoidi. Studi di [73] hanno confrontato le attività antiossidanti di diversi tipi di birra utilizzando il metodo FRAP e ha riscontrato una maggiore stabilità ossidativa nella birra arricchita con polifenoli. [74] ha affermato che arricchire la birra con frutta come le bacche di goji può aggiungere nuovi sapori, ma può anche aumentare il contenuto di composti bioattivi e la stabilità ossidativa della birra. In Belgio esiste una lunga tradizione nella produzione di birre lambic con aggiunta di ciliegia, fragola o lampone [8].

Figura 26 - Alcune delle più famose birre Lambic (Link)

7.6.3 Valutazione sensoriale

Al fine di esplorare ulteriormente l'effetto del malto di grano saraceno sulla qualità della birra, sono state valutate le caratteristiche organolettiche di diversi campioni. Come mostrato nella Tabella 7, queste birre fresche hanno poca differenziazione in termini di gusto, compresa la pienezza e la freschezza. Per quanto riguarda le birre di grano saraceno, il gusto è risultato paragonabile a quello della birra prodotta con malto d'orzo al 100% sebbene l'intensità amara fosse leggermente superiore. L'amaro della

birra è prodotto principalmente dal luppolo, ma anche da alcune altre molecole come i polifenoli le proteine. Inoltre, un'altra osservazione riguardo al gusto delle birre di grano saraceno è che hanno un sapore di nocciola molto distinto. Tuttavia, non hanno mostrato evidenti difetti di sapore [8].

Tabella 7 - I profili sensoriali di diverse birre prodotte con malto d'orzo e malto di grano saraceno in proporzioni diverse utilizzando due metodi di ammostamento.

Attributi sensoriali	Birra da 100% malto d'orzo	Birra da 20% malto di grano saraceno (metodo A)	Birra da 20% malto di grano saraceno (metodo B)	Birra da 40% malto di grano saraceno (metodo A)	Birra da 40% malto di grano saraceno (metodo B)
Intensità totale dell'odore	4.0a	3.5ab	3.0 ± 0.5b	3.5 ± 0.5ab	3.5ab
Aroma maltato	4.0a	3.5ab	3.5ab	3.0b	3.5 ± 0.5ab
Aroma del luppolo	4.0a	4.0a	3.5a	3.5a	3.5a
Aroma di nocciola	1.5 ± 0.5c	2.5b	2.5 ± 0.5b	3.5 ± 0.5a	3.0ab
Purezza del gusto	3.5a	3.5a	3.5a	4.0a	4.0a
Acidità	1.5a	1.5a	1.5a	1.5a	1.5a
Dolcezza	2.0a	2.0a	2.0a	2.5a	2.0a
Intensità dell'amaro	2.5a	2.5a	2.5a	3.0a	2.5a
Qualità dell'amaro	3.5a	3.5a	3.0a	3.0a	3.5a
Freschezza	3.5a	3.5a	3.5a	3.0a	3.5a
Pienezza	4.0a	3.5a	4.0a	4.0a	4.0a
Accettabilità totale	4.0a	3.5a	3.5 ± 0.5a	3.5a	4.0a

Le medie con lo stesso attributo seguite da una lettera diversa sono significativamente diverse ($p < 0,05$).

8 PRODUZIONE DI BIRRA CON AGGIUNTA DI SORGO

Tecnica di produzione e dati estrapolati dall'articolo scientifico [4]

In molti paesi africani, il sorgo rosso viene utilizzato per la produzione di birra locale. Il fatto che il sorgo sia privo di glutine è un vantaggio che spiega il crescente interesse dei birrai nell'utilizzo del sorgo, dando la possibilità di produrre birre per i celiaci. Tuttavia, la maggior parte delle birre senza glutine sono preparate utilizzando enzimi commerciali o coadiuvanti come riso o sorgo estruso per fornire attività amilolitica e substrati per la fermentazione. Tuttavia, il sorgo maltato ottenuto in condizioni ottimali consente di produrre una sufficiente attività dell'amilasi e composti bioattivi. In precedenti studi sono stati mostrati cambiamenti nei composti fenolici e nell'attività antiossidante durante i processi di birra d'orzo e birra di sorgo opaca. Lo studio dei composti fenolici nella birra è importante in quanto sono coinvolti nelle caratteristiche del sapore, nel mantenimento della schiuma, nella stabilità fisica e chimica e nella durata di conservazione del prodotto. Oltre a ciò, i composti fenolici forniscono un'attività antiossidante correlata a proprietà benefiche per la salute. Tuttavia, non ci sono rapporti sui cambiamenti nei composti fenolici e nell'attività antiossidante durante il processo della birra di sorgo bianco. Inoltre, per quanto ne sappiamo, non ci sono informazioni in merito ai cambiamenti durante la produzione di birra negli amminoacidi liberi, inclusi GABA (acido alfa-gamma-butirrico), effetti antipertensivi o ipoglicemici [4].

8.1 METODICA DI PRODUZIONE

La birra bianca di sorgo è stata preparata con il sorgo maltato (MS), utilizzando una procedura di ammostamento adattata al sorgo. In breve, viene aggiunta acqua calda (50° C) al malto di sorgo macinato, in un rapporto malto/soluzione di 1:5. La pasta ottenuta viene miscelata e mantenuta a quella temperatura per 30 min. Successivamente, il surnatante enzimatico viene rimosso. Il macerato rimanente (residuo di amido) è incubato a 85° C per 30 min. Quindi, il surnatante enzimatico viene nuovamente aggiunto e incubato. La pasta ottenuta viene filtrata e lavata, e il mosto ottenuto (W) viene bollito con luppolo (60 min, 100 ° C), per ottenere mosto luppolato bollito (HW), con una gravità originaria di 8,1° Brix. La quantità di luppolo aggiunto corrisponde a quella che permette di raggiungere un valore International Bitterness Units (IBU) di 30. Successivamente, viene aggiunto lievito di birra commerciale Ale (Windsor, Vienna, Austria) (1 g/L) e quindi fermentato a 20° C fino all'attenuazione (prima fermentazione, FF). Prima dell'imbottigliamento, in ciascuna bottiglia (355 mL) viene aggiunto saccarosio per una seconda fermentazione (20° C). Infine, il prodotto matura in bottiglia sigillata a 4° C per 3 settimane, per ottenere il prodotto finale di birra di sorgo (SB) [4].

8.1.2 Cambiamenti nei composti bioattivi e bioattività durante il processo di fermentazione

Sono stati valutati il sorgo maltato (MS), il mosto (W), il mosto luppolato (HW), il prodotto ottenuto dopo la prima fermentazione (FF) e la birra di sorgo (SB). Nel caso di W, HW, FF e SB, i campioni sono stati preventivamente degassati in ultrasuoni (Arcano PS-10A, Cina) per 15 min. Al fine di confrontare la composizione e la bioattività durante il processo di fermentazione, tutti i risultati vengono riportati in relazione a grammi di sostanza secca (s.s.) per i campioni W, HW, FF e SB [4].

8.2 CARATTERISTICHE DELLA BIRRA DI SORGO BIANCO

La birra ottenuta è stata valutata e approvata da un panel di esperti seguendo il protocollo di valutazione della birra del CATAST (2017), diviso in 3 fasi: visiva, olfattiva e orale. La birra di sorgo white ale risulta essere poco trasparente, con gas equilibrato, e schiuma bianca, poco densa e molto persistente. Gli aromi più percepiti sono quelli del luppolo e del lievito aggiunto. Il sapore della birra rimane amaro e fresco, con una valutazione globale di otto punti su dieci. Il valore di EBC è 5.7, ed indica una birra dorata. Il pH è 4,05, con un'acidità totale di 0,16% (equivalente in acido lattico). Entrambi i valori rientrano in quelli riportati per i prodotti a base di birra [75]. Il contenuto alcolico è del 2,35% (ABV) e contiene 5,1° Brix (g/100 g di birra) [4].

8.2.1 Contenuto di GABA

Il contenuto di FAA e GABA è stato determinato secondo [76]. Le variazioni di GABA durante il processo di fermentazione sono mostrate in Fig. 18. Durante le prime fasi, il livello di GABA rimane costante (~ 1,5 mg per 100 g di sostanza secca), ma aumenta dopo la prima fase di fermentazione (FF) fino a circa 15 mg per 100 g di sostanza secca, e rimane allo stesso livello in SB. È noto che il maltaggio di un cereale aumenta il contenuto di GABA durante la macerazione e la germinazione a causa delle

condizioni di stress del seme. Inoltre, il lievito (*Saccharomyces cerevisiae*) sintetizza e accumula GABA sui vacuoli [77; 4].

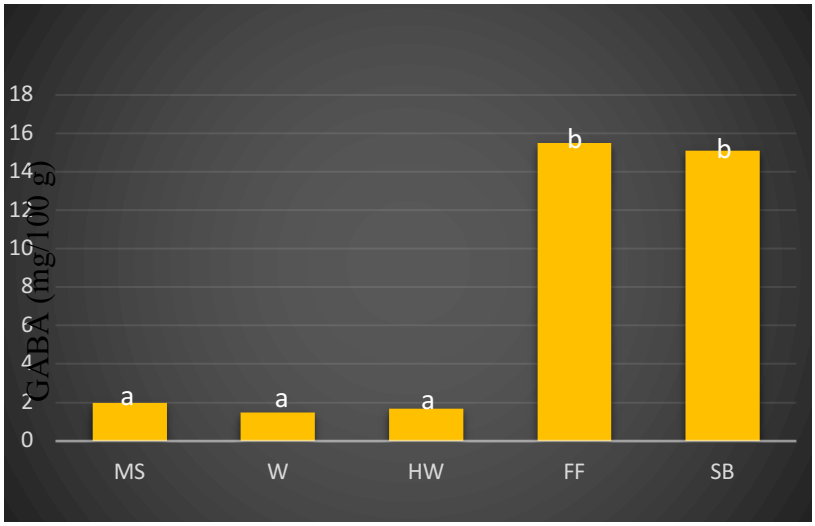

Figura 27 - Contenuto di GABA ottenuto con il processo di fermentazione del sorgo bianco. Lettere diverse indicano differenze significative (P <0,05) tra i campioni.

La concentrazione di GABA nella birra di sorgo bianco è di 7,8 mg/L. Il GABA è ampiamente presente nelle piante, ma agisce anche nel cervello umano come un potente trasmettitore di segnali neurali, e vi è una notevole conoscenza delle sue molteplici funzioni fisiologiche, come rilassamento, insonnia e depressione. Inoltre, [78] propongono che il GABA abbia un ruolo nutraceutico nel recupero e nella prevenzione delle malattie croniche legate all'alcol. Pertanto, la quantità di GABA in questa birra bianca di sorgo può fornire benefici bio-funzionali. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi per conoscere gli effetti del consumo di birra arricchita con GABA [4].

8.2.2 Contenuto di amminoacidi liberi

Il contenuto totale e individuale di amminoacidi liberi è mostrato nella Tabella 8. Ad eccezione di Ser, Thr e Cys, il contenuto di ciascun amminoacido è aumentato nel mosto (W), dopo la fase di ammostamento, con un incremento di 2,2 volte del totale di amminoacidi liberi (FAA). In generale, i valori degli amminoacidi liberi si sono mantenuti costanti durante la fase di ebollizione e dopo l'aggiunta di luppolo per ottenere il mosto luppolato (HW), ma sono diminuiti notevolmente dopo la prima fermentazione (FF), raggiungendo il valore minimo nella birra di sorgo (SB). Tuttavia, Pro si è mantenuto costante durante le fasi di fermentazione, essendo l'aminoacido più abbondante in SB. Durante la maltazione, le proteine vengono idrolizzate in polipeptidi, peptidi e amminoacidi liberi, ma la principale scomposizione delle proteine avviene nella fase di ammostamento, quindi il contenuto di amminoacidi liberi aumenta nel mosto. Gli amminoacidi liberi più abbondanti presenti in HW sono Ala, Arg e Asp + Glu. Secondo [79], Glu, Asp e Ala sono gli amminoacidi più abbondanti nelle proteine del sorgo. Come affermato in precedenza, Pro non è stato consumato durante la fermentazione. Gli amminoacidi sono usati in modi diversi dai lieviti, essendo Pro l'amminoacido più lentamente assimilato. La prolina non ha gruppi amminici liberi e quindi non può prendere parte direttamente alle reazioni di

transaminazione che spesso causano la formazione di composti della birra che producono sapore [4].

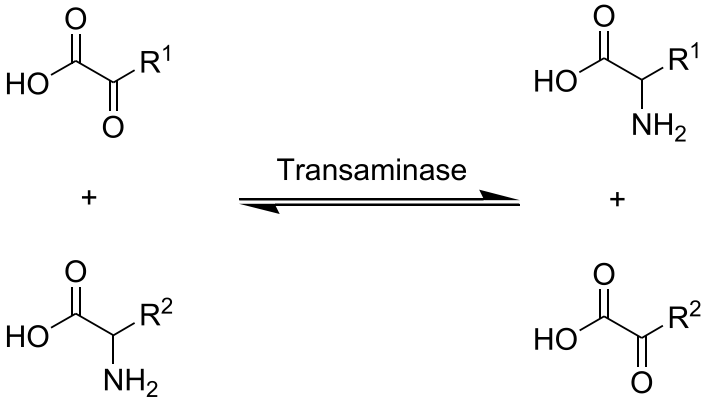

Figura 28 - Reazione generica di transaminazione tra un α-amminoacido e un α-chetoacido (Link)

Tabella 8 - Contenuto di amminoacidi liberi per sorgo maltato (MS), mosto (W), mosto luppolato (HW), birra di prima fermentazione (FF) e sorgo (SB)

FAA	MS [mg/100g b.s.]	W [mg/100 g s.s.]	HW [mg/100 g s.s.]	FF [mg/100 g s.s.]	SB [mg/100 g s.s.]
Asp + Glu	61.6 ± 1.2^{c}	158.4 ± 0.1^{d}	189.0 ± 5.2^{e}	47.4 ± 0.8^{b}	21.1 ± 1.5^{a}
Ser	94.5 ± 0.9^{e}	59.8 ±0.1^{d}	27.6 ± 0.3^{b}	35.4 ± 0.6^{c}	10.5 ± 0.2^{a}
His	94.5 ± 0.9^{e}	68.9 ± 0.1^{e}	43.1 ± 1.1^{c}	54.2 ± 1.6^{d}	31.7 ± 0.4^{b}
Gly	20.8 ± 0.1^{b}	40.5 ± 0.1^{c}	43.1 ± 1.9^{d}	2.5 ± 0.6^{a}	3.1 ± 0.0^{a}
Thr	47.6 ± 0.1^{b}	3.2 ± 0.0^{b}	3.2 ± 0.2^{b}	1.1 ± 0.0^{a}	1.3 ± 0.3^{a}
Arg	66.5 ± 0.2^{c}	199.2 ± 0.2^{d}	205.9 ± 6.8^{d}	77.3 ± 0.5^{c}	17.5 ± 0.6^{a}
Ala	40.1 ± 1.6^{a}	185.8 ± 0.2^{c}	191.1 ± 7.5^{c}	72.7 ± 0.4^{b}	17.1 ± 0.6^{a}
Pro	50.4 ± 0.9^{a}	104.1 ± 0.1^{b}	125.8 ± 3.8^{c}	140.6 ± 1.9^{d}	134.2 ± 6.7^{cd}
Tyr	33.2 ± 0.3^{c}	119.2 ± 0.1^{d}	121.4 ± 5.3^{d}	102.4 ± 0.2^{c}	78.9 ± 2.6^{b}
Val	11.1 ± 0.1^{b}	86.4 ± 0.1^{d}	90.4 ± 3.4^{e}	11.3 ± 0.2^{b}	4.0 ± 0.2^{a}
Met	20.9 ± 0.5^{c}	26.6 ± 0.1^{c}	26.0 ± 0.4^{c}	5.9 ± 0.9^{a}	6.0 ± 0.2^{a}
Cys	6.8 ± 0.1^{c}	3.7 ± 0.1^{c}	4.8 ± 0.2^{b}	4.1 ± 0.2^{ab}	3.8 ± 0.5^{a}
Ile	20.9 ± 0.5^{c}	56.8 ± 0.2^{d}	56.3 ± 0.5^{d}	13.2 ± 0.4^{b}	9.7 ± 0.9^{a}
Leu	51.4 ± 1.4^{b}	123.9 ± 0.3^{c}	124.9 ± 1.7^{c}	3.9 ± 0.3^{a}	1.4 ± 0.3^{a}
Phe	56.1 ± 0.5^{c}	116.9 ± 6.9^{d}	107.1 ± 0.7^{d}	35.0 ± 1.5^{b}	8.5 ± 0.3^{a}
Lys	21.0 ± 2.9^{b}	53.9 ± 3.7^{c}	57.8 ± 1.9^{c}	3.6 ± 0.1^{a}	1.7 ± 0.2^{a}
Total [lEq/g]	46.3 ± 0.8^{b}	103.2 ± 1.4^{c}	103.0 ± 3.1^{c}	44.7 ± 0.8^{b}	25.6 ± 1.1^{a}

FAA, amminoacido libero; b.s., base secca; s.s., solidi solubili. Totale = somma di lEq di ciascun amminoacido libero per g. I valori con diverse lettere in apice in una riga sono significativamente diversi (p <0,05).

8.2.3 Composti fenolici

Il contenuto di derivati dell'acido idrossibenzoico e idrossicinnamico di diversi campioni è mostrato nella Tabella 19. Il composto fenolico libero più abbondante presente nel malto di sorgo è l'alcool 4-idrossibenzoile, seguito dall'acido gallico. La percentuale di composti fenolici liberi studiati estratti dal sorgo maltato durante il processo di ammostamento è rispettivamente 47%, 74%, 118%, 11%, 18%, 25%, 84% e 62% per l'acido gallico, 4-idrossibenzoil alcol, acido 4-idrossibenzoico, vanillico, caffeico, p-cumarico, ferulico e sinapico. Il processo di ammostamento prevede l'idrolisi delle proteine e dell'amido e l'estrazione con acqua dei composti solubili. Il contenuto più elevato di acido 4-idrossibenzoico libero nel mosto potrebbe essere dovuto al rilascio dell'acido fenolico legato a proteine e carboidrati. Durante il processo di fermentazione, gli acidi gallico, caffeico, p-cumarico e ferulico sono

aumentati in HW, dopo l'aggiunta del luppolo. Gli acidi fenolici nel luppolo costituiscono il 3-6% del peso secco dei coni di luppolo. Dopo le prime fasi di fermentazione (FF) e maturazione (SB), il contenuto di acidi fenolici è aumentato, ad eccezione dell'acido gallico e dell'alcool 4-idrossibenzoile, che è diminuito nei campioni FF (rispettivamente di 10 e 1,4 volte), rispetto a al campione HW. Alcuni composti fenolici sono precursori di aromi molto potenti e potrebbero subire una decarbossilazione durante la fermentazione [80]. D'altra parte, [81] hanno studiato gli effetti delle fasi di lavorazione sul contenuto fenolico della birra d'orzo e hanno scoperto che l'acido 4-idrossibenzoico e l'acido vanillico aumentavano dopo le fasi di fermentazione. [82] hanno riportato che i gruppi idrossilici fenolici totali sono aumentati in modo significativo dopo la fermentazione durante il processo di fermentazione del sorgo rosso opaco, a causa dell'idrolisi dei composti fenolici condensati presenti nel mosto. Inoltre, l'aumento del contenuto di alcuni fenoli durante la fermentazione potrebbe essere dovuto agli enzimi proteolitici del lievito che idrolizzano le proteine e scindono i complessi con i fenoli rendendo i fenoli più solubili [83].

Tabella 9 - Contenuto di composti fenolici da sorgo maltato (MS), mosto (W), mosto luppolato (HW), prima fermentazione (FF) e birra di sorgo (SB).

Componenti fenolici	MS [mg/100g b.s.]	W [mg/100 g s.s.]	HW [mg/100 g s.s.]	FF [mg/100 g s.s.]	SB [mg/100 g s.s.]
Acido gallico	298.2 ± 8.5c	405.1 7.6^{d}	464.9 ± 1.2^{e}	46.7 ± 4.4^{a}	79.8 ± 4.5^{b}
Alcol 4-idrossibenzoico	418.4 ± 14.6^{b}	896.6 ± 17.2^{e}	767.9 ± 7.6^{d}	546.8 ± 8.4^{c}	253.8 ± 9.9^{a}
4-idrossibenzoil alcol	18.0 ± 0.4^{a}	63.2 ± 0.6^{b}	63.1 ± 0.7^{b}	134.9 ± 0.5^{c}	163.7 ± 0.9^{d}
Acido vanillico	25.2 ± 1.9^{c}	8.1 ± 1.0^{a}	10.0 ± 0.0^{a}	14.9 ± 0.8^{b}	17.4 ± 1.3^{b}
Acido caffeico	64.4 ± 0.0^{c}	34.4 ± 0.1^{a}	48.6 ± 3.4^{b}	68.5 ± 1.2^{c}	89.2 ± 2.1^{d}
p-cumarico	20.7 ± 0.7^{b}	15.2 ± 0.2^{a}	18.6 ± 0.7^{b}	39.9 ± 0.1^{c}	46.1 ± 2.5^{d}
Acido ferulico	26.6 ± 1.2^{a}	64.7 ± 0.4^{b}	71.0 ± 2.1^{c}	92.4 ± 2.4^{d}	102.4 ± 3.8^{e}
Acido sinapico	9.6 ± 0.5^{a}	17.6 ± 0.1^{b}	16.9 ± 0.9^{b}	22.8 ± 0.1^{c}	33.3 ± 0.2^{d}

b.s., base secca; s.s., solidi solubili
I valori con diverse lettere in apice in una riga sono significativamente diversi (p <0,05).

Gli studi condotti sulla birra d'orzo hanno mostrato un profilo fenolico diverso rispetto alla birra di sorgo, essendo l'acido p-cumarico e ferulico i costituenti fenolici più abbondanti identificati [84]. D'altra parte, il contenuto di composti fenolici nella birra bianca di sorgo è di 40,7 mg/L, superiore al contenuto della tipica birra d'orzo. A questo proposito, [73] hanno studiato il profilo fenolico di trentasette birre d'orzo. Hanno trovato una gamma di composti fenolici da 11,1 mg/L per la birra dealcolizzata a 29,1 mg/L per la birra bock. È noto che le materie prime utilizzate per la produzione della birra, così come i parametri di lavorazione del maltaggio e della fermentazione, influenzano la composizione chimica del prodotto finale di composti fenolici nel sorgo rispetto a quelli osservati nell'orzo [85]. In sostanza, è quindi possibile ottenere una birra ricca di composti fenolici utilizzando come materia prima il sorgo bianco maltato [6].

9 PRODUZIONE CON IL 100% DELLE MATERIE PRIME NON MALTATE

Tecnica di produzione e dati estrapolati dall'articolo scientifico [86].

A causa della natura complessa del processo di maltazione, una notevole quantità di acqua ed energia, nonché una rigorosa qualità dell'orzo da maltazione, sono un prerequisito per un processo di successo per ottenere un malto di buona qualità. A causa dello sviluppo di enzimi per la produzione di birra commerciale negli ultimi anni, è diventato possibile produrre birre utilizzando cereali non maltati con l'aggiunta di enzimi esogeni. È stato dimostrato che evitare completamente il processo di maltazione può portare a un risparmio totale di 0,5–1,0 EUR per ettolitro di birra a seconda delle condizioni locali, dei prezzi dei cereali e degli enzimi, nonché l'eliminazione dell'impronta di carbonio associata al malto prodotto, che a sua volta contribuisce a ridurre le emissioni di CO2 di 8 g per 33 cL di birra. Inoltre, l'uso diretto del chicco d'orzo amplia il disciplinare di qualità dell'orzo e consente l'utilizzo di colture locali, rendendo più sostenibile la produzione di birra. Di conseguenza, l'uso di cereali non maltati nel processo di produzione della birra al posto del malto diventa un metodo interessante per risparmiare sui costi, ridurre l'impatto ambientale e accedere a nuovi mercati della birra. I principali cereali di interesse sono l'orzo, il frumento, l'avena e la segale nel mercato danese. In particolare, l'utilizzo dell'avena come ingrediente per la produzione di birra è diventato sempre più interessante negli ultimi anni; questo non solo per le eccellenti qualità benefiche per la salute, ma anche per i recenti risultati della ricerca secondo cui la maggior parte dei pazienti celiaci potrebbe consumare l'avena in modo sicuro senza mostrare i principali sintomi di intolleranza al glutine. Simile all'avena, la segale è un cereale strettamente correlato al grano e all'orzo; tuttavia, rispetto a avena, orzo e frumento, il prezzo della segale è il più basso in Danimarca negli ultimi anni. Inoltre, il pane di segale è un alimento molto comune in Danimarca, è quindi molto interessante esplorare il potenziale di produzione dei chicchi di segale [86].

9.1 L'UTILIZZO DEGLI ENZIMI ESOGENI

Ci sono stati diversi studi sulla produzione di birre utilizzando vari tipi di cereali non maltati (come avena e orzo) come coadiuvanti integrati con enzimi esogeni. Infatti, [43] hanno studiato l'influenza degli enzimi esogeni sui parametri chimico-fisici di mosto e birre prodotte con il 22,5% di avena non maltata come coadiuvante, e di conseguenza gli autori hanno concluso che l'applicazione di enzimi esogeni è un modo redditizio per produrre birre utilizzando una proporzione elevata di avena non maltata. [24] hanno scoperto che la miscela di enzimi Ondea® Pro è in grado di migliorare la qualità e la capacità di processo durante l'ammostamento con il 30 o il 40% di avena non maltata. Per quanto riguarda l'orzo, [44] hanno riportato che l'acidificazione biologica con batteri lattici attivi enzimatici potrebbe essere utilizzata per superare il contenuto di enzimi ridotto in un mosto contenente il 50% di orzo non maltato, e l'acido lattico ha anche provocato una diminuzione dei livelli di β-glucano a causa della diminuzione dell'attività della *β-glucano solubilasi*. Inoltre, è stato dimostrato che l'uso appropriato di una miscela di enzimi esogeni durante la produzione di orzo non maltato

fino al 50% non ha alcun effetto negativo sulla qualità e sul sapore della birra. È stato anche possibile produrre birra in modo efficiente utilizzando il 100% di orzo non maltato come materia prima [86].

Figura 29 - Ondea® Pro Novozymes (Link)

9.2 METODICA DI PRODUZIONE

I chicchi di orzo, frumento, segale e malto vengono macinati con un mulino a due rulli (Sommer, Piccolo 15 S 400 V, Germania) a una distanza di 1,25 mm tra i rulli ad eccezione dell'avena, che è stata macinata a un Distanza di 1,00 mm tra i rulli, a causa della dimensione del seme più piccola. L'ammostamento è effettuato in un sistema di costruito in casa (brevetto n. WO2013024065). Il mash-in è stato eseguito mescolando 3 kg di macinato in 9 L di acqua di infusione (pH 5,5) a 35° C. Viene poi aggiunto il cocktail di enzimi (2 g/kg Ondea® Pro) all'acqua di infusione per la preparazione con il 100% di cereali non maltati. Il programma di ammostamento è il seguente: il processo è stato avviato a 35° C (mash-in) applicando una velocità di riscaldamento di 1° C al minuto; riscaldare fino a 65° C e riposare per 60 min; un ulteriore riscaldamento fino a 78° C e riposo per 5 min (mash-out). Per fornire un confronto ragionevole, il primo mosto è stato misurato gravimetricamente ed è stata aggiunta acqua per raggiungere un estratto di mosto di circa 11° P prima dell'ebollizione. Il mosto viene quindi bollito con i pellet di luppolo (tipo "Northern Brewer") per 60 minuti esatti, mirando a 20 IBU. Dopo il raffreddamento, il mosto è stato centrifugato a 2000 g per 5 min. Il mosto finale era di circa 12° P. La fermentazione viene effettuata utilizzando un recipiente in vetro con una capacità di 1 L (BIOSTAT Q, Sartorius AG, Germania), basato su un metodo di Boulton e Quain con piccole modifiche. Prima della fermentazione, una quantità di 0,7 L di mosto viene trasferita nel recipiente, dove viene fatta gorgogliare con aria filtrata sterile per 1 ora a circa 0,5 L/min. La fermentazione del mosto è stata lanciata con 0,5 g di lievito di birra secco (Safbrew S-33, Fermentis, Francia) previa reidratazione secondo le raccomandazioni del produttore. La fermentazione viene condotta a 20° C fino a quando non ci sono variazioni significative nell'estratto apparente. Durante la fermentazione, l'anaerobiosi è mantenuta facendo scorrere azoto privo di ossigeno attraverso lo spazio di testa. Dopo la fermentazione, le birre vengono trasferite in una bottiglia di vetro vengono fatte maturare per 1 settimana a 2° C. La birra viene infine chiarificata mediante centrifugazione a 2000 g per 5 min. Durante il processo di fermentazione, campioni di cereali, mosto luppolato e birre finali sono stati raccolti e conservati al buio a −20° C

prima delle analisi, nelle quali vengono utilizzate come controllo le prestazioni di produzione della birra con il 100% di malto [86].

9.3 CARATTERISTICHE DEL MOSTO

La produzione del mosto di birra potrebbe essere influenzata da una varietà di parametri come la dimensione della macinatura, il profilo di ammostamento e il tipo di luppolo. Al fine di fornire un ragionevole confronto, i mosti di cereali diversi sono stati ottenuti utilizzando la stessa procedura di ammostamento seguita dall'ebollizione con lo stesso lotto di luppolo. Dopo il raffreddamento, sono stati raccolti e analizzati i mosti di ciascun tipo di grano (Tabella 10). Durante la filtrazione, tutti i mosti hanno avuto lo stesso comportamento. Da tutti i mosti, come previsto, è stato ricavato un estratto di circa 12° P dopo l'ebollizione; tuttavia, nei mosti sono state osservate varie composizioni di carboidrati fermentabili (Fig. 19). Per il maltosio, lo zucchero più abbondante, il mosto di avena contiene la concentrazione più bassa di 24,7 g/L rispetto al valore più alto di 68,5 g/L nel mosto di malto. Sebbene non esistessero precedenti rapporti sul contenuto di maltosio nel mosto di avena, [43]. hanno osservato un contenuto di estratto inferiore nell'avena non maltata rispetto al malto, indipendentemente dal trattamento enzimatico. Gli autori hanno attribuito questo effetto al basso contenuto di amido nell'avena, nonché alle caratteristiche strutturali dell'amido di avena. Nonostante ciò, va notato che il prodotto enzimatico di ammostamento commerciale utilizzato era originariamente standardizzato per la produzione di birra con orzo non maltato al 100% anziché avena, e pertanto potrebbe essere necessaria una miscela di enzimi su misura per ottenere una resa di zucchero più elevata utilizzando avena. Le concentrazioni di maltotriosio mostrano un range di 15,7–21,6 g/L, con il frumento e il mosto di malto che mostrano rispettivamente i livelli più alti e più bassi. Per i monosaccaridi fruttosio e glucosio, è interessante notare che il mosto di malto fornisce una concentrazione di glucosio molto più elevata rispetto ai mosti prodotti da cereali non maltati [86].

Tabella 10 - principali caratteristiche del mosto

	Orzo	Frumento	Avena	Segale	Malto
Gravità specifica [°P]	11.5 ± 0.1	11.8 ± 0.2	12.4 ± 0.1	12.3 ± 0.1	11.7 ± 0.1
Azoto totale [% p/p]	0.09 ± 0.01	0.19 ± 0.03	0.12 ± 0.01	0.09 ± 0.02	0.10 ± 0.01
FAN [mg/L]	63.2 ± 0.7	90.9 ± 3.4	78.9 ± 1.4	85.2 ± 2.0	154.1 ± 4.7
Viscosità [mPa x s]	1.64 ± 0.03	1.79 ± 0.01	2.11 ± 0.04	5.15 ± 0.03	1.52 ± 0.03

I dati sono presentati come la media del duplicato dei campioni ± l'intervallo dei duplicati.

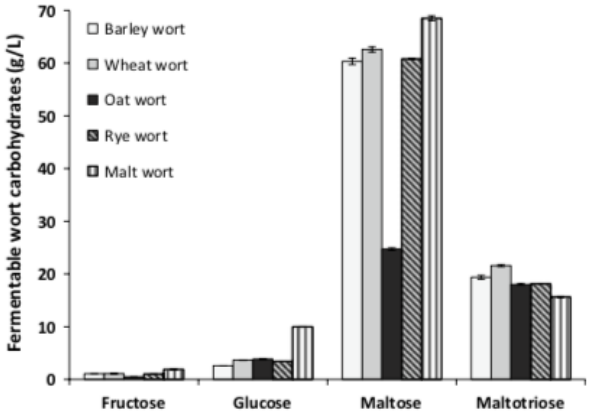

Figura 30 - Concentrazioni di carboidrati fermentescibili in diversi tipi di mosto. I dati rappresentano la media dei campioni duplicati, con barre di errore che mostrano l'intervallo dei duplicati [86].

Il contenuto totale di azoto nel mosto è significativo, e in particolare l'azoto assimilabile (FAN) sotto forma di singoli amminoacidi e piccoli peptidi che, come riportato anche nei paragrafi precedenti, sono importanti per l'alimentazione del lievito. In generale, in un mosto di 10,5° P ci si aspetta di trovare livelli di FAN compresi tra 150 e 50 mg/L, al fine di assicurare una crescita efficiente delle cellule di lievito e quindi una performance di fermentazione ottimale. Nel mosto di frumento, è stato misurato circa lo 0,1% (p/p) del campione, che ha mostrato un livello dello 0,19% (p/p), quindi elevato. Il livello di FAN del mosto di malto è all'interno dell'intervallo raccomandato da [87] come descritto sopra, con un valore medio di 154,1 mg/L, mentre i mosti prodotti da cereali non maltati contengono livelli di FAN inferiori, mostrando un ordine di valori crescenti partendo dall'orzo (63,2 mg / L) < avena (78,9 mg / L) < segale (85,2 mg / L) < grano (90,9 mg / L). La viscosità del mosto può essere utilizzata come indicatore dell'efficienza del processo di filtrazione. Il mosto di malto di controllo ha mostrato un valore di viscosità di 1,52 mPa × s, inferiore a quello del mosto prodotto da cereali non maltati. La viscosità del mosto di segale mostra il valore più alto di 5,15 mPa × s, seguito dal mosto di avena con un livello di 2,11 mPa × s, mentre i mosti prodotti da orzo e grano presentano valori di viscosità simili, inferiori a 1,80 mPa × s. L'elevata viscosità nel mosto di segale e avena potrebbe probabilmente essere spiegata da un alto livello di contenuto di β-glucano e pentosano. Infatti, [44] hanno dimostrato che l'attività della *β-glucanasi* è oltre 12 volte inferiore nell'avena non maltata rispetto al malto d'orzo. È stata inoltre osservata una maggiore viscosità durante l'ammostamento fino al 40% di avena non maltata. Oltre all'avena non maltata, i risultati hanno rivelato potenziali problemi per la lavorazione dei chicchi di segale non maltati, e pertanto dovrebbero essere applicati enzimi esogeni aggiuntivi come la *β-glucanasi* per la produzione di mosto utilizzando segale al 100% non maltato [86].

9.4 CARATTERISTICHE DELLE BIRRE

La misurazione della gravità del mosto è comunemente usata per riflettere l'utilizzo dei carboidrati del mosto durante la fermentazione e il grado apparente di fermentazione è uno degli attributi chiave nel determinare l'efficienza della fermentazione. La Figura 20 mostra il profilo di gravità di diversi tipi di mosto durante il corso di 3 giorni della fermentazione. La maggior parte dei carboidrati

fermentescibili del mosto è stata utilizzata entro il primo giorno di fermentazione, indipendentemente dal tipo di mosto, probabilmente a causa della rapida crescita del lievito derivante dall'alta temperatura di fermentazione (20° C) e dalla costante agitazione. Per tutte le fermentazioni, la gravità del mosto è diminuita in modo simile, ma con differenze di gravità residua e grado di fermentazione (Tabella 11). La birra di controllo è scesa alla gravità residua più bassa di 2,3 °P e ha raggiunto il grado di fermentazione più alto dell'80,3%. In confronto, le fermentazioni di mosto di orzo, frumento e segale hanno mostrato un profilo di gravità stretto mostrando una gravità residua di circa 4,0 °P e grado di fermentazione di circa 66%. A differenza dell'orzo, del frumento e della segale, la fermentazione dell'avena non è stata in grado di raggiungere la stessa attenuazione finale, mostrando la massima gravità residua di 7,5° P. L'aumento della gravità residua potrebbe essere dovuto a un più alto estratto non fermentabile nell'avena, come un più alto contenuto di buccia, proteine, lipidi e amido, con conseguente diminuzione del peso dell'estratto fermentabile nell'estratto totale [86].

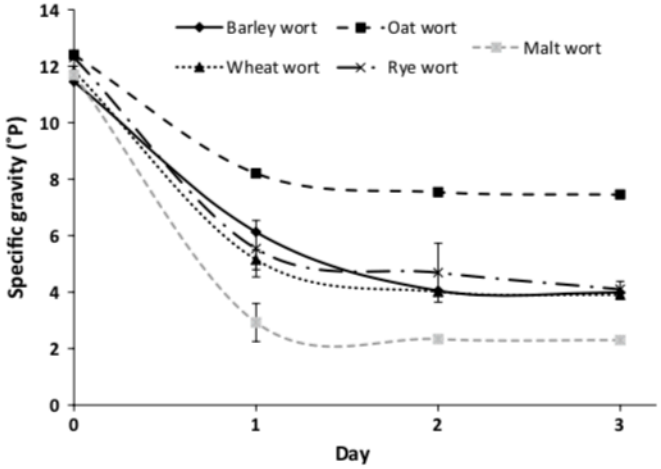

Figura 31 - Diminuzione del peso specifico durante la fermentazione di diversi tipi di mosto in funzione del tempo. I punti dati rappresentano la media dei campioni duplicati, con barre di errore che mostrano l'intervallo dei duplicati.

Le caratteristiche delle birre finali sono presenti nella Tabella 11. Come già indicato dall'andamento della fermentazione, la birra d'avena ha mostrato il livello alcolico più basso di 2,22% (volume/volume) e il contenuto di glicerolo concomitante di 1,70 g/L, mentre la concentrazione alcolica più alta del 4,61% (v/v) è stata osservata nella birra al malto. Le birre prodotte da orzo, frumento e segale presentano tutte un livello alcolico simile di circa il 3,6% (v/v). Inoltre, la concentrazione di FAN è più elevata nella birra al malto rispetto alle birre prodotte con cereali non maltati. Il valore FAN più elevato nella birra al malto è stato osservato anche da [20] e nelle loro prove il livello di FAN era di 10 mg/L nella birra d'orzo non maltato rispetto a 63 mg/L nella birra da malto. Indipendentemente da ciò, è stato osservato un alto grado di utilizzo di FAN (circa 80%), indicando che i profili amminoacidici dei mosti erano ugualmente benefici per il lievito, indipendentemente dai grani usati per la fermentazione [86].

Tabella 11 - Principali caratteristiche delle birre.

	Orzo	Frumento	Avena	Segale	Malto
Gravità residua [°P]	4.0 ± 0.1	3.9 ± 0.1	7.5 ± 0.1	4.1 ± 0.3	2.3 ± 0.1
Grado di fermentazione [%]	65.2 ± 0.3	67.0 ± 0.9	40.0 ± 0.7	66.7 ± 1.0	80.3 ± 0.1
Etanolo totale [% v/v]	3.42 ± 0.13	3.93 ± 0.03	2.22 ± 0.01	3.87 ± 0.07	4.61 ± 0.13
Glicerolo[g/L]	2.58 ± 0.15	3.60 ± 0.89	1.70 ± 0.29	3.27 ± 0.17	3.83 ± 0.27
FAN [mg/L]	11.6 ± 1.2	21.7 ± 4.2	18.7 ± 3.0	17.2 ± 5.1	36.7 ± 0.5
Grado di utilizzo di FAN [%]	81.6 ± 2.1	76.3 ± 3.8	76.4 ± 3.5	79.8 ± 5.5	76.1 ± 1.1
Colore [EBC]	3.7 ± 0.1	4.9 ± 0.2	3.1 ± 0.3	6.5 ± 0.3	7.6 ± 0.1
Torbidità [OD560]	0.21 ± 0.02	0.13 ± 0.04	0.29 ± 0.05	0.78 ± 0.02	0.08 ± 0.01

I dati sono presentati come la media dei campioni duplicati ± intervallo dei duplicati.

Le birre prodotte con cereali non maltati hanno un colore più chiaro rispetto alla birra al malto secondo il metodo EBC. Va notato che la birra d'avena mostra il colore più chiaro, mentre il colore della birra di segale è più vicino alla birra prodotta con malto. Ciò potrebbe essere in parte spiegato dall'assenza del processo di maltazione dei cereali. È noto che variando la temperatura e le durate di tempo nella fase di essiccazione durante il processo di maltazione, il malto può essere prodotto con vari colori, che sono determinanti nel dettare l'aspetto della birra. D'altra parte, alla maggiore concentrazione di FAN nel mosto di malto (Tabella 10) è attribuita anche la formazione di colori più intensi, poiché il colore del mosto dipende fortemente dalla presenza di FAN e zuccheri riducenti. Per quanto riguarda la chiarezza della birra, quelle più limpide sono la birra di frumento e malto, mentre la birra di segale ha il livello più alto di torbidità, indicando la birra di segale contiene livelli relativamente più elevati di proteine e polifenoli. Va notato che il livello di torbidità è stato stimato utilizzando un metodo di spettrofotometria semplificato piuttosto che un misuratore di torbidità standard. Inoltre, il contenuto di glutine della birra d'avena è stato valutato utilizzando un saggio commerciale (sandwich R5 ELISA), ed è di circa 20 ppm (14,5 ± 0,9 ppm), il che è coerente con la regola del Codex Alimentarius Commis - possibilità di etichettatura come "*alimento senza glutine*". Gli alcoli e gli esteri superiori sono due gruppi principali di composti attivi sul gusto derivanti dal catabolismo dei componenti del mosto da parte del lievito e i loro livelli di produzione hanno un effetto significativo sul gusto e sull'aroma della birra. Osservazioni preliminari di sapore e aroma da parte degli autori [86] hanno indicato una differenza marcata e unica tra l'avena e gli altri tipi di birra, con un gusto agrumato, morbido, rinfrescante e leggero. l'analisi GC-MS sulle birre finali e un riepilogo dei composti aromatici (alcoli superiori ed esteri) è presentato nella Tabella 12. I principali alcoli superiori esaminati nelle birre includono n-propanolo, isobutanolo, 2- e 3-metil-1-butanolo. In generale, la birra al malto mostra concentrazioni più elevate di alcoli più elevate rispetto alle birre prodotte da cereali non maltati. Per quest'ultimo, mentre le birre di orzo, frumento e segale hanno concentrazioni simili di ciascun composto, il livello più basso è stato osservato nella birra d'avena. Gli esteri sono estremamente importanti nel determinare gli aromi fruttati nella birra confrontando la produzione di esteri nelle birre, le concentrazioni di tutti gli esteri misurati erano inferiori nelle birre prodotte da grani non maltati rispetto alle birre prodotte da malto, si evidenzia una tendenza simile a quella già vista nel profilo degli alcoli superiori. Ciò è probabilmente dovuto a un ruolo vitale degli alcoli superiori nel fornire precursori per la sintesi degli

esteri nelle cellule di lievito attraverso una reazione tra un alcol e diverse forme di acil-CoA. Inoltre, le varie concentrazioni di alcoli ed esteri superiori nelle birre sono molto probabilmente dovute a diverse composizioni di amminoacidi in ciascun tipo di mosto. Gli scheletri di carbonio degli alcoli superiori vengono forniti tramite piruvato (via anabolica) o dagli α-chetoacidi attraverso la via di Ehrlich, che è direttamente collegata al metabolismo degli amminoacidi [86].

Tabella 12 - Sommario dei principali alcoli ed esteri nelle birre

Aromi	Descrizione degli aromi	Range di norma [ppm]ª	Tipo di birra Orzo	Avena	Frumento	Segale	Malto
Alcoli superiori							
n-propanolo	Solvente	4–17	10.2 ± 0.3	9.9 ± 0.6	14.5 ± 0.3	10.9 ± 1.2	27.0 ± 1.9
Isobutanolo	Alcolico, maltoso	4–60	28.0 ± 0.2	16.2 ± 0.6	22.1 ± 0.7	24.2 ± 1.3	40.0 ± 6.0
∑ 2 e 3-metil-1-butanolo	Fruttato, dolce	5.6–140	29.0 ± 0.2	13.5 ± 0.5	26.0 ± 0.4	28.1 ± 2.1	35.0 ± 4.1
Esteri							
Etil-acetato	Fruttato	5–50	5.5 ± 0.4	3.1 ± 0.2	5.3 ± 0.3	4.7 ± 0.5	23.0 ± 4.0
Etil-proprionato	Dolce, uva	0.01–10	0.056 ± 0.009	0.024 ± 0.002	0.048 ± 0.001	0.034 ± 0.004	0.130 ± 0.009
Acetato di isoamile	Banana, mela	0.3–8	0.120 ± 0.003	0.049 ± 0.003	0.270 ± 0.022	0.121 ± 0.015	3.500 ± 0.56
Acetato di isobutile	Banana, dolce, fruttato	0.01–0.8	0.009 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.016 ± 0.001	0.007 ± 0.002	0.210 ± 0.045
Butirrato di etile	Papaya, dolce, fruttato	0.01–0.8	0.043 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.045 ± 0.005	0.030 ± 0.006	0.109 ± 0.009

I dati sono presentati come la media dei campioni duplicati ± intervallo dei duplicati. ª I valori sono stati ottenuti dal database dei sapori dell'American Society of Brewing Chemists.

10 CONCLUSIONI

Il malto Tritordeum ha un alto potenziale per la produzione di birra sia come additivo che come principale fonte di amido. Sulla base delle ricerche riportate, non sono state osservate difficoltà nella produzione della birra dovute all'utilizzo del tritordeum. Inoltre, la sua elevata attività enzimatica, una resa dell'estratto paragonabile a quella del malto d'orzo e altri parametri di qualità consentono di utilizzare il 100% di malto tritordeum per la produzione di birra senza l'aggiunta di enzimi esogeni. Tuttavia, ad oggi non è stata pubblicata nessuna analisi sensoriale professionale che combinata con i risultati di questo studio, potrebbe fornire la valutazione completa delle birre tritordeum dal punto di vista sia del produttore che del consumatore. Per quanto riguarda la birra prodotta con il grano saraceno, i risultati ottenuti indicano chiaramente che i principali attributi di qualità della birra rimangono per lo più inalterati quando si sostituisce il 20% o il 40% di malto d'orzo con malto di grano saraceno tartaro. I risultati dell'analisi sensoriale mostrano che le birre di grano saraceno sono accettabili, in particolare in termini di odore e gusto. Inoltre, il contenuto di rutina e flavonoidi totali nelle birre di grano saraceno dipende fortemente dai programmi di ammostamento. Il contenuto di rutina e flavonoidi totali nelle birre di grano saraceno prodotte utilizzando il metodo di ammostamento migliorato sono rispettivamente di circa 60 e 2 volte superiori rispetto al loro contenuto nelle birre prodotte con il comune processo di ammostamento (utilizzando la stessa quantità di malto di grano saraceno). È evidente, inoltre, una buona correlazione tra l'attività antiossidante e il contenuto di rutina o contenuto totale di flavonoidi nelle birre di grano saraceno. Altro dato importante, è che le birre chiare arricchite con rutina hanno mostrato capacità antiossidanti e stabilità ossidativa relativamente elevate durante

l'invecchiamento forzato. Nella birra di sorgo, il processo di fermentazione ha ridotto il contenuto di aminoacidi liberi, ma ha aumentato il GABA e i composti fenolici dal mosto al prodotto finale. Sebbene sia stata valutata la correlazione tra la quantità di ciascun composto fenolico e l'attività antiossidante, è stato osservato che solo l'inibizione dei radicali cationici ABTS fosse correlata al contenuto di acido p-cumarico. D'altra parte, il processo di fermentazione del sorgo ha modificato l'attività di inibizione della *a-glucosidasi*. Questa è stata la prima segnalazione della bioattività nella birra, correlata positivamente con l'acido 4-idrossibenzoico, acido vanillico, acido p-cumarico e acido ferulico. Nell'attuale mercato, si fanno sempre più strada gli alimenti funzionali e i consumatori li favoriscono ai farmaci perché aiutano a prevenire le malattie croniche non trasmissibili. Il contenuto di fenoli (il doppio o più della quantità presente nella birra d'orzo), il GABA (presente in quantità tale da produrre un potenziale effetto antipertensivo), l'attività antiossidante e antiipertensiva e la capacità di inibizione della *a-glucosidasi*, insieme al suo basso contenuto di etanolo, rendono la birra da sorgo bianco una potenziale bevanda funzionale, se consumata con moderazione. Infine, l'ultimo studio riportato, ovvero quello sulla produzione di birra con il 100% di materie prime non maltate, lascia intendere che questo tipo di processo è del tutto possibile e che potrebbe abbassare di molto i costi di produzione, mantenendo invariati i principali parametri di qualità (seppure con l'aggiunta di enzimi esogeni). Dati i profili aromatici unici, potrebbe essere interessante indagare sul feedback del consumatore nei confronti di tali birre prodotte con cereali non maltati. In particolare, potrebbe essere interessante sviluppare un nuovo tipo di birra d'avena alternativa alla birra di malto.

BIBLIOGRAFIA

[1] Carvalho, G. B. M., Silva, D. P., Bento, C. V., Vincente, A. A., Teixeira, J. A., Felipe, M. G. A., et al. - Banana as adjunct in beer production: Applica- bility and performance of fermentative parameters. Applied Biochemistry and Biotechnology, 155, 53-62 (2009)

[2] Hager, A.-S., Taylor, J. P., Waters, D. M., & Arendt, E. K. - Gluten free beer. A review. Trends in Food Science and Technology, 36, 44-54 (2014)

[3] Bogdan, P. & Kordialik-Bogacka, E. - Alternatives to malt in brewing. A review. Trends in Food Science and Tecnology, 65, 1-9 (2017)

[4] Garzon, A. G., R. L. Torres & Silvina R. Drago - Changes in phenolics, c-aminobutyric acid content and antioxidant, antihypertensive and hypoglycaemic properties during ale white sorghum (Sorghum bicolor (L.) Moench) brewing process. A review. International Journal of Food Science and Technology, 54, 1901-1908 (2019)

[5] Klose, C., Mauch, A., Wunderlich, S., Thiele, F., Zarnkow, M., Jacob, F. et al. – Brewing with 100 % oat malt. J. Inst. Brew. 117 (3), 411‑421 (2011)

[6] Mun˜oz-Insa, A., Gastl, M., Zarnkow, M. & Becker, T. - Optimization of the malting process of oat (Avena sativa L.) as a raw material for fermented beverages. Spanish J. Agric. Res. 9 (2), 510‑523 (2011)

[7] De˘zelak, M., Zarnkow, M., Becker, T. & Ko˘sir, I.J. - Processing of bottom-fermented gluten-free beer-like beverages based on buckwheat and quinoa malt with chemical and sensory characterization. J. Inst. Brew. 120 (4), 360‑370 (2014)

[8] Yang, D., Juho, L., Gang-Hee, L., Thi Thanh, H. N., Yang, X., Meizi, P. & Doman, K. - Brewing Rutin-Enriched Lager Beer with Buckwheat Malt as Adjuncts. J. Microbiol. Biotechnol., 29 (6), 877-866 (2019)

[9] Martín, A., Alvarez, J.B., Martín, L.M., Barro, F. & Ballesteros, J. - The development of tritordeum: a novel cereal for food processing. J. Cereal. Sci. 30 (2), 85‑95 (1999)

[10] Alvarez, J.B., Ballesteros, J., Sillero, J.A. & Martín, L.M. - Tritordeum: a new crop of potential importance in the food industry. Hereditas 116 (1‑2), 193‑197 (1992)

[11] Zdaniewicz, M., Pater, A., Hrabia, O., Dulin´ski, R. & Cioch-Skoneczny, M. - Tritordeum malt: An innovative raw material for beer production. A Review. Journal of Cereal Science, 96, 103095 (2020)

[12] Giovanni Antonio Farris, Marco Gobbetti, Erasmo Neviani, Massimo Vincenzini - Microbiologia dei prodotti alimentari. Ed: Ambrosiana (2012)

[13] Kordialik-Bogacka, E., Bogdan, P., & Diowksz, A. Malted and unmalted oats in brewing. Journal of the Institute of Brewing, 130, 390-398 (2014)

[14] Piddocke, M. P., Kreisz, S., Heldt-Hansen, H. P., Nilsen, K. F., & Olsson, L. - Physiological characterization of brewer's yeast in high-gravity beer fermen-

tations with glucose or maltose syrups as adjuncts. Applied Microbiology and Biotechnology, 84, 453-464 (2009)
[15] Yeo, H. Q., & Liu, S. Q. - An overview of selected specialty beers: Developments, challenges and prospects. Journal of Food Science and Technology, 49, 1607-1618 (2014)
[16] Poreda, A., Czarnik, A., Zdaniewicz, M., Jakubowski, M., & Antkiewicz, P. - Corn grist adjunct - application an influence on the brewing process and beer quality. Journal of the Institute of Brewing, 120, 77-81 (2014)
[17] Braun, J., & Dishman, D. H. - Microbrewing. In F. G. Priest, & G. G. Stewart (Eds.), Handbook of brewing, (2), 777-814. New York: Taylor & Francis Group (2006)
[18] Aastrup, S. - Beer from 100% barley. Scandinavian Brewers' Review, 67, 28-33 (2010)
[19] Heldt-Hansen, H. P., Elvig, N., Schonenberg, S., & Kreisz, S. - Barley specifications for brewing technology based on unmalted barley. Glasgow: Proceedings EBC Congress (2011)
[20] Steiner, E., Auer, A., Becker, T., & Gastl, M. - Comparison of beer quality attributes between beers brewed with 100% barley malt and 100% barley raw material. Journal of the Science of Food and Agriculture, 92, 803-813 (2012)
[21] Annemüller, G., & Manger, H.-J. - Processing of various adjuncts in beer production, (1), Berlin: VLB (2013)
[22] Goode, D. L., & Arendt, E. K. - Developments in the supply of adjunct materials for brewing. In C. W. Bamforth (Ed.), Brewing. New technologies, 30-57. Abington: Woodhead Publishing Limited (2006)
[23] Kunz, T., Müller, C., Mato-Gonzales, D., & Methner, F. J. - The influence of unmalted barley on the oxidative stability of wort and beer. Journal of the Institute of Brewing, 118, 32-39 (2012)
[24] Schnitzenbaumer, B., & Arendt, E. K. - Effect of unmalted oats (Avena sativa L.) on the quality of high-gravity mashes and worts without or with exogenous enzyme addition. European Food Research and Technology, 238, 225-235 (2014)
[25] Schnitzenbaumer, B., Kerpes, R., Titze, J., Jacob, F., & Arendt, E. K. - Impact of various levels of unmalted oats (Avena sativa.) on the quality and processability of mashes, worts and beers. Journal of American Society of Brewing Chemistry, 70, 142-149 (2012)
[26] Schnitzenbaumer, B., & Arendt, E. K. - A comparative study of oat (Avena sativa) cultivars as brewing adjuncts. European Food Research and Technology, 236, 1015-1025 (2013)
[27] Briggs, D. E., Boulton, C. A., Brookes, P. A., & Stevens, R. - Brewing. Science and practice. Abington: Woodhead Publishing Limited (2004)

[28] Meussdoerffer, F., & Zarnkow, M. - Starchy raw material. In A. S. Esslinger (Ed.), Handbook in brewing, 43-71. Freiberg: Wiley-VCH (2009)
[29] Stewart, G. G. - Adjunct. In F. G. Priest, & G. G. Stewart (Eds.), Handbook of brewing (2), 161-174. New York: Taylor & Francis Group (2006)
[30] Pliansrithong, P., Usansa, U., & Wanapu, C. - Increasing of nitrogenous substances in wort by using commercial enzymes and modifying mashing method. International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics, (3), 404-407 (2013)
[31] Martin, A. & Chapmanv - A hybrid between Hordeum chilense and Triticum aestioum Cereal Res. Commun. 5: 365-368 (1977)
[32] Martin, A. & Sanchez-Monge Laguna, E. - Cytology and morphology of the amphiploid Hordeum chilense x Triticum turgidum conv. durum. - Euphytica 31: 262-261 (1982)
[33] Atnafu, T., & Abebaw, G. - Partial substitution of barley malt by effective use of selected secondary starch crops in brewing technology by Saccharomyces cerevisiae with a case example of Dashen brewery. American Journal of Food Science and Technology, 3, 24-26 (2015)
[34] Piddocke, M. P., Fazio, A., Vongsangnak, W., Wong, M. L., Heldt-Hansen, H. P., Workman, C., et al. - Revealing the beneficial effect of protease supplementation to high gravity beer fermentations using “-omics” techniques. Microbial Cell Factories, 27, 1-14 (2011)
[35] Faltermaier, A., Waters, D., Becker, T., Arendt, E., & Gastl, M. - Common wheat (Triticum aestivum L.) and its use as a brewing cereal e a review. Journal of the Institute of Brewing, 120, 1-15 (2014)
[36] Glatthar, J., Heinisch, J. J., & Senn, T. - Unmalted triticale cultivars as brewing adjuncts: Effects of enzyme activities and composition on beer wort quality. Journal of the Science of Food and Agriculture, 85, 647-654 (2005)
[37] Malomo, O., Ogunmoyela, O. A. B., Oluwajoba, S. O., & Adekoyeni, O. O. - Effect of enzymes on the quality of beer/wort developed from proportions of sorghum adjuncts. Advances in Microbiology, 2, 447-451 (2012)
[38] Cooper, C. M., Evans, D. E., Yousif, A., Metz, N., & Koutoulis, A. - Comparison of the impact on the performance of small-scale mashing with different pro- portions of unmalted barley, Ondea Pro®, malt and rice. Journal of the Institute of Brewing, 122, 218-227 (2016)
[39] Hübner, F., O'Neil, T., Cashman, K. D., & Arendt, E. K. - The influence of germination conditions on b-glucan dietary fibre and phytate during the germination of oat and barley. European Food Research and Technology, 231, 27-35 (2010)
[40] Donkelaar, L. H. G., Noordman, T. R., Boom, R. M., & Goot, A. J. - Pearling barley to alter the composition of the raw material before brewing. Journal of Food Engineering, 150, 44-49 (2015)

[41] Ryder, D. S., & Power, J. - Miscellaneous ingredients in aid of the process. In F. G. Priest, & G. G. Stewart (Eds.), Handbook of brewing (2nd ed., pp. 333-375). New York: Taylor & Francis Group (2006)
[42] Depraetere, S., Delvaux, F., Coghe, S., & Delvaux, F. - Wheat variety and barley malt properties: Influence on haze intensity and foam stability of wheat beer. Journal of the Institute of Brewing, 110, 200-206 (2004)
[43] Kordialik-Bogacka, E., Bogdan, P., & Diowksz, A. - Malted and unmalted oats in brewing. Journal of the Institute of Brewing, 130, 390-398 (2014)
[44] Lowe, D., Ulmer, H., Van Sinderen, D., & Arendt, E. K. - Application of biological acidification to improve the quality and processability of wort produced from 50% raw barley. Journal of the Institute of Brewing, 110, 133-140 (2004).
[45] Gibson, B. R. - 125th anniversary review: Improvement of higher gravity brewery fermentation via wort enrichment and supplementation. Journal of the Institute of Brewing, 117, 268-284 (2011)
[46] Gibson, B. R., Lawrence, S. J., Leclaire, J. P. R., Powell, C. D., & Smart, K. A. - Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling. FEMS Microbiology Reviews, 31, 535-569 (2007)
[47] Stewart, G. G., Hill, A. E., & Russel, I. - 125th anniversary review: Developments in brewing and distilling yeast strains. Journal of the Institute of Brewing, 119, 202-220 (2013)
[48] D'Amore, T. - Improving yeast fermentation performance. Journal of the Institute of Brewing, 98, 375-382 (1992)
[49] Cahill, G., Murray, D. M., Walsh, P. K., & Donnelly, D. - Effect of the concentration of propagation wort on yeast cell volume and fermentation performance. Journal of American Society of Brewing Chemistry, 58, 14-20 (2000)
[50] Gresser, A. - Properties and quality. In A. S. Esslinger (Ed.), Handbook in brewing (pp. 386-387). Freiberg: Wiley- VCH (2009)
[51] Russell, I. - Yeast. In F. G. Priest, & G. G. Stewart (Eds.), Handbook of brewing (2nd ed., pp. 281-321). New York: Taylor & Francis Group (2006)
[52] Kunz, T., Woest, H., Lee, E.-J., Müller, C., & Methner, F. J. - Improvement of the oxidative wort and beer stability by increased unmalted barley proportion. Brewing Science, 64, 75-82 (2011)
[53] Vanderhaegen, B., Neven, H., Verachtert, H., & Derdelinckx, G. - The chemistry of beer aging - a critical review. Food Chemistry, 95, 357-381 (2006)
[54] Lu, J., & Li, Y. - Effects of arabinoxylan solubilization on wort viscosity and filtration when mashing with grist containing wheat and wheat malt. Food Chemistry, 98, 164-170 (2006)
[55] Lu, J., Li, Y., & Gu, G. - Control of arabinoxylan solubilization and hydrolysis in mashing. Food Chemistry, 90, 101-108 (2005)

[56] Yano, M., Back, W., & Krottenthaler, M. - The impact of liquid adjuncts and barley on wort and beer quality. Brewing Science, 61, 10-24. (2008)
[57] Yano, M., Hideki, T., Imai, T., Ogawa, Y., & Ohochi, M. - The effect of barley adjuncts on free amino nitrogen contents in wort. Journal of the Institute of Brewing, 114, 230-238 (2008)
[58] Bamforth, C. W. - The relative significance of physics and chemistry for beer foam excellence: Theory and practice. Journal of the Institute of Brewing, 110, 259-266 (2004)
[59] Bamforth, C. W., & Milani, C. - The foaming of mixtures of albumin and hordein protein hydrolysates in model systems. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84, 1001-1004 (2004)
[60] yatherm.com - Mashing Bath – Revolutionizing the Laboratory and Research Industry (2019)
[61] Kunze, W., - Hendel, O. (Ed.), Technology Brewing And Malting (6th Revise. Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin (VLB), Berlin, Germany (2019)
[62] Eßlinger, H.M. - Handbook of Brewing. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim (2009)
[63] Wijngaard, H.H. & Arendt, E.K., - Optimisation of a mashing program for 100% malted buckwheat. J. Inst. Brew. 112 (1), 57–65 (2006)
[64] Adetunji, A.I., Khoza, S., de Kock, H.L. & Taylor, J.R.N. - Influence of sorghum grain type on wort physico-chemical and sensory quality in a whole-grain and commercial enzyme mashing process. J. Inst. Brew. 119, 156–163 (2013)
[65] Evans, D.E., Goldsmith, M., Redd, K.S., Nischwitz, R. & Lentini, A. - Impact of mashing conditions on extract, its fermentability, and the levels of wort free amino nitrogen (FAN), β-glucan, and lipids. J. Am. Soc. Brew. Chem. 70 (1), 39–49 (2012)
[66] Kühbeck, F., Back, W. & Krottenthaler, M. - Influence of lauter turbidity on wort composition, fermentation performance and beer quality in large-scale trials. J. Inst. Brew. 112 (3), 222–231 (2006)
[67] Wietstock, P.C., Kunz, T., Waterkamp, H. & Methner, F.J. - Uptake and release of Ca, Cu, Fe, Mg, and Zn during beer production. J. Am. Soc. Brew. Chem. 73 (2), 179-184 (2015)
[68] Zdaniewicz, M., Satora, P., Pater, A. & Bogacz, S. - Low lactic acid-producing strain of lachancea thermotolerans as a new starter for beer production. Biomolecules 10 (2) (2020)
[69] Patindol, J., Mendez-Montealvo, G., & Wang, Y.J. - Starch properties of malted barley in relation to real degree of fermentation. Starch - Sta ̈rke 64, 517–523 (2012)
[70] Bamforth, C.W. - Nutritional aspects of beer. 22, 98-119 (2002)

[71] Rees, E.M.R., & Stewart, G.G. - The effects of increased magnesium and calcium concentrations on yeast fermentation performance in high gravity worts*, 103, 287–291 (1997)
[72] Kreft, I., Fabjan, N., & Yasumoto, Y. - Rutin content in buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) food materials and products. Food Chem. 98: 508-512 (2005)
[73] Piazzon, A., Forte, M., & Nardini, M. - Characterization of phenolics content and antioxidant activity of different beer types. J. Agric. Food Chem. 58: 10677-10683 (2010)
[74] Ducruet, J., Rébénaque, P., Diserens, S., Kosińska-Cagnazzo, A., Héritier, I. & Andlauer, W. - Amber ale beer enriched with goji berries – the effect on bioactive compound content and sensorial properties. Food Chem. 226: 109-118 (2017)
[75] Bamforth, C.W. - Beer: Health and Nutrition. Oxford: Blackwell Science Ltd. (2004)
[76] Garzòn, A.G., Torres, R.L. & Drago, S.R. - Effects of malting conditions on enzyme activities, chemical, and bioactive com- pounds of sorghum starchy products as raw material for brewery. Starch/Starke, 68, 1048–1054 (2016)
[77] Bach, B., Meudec, E., Lepoutre, J.P. et al. - New insights into c-Aminobutyric acid catabolism: evidence for c-hydroxybutyric acid and polyhydroxybutyrate synthesis in Saccharomyces cere- visiae. Applied and Environmental Microbiology, 75, 4231–4239 (2009)
[78] Oh, S.H., Soh, J.R. & Cha, Y.S. - Germinated brown rice extract shows a nutraceutical effect in the recovery of chronic alcohol-related symptoms. Journal of Medicinal Food, 6, 115–121 (2003)
[79] Ratnavathi, C.V. & Chavan, U.D. - Malting and brewing of sorghum. In: Sorghum Biochemistry: An Industrial Perspective. (edi- ted by C.V. Ratnavathi, J.V. Patil & U.D. Chavan). Pp. 63–104. London: Academic Press (2016)
[80] Minnaar, P.P., Jolly, N.-P., Paulsen, V., Du Plessis, H.W. & Van Der Rijst, M. - Schizosaccaromycespombeand Saccaromyces cerevisiae yeasts in sequential fermentations: effect on phenolic acids of fermented Kei-apple (Dovyaliscaffra L.) juice. International Journal of Food Microbiology, 257, 232–237 (2017)
[81] Leitao, C., Marchioni, E., Bergaentzlé, M. et al. - Effects of processing steps on the phenolic content and antioxidant activity of beer. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59, 1249–1255 (2011)
[82] Kayodé, A.P.P., Hounhouigan, J.D. & Nout, M.J.R. - Impact of brewing process operations on phytate, phenolic compounds and in vitro solubility of iron and zinc in opaque sorghum beer. LWT-Food Science and Technology, 40, 834–841 (2007)

[83] Adentuyi, F.O. & Ibrahim, T.A. - Effect of fermentation time on the phenolic, flavonoid and vitamin C contents and antioxidant activities of okra (Abelmoschusesculentus) seeds. Nigerian Food Journal, 32, 128–137 (2014)
[84] Wannenmacher, J., Gastl, M. & Becker, T. - Phenolic sub- tances in beer: structural diversity, reactive potential and relevance for brewing process and beer quality. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 17, 953–988 (2018)
[85] Morais Cardoso, L., Pinheiro, S.S., Martino, H.S.D. & Pinheiro- Sant'Ana, M. - Sorghum (Sorghum bicolor L.): nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 57, 372–390 (2017)
[86] Zhuang, S., Shetty, R., Hansen, M., Fromberg, A., Hansen, P.B. & Hobley, T. J. - Brewing with 100 % unmalted grains: barley, wheat, oat and rye (2017)
[87] Boulton C - Nitrogen. Encycl. Brew. Wiley, London, 50‑52 (2014)

Se credi di avermi aiutato nel mio percorso, questo ringraziamento è tutto per te.