



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E
AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

**Determinazione quali-quantitativa degli alpha beta
acidi in differenti varietà di luppolo coltivate nella
regione Marche**

Qualitative and quantitative determination of alpha and beta
acids in different hop varieties grown in the Marche region

TIPO TESI: Sperimentale

Studente:
MASSIMO POLENTINI

Relatore:
DOTT.SSA ROBERTA FOLIGNI

Correlatore:
DOTT.SSA CINZIA MANNOZZI

ANNO ACCADEMICO 2020-2021

SOMMARIO

ELENCO DELLE TABELLE.....	3
ELENCO DELLE FIGURE	4
INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI	5
CAPITOLO 1 TITOLO DEL CAPITOLO: “MATERIALI E METODI”	14
1.1“Materia prima utilizzata”.....	14
1.2“Estrazione”	14
1.3"iniezione".....	15
CAPITOLO 2 TITOLO DEL CAPITOLO:RISULTATI E DISCUSSIONI.....	18
2.1"Risultati sperimentali".....	18
2.1.1"Discussione dei dati sperimentali"	21
CONCLUSIONI.....	24
BIBLIOGRAFIA	25
SITOGRAFIA.....	26

ELENCO DELLE TABELLE

- Tabella 1: La composizione del luppolo pag. 8
- Tabella 2: Campioni utilizzati e relativo peso pag. 15
- Tabella 3: Curve di calibrazione alpha e beta acidi pag. 16
- Tabella 4: Risultati ottenuti mediante HPLC pag. 17
- Tabella 5: Alpha e beta acidi delle diverse varietà di luppolo alle diverse annate di raccolta pag. 19
- Tabella 6: % a/b-acidi stesse varietà ma diversi luoghi di produzione pag. 22
- Tabella 7: % alpha e beta acidi totali della varietà Cascade coltivata in Sardegna pag. 22

ELENCO DELLE FIGURE

Figura 1: Struttura del luppolo pag. 5

Figura 2: Diagramma di flusso birrificazione pag. 10

Figura 3: alpha e beta acidi totali delle diverse varietà di luppolo alle diverse annate pag. 20

Figura 4: Preparazione degli estratti pag. 15

Figura 5: Estratto ottenuto da ogni varietà pag. 16

INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI

Che cos'è il luppolo?

Il luppolo è uno degli ingredienti fondamentali della birra, è una pianta rampicante con la tipica fioritura a forma di ghianda ed il suo nome scientifico è *Humulus Lupulus*.

Il luppolo è utilizzato per la produzione di birra dal medioevo fino ai nostri giorni e la birra non può essere prodotta senza di esso.

Conferisce amarezza, aroma, astringenza e pienezza al prodotto finito ed inoltre funge da ausilio tecnologico (chiarificatore), contribuendo alla stabilità microbiologica della birra e migliorando la capacità di formazione della schiuma della birra e la sua stabilità. (M. Mozzon et al, 2020)

La parte dei luppoli ad essere utilizzata nel processo di produzione della birra è il suo fiore essiccato, in particolare ad essere utilizzati sono i fiori della pianta femmina che contengono un polline di colore giallo responsabile delle caratteristiche organolettiche del luppolo: la "luppolina".

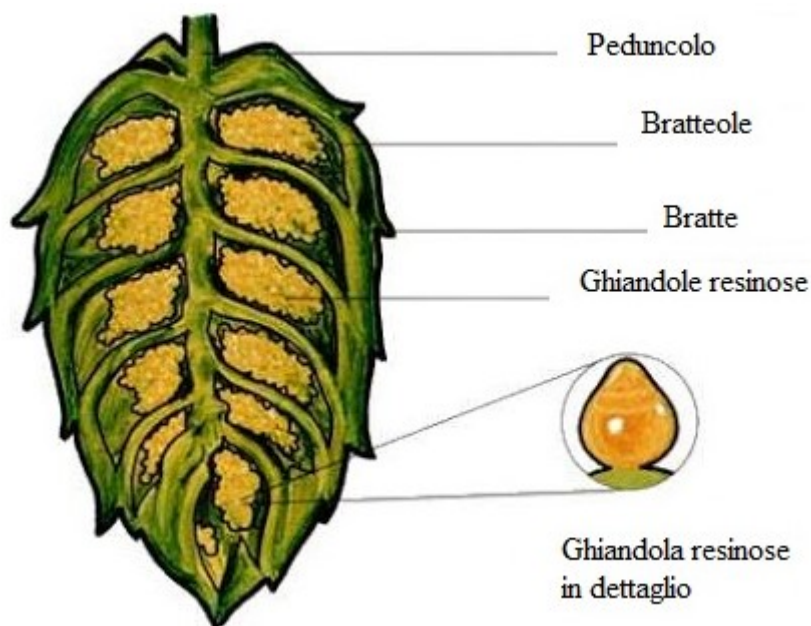


Figura 1 Struttura del luppolo. www.giornaledellabirra.it

La coltivazione

Il luppolo si espande partendo dal rizoma, la sua grande radice, da dove poi partono tutti i fusti rampicanti.

La prima fase della coltivazione è l'ottenimento dei rizomi dopodiché è necessario preparare il terreno, che deve avere una buona esposizione al sole ed ai ricicli d'aria, deve essere riparato dai forti venti e deve avere anche un buon drenaggio.

Solitamente la piantagione dei rizomi avviene nel periodo primaverile e consiste nell'interrarli in collinette di terra a circa 10 cm di profondità.

Il rizoma si estende molto in altezza e per favorire la sua crescita sono necessari sostegni come pali o reti preesistenti attorno ai quali la pianta si avvolgerà crescendo.

Dopo il periodo della fioritura, che avviene solitamente tra la primavera e l'estate, il luppolo dovrebbe essere pronto per la raccolta nel periodo di agosto e settembre, dovendo tener conto della varietà e della zona geografica dove viene coltivato.

I coni di luppolo sono maturi quando presentano sul peduncolo un colore verde chiaro tendente al bruno, sono asciutti e presentano un odore ben marcato.

Prima di essere utilizzati per la produzione della birra, i coni di luppolo, devono essere essiccati per permettere loro di perdere buona parte dell'umidità, mantenendola sotto al 20%.

La durata del processo dura all'incirca 2/3 giorni, dopodiché va conservato sottovuoto in frigo fino al momento dell'utilizzo.

Grazie alla sua facilità di coltivazione, un portamento rustico e ad un grado di variabilità genetica intraspecifica, il luppolo si è adattato a condizioni climatiche ed ecologiche diverse ed è quindi riconosciuto come una specie estremamente polimorfa. (A. Mongelli et al,2015)

La composizione del luppolo

I composti principali del luppolo sono quattro:

- Resine 19%
- Oli essenziali 0,5%
- polifenoli 4 %
- proteine 20%

Il luppolo è composto per la maggior parte da resine e proteine, ma saranno le resine e gli oli essenziali i responsabili delle caratteristiche organolettiche del luppolo.

Sostanzialmente le resine sono divise in due gruppi, le resine dure e le resine morbide ma sono quest'ultime ad avere un ruolo cruciale nelle dinamiche di interazioni del luppolo con il mosto. Le resine morbide sono costituite da composti molto importanti ai fini della birrificazione, gli alpha e beta acidi.

L'amaricatura conferita dal luppolo alla birra è dovuta essenzialmente ai processi di trasformazione degli alpha acidi, i cui principali sono umulone, coumulone, adumulone.

Nel processo di bollitura, le elevate temperature, innescano una conversione termica, cioè un cambio di configurazione nella molecola, senza che la sua composizione vari, ciò trasforma gli α -acidi in iso- α -acidi rendendoli molto più solubili nel mosto e aumentandone di parecchio il potere amaricante.

La resa in iso- α -acidi aumenta con il tempo di ebollizione mentre la maggior parte dei volatili si perde per evaporazione. (N. Rettberga et al,2018).

L'isocoumulone è tra gli α -acidi, quello più solubile.

I beta-acidi principali sono lupulone, culupulone, adlupulone.

Essi sono meno decisivi nei processi di amaricatura e se gli α -acidi nel tempo, ossidandosi, perdono il loro potere amaricante, i β -acidi seguono il percorso inverso aumentandolo con il tempo.

Hanno complessivamente un potere amaricante nettamente inferiore rispetto agli α -acidi e vengono parzialmente isomerizzati durante la bollitura.

La composizione dell'olio essenziale dipende principalmente dalla varietà del luppolo e meno dalle condizioni di coltivazione, lavorazione e conservazione. (M. Kovacevic et al,2002)

Essi sono i protagonisti degli aromi derivati dal luppolo e anche se la loro concentrazione è molto bassa è racchiusa un'ampia varietà di composti aromatici differenti.

È proprio l'interazione, tra le centinaia di composti differenti, che conferisce le tantissime sfumature aromatiche che producono i variegati profili aromatici che siamo abituati a trovare nelle birre luppolate.

Il mircene, per esempio, conferisce l'aroma resinoso e vegetale, l'umulene, l'aroma erbaceo, legnoso e speziato.

Gli oli essenziali, sono una miscela molto eterogenea e complessa di migliaia di composti ma solo pochi, come terpeni, idrocarburi e terpenoidi, vengono biosintetizzati direttamente.

La maggior parte dei composti volatili sono o sottoprodotti del metabolismo vegetale o si evolvono da reazioni ossidative secondarie di precursori volatili e non (N. Rettberga et al,2018).

Possono essere suddivisi in tre categorie principali:

Gli idrocarburi, che costituiscono fino al 75% degli oli essenziali nel luppolo fresco, si tratta di composti della famiglia dei terpeni (monoterpeni, sesquiterpeni e diterpeni), altamente volatili che in buona parte si perdono durante la bollitura.

Gli idrocarburi ossigenati, che costituiscono circa il 25% degli oli essenziali, si tratta sempre di composti della famiglia dei terpeni ma in questo caso sono ossigenati.

Infine, gli idrocarburi contenenti zolfo, possono derivare dal luppolo e pur se scarsamente rilevabili, si manifestano con aromi sgradevoli come cipolla, verdure cotte e gomma

COSTITUENTI	CONTENUTI %
Composti amari (resine)	15-30
Olio essenziale	0,5-3
Polifenoli (tannini)	3-5
Proteine	15-20
Acqua	10
Ceneri	8,5
Cellulosa e altro materiale vegetale	43

Tabella 1 Composizione del luppolo. www.semanticscholar.org

Il processo di birrificazione

Il processo di birrificazione sono tutte le operazioni unitarie che vengono eseguite per produrre la birra come prodotto finale, queste tecniche solo rimaste immutate nel tempo.

La prima fase della produzione della birra è la preparazione del suo ingrediente principale, ossia il malto. Esso è ricavato principalmente dall'orzo ma è possibile ottenerlo anche da altri cereali come il frumento, la segale ed il mais.

Il contributo dell'orzo al sapore della birra è ampiamente sviluppato attraverso il processo di maltazione e darà il suo contributo anche nella fermentazione. (H. M. Bettenhausena et al,2018).

Una volta selezionato quello idoneo, viene ripulito e posto nelle vasche di macerazione, dove riceverà acqua ed ossigeno, elementi necessari alla sua germinazione.

Durante questo periodo, nei chicchi di cereali si andrà a formare una radichetta che, quando raggiungerà la lunghezza di due terzi del chicco, dovrà essere fermata attraverso l'essiccamento o la torrefazione.

Il malto, come ingrediente, fornisce saccaridi, proteine ed enzimi che facilitano le reazioni di fermentazione, questi vengono utilizzati per descrivere la qualità del malto. (H. M. Bettenhausena et al,2018).

Successivamente, l'orzo maltato, verrà introdotto in un molino, che lo riduce in farina grossolana che sarà miscelata con acqua fredda.

La miscela, così ottenuta, denominata "mash" viene messa in una caldaia riscaldante che la mescolerà e la porterà alla temperatura di 63 gradi conferendogli omogeneità.

Così facendo, l'amido presente, si trasforma in destrine e maltosio, determinando la trasformazione del malto in mosto.

Dopo aver rimosso le trebbie filtrandolo, il composto viene cotto su un'apposita caldaia e portato all'ebollizione per un minimo di un'ora ad un massimo di due ore e mezzo (varia a seconda della tipologia che si vuole produrre).

Questo processo serve per sterilizzare e concentrare il mosto e la temperatura a cui viene sottoposto è fondamentale per le sue successive trasformazioni biochimiche.

È proprio durante questa fase che viene aggiunto l'ingrediente più importante, il luppolo, che conferirà amaricatura e aroma alla birra.

Oltre a donargli il caratteristico aroma, il luppolo chiarifica la birra, rallenta la produzione di batteri e migliora la stabilità della schiuma.

Dopo la cottura, il composto ottenuto dev'essere raffreddato per poi essere sottoposto alla fermentazione alcolica, che determina la trasformazione degli zuccheri proveniente dal malto in alcool.

Si distinguono due fasi: la fermentazione principale e quella secondaria (o maturazione).

La fermentazione principale può essere condotta in due modi: alta e bassa fermentazione.

La prima è attuata dal metabolismo fermentativo del microrganismo *Saccharomyces cerevisiae*, che svolge il processo ad una temperatura compresa tra i 16 e i 23 gradi. L'azione del lievito è molto rapida e si conclude solitamente in tre o quattro giorni.

La bassa fermentazione è condotta invece dal microrganismo *Saccharomyces carlsbergensis*, tra i 5 e gli 8 gradi.

Questo processo di fermentazione è più lungo e può durare fino a circa 2 settimane.

Giunta a compimento la fermentazione primaria, la birra viene spostata in un serbatoio dove avverrà la fermentazione secondaria, la stagionatura, che ha una durata dalle quattro alle sei settimane e conclude la "maturazione" della bevanda in modo naturale e determina la spuma.

La birra, ormai pronta, viene in alcuni casi filtrata e pastorizzata alla temperatura di 60 gradi, per distruggere alcuni microrganismi presenti, e quindi imbottigliata

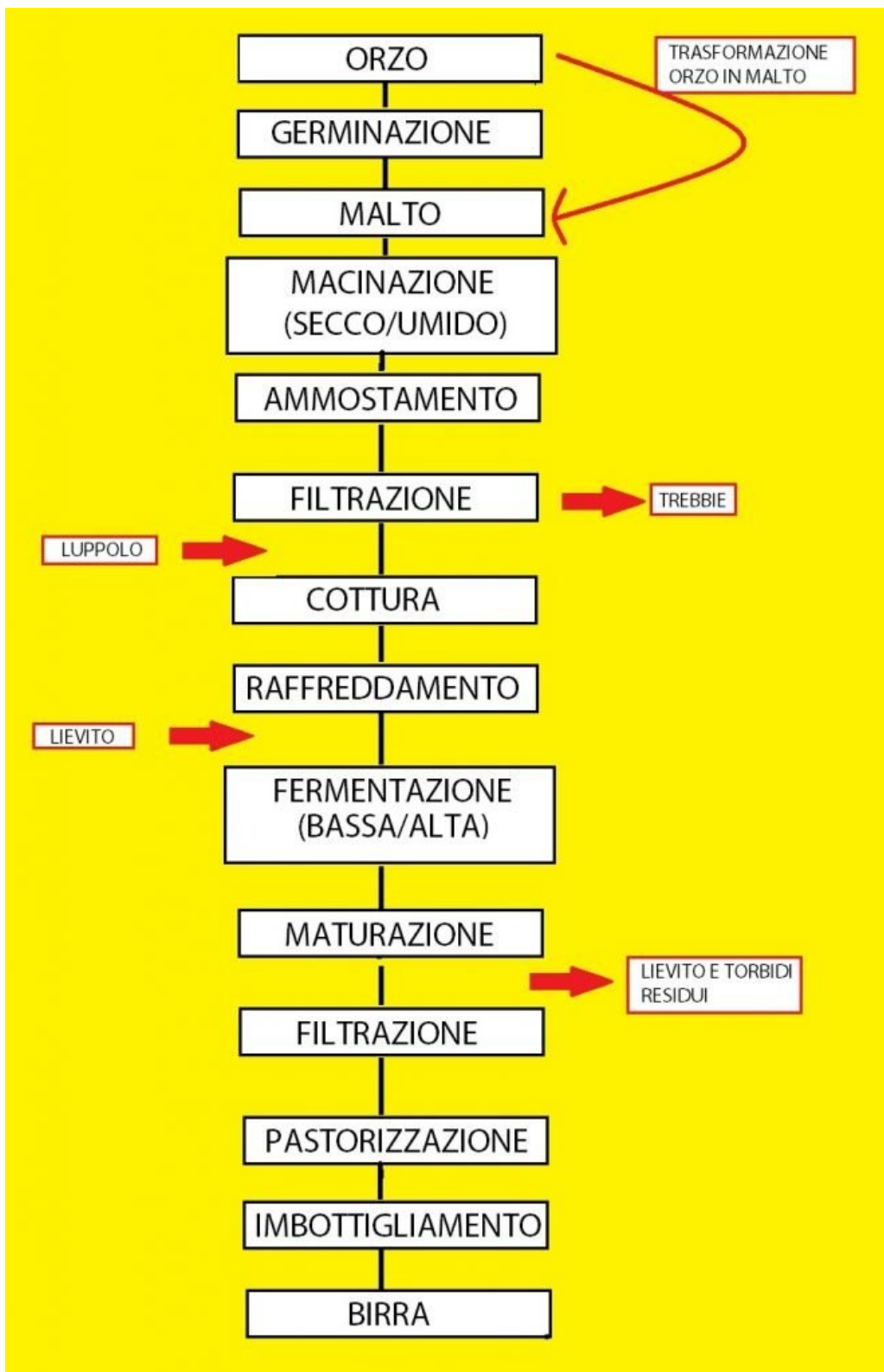


Figura 2 Diagramma di flusso birrificazione. www.marcoscardina.it/come-produrre-la-birra

I composti che influenzano le note aromatiche della birra

I volatili che derivano dal luppolo ed i loro prodotti di trasformazione, impattano fortemente sulle caratteristiche sensoriali della birra.

Non solo includono molti idrocarburi terpenici e terpenoidi come aromatizzanti attivi, ma anche esteri metilici di acidi monocarbossilici e composti di zolfo e norisoprenoidi.

Durante la maturazione, lavorazione e conservazione del luppolo alcuni volatili però vengono evaporati ed ossidati mentre una grande quota di composti idrofobici si perdono per stripping ed adsorbimento sulla biomassa.

Di conseguenza, qualità e quantità di luppolo aggiunto creano delle variazioni sul sapore della birra e sul suo aroma.

I composti principali degli oli essenziali del luppolo fresco sono i monoterpeni ed i sesquiterpeni, cioè mircene, α -humulene e β -cariofillene che rappresentano circa l'80% dei volatili totali del luppolo per la produzione di birra.

Questi composti sono idrofobi e l'assenza di gruppi funzionali polari causa la loro limitata solubilità nelle soluzioni acquose di mosto e birra.

La loro ossidazione durante la conservazione del luppolo e l'ebollizione del mosto porta alla formazione di numerosi derivati aromatici ossigenati attivi.

L'ossidazione dell'humulene porta alla formazione di epossidi e, l'idrolisi catalizzata da protoni di questi composti, producono humulolo e humulenolo II che conferiscono il sapore tipico di fieno, ammuffito, cedro e artemisia.

L'ossidazione del β -cariofillene produce ossido di cariofillene (floreale, speziato, profumato di cedro) e 14-idrossi- β -cariofillene (odore di legno di cedro) ma anche cariolan-1-olo (benzina, fruttato e limone).

Il mircene, contribuisce in modo significativo sull'odore e l'aroma del luppolo fresco conferendogli il sentore di pino e resina ma durante l'essiccazione e la conservazione esso evapora e solo una piccola quantità va incontro ad ossidazione.

L'ossidazione del mircene dà origine a diversi prodotti di reazione ciclica come pinene, canfene, p-cimene e forma anche terpenoidi come il linalolo e geraniolo.

I suoi derivati si possono quindi trovare nella birra ma non il mircene, che evapora completamente, durante l'ebollizione del mosto.

I terpenoidi sono strutture terpeniche carboniose che contengono diversi gruppi funzionali (idrossile, carbossile, estere ed etere)

Ci sono notevoli differenze nella qualità e composizione quantitativa delle frazioni terpenoidi tra le varietà di luppolo.

I terpenoidi più rilevanti nel luppolo sono gli alcoli monoterpeni come linalolo, geraniolo e anche isomeri come nerolo e α -terpineolo nonché il β -citronellolo.

Linalolo, β -citronellolo e α -terpineolo sono molecole chirali che si presentano come enantiomeri e hanno notevoli proprietà aromatiche conferendo un aroma fresco, floreale simile al geranio ma anche note agrumate alla birra.

I carotenoidi sono tetraterpenoidi (8 molecole di isoprene) composti da circa 40 atomi di carbonio, La loro degradazione rilascia norisoprenoidi che conferiscono note aromatiche differenti alla birra.

In particolare due norisoprenoidi sono particolarmente importanti: il β -ionone percepito come un aroma fruttato e floreale e il β -demascenone che promuove un aroma fruttato e simile al miele.

La complessità di composti contenenti zolfo, nel luppolo e nella birra è enorme ed includono metil-tioestere, tiofeni e polisolfuri.

Mentre terpeni, terpenoidi e norisoprenoidi sono considerati composti che conferiscono aromi positivi alla birra, la maggior parte dei composti di zolfo sono dannosi per la qualità di quest'ultima.

A seconda della loro struttura chimica possono conferire odore di formaggio, verdura cotta, muffa, però ci sono anche alcuni esteri solfonilici, alcoli contenenti zolfo e chetoni che vengono percepiti con aroma di fruttato, agrumi, ribes nero e odori di pesca e moscato.

Il più rilevante composto di zolfo che contribuisce positivamente al sapore della birra luppolata è il 4-mercapto-4-metilpentan-2-one.

Sebbene i terpeni ed i terpenoidi sono i principali costituenti del olio di luppolo, anche altri nonterpenoidi contribuiscono in modo significativo all'aroma del luppolo e al sapore della birra.

I nonterpenoidi sono gli acidi alifatici, i loro corrispondenti (metili), gli esteri e le aldeidi che si sono originati dalla biosintesi e ripartizione dei lipidi e degli acidi amari del luppolo.

La qualità dell'odore delle aldeidi varia fortemente con la lunghezza della catena carboniosa ed il grado di saturazione: le aldeidi a catena corta come l'esanele conferiscono sentori erbacei, mentre aldeidi a catena lunga come (E)-2-nonenale hanno aromi di carta, grassi e fritti.

Gli acidi a catena corta, come l'acido butanoico o esanoico, esibiscono aromi di formaggio acido, rancido e odori di capra mentre i polieni sono caratterizzati da freschi odori balsamici.

Alcuni esteri metilici possono essere facilmente trovati nell'olio di luppolo e durante la fermentazione possono andare incontro a trans esterificazione producendo esteri etilici che conferiscono il sapore di fruttato nella birra finita. (N. Rettberga et al,2018).

Questi sono i principali composti che influenzano le note aromatiche della birra che saranno influenzati dalla concentrazione presente nel luppolo di partenza che è, a sua volta influenzato, da diversi parametri come la varietà, lo stato di maturazione e le tecniche di coltivazione ed essicamento.

Capitolo 1

TITOLO DEL CAPITOLO: MATERIALI E METODI

1.1 Materia prima utilizzata

Per questa sperimentazione sono state utilizzate cinque cultivar di luppolo internazionali provenienti da Stati Uniti, Germania e Regno Unito.

La prova è stata effettuata presso il campo sperimentale dell'azienda agricola "La Contea" (Tavullia, Pesaro Urbino, Italia), situata presso Montelabbe (Pesaro Urbino, Italia).

Le piante di luppolo sono state coltivate su un sistema a traliccio standard alto 8 m, distanziate di 2,8 m e 1 m rispettivamente tra le file e nelle file.

La crescita delle infestanti è stata periodicamente controllata e se presenti venivano manualmente rimosse.

Per l'irrigazione è stato utilizzato un sistema a goccia che forniva acqua alle piante ogni qualvolta fosse necessario.

Sono stati utilizzati tre campioni per le cultivar di luppolo Cascade (CAS), Nugget (NUG), Chinhook (CHI), Hersbucker (HER) raccolti nelle annate 2016, 2017, 2020 ed un solo campione per la cultivar di luppolo Fuggle (FUG) raccolto nell'annata 2017.

I coni di luppolo sono stati raccolti separatamente per ciascuna varietà, annata e successivamente conservati a -20 gradi fino all'analisi.

1.2 Estrazione

Sono stati pesati accuratamente 0,5 gr di coni essiccati e macinati per ogni varietà e ogni annata come mostrato in tabella 2.

Nome	Codice	Anno	Peso (gr)
Cascade	CAS	2016	0.5155
		2017	0.5015
		2020	0.5024
Nugget	NUG	2016	0.5018
		2017	0.5040
		2020	0.5120
Chinhook	CHI	2016	0.5015
		2017	0.5028
		2020	0.5037
Hersbucker	HER	2016	0.5000
		2017	0.5058
		2020	0.5094
Fuggle	FUG	-----	----
		2017	0.5016
		-----	----

Tabella 2: campioni oggetto di analisi.

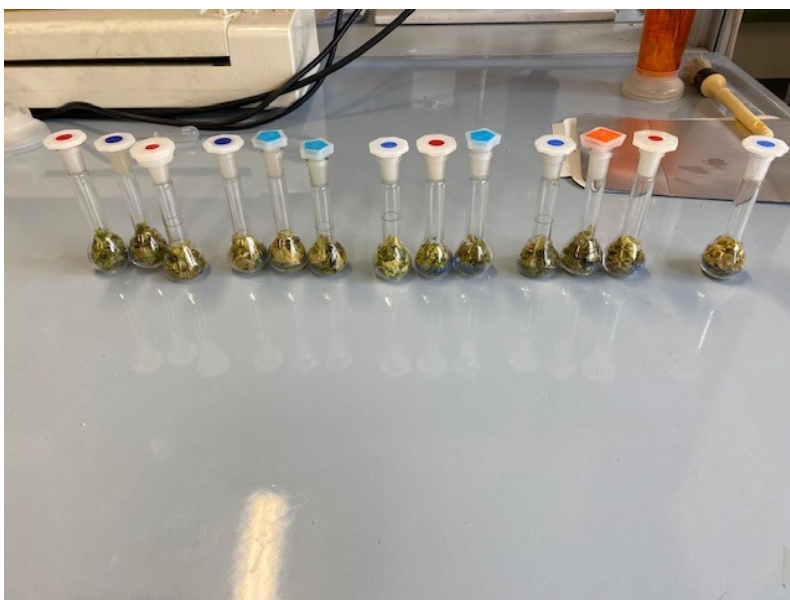


Figura 4: preparazione degli estratti

Successivamente sono stati inseriti in un matraccio volumetrico da 10 ml e portato a volume con metanolo.

Per completare l'estrazione i 13 matracci sono stati avvolti in fogli di alluminio e sono stati lasciati al buio overnight.

L'estratto così ottenuto è stato filtrato utilizzando una membrana PTFE da 0,22 μm (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) e successivamente diluito in rapporto 1:10 nel matraccio volumetrico. (1 ml di estratto, 9 ml di metanolo)

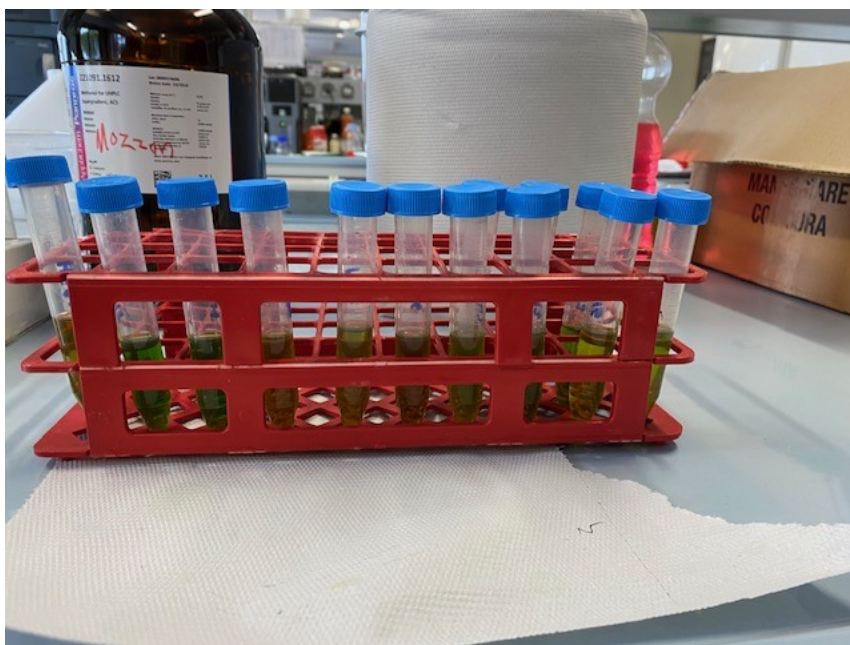


Figura 5: estratto ottenuto da ogni varietà

1.3 Iniezione in HPLC

Inizialmente è stata effettuata un'eluizione in gradiente utilizzando il seguente sistema a due solventi: solvente A = 75% metanolo, 24% di acqua e 1% di acido fosforico; solvente B = metanolo ed aumentava dal 30% al 55 % in 10 min. La velocità di flusso è stata impostata a 0.8 ml/min.

L'HPLC utilizzato per l'iniezione è stata l'Agilent system 1100 series HPCL accoppiata ad una colonna C-18 Zorbax Eclipse ($3,0 \times 150$ mm, 3,5 μm) con rivelatore UV(330 nm) mentre come standard di calibrazione per quantificare gli α e β acidi (cohumulone, adhumulone +

humulone, colupulone e adlupulone + lupulone) è stato utilizzato l'International Calibration Extract 4 (ICE-4), che ha permesso di ottenere per ciascuno una retta di calibrazione (0.4, 1.0 e 2.0 mg / mL) come mostrato in tabella 3.

CO-HUM	$y=1766,5x-24,726$ $R^2=0,9999$
AD-HUM	$y=1617,2x-74,326$ $R^2=1$
CO-LUP	$y=1726,3x-13,421$ $R^2=1$
AD-LUP	$y=1744,9x-41,642$ $R^2=0,9999$

Tabella 3: curve di calibrazione alpha e beta acidi

Capitolo 2

RISULTATI E DISCUSSIONE

2.1: Risultati sperimentali

I diversi tempi di ritenzione e le rispettive aree dei diversi alpha e beta acidi nei campioni di luppolo sono riportati in tabella 4

Tabella 4: Risultati ottenuti mediante HPLC

Campione	Tempo di ritenzione	Area
Chinhook 2016		Co- α =3196.4
	Co- α =5.631 n+ad- α =6.632	n+ad- α =6736.9
	Co- β =8.372 n+ad- β =9.808	Co- β =1777.1 n+ad- β =1578.5
Chinhook 2017		Co- α = 3269.1
	Co- α =5.217 n+ad- α =6.256	n+ad- α =7209.6
	Co- β =8.063 n+ad- β =9.549	Co- β = 1775.3 n+ad- β =1545.7
Chinhook 2020		Co- α =4418.7
	Co- α =5.997 n+ad- α =6.949	n+ad- α =9797.5
	Co- β =8.62 n+ad- β =10.005	Co- β =2475 n+ad- β =2295.5
Nugget 2016		Co- α =3846.7
	Co- α =5.217 n+ad- α =6.254	n+ad- α =11194.2
	Co- β =8.059 n+ad- β =9.538	Co- β =2297.6 n+ad- β =2582
Nugget 2017		Co- α = 2936.4
	Co- α =5.236 n+ad- α =6.277	n+ad- α =8935.7
	Co- β =8.084 n+ad- β =9.563	Co- β =1962.9 n+ad- β =2259
		Co- α = 4737.5

Nugget 2020	Co- α =5.238 n+ad- α =6.28	n+ad- α =12103.3
	Co- β =8.084 n+ad- β =9.563	Co- β =3122.3 n+ad- β =3008.7
Cascade 2016	Co- α =5.26 n+ad- α =6.323	Co- α =2137.6
	Co- β =8.133 n+ad- β =9.632	n+ad- α =3937.3 Co- β =4364.9 n+ad- β =5017.4 Co- α =1838.2
Cascade 2017	Co- α =5.263 n+ad- α =6.325	n+ad- α =3505.2
	Co- β =8.134 n+ad- β =9.627	Co- β =4293.8 n+ad- β =5763.3 Co- α =2258.5
Cascade 2020	Co- α =5.246 n+ad- α =6.303	n+ad- α =4453.1
	Co- β =8.11 n+ad- β =9.602	Co- β =5139.7 n+ad- β =6540.8 Co- α =268
Hersbucker 2016	Co- α =5.238 n+ad- α =6.323	n+ad- α =522.2
	Co- β =8.108 n+ad- β =9.606	Co- β =590 n+ad- β =752.2 Co- α =275.8
Hersbucker 2017	Co- α =5.24 n+ad- α =6.318	n+ad- α =632.9
	Co- β = 8.114 n+ad- β =9.611	Co- β =789.4 n+ad- β =1263.6 Co- α =4399.6
Hersbucker 2020	Co- α =5.245 n+ad- α =6.318	n+ad- α =10829.1
	Co- β =8.114 n+ad- β =9.611	Co- β =4122.6 n+ad- β =4294.2 Co- α =599.4
Fuggle 2017	Co- α =5.274 n+ad- α =6.346	n+ad- α =1215.4
	Co- β =8.158 n+ad- β =9.665	Co- β =667.7 n+ad- β =655.4

Tabella 5: alpha e beta acidi delle diverse varietà di luppolo alle diverse annate di raccolta

Campioni	% Sostanza secca (ss)					
	Co-Hum	Ad-Hum + Hum	Co-Lup	Ad-Lup + Lup	Tot α -acid	Tot β -acid
Cascade 2016	1.19	2.41	2.46	2.81	3.59	5.27
Cascade 2017	1.05	2.21	2.49	3.32	3.26	5.80
Cascade 2020	1.29	2.79	2.97	3.75	4.07	6.73
Nugget 2016	2.18	6.94	1.33	1.50	9.13	2.83
Nugget 2017	1.66	5.53	1.14	1.31	7.19	2.44
Nugget 2020	2.63	7.35	1.77	1.71	9.99	3.48
Chinhook 2016	1.82	4.20	1.03	0.93	6.02	1.96
Chinhook 2017	1.85	4.48	1.03	0.90	6.33	1.93
Chinhook 2020	2.50	6.06	1.43	1.33	8.56	2.76
Hersbucker 2016	0.17	0.37	0.35	0.45	0.53	0.80
Hersbucker 2017	0.17	0.43	0.46	0.74	0.60	1.20
Hersbucker 2020	2.46	6.62	2.35	2.44	9.08	4.79
Fuggle 2017	0.35	0.79	0.39	0.40	1.15	0.79

La tabella 5 mostra le quantità percentuale dei diversi alpha e beta acidi presenti nelle diverse varietà di luppolo alle diverse annate.

La quantità di ad-humulone+humulone risulta essere maggiormente presente in tutti i campioni di luppolo rispetto al cohumulone mentre per i beta acidi non vi è un comportamento analogo in quanto per il campione Nugget 2020 e le tre annate di raccolta Chinook la percentuale di ad-lupulone+lupulone mostra valori inferiori rispetto al co-lupulone

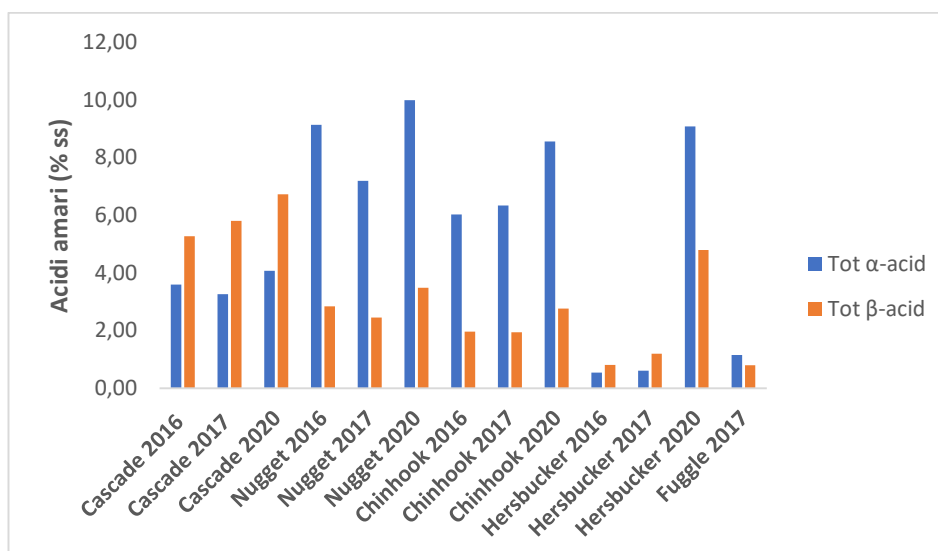


Figura 3: alpha e beta acidi totali delle diverse varietà di luppolo alle diverse annate

2.1.1: **Discussione dei dati sperimentali**

La figura 3 mostra la quantità di alpha e beta acidi presenti nelle diverse varietà di luppolo alle diverse annate.

Si nota che la concentrazione maggiore di alpha acidi è presente nelle varietà Nugget e Chinhook, mentre un'elevata quantità di beta acidi è stato riscontrato nella varietà Cascade, la cui quantità percentuale in sostanza secca supera di molto le altre varietà.

Per quanto riguarda la quantità di alpha acidi presenti nella varietà Nugget, nella produzione del 2020 c'è stato un incremento positivo di 0,86 rispetto alla produzione del 2016 e 2,83 rispetto alla produzione del 2017, questo ci sottolinea il fatto che nel corso delle annate la quantità percentuale in sostanza secca ha avuto un calo per poi aumentare notevolmente nell'ultima annata.

Risulta quindi essere proprio Nugget 2020 il campione con la quantità, in assoluto, più elevata di alpha acidi rispetto a tutti campioni analizzati (7,19-9,99%).

La varietà Chinhook, valutando i valori di alpha acidi, è incrementata di 0.31 dall'annata 2016 alla 2017 e ha avuto un cospicuo aumento (2,44) dall'annata 2017 alla 2020; questo potrebbe essere dovuto a diversi parametri tra cui anche l'adattamento della pianta al terreno ed al clima della regione Marche e, ovviamente, le condizioni di stoccaggio messe in atto dall'azienda stessa.

Stessa cosa si è verificata nella varietà Cascade per la quantità di beta acidi, essa ha avuto un incremento dall'annata 2016 alla 2020, rispettivamente di 0,53 tra l'anno 2016 e 2017 e 0,93 tra l'anno 2017 e 2020.

Per quanto riguarda la varietà Hersbucker, nelle annate 2016 e 2017 il quantitativo di alpha e beta acidi è molto inferiore rispetto al campione Hersbucker 2020.

Questo può essere dovuto ad un errato stoccaggio della materia prima o, meno probabilmente, ad una minore produttività di questi componenti da parte della pianta stessa.

Per quanto concerne la varietà Fuggle, vi era a disposizione un solo campione dell'annata 2017.

Le relative analisi hanno dimostrato una scarsa quantità percentuale di sostanza secca per entrambi i composti ricercati, mostrando comunque una quantità più elevata di alpha acidi rispetto ai beta acidi.

Alcuni dati sperimentali sulla concentrazione totale di alpha e beta acidi di luppolo provenienti da Reading (PA) riportano valori diversi rispetto ai dati sperimentali ricavati nel laboratorio

dell'Università Politecnica delle Marche condotti su luppoli coltivati a Tavullia (Pesaro Urbino). (T. M. Danenhower et al,2008)

Tabella 6: % α/β -acidi stesse varietà ma diversi luoghi di produzione

α -acidi e β -acidi % Reading PA	α -acidi e β -acidi % Tavullia
Cascade (4,8-5,3)	Cascade (6,73-4,07)
Fuggle (2,6-2,3)	Fuggle (1,15-0,79)
Nuggle (9,0-3,4)	Nuggle (9,99-3,48)

Come riporta la tabella la varietà Fuggle analizzata a Reading ha valori più elevati di alpha e beta acidi rispetto alla varietà Fuggle coltivata a Tavullia e analizzata in laboratorio ad Ancona, inversamente per la varietà Nuggle i valori sono più elevati per il luppolo coltivato a Tavullia. Per la varietà Cascade invece la concentrazione di alpha acidi è maggiore nel luppolo coltivato nelle Marche ma inferiore in beta acidi nel luppolo coltivato in Pennsylvania.

Questa differenza nel quantitativo di alpha e beta acidi è dovuto ad una ampia gamma di parametri che influenzano il luppolo sia in campo, sia durante lo stoccaggio ma anche nelle tecniche utilizzate per la quantificazione di questi componenti.

È stata anche effettuata un'accurata analisi sul luppolo della varietà Cascade acquistata a Bekesbourne nel Regno Unito e coltivata in diverse aree della Sardegna (Alghero, Orosei, Domusnovas).

L'esperimento è stato portato avanti dal 2015 al 2017 con i seguenti risultati: (M. Forteschi et al, 2019).

Tabella 7: % alpha e beta acidi totali della varietà Cascade coltivata in Sardegna

	Alghero			Orosei			Domusnovas		
	2015	2016	2017	2015	2016	2017	2015	2016	2017
α -acidi totali %	8,71	5,12	8,71	7,36	5,00	5,81	9,05	6,93	5,98
β -acidi totali %	7,09	8,89	8,18	8,33	6,49	9,13	5,26	6,77	6,12

Come si può notare il quantitativo percentuale di alpha e beta acidi è più alto nella varietà Cascade coltivata nelle tre diverse aree della Sardegna rispetto alla stessa varietà coltivata a Tavullia (Pesaro Urbino).

Il suolo, le condizioni meteorologiche, i cambiamenti nelle tecniche di coltivazione, i tempi di raccolta e post-raccolta e le condizioni di stoccaggio sono fonti di variabilità nel contenuto di questi componenti.

I risultati ottenuti per il luppolo varietà Cascade coltivato in Sardegna sono in linea con quelli riportati sia in letteratura, sia nelle schede tecniche di USA e Nuova Zelanda mentre si discostano dai risultati ottenuti per il luppolo Cascade coltivato a Tavullia.

Ulteriori dati sperimentali sono stati registrati analizzando varietà di luppolo coltivate nello stesso campo di questa sperimentazione. (La Contea, Tavullia, Pesaro Urbino).

I coni di luppoli utilizzati provengono dalla raccolta dell'annata 2018 e ne sono stati determinati, oltre ad altri parametri, anche il quantitativo totale di alpha e beta acidi. (M. Mozzon et al, 2020).

Nella sperimentazione condotta nel 2020 sono state analizzate 15 varietà, tra cui Chinhook, Nuggle, Fuggle, Cascade che possono essere confrontate con i dati ottenuti in questa sperimentazione nelle annate 2016, 2017, 2020.

I valori di alpha e beta acidi per la varietà Fuggle sono pressochè identici, questo perché, probabilmente, questa varietà non cresce in maniera ottimale nella regione Marche.

Per le altre varietà i valori sono simili ma non uguali.

Chinhook, Nuggle, Cascade dell'annata 2018, infatti riportano valori superiori ai coni raccolti nelle annate 2016, 2017 ma inferiori ai coni raccolti nell'annata 2020.

CONCLUSIONI

Il presente studio mirava a valutare la presenza e la quantità di alpha e beta acidi, componente fondamentale per la produzione di birra, in diverse varietà di luppolo coltivate nella regione Marche e valutare inoltre se le condizioni di stoccaggio utilizzate avessero avuto un effetto su questi. Dai dati sperimentali raccolti possiamo affermare che le condizioni di stoccaggio utilizzate dall'azienda hanno avuto un effetto negativo sulla concentrazione di questi importanti componenti. Sarà quindi oggetto d'indagine futura individuare le migliori condizioni di stoccaggio possibile al fine di poter mantenere la qualità dei luppoli anche a lungo termine.

Per quanto riguarda invece le varietà analizzate in senso assoluto, possiamo dire che la varietà che presenta la maggior presenza di alpha e beta acidi è Nugget mentre la Varietà Fuggle ha mostrato valori più bassi. Valori intermedi sono stati riscontrati invece in Chinhook, Cascade, Hersbucker.

Alla luce di quanto detto possiamo concludere che le varietà Nugget, Chinhook e Hersbucker hanno mostrato un buon potenziale di impiego per il processo di birrificazione considerando anche i dati presenti in bibliografia offrendo anche la possibilità di avere luppoli autoctoni ai numerosi birrifici artigianali.

BIBLIOGRAFIA

M. Mozzon, R. Foligni, C.Mannozi., 2020 Brewing Quality of Hop Varieties Cultivated in Central Italy Based on Multivolatile Fingerprinting and Bitter Acid Content, *Foods* pp. 1-17

A. Mongelli, M. Rodolfi, T. Ganino, M. Marieschi, C Dall'Asta, R. Bruni., 2015 Italian hop germplasm: Characterization of wild *Humulus lupulus* L. genotypes from Northern Italy by means of phytochemical, morphological traits and multivariate data analysis, *Industrial Crops and Products* 70 pp 16-27

H. M. Bettenhausena, L. Barr, C. D. Broecklinga, J. M. Chaparro, C. Holbrook, D. Sedin, A. L. Heubergera, 2018 Influence of malt source on beer chemistry, flavor, and flavor stability, *Food Research International* 113 pp 487–504

N. Rettberga, M. Biendlb, L Garbec, 2018 Hop Aroma and Hoppy Beer Flavor: Chemical Backgrounds and Analytical Tools, *Journal of the American Society of Brewing Chemists* pp 1-21

M. Kovacevic, M. Kac., 2002 Determination and verification of hop varieties by analysis of essential oils, *Food Chemistry* 77 pp 489-494

T. M. Danenhower, L. J. Force, K. J. Petersen, T. A. Betts, 2008 HPLC Analysis of α - and β -Acids in Hops pp 954-956

M. Forteschi, M. C. Porcu, M. Fanari, M. Zinellu, N. Secchi, S. Buiatti, P. Passaghe, S. Bertoli L. Pretti, 2019 Quality assessment of *Cascade* Hop (*Humulus lupulus* L.) grown in Sardinia pp 864-871

SITOGRAFIA

www.giornaledellabirra.it

www.semanticscholar.org

www.marcocardina.it/come-produrre-la-birra