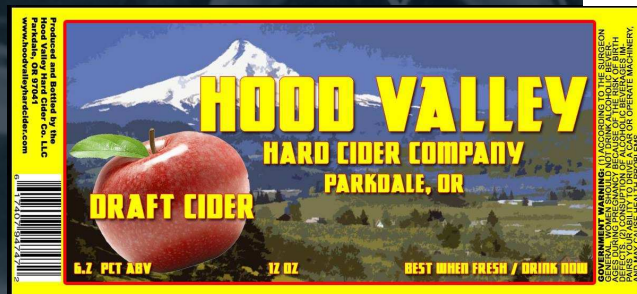




Interações Lúpulo - Fermento

Brian Perkey – Lallemand Brewing



LALLEMAND BREWING





UNITED WE BREW.™



LALLEMAND BREWING

LALLEMAND BREWING





Sumário

- Uma breve revisão nos estudos a respeito de componentes derivados do lúpulo e como eles são modificados pelas leveduras durante fermentação
- Começando simples: Composição do lúpulo e ação da levedura
- Interações conhecidas
- Compostos derivados do lúpulo:
 - Compostos carbonil
 - Ésteres
 - Álcoois monoterpenos
 - Precusores ligados a glicosídeos
 - Ácidos da degradação do lúpulo
 - Precusores Tióis
- Impacto dos processos biotransformativos e efeitos

O que é “BioTransformação”?

- Biotransformação = “alteração de compostos orgânicos por organismos ou enzimas”
- “uma matriz de processos químicos complexos durante os quais as células de levedura transformam componentes do lúpulo em geralmente (novos), compostos extremamente aromáticos”
- “Componentes de óleos que a levedura modificou”
- “Impacto derivado da levedura ou modificação do aroma do lúpulo”

Por que “BioTransformação” ?

É uma pequena (mas importante) parte do aroma de lúpulo na cerveja

Nós sabemos que aromas de lúpulo fresco/ processado são diferentes do aroma da cerveja final

- Extração desproporcional
- Perdas por evaporação ou adsorção
- Modificação dos voláteis vindos do lúpulo por enzimas das leveduras

Composição do Lúpulo

POLIFENÓIS

RESINAS

ÓLEOS ESSENCIAIS

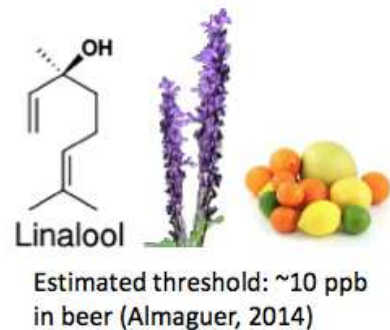
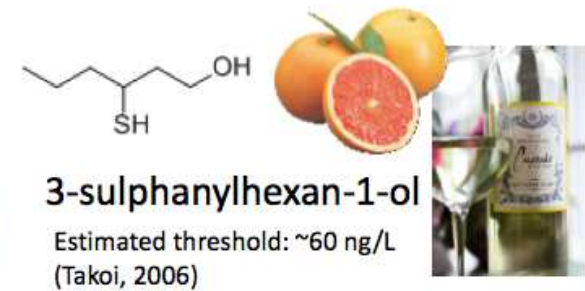
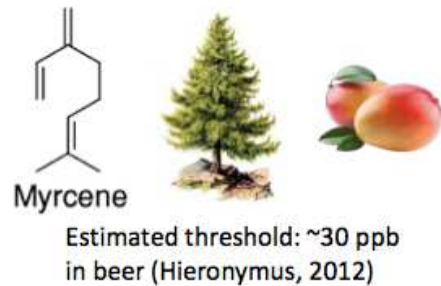
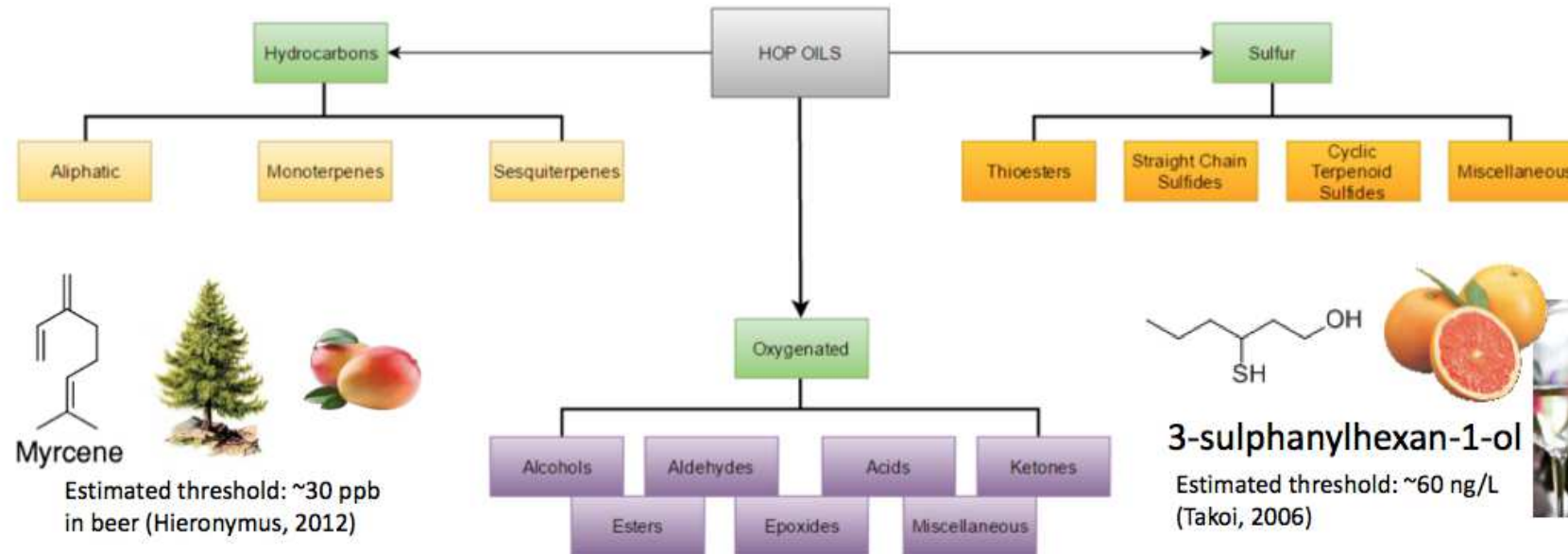


Composição do Lúpulo

ÓLEOS ESSENCIAIS

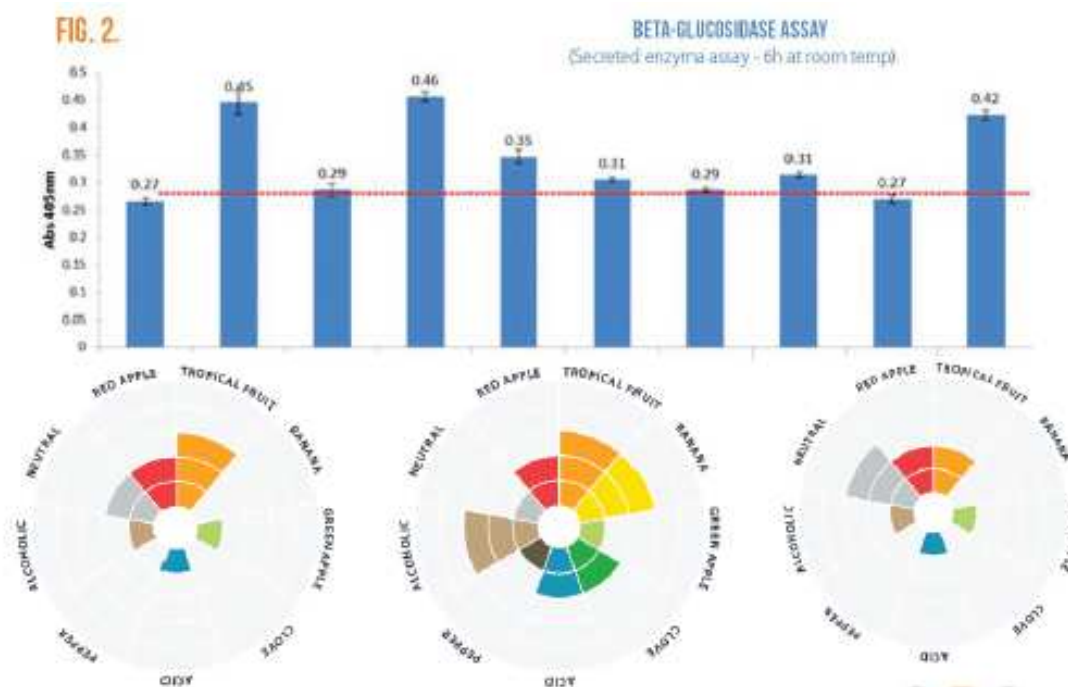
- Fração de hidrocarbonetos (50-80%)
 - Mirceno, Cariofileno, Farneseno, Humuleno, ...
- Fração Oxigenada (20-50%)
 - Linalool, Geraniol, Nerol, ...
- Fração Sulfúrica (<1%)

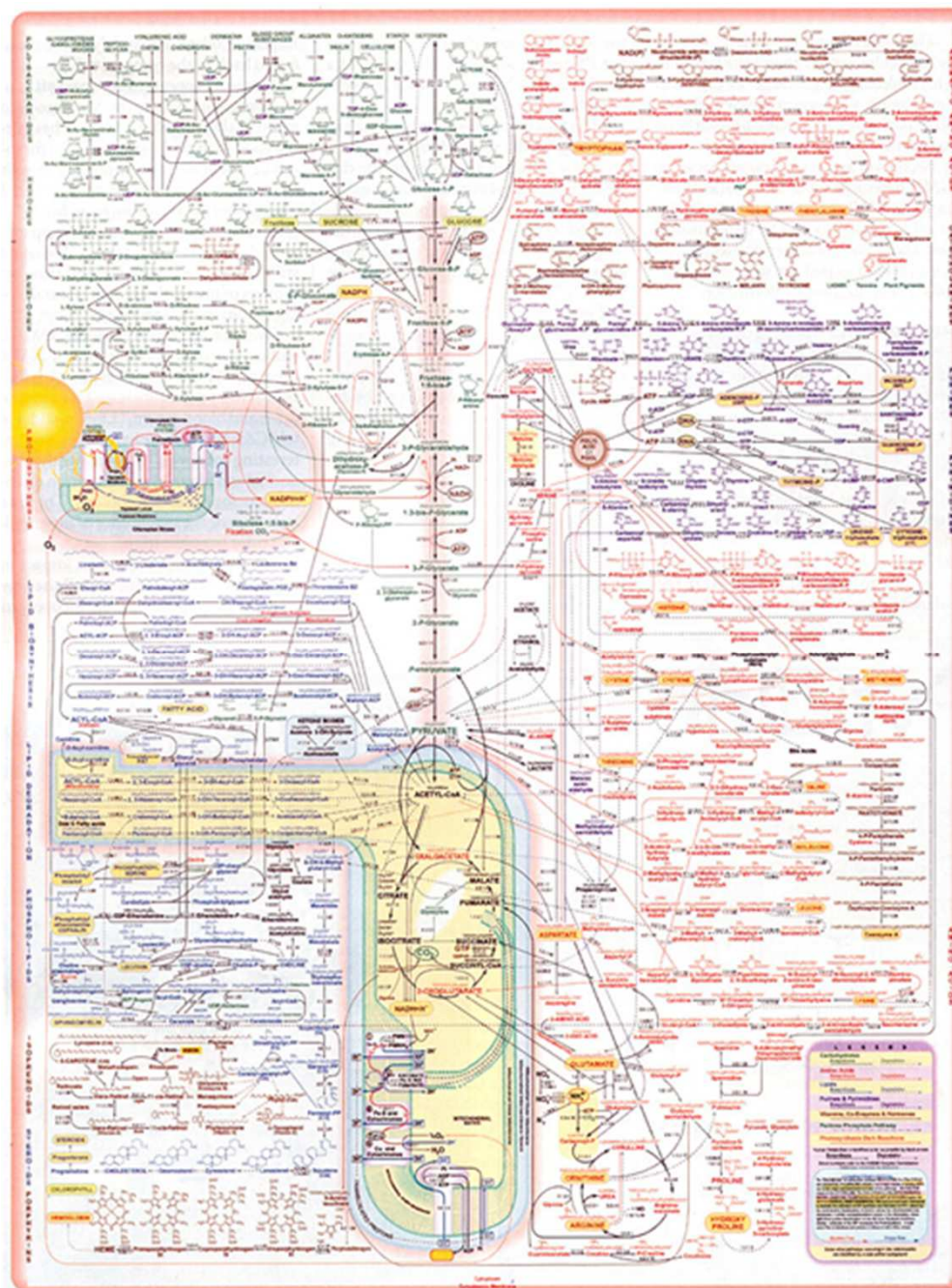
Hop oil fractions



Influência da Levedura

- Leveduras são complexas
- Muitos fatores influenciam o comportamento das leveduras





Influência da Levedura: DH durante fim da primária / início da secundária

Razões para o dry hopping com o fermento:

- Oxigênio dissolvido oferece proteção
- Homogeneização natural por convecção
- Biotransformação dos compostos dos óleos essenciais do lúpulo

A considerar:

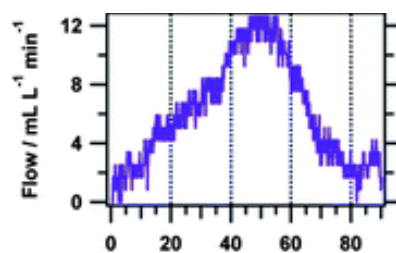
- Arraste do aroma
- Perda de voláteis devido a adsorção na biomassa

Interações geralmente conhecidas

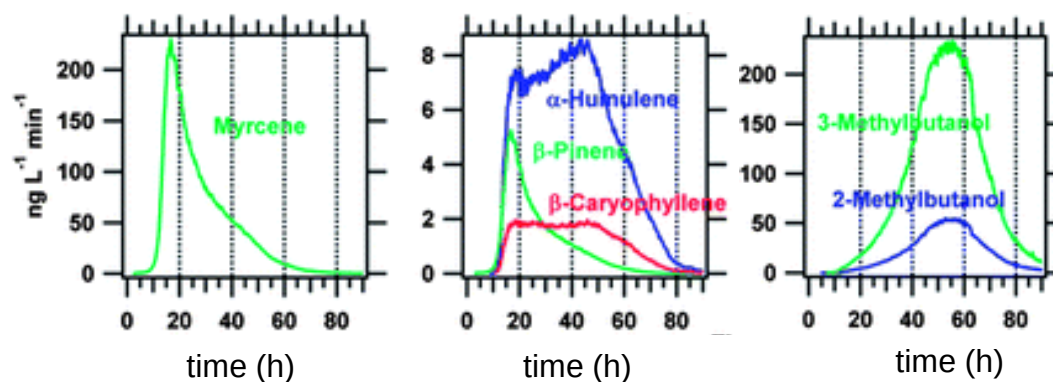
- Arraste dos compostos durante fermentação_(1,2)
 - CO₂ Produção/Arraste
 - Adsorção
- Mascaramento?
- Biotransformação

Componentes voláteis são perdidos pelo arraste

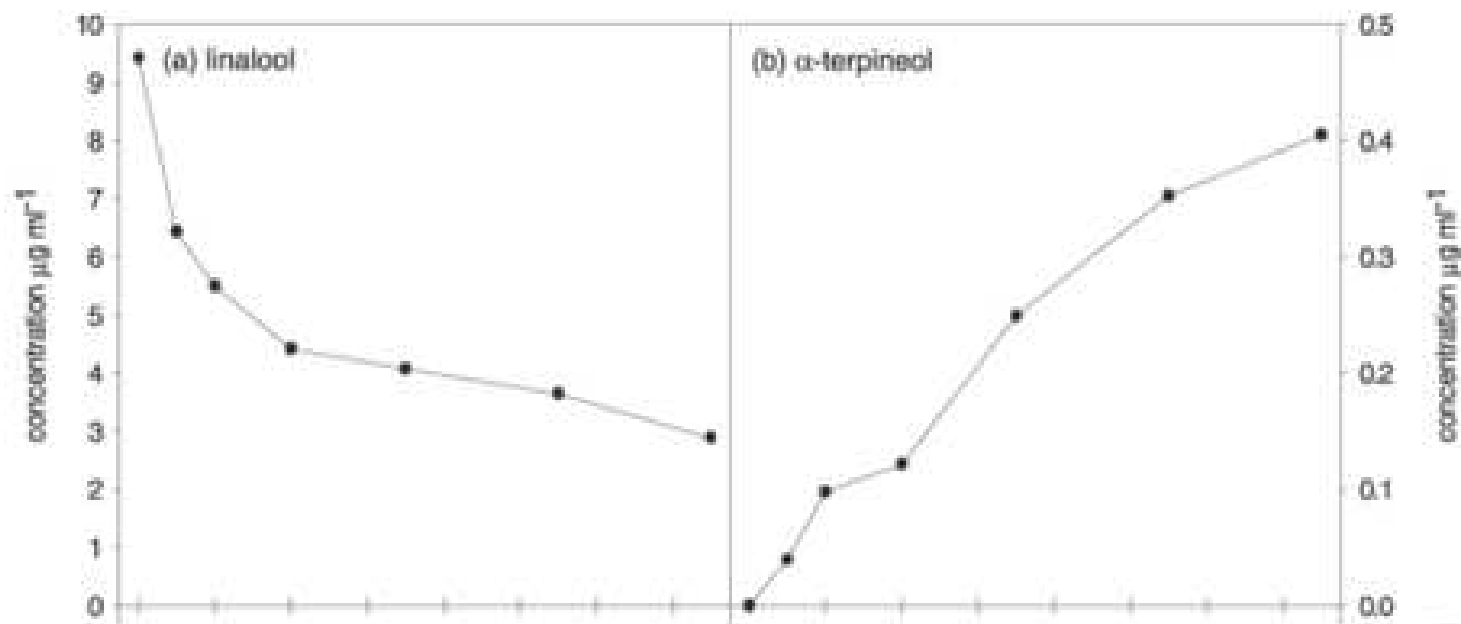
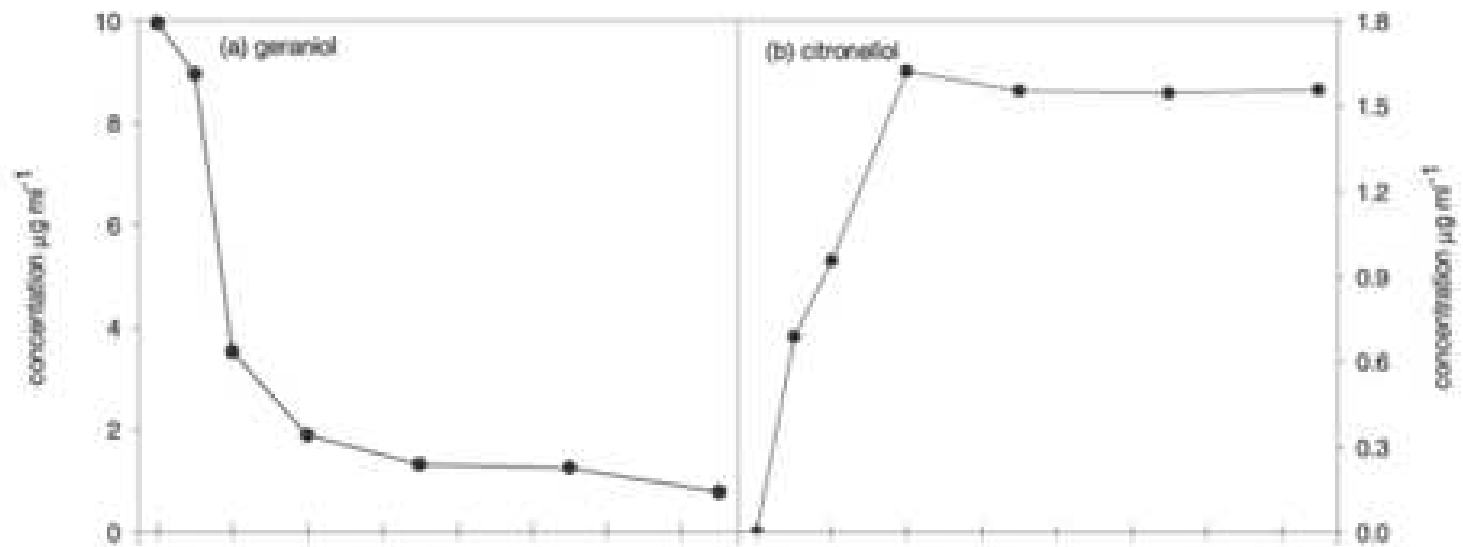
Taxa de evolução do dióxido de carbono



Curvas dos compostos aromáticos

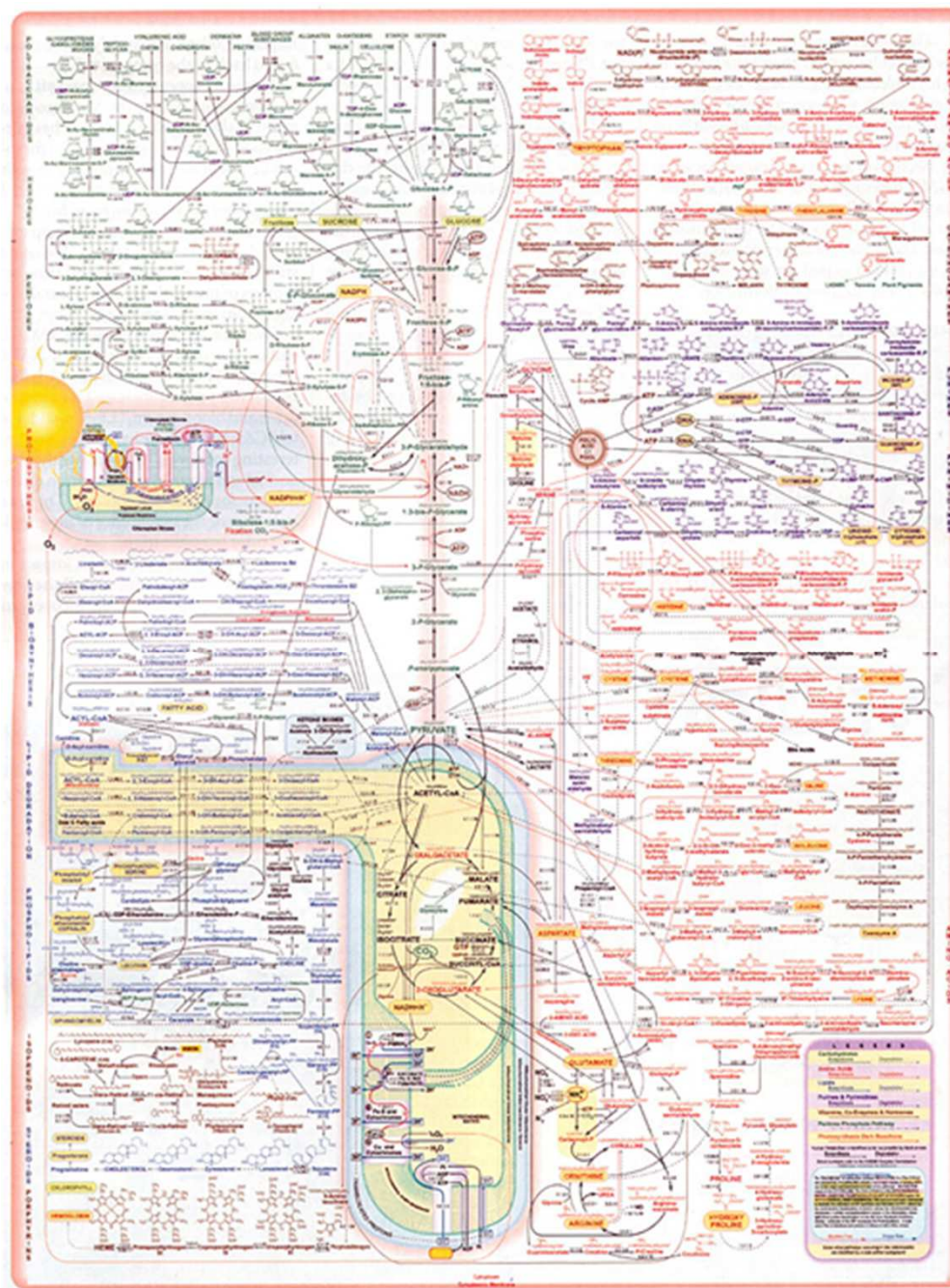


Haefliger and Jeckelmann, Anal. Methods, 2013, 5, 4409-4418



Fatores que influenciam

- Cepa do fermento
- Contagem de células
- Temperatura
- Ponto de adição de lúpulo
- Tempo de contato



LALLEMAND BREWING

LALLEMAND

Compostos derivados do lúpulo

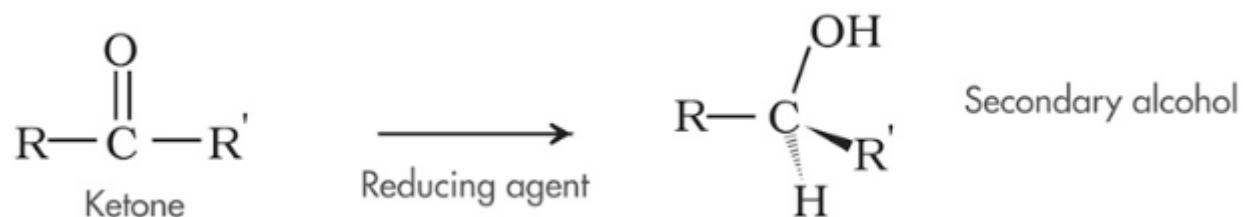
- Compostos carbonil (também os derivados do malte, mostura e fervura)
- Ésteres (ésteres de cadeia ramificada, não encontrados em cervejas sem lúpulo)
- Álcoois monoterpenos
- Precursores ligados a glicosídeos
- Ácidos
- Tióis multifuncionais

Compostos carbonil

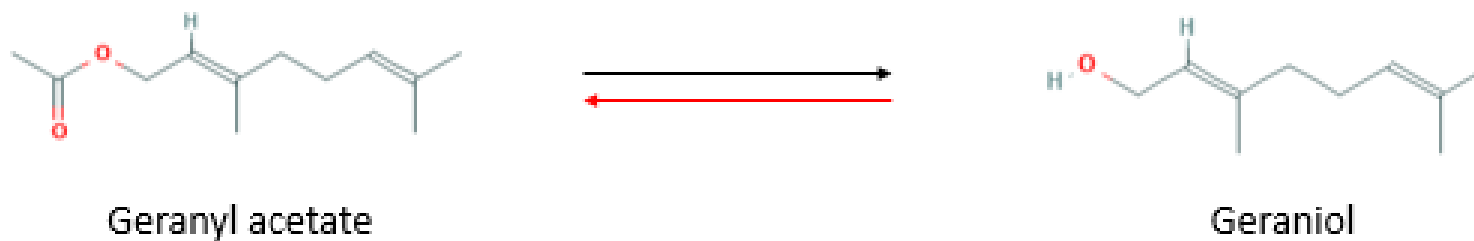
Carbonil → Álcoois

Desidrogenases e redutases

Exemplo: metil cetonas são parcialmente reduzidas ao álcool secundário correspondente₍₃₎



Ésteres

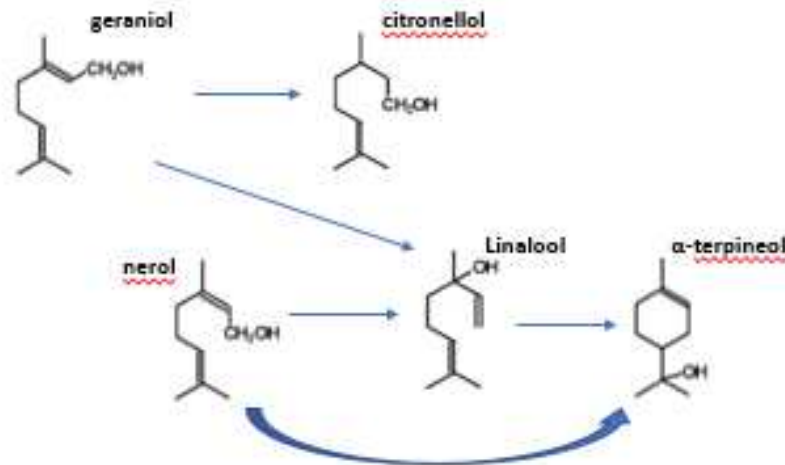


Esters can be hydrolyzed or trans-esterified

- Geranyl and citronellyl acetate esters are formed by lager yeast, but not by ale yeast ⁽⁴⁾
- Esterase activity?
- Chemical esterification during beer ageing alters flavor

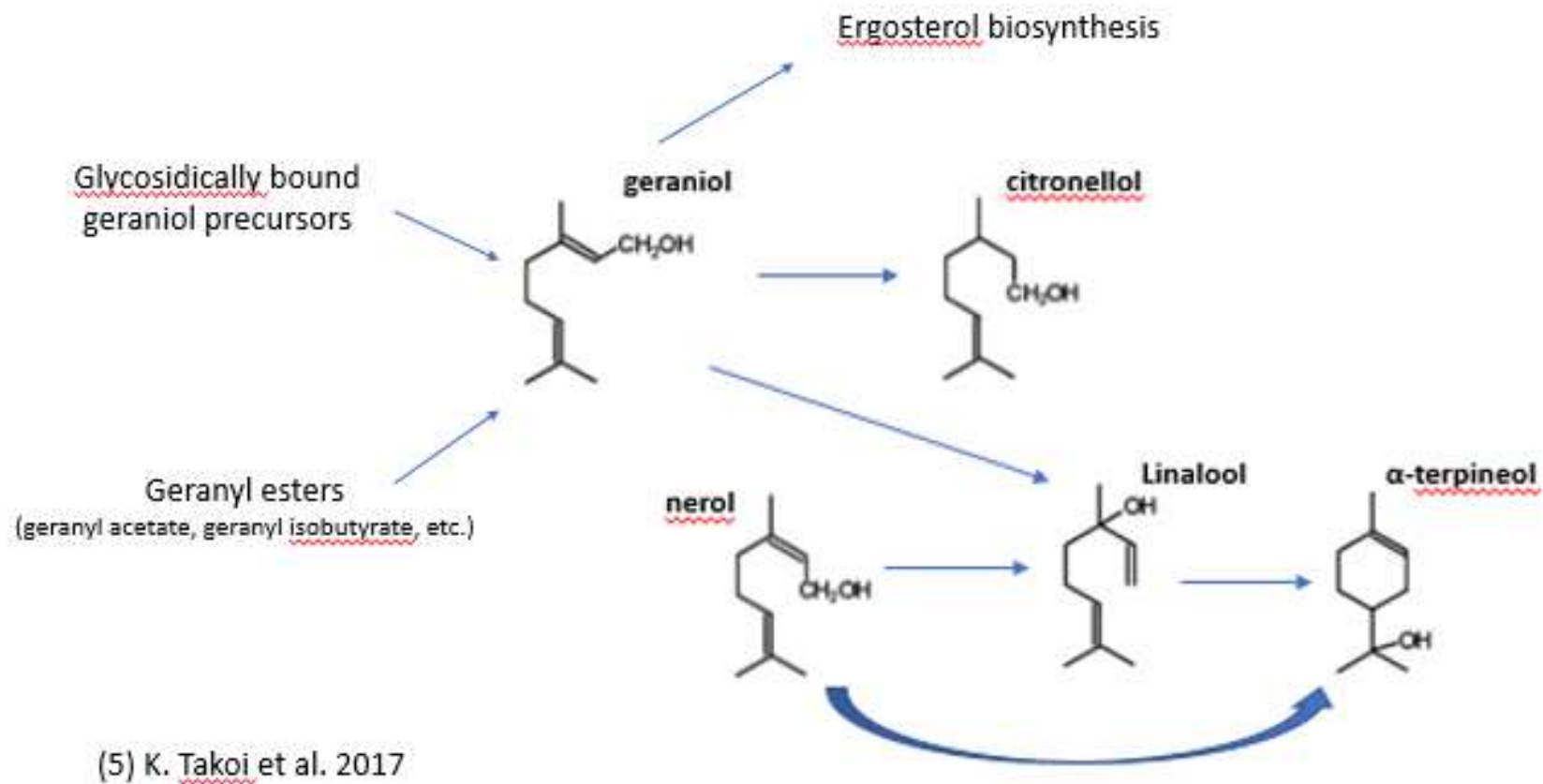
Álcoois Monoterpenos

- Responsible for spicy/floral/hoppy aromas
- Do not transform spontaneously, but are catalyzed by yeast (or low pH)
 - *Saccharomyces cerevisiae* can reduce, translocate, and isomerize monoterpene alcohols ⁽⁴⁾



Álcoois Monoterpenos - Geraniol

- Pesquisa de Takoi et al. classifica os lúpulos em 2 categorias :
 - Lúpulos que predominantemente possuem Geraniol livre
 - Lúpulos que predominantemente tem os precursors do Geraniol
- Fontes de geraniol: geraniol livre, precursors de geraniol, e acetate de geranil⁽⁵⁾
- Geraniol diminuí durante os primeiro 3 dias de fermentação – é utilizado para biossíntese de ergosterol ⁽⁵⁾



Precursores ligados a glicosídeos

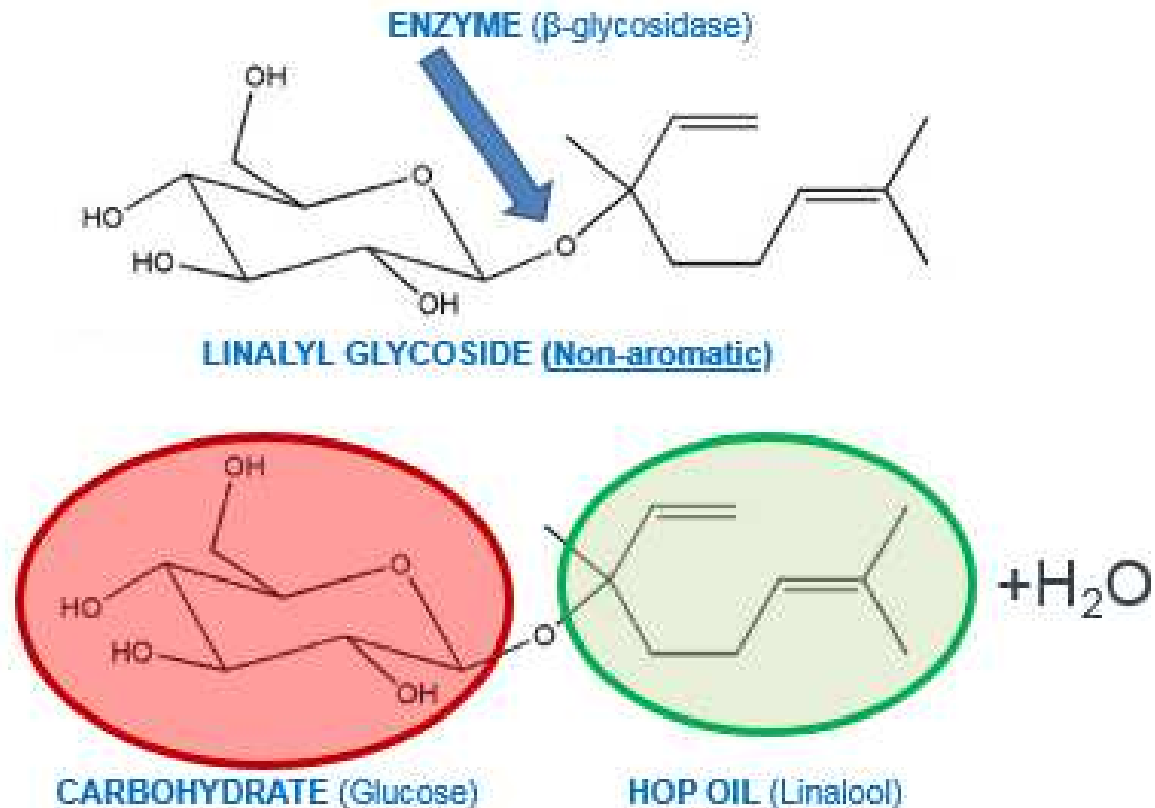
O que são glicosídeos?

- Moléculas ligadas a açúcares
- Não voláteis
- Encontrados em lúpulos⁽²⁾

Pesquisa mostra que precursors de aromas ligados á glicosídeos são hidrolizados .⁽²⁾

- Compostos não aromáticos são hidrolizados:
Liberando um composto aromático, uma glucose e uma molécula de água
- Enzima β -glucosidase

Hidrólise do Glicosídeo



Impacto sensorial

Enzymatic hydrolysis
β-Glucosidase, pH 5, 24 h, 40 °C

Addition of
enzyme

Without
enzyme

3(Z)-Hexenol	9	0
1-Octen-3-ol	484	0
1,5-Octadien-3-ol	39	0
Linalool	9	0
α -Terpineol	17	0
8-Hydroxy-linalool I	6	0
8-Hydroxy-linalool II	32	0
Benzylalcohol	82	15
3-Hydroxy-7,8-dihydro-β-ionol	10	0

Aroma

Mostly grapefruit and pine with some tropical pineapple, orange and caramel backin' it up

Mostly pine with some **citrus, orange and grapefruit**, followed by **tropical pineapple** aroma as well, slight caramel and isoamyl acetate

Kollmannsberger et al, 2006

Ácidos da degradação do lúpulo

Esterification of short chain hop derived acids

Hop degradation products → ethyl esters (fruity esters)₍₆₎

Researchers found that ester concentration in beer can increase by the use of aged hops₍₆₎

This conversion is not particularly clear, but there are probably many factors that play into this



Tióis multifuncionais

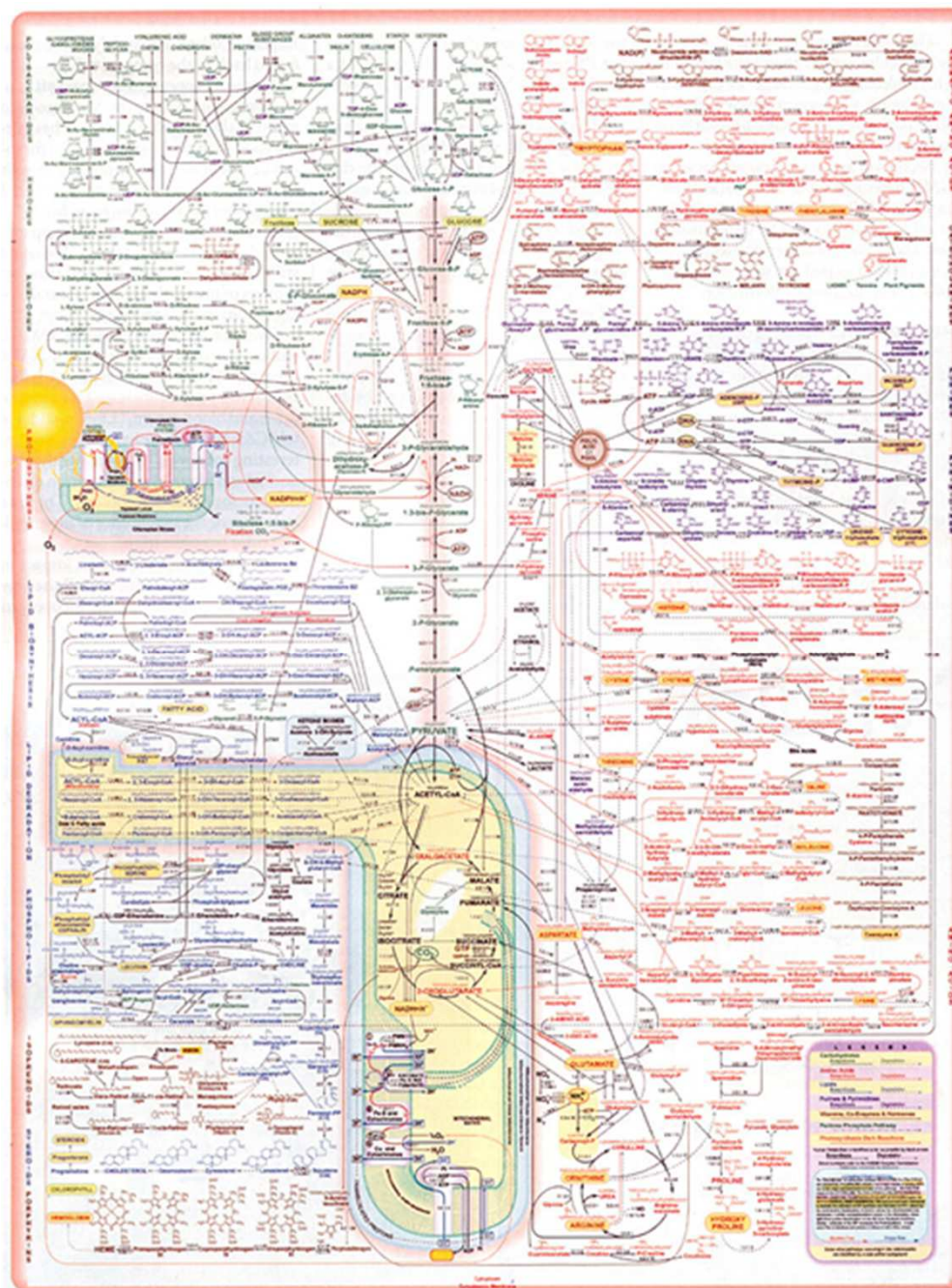
Compostos contendo enxofre – muito potente

Díspomível na forma livre e ligada

Ligada: Precursores tíois ligados a cisteínas e glutathionas são encontrados nos lúpulos

Não volátil

Possível atividade β -liase catalizando a liberação de tíois aromáticos₍₇₎



LalBrew® PREMIUM SERIES

NEW LOOK, SAME HIGH QUALITY.

The same consistency, technical support,
and expertise you've come to expect from
Lallemand Brewing.

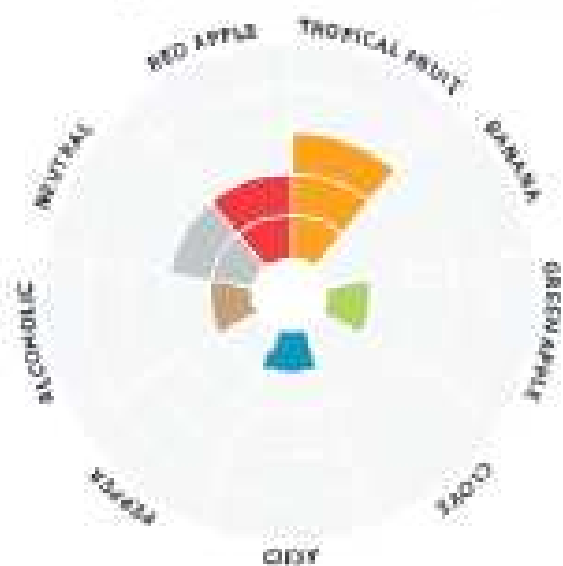
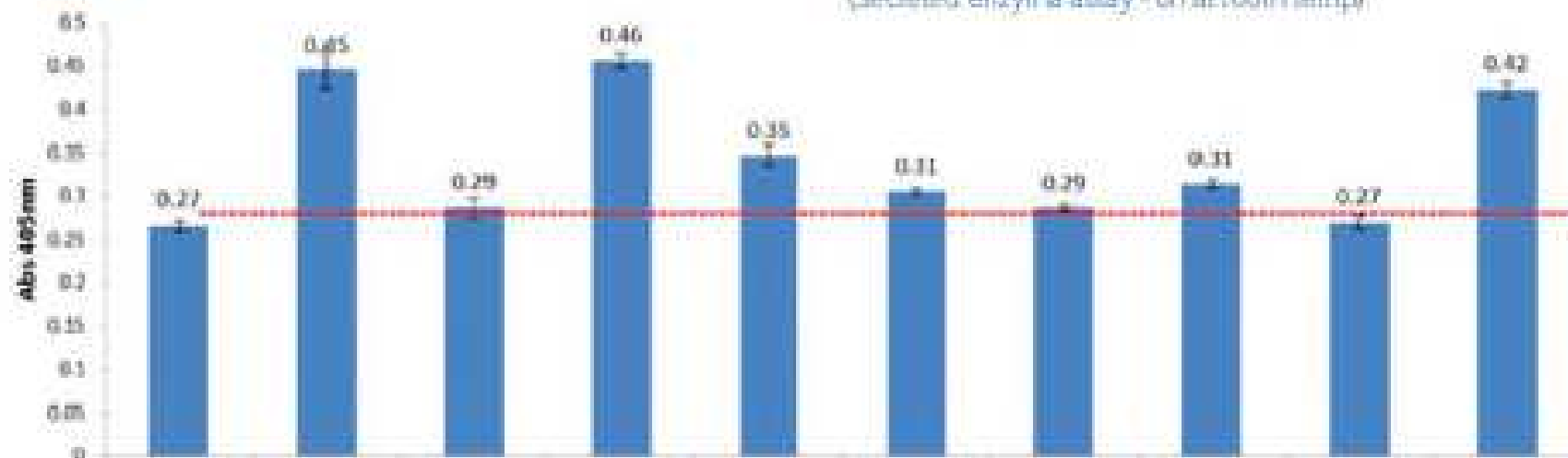
AVAILABLE IN 11G SACHETS AND 500G BRICKS



FIG. 2

BETA-GLUCOSIDASE ASSAY

(Secreted enzyme assay - 6h at room temp)



Resumo

- Aroma de lúpulo fresco/processado $\neq$ do aroma na cerveja final
- Mudanças nos parâmetros de fermentação ou na lupulagem podem afetar o sabor da cerveja
- Biotransformação é complexa e existe muita coisa que não sabemos
- Espaço para explorar, criatividade e pesquisa!

Referências

1. T. Shellhammer, 'RE: Presentation help'. Message to: Brittney Berg, 26 December 2018. Email.
2. Sharp, D.; Molitor, A.; Shellhammer, T. Effect of hopping regime, cultivar, and yeast on terpene alcohol content in beer. Young Scientist Symposium. April 2016.
3. Praet, T.; Van Opstaele, F.; Jaskula-Goiris, B.; Aerts, G.; De Cooman, L. Biotransformations of hop-derived aroma compounds by *Saccharomyces cerevisiae* upon fermentation. *Cerevisia*, 36 (2012), 125-132.
4. King, A.J.; Dickinson, J.R. Biotransformation of Hop Aroma Terpenoids by Ale and Lager Yeasts. *FEMS Yeast Research* 2003, 3 (1), 53-62.
5. Takoi, K. et al. Systematic analysis of behavior of hop-derived monoterpene alcohols during fermentation and new classification of geraniol-rich flavor hops. *BrewingScience*. (70) 2017. 177-186
6. Rettberg, N.; Thörner, S.; Labus, A.B.; Garbe, L.-A. Aroma active monocarboxylic acids – origin and analytical characterization in fresh and aged hops. *BrewingScience*. (67) 2014. 33-47.
7. Nizet, S.; Gros, J.; Peeters, F.; Chaumont, S.; Robiette, R.; Collin, S. First Evidence of the production of odorant polyfunctional thiols by bottle refermentation. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 2013, 71 (1), 15-22.

& mais:

- Takoi et al. Biotransformation of hop-derived monoterpene alcohols by lager yeast and their contribution to the flavor of hopped beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58 (2010). 5050 – 5058.
- Sharp, D.; Vollmer, D. Examination of glycoside hydrolysis methods for the determination of terpenyl glycoside contents of different hop cultivars. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 75(2) 2017, 101-108.
- Gros, J. et al. Enzymatic release of odorant polyfunctional thiols from cysteine conjugates in hop. *J. Inst. Brew.* 2013. 119: 221-227.

Agradecimentos.....

Agraria

Lucas Lacerda

Brittney Berg

Robert Percival

Joan Montasell

Eric Abbott

Sylvie VanZandyke



Obrigado!!