

Sobre las frutas en los lúpulos...

Dr. Christina Schönberger, Joh. Barth und Sohn, Freiligrathstr. 7/9, 90482 Nürnberg

Con el último éxito de los estilos de cerveza NEIPAS, todos nos hemos dado cuenta de la cantidad de aroma y sabor afrutados que realmente hay en el lúpulo. Pero, ¿de dónde vienen estos aromas? El siguiente artículo intenta resumir lo que la investigación del aroma del lúpulo ha descubierto en los últimos 12 años sobre esos compuestos capaces de liberar aromas frutales.

4MMP (4-Mercapto-4-methylpentan-2-one) fue descubierto en el lúpulo, concretamente en la variedad Cascade, hace poco más de 10 años (1). Hasta entonces, se pensaba que linalool era el compuesto aromático más importante presente en el lúpulo. La concentración umbral de 4MMP, 1,5ng / L, es increíblemente pequeña en comparación con los 2,2 µg / L de linalool, y debido a esto, este compuesto puede ser bastante dominante en las cervezas muy lupuladas, si a éstas se les ha añadido variedades de lúpulo que contienen 4MMP. La calidad del aroma de 4MMP depende en gran medida de su concentración y a menudo se describe con grosella negra o casis. En concentraciones más altas, se vuelve bastante desagradable y puede describirse como orín de gato o también "catty", un descriptor muy típico para los cerveceros artesanales estadounidenses y los bebedores de cerveza artesanal, que interesantemente se connota de forma positiva. 4MMP también se conoce como un compuesto aromático importante en otros alimentos como el vino, la albahaca o el pomelo.

De los 41 compuestos de azufre identificados en el lúpulo hay algunos que aportan aromas afrutados y que desempeñan un papel principal en el aroma de las cervezas muy lupuladas (2-4). Algunos ejemplos son el 3M4MP (3-mercapto-4-metilpentan-1-ol), responsable de un aroma como el Sauvignon, el ruibarbo o el pomelo y con una concentración umbral de 70 ng / L. Este compuesto se ha encontrado en las variedades Hallertau Blanc, Nelson Sauvin, Mosaic y Amarillo. También, el 3-mercaptohexanol (3MH) con una concentración umbral de 55 ng / L es un compuesto importante en el lúpulo, responsable de los aromas tipo moscatel y pomelo (3). El compuesto de éster correspondiente del 3MH es el 3MHA (3-mercaptohexilacetato), también con una concentración umbral baja, 5 ng / L, y responsable también un aroma a pomelo, pero también un aroma a maracuyá.

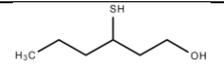
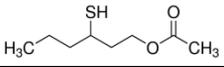
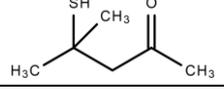
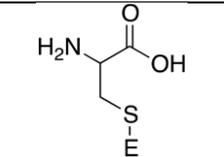
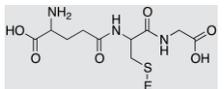
Tiol	Estructura	Descripción del aroma	Concentración umbral en ng/L
3MH		Ruibarbo, pomelo	55
3MHA		Maracuyá, pomelo	4
4MMP		Grosella negra, casis, orín de gato	1,5
Estructura del precursor	Estructura		Concentración en el lúpulo en µg/kg
Precursor de cisteína		Cisteína-3MH	129-1140
		Cisteína-4MMP	0-39
Precursor de glutatión		G-3MH	1283-19056
		G-4MMP	0-3,5

Figura 1: Tioles y sus precursores (5).

El análisis de estos compuestos es bastante difícil y hasta ahora solo se lleva a cabo en algunos laboratorios en todo el mundo. El coste para analizar el contenido de tioles en una muestra de cerveza es de hasta 1000 €. Debido a esto, hace unos 6 años comenzó la recopilación de datos de estos compuestos solo en algunas universidades e institutos de Bélgica y Francia. Se ha demostrado que las concentraciones de estos compuestos en muchas variedades de EE. UU., Australia y Nueva Zelanda son más altas que en las variedades europeas. Sin embargo, también se ha demostrado que las concentraciones finales de estos compuestos en las cervezas en las que el lúpulo se ha añadido después de la ebullición o en dry hopping no coincidían con las concentraciones presentes en los lúpulos usados, ya que estas eran demasiado altas. Debido a este descubrimiento, algunas estructuras precursoras se volvieron importantes, como por ejemplo los tioles unidos a estructuras de cisteína o glutatión, siendo la posible explicación a este fenómeno. Estos precursores ya se conocían en el zumo de maracuyá, en el pimiento y también en las cebollas (6).



El equipo de Sonia Collin (Earth and Life Institute en Louvain-la-Neuve en Bélgica) describió en 2013 la posibilidad de usar levadura con ciertas actividades enzimáticas (de beta-liasa) para liberar estos tioles de sus estructuras precursoras, tal como se conocía en la elaboración del vino. En la producción de vino también se sabe que únicamente alrededor del 10% de estos precursores se transformaron en tioles libres, pero que el 90% son utilizados por la levadura de forma diferente (6). El equipo de Sonia Collin llevó a cabo ensayos con la enzima apotriptofanasa (una enzima con actividad beta-liasa). Sin embargo, como esta enzima requiere un grupo cisteína-amino libre para "atacar", los precursores de glutatión no se degradaron ni se transformaron. Dependiendo de la variedad de lúpulo, entre un 5 y un 41% de los precursores de cisteína se transformó as 3MH libre. ¡Entre estas variedades también se analizó la variedad Saaz! La noticia no tan buena fue que con esta actividad enzimática también se liberó 3MBT (responsable del sabor a luz) en cantidades relativamente altas (y que también tiene una concentración umbral muy baja). Otros ensayos del mismo equipo revelaron que también otros compuestos del azufre, en este caso más bien desagradables, pueden ser liberados de la misma manera. Otra investigación adicional reveló la diferencia en las concentraciones de estos precursores en diferentes variedades de lúpulo (Tabla 2 y 3) y que posiblemente hay ciertos tioles como 3-mercapto pentanol cisteinilado, que podría ser un compuesto típico de la variedad Nelson Sauvín (7).

Tabla 1: Liberación de tioles en variedades de lúpulo diferentes.

Liberación de tioles de precursores de cisteína en µg/kg	olor	Saa z	Casc ade	Nelson Sauvin	Tomah awk	Amar illo	Cit ra	Hal. Blanc	Mos aic	Sorachi Ace	Hal.Cas cade	Hal. Traditio n	Herk ules	Perl e	Simc oe
3-metil-2-buten-1-tiol	café/mofeta			584	454		414		453	418					
2-mercaptoetan-1-ol						2499	25	655	985	2087					
3-mercapto-propan-1-ol	patata/palomitas de maíz		26	135	322										
4-mercapto-4-metilpentan-2-one	casis/orin de gato			598	122		0,03								0,01
3-mercapto-pentan-1-ol	casis/orin de gato			724	82	391		70		130					
3-mercaptobutilacetate	queso/cebolla				157										
3-mercaptohexan-1-ol	pomelo	316	1641	261	276	413	616	188	47	1158	142	444		455	646
3-mercaptohexyl-acetate	maracuyá/pomelo														
3-mercapto-4-methylpentan-1-ol	pomelo							39							

Liberación de tioles de precursores de glutatión en µg/kg	olor	Saa z	Casc ade	Nelson Sauvin	Tomah awk	Amar illo	Cit ra	Hal. Blanc	Mos aic	Sorachi Ace	Hal.Cas cade	Hal. Traditio n	Herk ules	Perl e	Simc oe
4-mercapto-4-methylpentan-2-one	casis/orin de gato						0,03								0,01
3-mercaptohexan-1-ol	Pomelo	20678	13498			32469	5209	23115	6634		3418	10637	5993	15467	8981
3-mercapto-4-methylpentan-1-ol	Pomelo							230							

Tioles libres en µg/kg	Mosacic	Sorachi Ace	Amarillo	Citra	Hal. Blanc	Cascade	Hal. Cascade	Hal. Tradition	Herkules	Perle	Saaz	Simcoe
4-mercapto-4-methylpentan-2-on	30	83		43,5		2,4	1	0,2	0,3	0,6	0,2	13,5
3-mercaptohexan-1-ol				15		10,5	15,8	2,3	6,3	2,1	2,2	22,5
3-mercaptohexyl-acetat	8		5	27	4	2,8	6	1,5	2,3	1,5	1	
3-mercapto-4-methylpentan-1-ol	46		25	10	109							

Tabla 2: Tioles libres en variedades de lúpulo diferentes.

Hace dos años, el mismo equipo informó sobre precursores glutatiónilados recientemente identificados en diferentes variedades de lúpulo. En el marco de esta investigación, encontraron una nueva molécula que solo pudieron encontrar en una variedad de lúpulo. Y esta fue el 3-mercapto-4-metilpentan-1-ol glutatiónilado en Hallertau Blanc. Las concentraciones de 3HM glutatiónilado demostraron ser considerablemente altas en las variedades investigadas, con un factor aproximadamente 100 veces más alto que las estructuras cisteinadas. ¡Así que toneladas de frutas parecen estar escondidas aquí (8)!

Después de años de investigación del vino, Aurelie Roland pudo demostrar en 2016 que los precursores de cisteína y glutatión del 3MH también están presentes en grandes cantidades en variedades alemanas tales como Perle, Tradition y Herkules.

Todos los datos generados hasta ahora generan muchas preguntas:

Los precursores unidos a compuestos aromáticos parecen estar presentes en todas las variedades de lúpulo en diferentes concentraciones, independientemente de la región de crecimiento. Los tioles libres están presentes en las variedades estadounidenses, neozelandesas y probablemente australianas. Si esos tioles afrutados ya están presentes en cantidades considerables en una variedad de lúpulo, esa variedad es ideal para dry hopping.

Para "romper" las estructuras precursoras, es necesaria una investigación que revele las cepas o enzimas de levadura correctas, ya que esto les daría a los cerveceros la posibilidad de acceder a sabores afrutados en todas las variedades de lúpulo. El mayor potencial parece residir en las estructuras de glutatión, debido a sus altas concentraciones. Por el contrario, sobre las estructuras de cisteína, aún no está claro qué enzimas o levaduras contienen la actividad relevante para ayudar a liberar estos tioles. Durante el proceso de elaboración de la cerveza, el momento adecuado para la realización de dry hopping podría ser después de la fermentación principal o de la fermentación en botella. En comparación con las estructuras precursoras que contienen 3MH y 3MHA, la cantidad de precursores de 4 MMP es muy baja.

Sería útil analizar los tioles libres y sus estructuras precursoras en todas las variedades de lúpulo relevantes para juzgar el potencial afrutado de estas variedades. Sin embargo, se puede suponer que una levadura muy activa podría liberar no solo tioles frutales agradables sino también desagradable como por ejemplo 3MBT o algo similar. Además, también es posible que la liberación de estos compuestos en altas concentraciones pueda conducir a un cambio en la calidad del aroma, por ejemplo de grosella negra a orín de gato o hasta sudoroso o a queso. La siguiente pregunta es cómo clasificar el impacto del tiempo de cosecha en las concentraciones de tioles libres y unidos en este contexto. Tal vez las concentraciones aumentan si la cosecha es posterior o disminuyen en una cosecha tardía.

En un artículo publicado recientemente en *Brewing Science*, Aurelie Roland propone analizar el potencial en tioles de todas las variedades de lúpulo, definido como la suma de tioles libres y unidos (4MMP, 3MH y 3MHA). Este es un enfoque muy interesante y prometedor aunque no tiene en cuenta que la interacción entre los diversos compuestos de azufre siempre conducirá a un sabor total único. Una correlación estadísticamente significativa entre compuestos aromáticos y descriptores sensoriales específicos sigue siendo una ilusión.

Otra cuestión que también ronda la mente de los cerveceros sería encontrar posibilidades tecnológicas que aseguren que el delicado aroma afrutado no se deteriore inmediatamente después de embotellar o llenar en barriles. Otro estudio del equipo de Sonia Collins pudo demostrar que durante el envejecimiento se liberó cierta cantidad de 3MH, durante envejecimiento natural y sin refermentación.

Así que, obviamente, hay suficientes preguntas que tenemos que contestar para desenmascarar las frutas del lúpulo, y al mismo tiempo, para aprender a controlarlos...

Literatura:

1. Steinhaus, M.; Schieberle, P. Transfer of the potent hop odorants linalool, geraniol and 4-methyl-4-sulfanyl-2-pentanone from hops into beer. En *European Brewery Convention, Proceedings of the 31st EBC Congress, Venecia 2007*; Fachverlag Hans Carl: Nuremberg, Alemania, 2007; 112.

2. Gros, J.; Nizet, S.; Collin, S. Occurrence of odorant polyfunctional thiols in the super alpha Tomahawk hop cultivar. Comparison with the thiol-rich Nelson Sauvin bitter variety. *J. Agric. Food Chem.* 2011, 59, 8853–8865.
3. Kishimoto, T.; Wanikawa, A.; Kono, K.; Shibata, K. Comparison of the odor-active compounds in unhopped beer and beers hopped with different hop varieties. *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 8855–8861.
4. Takoi, K.; Degueil, M.; Shinkaruk, S.; Thibon, C.; Maeda, K.; Ito, K.; Bennetau, B.; Dubourdieu, D.; Tominaga, T. Identification and characteristics of new volatile thiols derived from the hop (*Humulus lupulus* L.) cultivar Nelson Sauvin. *J. Agric. Food Chem.* 2009, 57, 2493– 2502.
5. Roland, A. A powerful analytical indicator to drive varietal thiols release in beers: “the thiols potency”. *Brewing Science.* 2017, 70, 170-175.
6. Gros, J.; Hang Tran, T. T.; Collin, S. Revue bibliographique sur les adduits cystéinés et glutathionés de la vigne en vue de leur investigation dans le houblon et la bière, *Cerevisia*, **38** (2013), no. 1, Pág. 3-14.
7. Gros, J.; Tran, T. T. H.; Collin, S. Enzymatic release of odourant polyfunctional thiols from cysteine conjugates in hop. *J. Inst. Brew.* 2013, 119, 221–227.
8. Kankolongo Cibaka, M.-L.; Decourrière, L.; Lorenzo-Alonso, C.-J.; Bodart, E.; Robiette, R.; Collin, S. 3-Sulfanyl-4-methylpentan-1-ol in Dry-Hopped Beers: First Evidence of Glutathione S-Conjugates in Hop (*Humulus lupulus* L.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 64 (2016), no. 45, Pág. 8572-8582.
9. Kankolongo Cibaka, M. L.; Gros, J.; Nizet, S.; Collin, S. Quantitation of selected terpenoids and mercaptans in the dual-purpose hop varieties Amarillo, Citra, Hallertau Blanc, Mosaic, and Sorachi Ace. *J. Agric. Food Chem.* 2015, 63, 3022–3030.