

**ACCORDO DI COLLABORAZIONE DAL TITOLO:  
“PROGETTO PER LA VALORIZZAZIONE DI NUOVE VARIETÀ  
E DI LUPPOLI AUTOCTONI”**

**REGIONE DEL VENETO  
DIREZIONE AGROALIMENTARE**

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA  
DIPARTIMENTO DI AGRONOMIA ANIMALI ALIMENTI RISORSE NATURALI E AMBIENTE (DAFNAE)**

Responsabile scientifico: Prof. Stefano Bona

Gruppo di lavoro: Dott. Luca Grigoletto, Dott. Luciano Magro, Dott.ssa Giorgia Raiomondi

<b>Titolo Progetto</b>	Valorizzazione nuove varietà e luppoli autoctoni
------------------------	--

<b>Durata mesi</b>	5 + 4 (proroga 1) + 4 (proroga 2)
--------------------	-----------------------------------

<b>Tipologia di intervento attivato</b> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Progetto dimostrativo
--

<b>Descrizione degli obiettivi del progetto</b>
---

- 1) Collezione luppoli autoctoni: Verranno collezionati e catalogati luppoli autoctoni presenti in collezioni private insistenti nel nostro territorio. Attualmente il reperimento e la conservazione di luppoli autoctoni e le fasi di incrocio di questo materiale sono a cura della passione dei singoli agricoltori, vivaisti e birrificatori. L'obiettivo primario è di valutare se fra questi materiali possa esserci qualche varietà con caratteristiche tali da essere utilizzabile per produrre la birra, da sola o insieme a varietà commerciali.
- 2) Valutazione qualitativa di accessioni estere coltivate in zona: Ci si propone di analizzare mediante idonei test chimici, i luppoli presenti in collezioni pubbliche e private per valutarne, da una parte la rispondenza ai parametri identificativi delle varietà coltivate nei territori di origine e dall'altra di analizzare gli incroci e le accessioni non ancora identificate come varietà presenti nel nostro territorio. Queste accessioni saranno conservate per fungere da base per ulteriori incroci al fine di poter gestire una selezione varietale di materiali autoctoni o quantomeno incrociati con materiale autoctono.
- 3) Dimostrazione di come avviene il processo di produzione della birra: Lo scopo principale sarà quello di avvicinare quante più persone possibile alla tecnologia di produzione della birra e allo stesso tempo far conoscere le potenzialità di luppoli non provenienti dall'estero (come avviene quasi esclusivamente adesso) nel processo di birrificazione. Tali dimostrazioni verranno effettuate presso le aziende che producono luppolo e presso strutture pubbliche e private in grado di richiamare un consistente numero di persone interessate.
- 4) Obiettivi rimodulati a seguito della pandemia COVID 19
  - a. Completamento del luppoletto didattico/dimostrativo con impianto di irrigazione automatico
  - b. Modifica delle iniziative di divulgazione con una serie di filmati realizzati presso il luppoletto stesso e usufruibili in un appropriato canale youtube. Questo in ragione del fatto che presumibilmente per alcuni mesi saranno ancora bloccate le iniziative che possano vedere assembramenti di persone (come inizialmente previsto dal progetto) quali le visite tecniche con agricoltori al luppoletto

## Valutazione qualitativa di accessioni estere coltivate in zona

### Componenti chimici nei coni di luppolo

I componenti principali presenti nei coni di luppolo sono elencati nella Tabella 1 (Kishimoto, 2008).

**Tabella 1** – Principali costituenti dei coni di luppolo

Major components	Concentration (% w/w)
Cellulose-lignins	40.0 – 50.0
Proteins	15
$\alpha$ -acids	2.0 – 17.0
$\beta$ -acids	2.0 – 10.0
Water	8.0 – 12.0
Minerals	8
Polyphenols and tannins	3.0 – 6.0
Lipids and fatty acids	1.0 – 5.0
Hop oil	0.5 – 3.0
Monosaccharides	2
Pectins	2
Aminoacids	0.1

### Gli acidi del luppolo

Le resine del luppolo comprendono resine dure (inclusi xantumolo, iso-xantumolo e flavone, non solubili in solventi idrocarburici) e resine morbide (chiamate anche "acidi del luppolo" e solubili in solventi idrocarburici). Oggi, la determinazione analitica più importante per la valutazione del luppolo è l'analisi quantitativa degli  $\alpha$ -acidi (Verzele e De Keukeleire, 2013). Infatti, mentre per molto tempo la qualità del luppolo è stata valutata in base al colore e all'aroma, gradualmente gli  $\alpha$ -acidi sono stati sempre più utilizzati come criterio di qualità. Gli acidi del luppolo sono composti da  $\alpha$ -acidi e  $\beta$ -acidi, che sono sintetizzati da acilfloroglucinolo prenilato (Briggs et al., 2004). Gli  $\alpha$ -acidi sono divisi in cinque isomeri tra cui humulone, cohumulone, adhumulone, prehumulone e posthumulone, mentre i  $\beta$ -acidi sono suddivisi in lupulone, colupulone, adlupulone,

prelupulone e postlupulone (Tabella 3) (Briggs et al., 2004). Nella birra vengono aggiunti da 100 a 800 g di coni di luppolo per ettolitro, a seconda della densità del mosto, della varietà di luppolo e del suo contenuto di acidi  $\alpha$  (Verzele e De Keukeleire, 2013). Spesso, durante le fasi iniziali del processo bollitura del mosto vengono aggiunti coni ad alti livelli di  $\alpha$ -acidi, mentre i cosiddetti luppoli "nobili" o "aromatici" vengono aggiunti solo 15-30 minuti prima della fine dell'ebollizione del mosto (Briggs et al., 2004). Nella birrificazione convenzionale, il luppolo viene fatto bollire con mosto, in questo modo gli acidi del luppolo vengono isomerizzati in iso- $\alpha$ -acidi, componenti solubili che rappresentano i principali componenti amari della birra. Lo scopo è infatti quello di ottenere l'amaro ottimale mediante l'aggiunta di luppolo nelle prime fasi dell'ebollizione del mosto e di ottenere un apporto aromatico desiderabile dei luppoli aromatici più costosi mediante riduzione del tempo durante il quale gli oli essenziali vengono ad evaporare dal mosto in ebollizione (Verzele e De Keukeleire, 2013). Infatti, durante l'ebollizione i costituenti dell'olio essenziale dei luppoli da amaro vengono vaporizzati, quindi i birrai solitamente aggiungono luppoli "da aroma" alla fine dell'ebollizione per sostituire questa perdita. L'amaro della birra può essere ottenuto anche utilizzando estratti di luppolo preisomerizzati; dove gli  $\alpha$ -acidi sono già stati isomerizzati in iso- $\alpha$ -acidi (Verzele e De Keukeleire, 2013).

$\alpha$ -acids						$\beta$ -acids		
Acyl side chain (R)	Name	Formula	m.p. (°C)	$[\alpha]_D^{24}$	pKa	Name	Formula	m.p. (°C)
a -CO.CH <sub>2</sub> .CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> isovaleryl	Humulone	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	64.5°	-211°	5.5	Lupulone	C <sub>26</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	92°
b -CO.CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> isobutyryl	Cohumulone	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>5</sub>	oil	-208.5°	4.7	Colupulone	C <sub>25</sub> H <sub>36</sub> O <sub>4</sub>	93-94°
c -CO.CH(CH <sub>3</sub> ).CH <sub>2</sub> .CH <sub>3</sub> 2-methylbutyryl	Adhumulone	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>5</sub>	oil	-187°	5.7	Adhupulone	C <sub>26</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	82-83°
d -CO.CH <sub>2</sub> .CH <sub>3</sub> propionyl	Posthumulone <sup>a</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>5</sub>	oil	-	-	- <sup>d</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	101°
e -CO.CH <sub>2</sub> .CH <sub>2</sub> .CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 4-methylpentanoyl	Prehumulone <sup>b</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>	oil	-172°	-	- <sup>e</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>	91°
f -CO.(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> .CH <sub>3</sub> hexanoyl	Adprehumulone <sup>c</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>	-	-	-	- <sup>e</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>	90°
g -CO.CH <sub>2</sub> .CH <sub>2</sub> .CH(CH <sub>3</sub> ).CH <sub>2</sub> .CH <sub>3</sub> 4-methylhexanoyl	-	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>	-	-	-	-	C <sub>28</sub> H <sub>42</sub> O <sub>4</sub>	91°

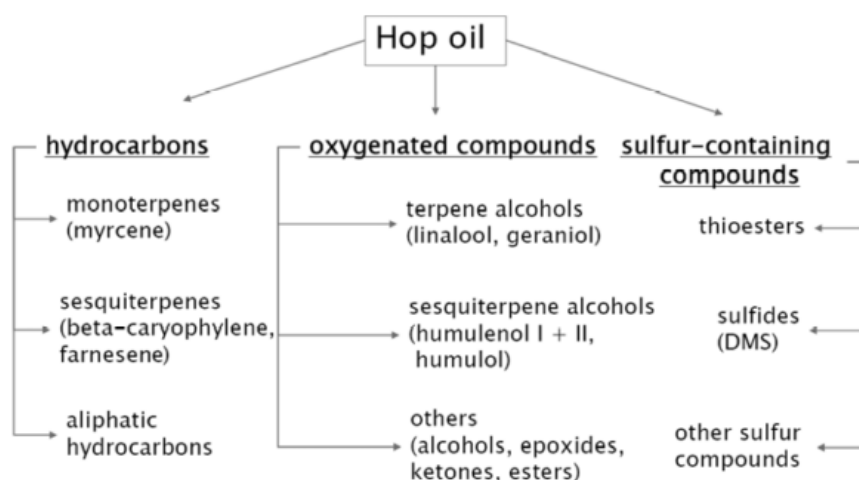
Tabella 2 – principali componenti degli acidi del luppolo

## Olio essenziale del luppolo

La composizione dell'olio essenziale dipende da fattori genetici (cultivar) e colturali. Per definizione, gli oli essenziali sono volatili se sottoposti ad un flusso di vapore, quindi la maggior parte dell'olio essenziale viene persa durante la bollitura. Per aggiungere l'aroma di luppolo alla birra, il luppolo può essere aggiunto alla birra alla fine dell'ebollizione (late hopping) o nelle vasche di condizionamento per introdurre un aroma di luppolo particolarmente forte (un processo noto come dry hopping). Il luppolo utilizzato per il late e il dry hopping viene scelto per l'aroma idoneo, che può essere trasferito direttamente alla birra e i birrai sono generalmente disposti a pagare un prezzo maggiore per tale scelta di luppoli "aroma" (Briggs et al., 2004).

Il luppolo secco contiene circa lo 0,5–3% di olio essenziale (vedere la Tabella 1).

La figura 1 mostra la classificazione dei componenti dell'olio di luppolo secondo Schönberger e Kostelecky (2011). L'olio essenziale di luppolo è composto tipicamente per il 90% da terpenoidi, dominato dal monoterpene  $\beta$ -mircene e dai sesquiterpeni  $\alpha$ -umulene e  $\beta$ -cariofillene, ma sono stati identificati oltre 300 diversi composti volatili (Eri et al., 2000). Man mano che il luppolo matura in pianta, si formano prima tracce di composti ossigenati dell'olio essenziale, poi cariofillene e umulene e infine si forma il mircene (Briggs et al., 2004). Probabilmente il primo componente ossigenato dell'olio di luppolo ad essere caratterizzato è stato il 2-undecanone, che ora è noto per essere accompagnato da altri metilchetoni. Le differenze nelle proprietà aromatiche tra le varietà di luppolo possono essere attribuite a variazioni nella composizione dei loro oli essenziali. Tuttavia, non tutti gli odori a impatto sul carattere nell'olio essenziale di luppolo sono stati identificati e l'aroma del luppolo nella birra non è ancora completamente caratterizzato. Infatti, un recente lavoro che utilizza GC  $\times$  GC con rilevamento a ionizzazione di fiamma ha suggerito che potrebbero esserci più di 1000 composti nell'olio di luppolo tra cui aldeidi, chetoni, esteri, alcoli, acidi, composti eterociclici dell'ossigeno e composti contenenti zolfo (Eyres et al., 2007).



**Figura 1** – Composizione per classi di molecole nell'olio essenziale di luppolo (Schönberger and Kostelecky, 2011)

### Analisi dell'aroma del luppolo

I primi composti aromatici dell'olio di luppolo furono determinati alla fine del XX secolo (Fukuoka e Kowaka, 1983). Da allora, diversi studi si sono concentrati sui profili chimici del luppolo (Eri et al., 2000; Nance e Setzer, 2011; Vázquez-Araújo et al., 2013) e sui loro composti odorogeni (Steinhaus e Schieberle, 2000; et al., 2007; Steinhaus et al., 2007; Van Opstaele et al., 2012a; Kankolongo Cibaka et al., 2015) e sono state adottate diverse tecniche biochimiche per la loro caratterizzazione. I metodi più comuni utilizzati per isolare gli oli essenziali dal luppolo sono basati sulla distillazione sotto vuoto o in corrente di vapore (Kovačević e Kač, 2001; Hanke et al., 2008), estrazione con solvente (Perpete et al., 1998; Leonardi et al., 2013), estrazione con anidride carbonica (Van Opstaele et al., 2012b; Van Opstaele et al., 2013), desorbimento termico diretto (DTD) (Eri et al., 2000) e microestrazione in fase solida dello spazio di testa (HS-SPME) (Gonçalves et al., 2012; Van Opstaele et al., 2012a). L'apparecchio SPME è costituito da una fibra di silice fusa rivestita con una fase organica adsorbente. La fibra SPME è esposta allo spazio di testa del campione (HS-SPME) o direttamente in un campione acquoso e concentra i componenti volatili mediante adsorbimento e / o assorbimento. Quindi, la fibra rilascia il materiale estratto nella porta di iniezione riscaldata del gascromatografo (GC) dove i

composti volatili vengono desorbiti dalla fibra e trasferiti alla colonna GC per la separazione. La gascromatografia (GC) e la spettrometria di massa (MS) vengono generalmente applicate per l'identificazione e la quantificazione dei componenti dell'olio essenziale di luppolo. La gascromatografia bidimensionale completa (GC × GC) consiste di due colonne con diverse fasi stazionarie che creano una separazione bidimensionale basata su due diverse proprietà della colonna. Utilizzando GC × GC, due composti con punti di ebollizione simili che coeluiscono sulla prima colonna possono essere divisi per la seconda colonna se hanno una polarità diversa.

Nonostante le sue ampie applicazioni, un rivelatore GC non fornisce informazioni sull'attività dell'odore di ciascuna molecola e non c'è sempre una forte correlazione positiva tra l'area del picco e l'intensità dell'odore (Eyres et al., 2007). Uno strumento prezioso per identificare gli odoranti a impatto sul carattere è la gascromatografia-olfattometria (GC-O), in cui vengono utilizzati valutatori umani per rilevare e caratterizzare i composti volatili mentre eluiscono da una colonna in seguito a una separazione GC (Delahunty et al., 2006) ( Figura 2).

Studi precedenti hanno utilizzato la tecnica GC-O per identificare i componenti chiave del luppolo per definire le caratteristiche dell'aroma del luppolo e in letteratura è stato proposto un numero relativamente elevato di composti a impatto caratteriale. Le impressioni organolettiche derivate dagli oli essenziali di luppolo sono descritte principalmente in termini di aromi floreali, agrumati, speziati o erbacei. Come menzionato da Schönberger e Kostelecky (Schönberger e Kostelecky, 2011), le note verdi ed erbose sono dovute ad aldeidi (Kishimoto et al., 2006), impressioni floreali e fruttate derivate da linalolo, geraniolo,  $\beta$ -ionone, citronellolo e una varietà di chetoni, epossidi ed esteri (Marriott, 2001; Kishimoto et al., 2006; Van Opstaele et al., 2006) e aromi speziati / erbacei possono essere attribuiti ai sesquiterpeni ossidati (Goiris et al., 2002; Eyres et al., 2007). Alcuni composti solforati derivati dal luppolo possono anche svolgere un ruolo importante nel sapore di particolari varietà di luppolo (Kankolongo Cibaka et al., 2015). Recentemente, nella determinazione dell'odore è stato riportato l'uso di tecniche GC-olfattometriche (GC-O), come l'analisi della diluizione dell'estratto di aroma (AEDA) (Steinhaus et al., 2007) e l'analisi del fascino in combinazione con l'analisi quantitativa componenti attivi (Kishimoto et al., 2006). L'AEDA misura le soglie degli odori, mentre

Charm Analysis registra la durata degli odori, genera picchi cromatografici proporzionali alla quantità di composto nell'estratto e inversamente proporzionali alla soglia di rilevamento degli odori (Delahunty et al., 2006). Queste tecniche sono quindi utilizzate per determinare i componenti chiave relativi a ciascuna impressione sensoriale (Steinhaus e Schieberle, 2000), ma i sapori di luppolo e birra sono l'effetto di composti coesistenti (Inui et al., 2013). Per questo motivo, anche la combinazione di GC o GC-MS e Quantitative Descriptive Analysis (QDA) potrebbe essere efficace nel determinare i composti chiave dell'aroma del luppolo (Kishimoto et al., 2006; Inui et al., 2013).

### **Cultivar di luppolo**

Il luppolo viene coltivato come coltura commerciale per l'industria della birra in molti paesi e ci sono centinaia di varietà disponibili. Le cultivar di luppolo sono tradizionalmente classificate in tre gruppi: luppolo aromatico, luppolo ad alto amaro e luppolo amaro intermedio, a seconda della concentrazione di acidi del luppolo. Al genere *Humulus* appartengono tre specie che sono: *H. lupulus*, *H. japonicas* e *H. yunnanensis* (Neve, 1991). *H. lupulus* ha una distribuzione nativa tra 35 ° e 70 ° N di latitudine (McAdam et al., 2014) ed è coltivato principalmente nell'emisfero settentrionale (tra 35 ° e 55 ° N), ma anche nell'emisfero meridionale in Australia, Nuova Zelanda e Sud Africa (Tabella 3) (Briggs et al., 2004). Le maggiori aree di coltivazione del luppolo sono situate nel sud-est e nel centro-ovest dell'Inghilterra, i distretti di Saaz e Auscha della Cecoslovacchia, la regione dell'Hallertau della Germania, le parti slovene della Jugoslavia e negli stati di Washington, Oregon e California nel USA (Verzele e De Keukeleire, 2013). La coltivazione del luppolo è invece poco diffusa in Italia, ad eccezione di poche piccole aziende agricole dove però il luppolo non è l'unica fonte di guadagno. Molte cultivar di luppolo sono di origine genetica europea o sono ibridi tra il germoplasma europeo e quello nordamericano (McAdam et al., 2014).

Le caratteristiche di alcune varietà di luppolo commerciali sono raccolte nella Tabella 4.



**Tabella 3** – Regioni tipiche di coltivazione e cultivar corrispondenti (*Humulus lupulus* L.) (Barth-Haas 2015; Hopunion 2015; Briggs et al., 2004)

Australia	Ella™, Enigma™, Galaxy™, Summer™, Super Pride, Sylva, Topaz™
China	Marco Polo, Tsingtao Flower
Czech Republic	Agnus, Bohemie, Bor, Harmonie, Kazbek, Premiant, Rubin, Saaz, Saaz Late, Sládek, Vital
France	Aramis, Strisselspalt, Triskel
Germany	Hallertau Blanc, Hallertau Magnum, Hallertau Mittelfrüh, Hallertau Perle, Hallertau Taurus, Hallertau Tradition, Herkules, Hersbrucker, Hüll Melon, Mandarinina Bavaria, Monroe, Opal, Polaris, Relax, Saphir, Smaragd, Spalt Spalter, Spalter Select, Tettninger
Japan	Sorachi Ace
Poland	lunga, Limbus, Lomik, Lublin, Magnat, Marynka, Oktawia, Pulawski, Sybilla, Zbyszko, Zula
Slovenia	Aurora, Extra Styrian Dana, Styrian Gold, Styrian Golding (Bobek, Celeia), Styrian Savinjski Golding
South Africa	Southern Dawn, Southern Promise, Southern Star
UK	Admiral, Boadicea, Bramling Cross, Brewers Gold, East Kent Golding, Endeavour, First Gold, Fuggles, Northern Brewer, Pilgrim, Progress, Sovereign, Whitbread Golding, Wye Challenger, Wye Northdown, Wye Target, Yeoman
Ukraine	National
USA	Ahtanum, Amarillo®, Apollo, Azacca™, Bravo, Cascade, Cashmere, Centennial, Chelan, Chinook, Citra®, Cluster, Columbus, Comet, Crystal, CTZ, Equinox, Galena, Glacier, Millennium, Mosaic®, Mount Hood, Nugget, Palisade, Simcoe®, Summit®, Super Galena, Tahoma, Tomahawk, Triple Pearl, Ultra, Vanguard, Warrior®, Willamette, Yakima Gold, Zeus
New Zealand	Riwaka

**Tabella 4** – Caratteristiche delle differenti varietà di luppolo (Barth-Haas 2015; Hopunion 2015; Briggs et al., 2004)

Cultivar	Type	$\alpha$ -acids (%)	$\beta$ -acids (%)	Oil (ml/100g)	Myrcene (%)	Humulene (%)	Caryophyllene (%)	Odour/aroma description
Brewers Gold	Dual Purpose	4.5-6.5	2.5-3.5	0.8-1.8	40-50	29-31	7-7.5	Spicy, fruity characteristics
Cascade	Aroma	4.5-7.0	4.8-7.0	0.7-1.4	45-60	10-16	3-6	Floral, citrus and grapefruit tones
Centennial	Aroma	9.5-11.5	3.4-4.5	1.5-2.5	45-55	10-18	4-8	Floral and lemon tones
Chinook	High Alpha	12.0-14.0	3.0-4.0	1.7-2.7	35-40	20-25	9-11	Spice and pine characteristics with grapefruit notes
Citra®	Aroma	11.0-13.0	3.5-4.5	2.2-2.8	60-65	11-13	6-8	Strong citrus and tropical tones
Columbus	High Alpha	15.0-17.0	4.5-5.0	2.5-3.5	50-60	12-18	9-11	Pungent, black pepper, liquorice, citrus tones
Fuggle	Aroma	3.0-5.6	2.0-3.0	0.7-1.4	24-28	30-38	13-13.5	Mint, grass and floral tones
H. Magnum	High Alpha	11.0-16.0	5.0-7.0	1.6-2.6	30-45	35-40	8-12	Mild flavour and low aromatic characteristics
H. Mittelfrüh	Aroma	3.0-5.5	3.0-5.0	0.7-1.3	20-28	50-55	15-17	Spicy, with floral and citrus tones
Hallertau Perle	Aroma	4.0-9.0	2.5-4.5	0.5-1.5	20-35	28-33	10-12	Spicy with herbal and floral characteristics
Mount Hood	Aroma	4.0-7.0	5.0-8.0	1.2-1.7	30-40	30-38	13-16	Herbal and pungent or spicy
Northern Brewer	Dual Purpose	8.0-10.0	3.0-5.0	1.5-2.0	50-60	20-30	5-10	Pine and mint characteristics
Nugget	High Alpha	11.5-14.0	3.0-5.0	0.9-1.3	27-42	16-19	7-9	Spicy, herbal tones
Riwaka	Aroma	4.5-6.5	4.0-5.5	1.4-1.6	60-68	9-10	3.5-4	Grapefruit and citrusy characters
Saaz	Aroma	3.0-6.0	4.5-8.0	0.4-1.0	25-40	35-40	9-11	Spice and earth tones
Hersbrucker Spät	Aroma	2.5-5.5	3.0-5.0	0.5-0.9	20-35	20-30	8-13	Herbal, with spicy, floral and fruit tones
Sterling	Aroma	6.0-9.0	4.0-6.0	1.3-1.9	44-48	19-23	5-7	Herbal and spicy, with floral and citrus notes
Willamette	Aroma	4.0-6.0	3.5-4.5	1.0-1.5	30-40	20-27	6-8	Spicy and floral tones
Wye Challenger	Dual Purpose	6.5-8.5	2.5-4.3	1.0-1.5	28-32	20-25	9-9.5	Green tea and floral characteristics
Wye Northdown	Dual Purpose	7.0-10.0	4.0-5.0	1.2-2.2	20-25	35-37	15-17	Spice and pine characteristics with floral tones
Yeoman	Dual Purpose	12.0-16.0	4.0-5.0	1.7-2.4	45-48	20-25	7-10	Mild flavour and low aromatic characteristics

Le cultivar di luppolo differiscono fortemente nei profili dei loro metaboliti secondari, in termini di presenza, quantità e proporzioni relative. Per questo motivo, diverse cultivar di luppolo sono caratterizzate da diversi livelli di amaro e una varietà di sapori e aromi (McAdam et al., 2014). Le proprietà degli aromi hanno una grande importanza per il birraio, che può beneficiare di particolari varietà di luppolo per aggiungere gusti e sapori alla birra. Lo sviluppo di nuove cultivar di colture sta diventando molto più importante per gli allevatori che possono scegliere tra molti potenziali criteri di selezione (es. Resa per ettaro, idoneità agronomica o qualità della birra e caratteristiche chimiche) (McAdam et al., 2014). I metodi basati sull'analisi del DNA si basano unicamente sul genotipo dallo stadio di sviluppo della pianta al quale è avvenuto il prelievo, dalle condizioni ambientali o della presenza o meno di malattie (Briggs E. Dennis, Boulton A. Chris, Brookes A. Peter, 2004), tuttavia, apportando miglioramenti genetici a questi criteri è complesso in quanto molti dei tratti rilevanti per loro sono caratteri quantitativi, probabilmente controllati da un gran numero di geni (McAdam et al., 2014). La selezione dei genitori per l'allevamento del luppolo dipende oggi principalmente dalle caratteristiche agronomiche e chimiche (Field et al., 1996). L'industria della birra fa affidamento in larga misura sulle caratteristiche morfologiche e organolettiche per la valutazione e l'identificazione delle varietà di luppolo (De Cooman et al., 1998). Diversi tipi di metaboliti secondari del luppolo sono stati utilizzati per scopi di identificazione, principalmente componenti volatili dell'olio essenziale (Likens e Nickerson, 1967; Peacock e McCarty, 1992; De Cooman et al., 1998; Perpete et al., 1998; Kovačević e Kač, 2001; Lermusieau e Collin, 2001; Kovačević e Kač, 2002; Shellie et al., 2009). Anche i polifenoli del luppolo, compresi i flavonoidi, sono stati impiegati per stabilire una procedura di identificazione chimica (De Cooman et al., 1998). Nonostante ciò, non esistono studi scientifici che analizzino il profilo volatile di un elevato numero di cultivar di luppolo o valutino molecole chiave per la caratterizzazione varietale tenendo in considerazione la loro variabilità tra le diverse annate di coltivazione. Tuttavia, analizzare insieme un numero elevato di varietà di luppolo ci consente di identificare chiaramente le molecole che possono essere utilizzate come marker varietali e di evidenziare le correlazioni tra molecole volatili o tra volatili e caratteristiche sensoriali del luppolo. Il luppolo ha un impatto determinante sulle proprietà aromatiche della birra, sebbene rappresenti solo un ingrediente minore nella produzione della birra. Il numero di

microbirrifici italiani è in aumento e la maggior parte di essi si trova nel Nord Italia, nonostante ciò, la coltivazione del luppolo è oggi poco diffusa in Italia. Per questi motivi dovrebbe essere interessante determinare la qualità ottenibile del luppolo coltivato nel Nord Italia e la sua variabilità tra le diverse annate di coltivazione. In effetti, i ricercatori cercano di identificare le varietà di luppolo anche sulla base della presenza e della quantità di componenti chiave dell'olio essenziale, ma il metodo analitico deve essere affidabile e riproducibile. Il modello climatico è generalmente considerato un importante fattore di biosintesi delle resine del luppolo e un importante fattore che influenza la resa del luppolo (Mozny et al., 2009) ma ancora pochi articoli si sono concentrati sulla variazione della composizione chimica del luppolo rispetto all'anno di coltivazione. Nella maggior parte dei casi gli autori si sono concentrati sull'effetto delle condizioni climatologiche sulla formazione di  $\alpha$ -acidi e  $\beta$ -acidi (De Keukeleire et al., 2003; Krofta et al., 2007; Kučera e Krofta, 2010) ma pochissimi articoli si sono concentrati sulla variazione della composizione volatile del luppolo rispetto ai diversi anni di coltivazione (Kralj et al., 1991; Hanke et al., 2008). Per sezionare le differenze qualitative e quantitative tra i luppoli commerciali e per far luce sull'effetto della stagione di crescita su quei parametri, per le analisi sono state utilizzate sedici varietà coltivate in ambiente Veneto. I coni di luppolo sono stati raccolti a maturazione commerciale e sottoposti a valutazione chimica (acidi del luppolo e componenti volatili).

## **Materiali e metodi**

### **Prodotti chimici e reagenti**

Il contenuto di acidi amari è stato determinato utilizzando l'estratto di calibrazione internazionale ICE-3 (Labor Veritas Co., Zurigo, Svizzera). I composti volatili sono stati determinati utilizzando composti di riferimento da Sigma-Aldrich (Milano, Italia). I composti di riferimento erano di gradi analitici:  $\alpha$ -umulene ( $\geq 96\%$ ),  $\alpha$ -pinene ( $\geq 98\%$ ),  $\alpha$ -terpinene ( $\geq 95\%$ ),  $\alpha$ -terpineolo ( $\geq 90\%$ ),  $\beta$ -cariofillene ( $\geq 98,5\%$ ),  $\beta$ -mircene ( $\geq 95\%$ ),  $\beta$ -ocimene ( $\geq 90\%$ ),  $\beta$ -pinene ( $\geq 99\%$ ),  $\alpha$ ,  $\beta$ -tujone ( $\geq 80\%$ ), 2 undecanone ( $\geq 99,0\%$ ), 2 -metilbutil isobutirato ( $\geq 98,0\%$ ), canfora ( $\geq 97\%$ ), carvacrolo ( $\geq 98\%$ ), ossido di cariofillene ( $\geq 99\%$ ),  $p$ -cimene ( $\geq 99,5\%$ ), eugenolo ( $\geq 98\%$ ), geraniolo ( $\geq 99\%$ ), limonene ( $\geq 99\%$ ), linalolo ( $\geq 99\%$ ), linalil acetato ( $\geq 97\%$ ), metil nonanoato ( $\geq 99,8\%$ ), nerolo ( $\geq 97\%$ ), nonanale ( $\geq 95,0\%$ ),  $\gamma$ -

terpinene ( $\geq 98,5\%$ ), trans- $\beta$ -farnesene ( $\geq 90\%$ ). N-esano è stato ottenuto da CarloErba Reagents (Milano, Italia).

### **Campioni di luppolo**

Sedici varietà commerciali di luppolo (Brewers Gold, Cascade, Centennial, Challenger, Chinook, Columbus, Fuggle, Magnum, Hallertau Mittelfrüh, Hersbrucker Spät, Mount Hood, North Down, Northern Brewer, Sterling, Willamette e Yeoman) sono state coltivate in ambiente Veneto. Per l'esperimento sono state utilizzate piante di età diversa. I coni di luppolo sono stati essiccati all'aria a temperatura ambiente, pressati, confezionati sotto vuoto e conservati a  $-18^{\circ}\text{C}$ . Si è deciso di studiare luppolo aromatico (8 varietà), luppolo a duplice attitudine (5 varietà) e luppolo amaro (3 varietà). Le varietà selezionate differiscono anche per origine: Germania (3 varietà), Regno Unito (6 varietà) e USA (7 varietà).

Le resine del luppolo sono state analizzate con il metodo HPLC secondo il metodo EBC 7.7. I coni di luppolo sono stati macinati e 2 g di campione macinato sono stati posti in un pallone da 50 mL e sono stati aggiunti metanolo (4 mL), etere dietilico (20 mL) e HCL 0,1 M (8 mL). La miscela è stata agitata intensamente per 40 min e dopo la separazione di fase, 1 mL della fase surnatante è stato raccolto e aggiunto a 10 mL di metanolo, agitato, filtrato utilizzando un microfiltro da  $0,45\ \mu\text{m}$  e iniettato nel sistema HPLC. Gli acidi del luppolo sono stati separati e quantificati mediante HPLC (modello X-LC, Jasco, Giappone). L'apparato di cromatografia liquida consisteva in un rivelatore a serie di diodi MD-2015, un autocampionatore AS-2055 e il software di cromatografia Chrom-NAV è stato utilizzato per l'analisi dei dati cromatografici. La separazione dei composti è stata ottenuta su un Tracer Extrasil ODS2 (5 mm, 250 mm, Teknokroma, Spagna) operante a  $40^{\circ}\text{C}$ . La fase mobile era costituita da una miscela di metanolo / acqua / acido fosforico (775: 210: 9 v / v / v) e la velocità di flusso era di  $1\ \text{mL min}^{-1}$ . Per il rilevamento è stata utilizzata la lunghezza d'onda di 314 nm. I composti sono stati identificati sulla base dell'estratto di calibrazione internazionale ICE-3 e il contenuto di acidi del luppolo è stato espresso come percentuale (w / w d.w.).

## Analisi delle molecole volatili

I coni di luppolo sono stati immersi in n-esano (8: 1 [v / w], da esano a materiale vegetale) contenente toluene come standard interno e gli estratti sono stati conservati a  $-4^{\circ}\text{C}$  per 3 mesi (Wang et al., 2008). Dopo la filtrazione, l'estratto esano chiaro di diverse cultivar di luppolo è stato trasferito in fiale e i componenti volatili sono stati separati mediante gascromatografia (GCxGC-FID). L'analisi gascromatografica è stata eseguita in triplicato iniettando  $1,4\ \mu\text{l}$  di campione in modalità split (rapporto di divisione = 1: 200) in un gascromatografo Agilent 7890A (Agilent Technologies) dotato di un modulatore CFT Agilent G3486A, (Wilmington, DE, USA) e un rilevatore a ionizzazione di fiamma. Le molecole sono state separate da colonne non polari e polari; la colonna polare era una Agilent 19091N-113 HP-INNOWax (5 m X 250  $\mu\text{m}$ , 0,15  $\mu\text{m}$ ). mentre la colonna non polare era una Varian CP5860 CP-SIL 8 CB LOW BLEED / MS (30 m X 250  $\mu\text{m}$ , spessore del film 0,25  $\mu\text{m}$ ). Il gas di trasporto era idrogeno ad una velocità di flusso di 0,6 ml min<sup>-1</sup> per la prima colonna e 25 ml min<sup>-1</sup> per la seconda colonna. L'analisi è stata eseguita utilizzando il seguente programma di temperatura: temperatura del forno isoterma a  $60^{\circ}\text{C}$  per 1 min, da  $60$  a  $250^{\circ}\text{C}$  alla velocità di  $4^{\circ}\text{C min}^{-1}$  e isoterma a  $250^{\circ}\text{C}$  per 4 min. L'iniettore Split-Splitless e il FID sono stati mantenuti a  $250^{\circ}\text{C}$ . L'analisi è stata eseguita in tre repliche per ciascun campione e sono stati determinati il volume di picco e la percentuale relativa delle molecole volatili in base all'area totale di ciascun campione. I dati sono stati valutati utilizzando la versione del software GC Image 2.2b0 (Zoex, Houston) e le molecole sono state identificate da composti di riferimento autentici. A titolo di esempio, la Figura 2 mostra il cromatogramma GCXGC dell'estratto di esano di luppolo cv. Columbus.

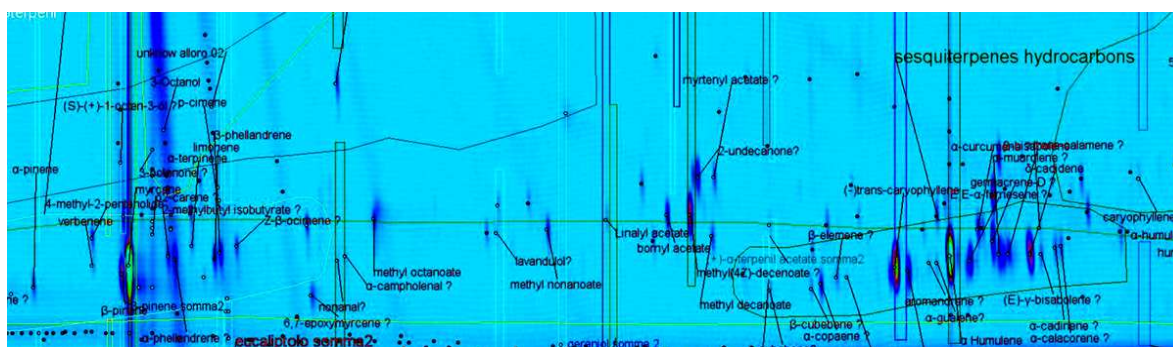


Figura 2 – Profilo di una varietà di luppolo nel GCxGC-FID

## RISULTATI

Il contenuto di  $\alpha$ -acidi varia dal 15% in Hallertau Magnum e Yeoman all'1,3% di Hersbrucker Spät, mentre il contenuto di  $\beta$ -acidi varia dall'8,90% in Sterlyng all'1,50% in Hersbrucker Spät. Le concentrazioni di acidi  $\alpha$  e  $\beta$  differiscono ampiamente a seconda delle stagioni di crescita, con la maggior parte delle varietà che ha valori più alti nel 2020 rispetto al 2019. Tuttavia, tra le sedici varietà, il contenuto di acidi del luppolo di Chinook, Columbus, Hallertau Mittelfrüh, Mount Hood e Willamette non hanno mostrato differenze significative tra gli anni di coltivazione e solo Sterlyng è risultato più ricco di acidi  $\alpha$  e  $\beta$  nel 2019 rispetto al 2020.

Sono stati anche determinati i contenuti di cohumulone, adhumulone + humulene, colupulone e adlupulone + lupulone e il confronto tra le concentrazioni di acido  $\alpha$  e  $\beta$  dei nostri campioni e le concentrazioni riportate dalla letteratura per le varietà selezionate è riportato nella Tabella 5. I livelli di  $\alpha$ -acidi del luppolo coltivato in Veneto e il loro rapporto  $\alpha$  /  $\beta$ -acidi erano generalmente simili a quelli riportati in letteratura. Infatti, le cultivar Why Challenger, Mount Hood, Northern Brewer e Willamette erano le uniche cultivar che esprimevano livelli più bassi di  $\alpha$ -acidi rispetto a quelli riportati dalla letteratura.

**Tabella 5** – Livello di  $\alpha$ -acidi e rapporto di  $\alpha/\beta$ -acids nel 2019 e 2020 comparato con quelli riferiti nella letteratura \*(Barth-Haas, 2015), \*\*(Briggs et al., 2004)

Variety	$\alpha$ -acids (w/w d.w)			$\alpha/\beta$ ratio		
	2019	2020	literature range	2019	2020	literature range
BREW.GOLD	6.44	8.01	4.5 - 6.5 *	1.63	1.42	1.9 *
CASC	4.23	5.50	4.5 - 7.0 **	1.02	0.88	1.0 **
CENT	6.50	9.34	9.5 - 11.5 *	2.40	3.18	2.65 *
CHALL	1.85	4.70	6.5 - 8.5 **	0.76	0.89	1.8 **
CHIN	12.75	11.58	12.0 - 14.0 **	4.21	3.42	3.9 **
COL	12.82	15.86	15.0 – 17.0 **	2.74	2.53	3.1 **
FUGG	2.69	4.46	3.0 - 5.6 **	0.59	0.60	1.5 - 2.2 **
H.MAGN	9.90	15.03	11.0 - 16.0 **	1.97	2.16	2.6 **
H.MITT	2.52	3.04	3.0 - 5.5 **	0.73	0.71	1.0 **
HERS.SP	1.30	3.39	2.5 - 5.5 **	0.85	0.68	0.9 **
MT.HOOD	3.80	3.69	4.0 - 7.0 *	0.61	0.54	1.1 *
N.DOWN	7.11	4.75	7.0 – 10.0 **	2.17	0.97	1.5 - 2.2 **
N.BREW	4.42	6.06	8.0 - 10.0 **	1.93	1.57	2.0 **
STER	13.09	7.99	6.0 - 9.0 **	1.47	1.16	1.5 **
WILL	2.77	1.72	4.0 - 6.0 *	0.86	0.41	1.6 *
YEOM	9.50	15.10	12.0 - 16.0 *	2.76	2.84	3.1 *

### La variabilità delle molecole volatili del luppolo

Il profilo volatile delle varietà di luppolo selezionate espresso in% / volume totale per le annate di coltivazione 2019 e 2020 è riportato nella Tabella Supplementare S4. Sono stati rilevati un totale di 29 composti volatili principali, tra cui sono stati identificati 18 monoterpeni e monoterpenoidi, 5 esteri, 4 sesquiterpeni, 1 chetone e 1 aldeide. Come previsto, sono stati osservati livelli elevati in tutte le varietà per il monoterpene  $\beta$ -mircene e i sesquiterpeni  $\alpha$ -umulene e  $\beta$ -cariofillene. La visualizzazione dei dati in percentuale rispetto al volume totale di volatili è sicuramente utile per confrontare i profili volatili delle varietà di luppolo. Nonostante ciò, mostrare i dati come volumi di picco delle molecole

(Tabella Supplementare S5) ci permette di determinare la quantità di ogni componente indipendentemente dalla quantità totale di olio di luppolo prodotta da ogni singola varietà e ci aiuta a stabilire connessioni tra concentrazione di molecole volatili e parametri sensoriali.

### **Valutazione chimica del profilo volatile del luppolo**

Per stabilire se la composizione dell'olio di luppolo è sufficientemente costante da servire come base affidabile per un sistema di identificazione varietale, la matrice di dati del contenuto di molecole volatili è stata preelaborata mediante auto-scaling e sottoposta a Principal Component Analysis (PCA) per il 2019 (Fig. . 3A) e 2020 (Fig. 3B) separatamente.



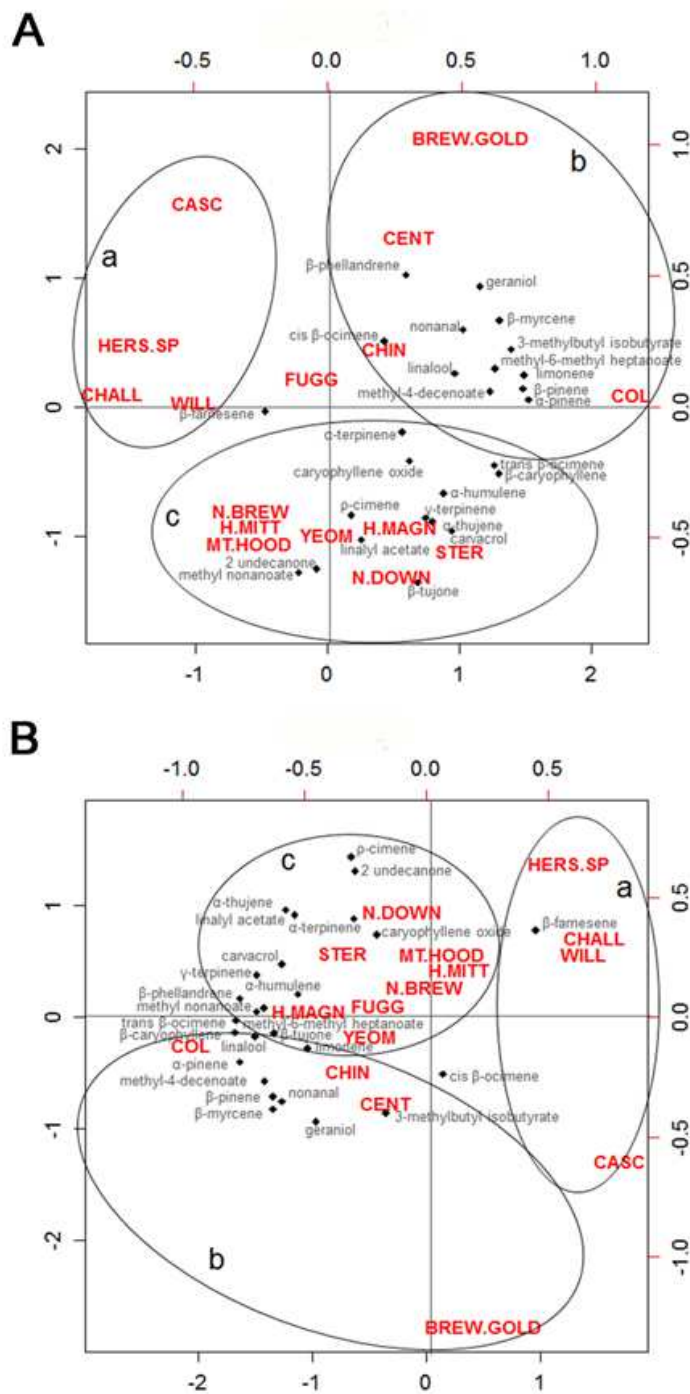


Figura 3 - Biplot ottenuti mediante PCA di volatili rilevati nelle varietà di luppolo selezionate per l'anno di coltivazione 2019 e 2020 (rispettivamente grafico A e B). Le varietà di luppolo sono rappresentate dai loro centroidi e le sostanze volatili determinate da GCxGC-FID come vettori.

Le prime due componenti principali spiegano il 62% (PC1 = 44%, PC2 = 18%) e il 59% (PC1 = 46%, PC2 = 13%) della varianza totale rispettivamente nel 2019 e 2020. È interessante notare che i due grafici PCA eseguiti sulla matrice dei dati del 2019 e del 2020 evidenziano la distribuzione di molecole e varietà simili. Infatti, in entrambi gli anni, Cascade, Willamette, Challenger e Hersbrucker Spät sono state le varietà con il più basso contenuto di volatili (Fig. 3, cluster a). Cascade e Willamette sono risultati caratterizzati solo dalla presenza di  $\beta$ -farnesene, in entrambe le annate di coltivazione. Columbus, Chinook, Centennial e Brewers Gold sono stati invece caratterizzati da un più alto contenuto di monoterpeni specifici come  $\beta$ -mircene, limonene e  $\alpha$ - e  $\beta$ -pinene, da esteri specifici come metil-4-decenoato e metil-6-metil isobutirrato e da geraniolo e linalolo, due importanti molecole odore attive (Fig. 3, cluster b). Magnum, Sterlyng e North Down erano invece caratterizzati da alti contenuti di sesquiterpeni e sesquiterpeni ossigenati come  $\beta$ -cariofillene,  $\alpha$ -umulene e ossido di cariofillene, e da p-cimene, carvacrolo e 2-undecanone (Fig. I grafici PCA mostrano anche che Northern Brewer, Mittelfrüh e Mount Hood hanno prodotto profili volatili molto simili in entrambi gli anni.

Tabella 6 - Composizione volatile degli estratti di esano di luppolo nelle differenti cultivar testate espresso in % su volume totale.

Molecola	Brewer's Gold		Cascade		Centennial		Challenger		Chinook		Columbus		Fuggie		Hersbrucker Spät		Mount Hood		Hallertau Magnum		Hallertau Mittelfrüh		Northern Brewer		North Down		Sterling		Willamette		Yeoman		
	2019	2020	2019	2020	2019	2020	2019	2020	2019	2020	2019	2020	2019	2020	2019	2020	2019	2020	2019	2020	2019	2020	2019	2020	2019	2020	2019	2020	2019	2020			
α-thujene	0.02	-	-	-	0.04	0.02	0.08	0.07	0.06	0.06	0.03	0.04	0.05	0.03	0.07	0.05	0.06	0.02	0.06	0.03	0.06	0.02	0.05	0.07	0.06	0.05	0.10	0.02	0.05	0.02	0.13	0.03	
α-pinene	0.14	0.10	0.16	0.11	0.20	0.11	0.07	0.10	0.09	0.10	0.10	0.11	0.11	0.09	0.14	0.12	0.12	0.10	0.13	0.10	0.13	0.09	0.21	0.16	0.12	0.12	0.16	0.12	0.11	0.08	0.16	0.15	
β-pinene	0.09	0.76	0.08	0.83	0.04	0.75	-	0.45	0.14	0.50	0.24	0.65	0.04	0.60	-	0.58	0.03	0.65	0.07	0.71	-	0.62	0.06	0.70	0.04	0.70	0.11	0.47	-	0.34	0.14	0.58	
β-myrcene	59.90	59.11	61.08	66.51	72.56	56.78	12.27	28.77	30.79	41.83	46.51	52.44	32.34	49.32	31.85	39.95	31.00	48.90	32.06	53.60	25.24	45.41	19.29	38.91	26.74	43.25	29.35	37.76	12.33	19.92	9.09	39.45	
3-methylbutyl isobutyrate	0.70	0.72	0.43	0.51	0.25	1.15	0.14	2.34	0.60	1.76	1.69	3.30	0.10	0.55	0.08	-	0.05	0.73	0.22	0.20	0.05	0.44	0.17	1.55	0.14	-	0.36	0.03	0.06	0.72	0.68	0.63	
α-terpinene	0.05	-	0.10	-	0.03	-	0.10	-	0.04	-	0.03	0.01	0.06	-	0.13	0.12	0.11	0.02	0.09	0.05	0.16	0.04	-	-	0.19	0.10	0.09	0.02	-	-	0.04	0.06	
p-cimene	0.02	-	0.07	-	0.08	0.01	0.13	0.10	0.09	0.02	0.01	0.01	0.09	0.04	0.06	0.05	0.12	0.04	0.03	0.03	0.08	0.06	0.09	0.06	0.06	0.04	0.06	0.04	0.05	0.03	0.15	0.04	
limonene	0.25	0.19	0.27	0.13	0.37	0.12	0.12	0.12	0.16	0.15	0.20	0.20	0.17	0.16	0.19	0.26	0.17	0.17	0.21	0.22	0.19	0.18	0.32	0.28	0.23	0.26	0.21	0.14	0.13	-	0.16	0.30	
β-phellandrene	0.20	0.30	0.36	0.38	0.41	0.32	0.10	0.54	0.21	0.32	0.27	0.46	0.22	0.32	0.26	0.60	-	0.50	0.16	0.38	-	0.32	-	0.53	-	0.51	0.15	0.44	0.13	0.30	0.13	0.54	
cis β-ocimene	0.08	0.08	-	-	-	-	-	0.06	-	-	-	-	-	0.03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.02	-	-	-	-	-	0.04	0.04
trans β-ocimene	0.15	0.20	0.06	0.05	0.04	0.03	0.04	0.24	0.03	0.04	0.30	0.41	0.05	0.08	-	0.08	0.06	0.11	0.17	0.16	0.05	0.03	0.28	0.55	0.11	0.12	0.73	1.29	0.06	0.10	0.15	0.12	
γ-terpinene	0.02	0.06	-	0.16	0.04	0.13	-	0.26	0.02	0.16	0.03	0.16	0.05	0.10	0.10	0.17	0.07	0.16	0.07	0.14	0.09	0.14	0.08	0.26	0.03	0.19	0.05	0.25	0.06	0.08	0.19	0.26	
nonanal	0.05	0.04	-	-	0.03	0.07	-	-	0.05	0.12	0.19	0.24	-	-	-	-	-	-	0.03	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03	0.02	-	0.08	0.10	
methyl-6-methyl heptanoate	0.01	-	-	-	0.01	-	-	-	-	-	0.02	0.01	-	0.01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01	-	0.01	-	-	-	-	
linalool	0.23	0.20	0.19	0.14	0.35	0.19	0.11	0.15	0.13	0.15	0.23	0.28	0.34	0.42	0.54	0.49	0.22	0.20	0.11	0.12	0.50	0.58	0.14	0.14	0.32	0.31	0.15	0.12	0.19	0.15	0.08	0.19	
β-thujone	-	-	-	-	-	0.01	-	-	-	0.09	0.01	0.08	-	-	-	-	0.04	0.03	0.03	0.02	0.02	-	0.04	-	0.04	0.03	0.07	0.04	-	-	0.04	0.03	-
camphor	-	-	-	-	-	-	-	-	0.06	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
nerol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.02	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
methyl nonanoate	-	0.04	-	-	-	0.09	-	0.20	-	0.08	-	0.13	-	0.07	0.03	-	0.05	0.05	0.02	0.15	0.02	0.07	0.05	0.13	0.04	0.09	0.07	0.20	0.05	0.03	0.09	0.08	
geraniol	0.22	0.18	-	-	0.45	0.26	-	-	0.14	0.17	0.07	0.06	0.03	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.04	0.05	-	-	-	0.17	
linalyl acetate	-	-	0.05	-	0.04	0.11	0.06	0.05	0.03	0.04	0.02	0.04	0.03	0.05	0.10	0.03	0.03	0.05	0.04	0.07	0.07	0.05	0.03	0.06	0.02	0.07	0.06	-	-	0.04	0.04	-	
2 undecanone	-	-	0.12	0.12	0.04	0.07	0.61	0.51	0.13	0.09	0.18	0.16	0.19	0.17	0.43	0.41	0.18	0.16	0.22	0.21	0.47	0.40	0.32	0.26	0.35	0.17	0.18	0.15	0.06	0.07	0.32	0.34	
methyl-4-decenoate	0.40	0.29	0.39	0.32	0.49	0.81	0.05	0.40	0.72	0.71	0.80	0.52	0.44	0.53	0.38	0.06	0.40	0.27	0.61	0.96	0.17	0.32	0.13	0.19	0.31	0.35	0.73	0.68	-	0.10	0.17	0.33	
carvacrol	0.03	0.02	0.05	0.05	0.04	0.03	0.08	0.08	0.02	0.02	0.02	0.02	0.04	0.01	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04	0.02	0.03	0.04	0.07	0.06	0.05	0.04	0.07	0.04	0.05	0.02	0.07	0.05	
eugenol	-	-	-	-	-	-	-	-	0.02	0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β-caryophyllene	9.57	8.08	6.13	4.08	5.90	5.93	15.38	9.44	9.31	7.42	10.06	8.84	12.73	10.44	7.55	5.33	12.48	8.27	9.37	6.56	10.50	8.53	12.76	10.75	12.19	10.35	10.31	10.52	14.94	14.53	12.69	8.58	
β-farnesene	0.06	0.02	5.06	4.92	0.16	0.02	0.76	0.79	0.07	0.32	0.02	0.02	0.07	0.21	0.10	13.84	1.49	3.33	0.06	0.01	0.12	0.10	0.07	0.03	0.54	1.44	1.25	1.70	4.97	5.76	0.06	0.04	
α-humulene	19.46	14.13	14.48	9.66	11.41	11.69	35.30	21.49	19.28	15.00	11.92	10.46	27.70	23.48	16.55	11.80	27.52	19.02	29.95	21.05	33.39	27.37	27.41	23.29	27.78	23.65	15.41	17.91	38.68	38.85	24.98	19.42	
caryophyllene oxide	0.10	0.07	0.16	0.08	0.17	0.06	0.30	0.28	0.06	0.05	0.07	0.09	0.23	0.24	0.12	0.15	0.18	0.13	0.06	0.03	0.18	0.12	0.25	0.14	0.14	0.17	0.21	0.22	0.22	0.22	0.17	0.06	

### Collezione luppoli autoctoni

Durante le fasi del progetto si è provveduto a reperire materiale autoctono da destinarsi alla fase di incrocio. Il recupero di tale materiale si è basato su segnalazioni di colleghi e conoscenti. Per ogni segnalazione si è provveduto a recarsi in loco e a valutare il materiale presente. I criteri scelti per la collezione sono stati i seguenti:

- 1) Assenza di malattie evidenti
- 2) Vigoria della pianta
- 3) Tendenza al portamento assurgente
- 4) Valutazione sensoriale dell'aroma della pianta (sulle parti verdi)
- 5) Valutazione sensoriale dei coni per le piante femminili

Nonostante le ripetute visite a siti nel territorio Veneto gli stretti criteri di selezione delle piante basati sui parametri soprariocordati non ha permesso di raccogliere un numero elevato di piante. Si sono recuperate 12 accessioni di luppolo autoctono (conservate in vaso) – 8 femmine e 4 maschi (provenienza province PD, VE e TV); la verifica delle prestazioni produttive verrà effettuata il prossimo anno

### Collezione luppoli commerciali

Sono state recuperate:

62 varietà commerciali note di differente provenienza

65 neomessicane

I dettagli delle varietà sono riportati nella tabella sottostante:

## Legenda

<b>AMERICA</b>	<b>31</b>
<b>GERMANIA</b>	<b>12</b>
<b>GRAN BRETAGNA</b>	<b>12</b>
<b>REP. CECA</b>	<b>1</b>
<b>FRANCIA</b>	<b>1</b>
<b>AUSTRALIA</b>	<b>1</b>
<b>NUOVA ZELANDA</b>	<b>2</b>
<b>GIAPPONE</b>	<b>2</b>
<b>MEOMEX FEMMINE</b>	<b>37</b>
<b>NEOMEX MASCHI</b>	<b>28</b>

Varietà reperite per la successiva piantumazione nel luppolo dimostrativo

## Realizzazione del luppoletto dimostrativo

## Convenzione con STRANOMEVERDE

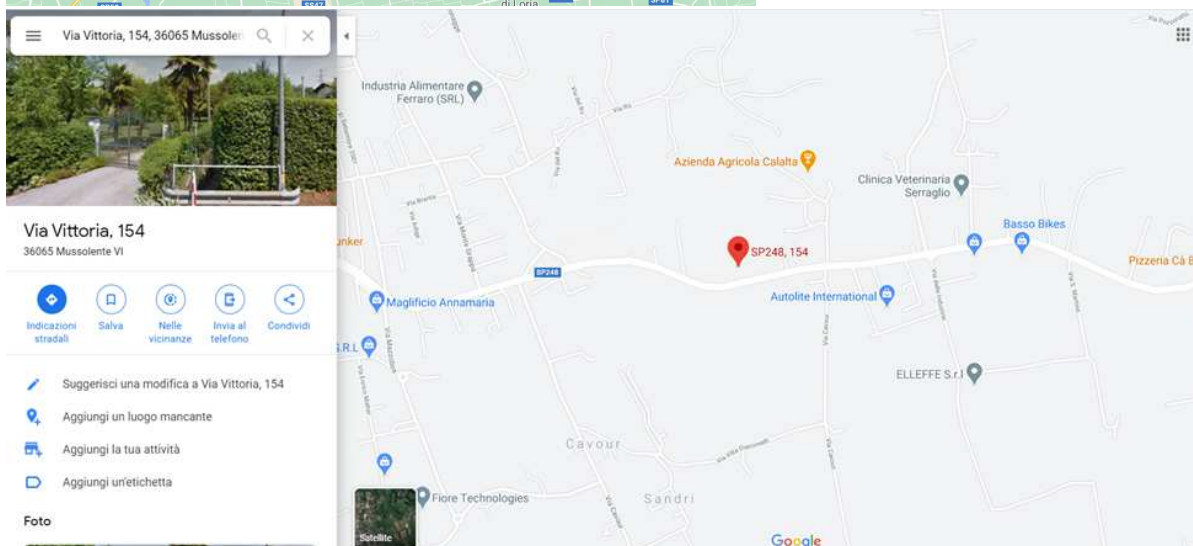
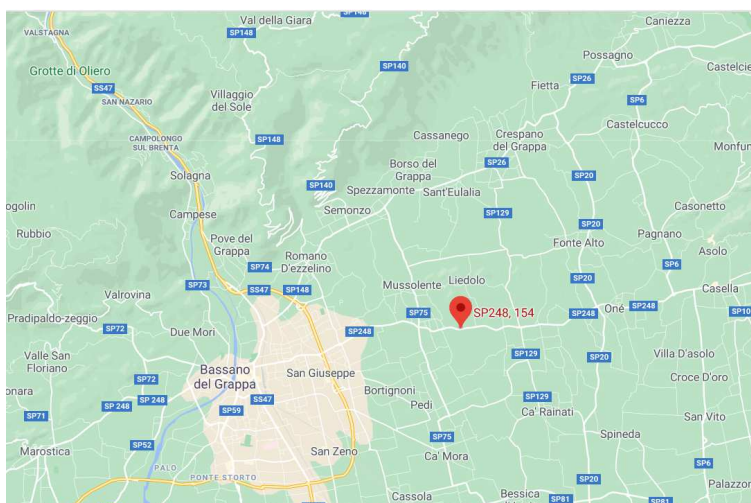
			
<hr/>			
<p>Viale dell'Università 10 35020 Legnaro (Padova) – Italy tel. +39 049 8272664 fax +39 049 8272784 direzione.dafnae@unipd.it dipartimento.dafnae@pec.unipd.it CF 80006480281 P.IVA 00742430283</p>	<p>Spettabile STRANO MA-VERDE DI CARLON ENRICO VIA PIGAFETTA 6 35018 SAN MARTINO DI LUPARI (PD) Pec: amministrazionestranomaverde@pec.it</p>	<p>Legnaro, gg mese-anno Progr. n. Anno Cl. Fasc.</p>	<p>C C C</p>
<p>OGGETTO: Convenzione per la collaborazione scientifica non patrimoniale dal titolo DiCoLup - Dimostrazione Coltivazione Luppoletto. Responsabile Scientifico Prof. Stefano Bona</p>			
<p><i>Premesso che questa Università intende svolgere l'attività indicata in oggetto con la collaborazione dell'azienda agricola Stranomaverde di Enrico Carlon, esponiamo qui di seguito le condizioni contrattuali proposte.</i></p>			

Si è provveduto a realizzare una convenzione con la ditta STRANOMEVERDE del sig. Carlon Enrico. Questa convenzione prevede che la ditta in oggetto si impegna a:

- 1) concedere il terreno in uso per le esigenze del progetto per 3 anni
- 2) gestione agronomica dello stesso per la durata dello stesso
- 3) rimpiazzare piante eventualmente morte con altre possibilmente della stessa varietà
- 4) rendere il luppoletto visitabile per massimo 6 volte l'anno durante manifestazioni dimostrative in collaborazione con UNIPD e Regione Veneto
- 5) rendere il luppoletto ispezionabile da parte di incaricati della Regione Veneto e di DAFNAE-UNIPD previo avvertimento di qualche giorno prima

## Sito del luppoletto

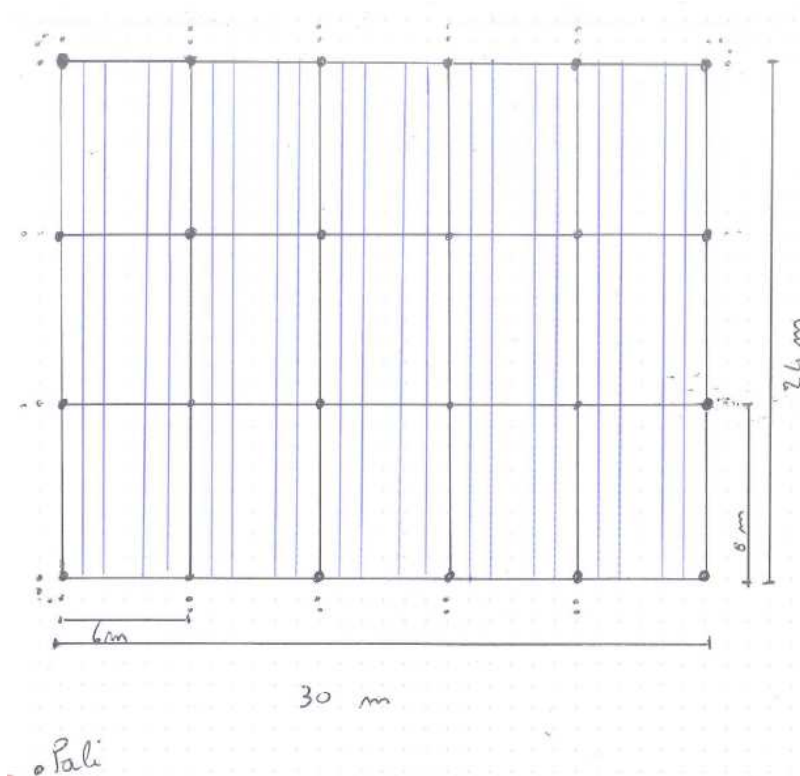
Il luppoletto è situato in via Vittoria 154 a Mussolente (VI). Il sito si presenta particolarmente interessante in quanto la zona è relativamente fresca e il terreno è risultato essere tendente al sabbioso; caratteristica particolarmente interessante per evitare che vi possano essere delle fitopatie legate al ristagno idrico. Si ricorda che alcune delle varietà considerato risultano particolarmente sensibili al ristagno.



## Realizzazione del luppoletto sperimentale

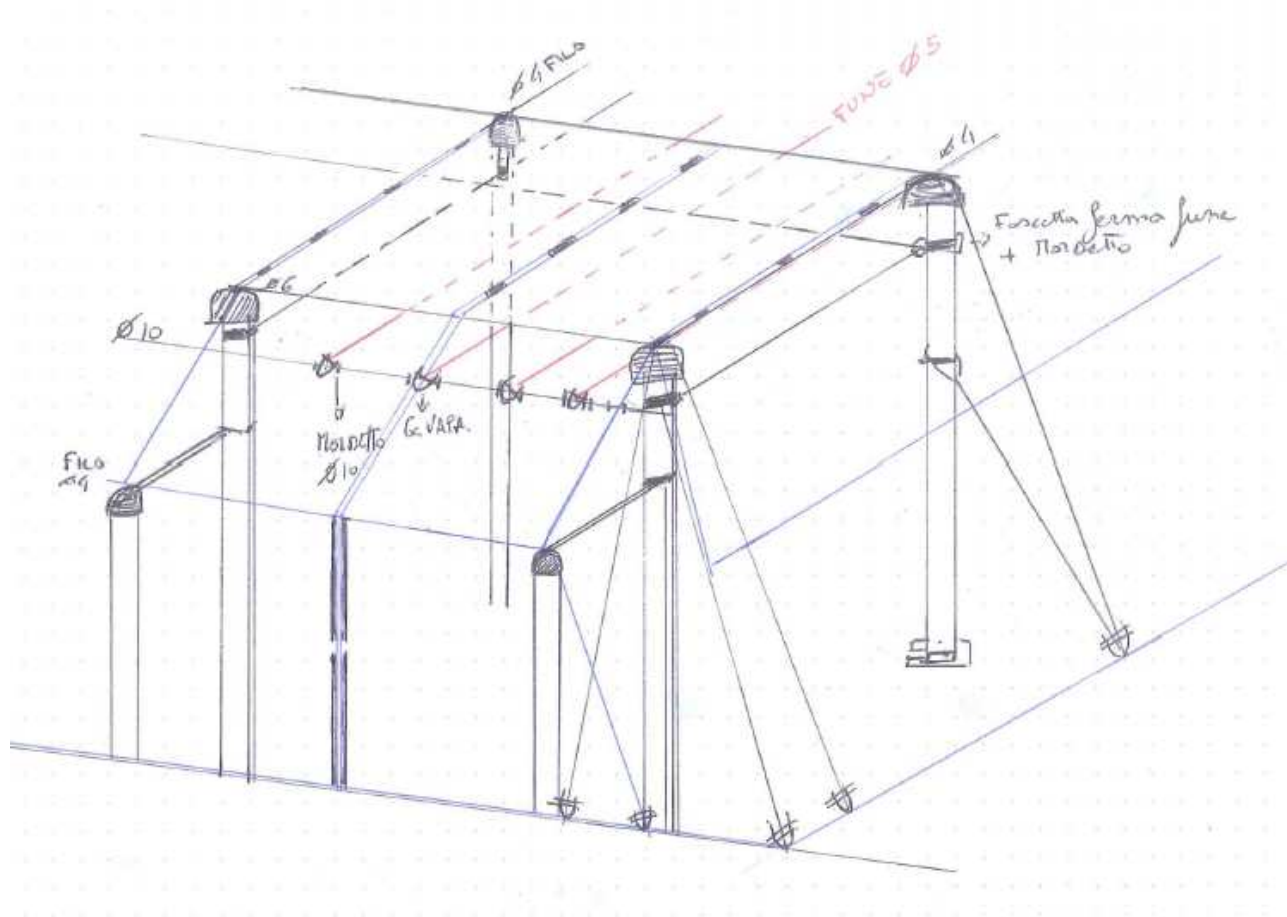
Il luppoletto è stato realizzato secondo il progetto di massima sotto riportato.

Si fa presente che il luppoletto è stato realizzato con strutture particolarmente robuste in modo da resistere ai venti che talora sono particolarmente intensi nella zona. Inoltre è stato dotato di copertura antigrandine e lateralmente di rete antinsetto. Al fine di rendere il sistema particolarmente innovativo sulla rete antinsetto sono state montate delle aperture dotate di calamite che permettono l'apertura e chiusura automatica in corrispondenza con il passaggio dei mezzi meccanici; Il mezzo meccanico va contro le aperture e sposta i lembi dell'apertura della rete antinsetto; una volta passato il mezzo la rete torna nella posizione iniziale e i lembi si riattaccano per mezzo delle calamite impedendo in tal modo il passaggio degli insetti. Questa soluzione risulta molto più pratica e più sicura nei confronti degli insetti dato che i lembi della rete rimangono aperti per il solo tempo necessario per l'ingresso o l'uscita dei mezzi meccanici e non risulta necessario che l'operatore scenda dal mezzo stesso.



Pianta del luppoletto





Prospetto della struttura del luppolo



Luppoletto realizzato



Preparazione delle file per il successivo trapianto



Fase di trapianto e concimazione del luppoletto

Data la situazione venutasi a creare con la pandemia il materiale per la realizzazione dell'impianto di irrigazione del luppoletto è stato acquistato ma non installato. Infatti il trapianto è stato possibile effettuarlo solo in autunno del 2020 e quindi verrà installato solamente a fine inverno/inizio primavera del 2021.



## FASE DI DIVULGAZIONE

Dato che non risultava possibile effettuare in sicurezza alcuna manifestazione pubblica si è provveduto di concerto con la Regione Veneto a realizzare un canale YOUTUBE dal titolo “Luppolo Veneto” visitabile al sito <https://www.youtube.com/channel/UCF-Db26KXErZIOq-6uiHKUg>

Inoltre si è realizzato un webinar il giorno 28 ottobre 2020 alle ore 18 di cui viene ripostata la locandina nella pagina seguente



The poster features a central image of a hop plant with green leaves and developing cones against a clear blue sky. In the bottom-left corner, there is a smaller inset image showing a hop plant growing in a field with soil and other vegetation. The text is overlaid on the main image. Logos for the Regione del Veneto and DAFNAE are in the top corners.

**REGIONE DEL VENETO**

**DAFNAE**  
Dipartimento di Agronomia Animali  
Alimenti Risorse naturali e Ambiente

**Valorizzazione di  
nuove varietà e  
luppoli autoctoni  
Relazione finale  
progetto**

**Convegno on-line**  
**28 ottobre 2020 ore 18.00**

<https://unipd.zoom.us/j/86515608701?pwd=WIZ1REFGUWZxWmZYaDFhNUtQaEd4Zz09>

La registrazione video del convegno è disponibile sul canale youtube “Luppolo Veneto”

I partecipanti sono stati 77 e agli interessati è stato chiesto l’indirizzo e-mail per tenerli informati delle successive iniziative e manifestazioni.

Di seguito vengono riportati i relatori:

#### RELATORI

Alberto Zannol	Regione Veneto - Direzione Agroalimentare	Legge regionale sul luppolo e prospettive di sviluppo della "filiera birra"
Matteo Vanzetto	Libero Professionista - Mastro birraio	Come si produce la birra?
Ivan Borsato	Microbirrificio Casa Vecchia	Il birrificio nel lock-down: un caso studio di successo
Stefano Bona	Dipartimento DAFNAE - UNIPD	Risultati del progetto luppolo: collaborazione fra Regione Veneto e Università
Enrico Carlon	MRHOPS - produzione di piantine di luppolo	Il luppoletto di Mussolente: dalla progettazione alla realizzazione
Katya Carbone	Head of Food Chemistry and Biotechnology Lab - CREA - ROMA	INNOVAzioni sostenibili per la LUPPOLicOltura: INNOVA.LUPPOLO il nuovo progetto CREA a sostegno della filiera

#### Partecipanti alla discussione finale

Andrea Zanatta	Birrificio MORGANA
Costantino Cattivello	ERSA - FVG
Eva Pagani	Birrificio Busa dei Briganti
Anthony Pravato	Birrificio CRAK
Luca Pretti	Porto Conte Ricerche di Alghero

Invito alla Dott.ssa Katya Carbone a partecipare al webinar finale Progetto dal titolo “Valorizzazione nuove varietà e luppoli autoctoni” nell’ambito della promozione della coltivazione e della lavorazione delle materie prime per la produzione della birra. Legge regionale 16 febbraio 2018 n. 7, articolo 7.

Viale dell'Università 16  
35020 Legnaro (Padova) – Italy

tel +39 049 8272664  
fax +39 049 8272784  
direzione.dafnae@unipd.it  
dipartimento.dafnae@pec.unipd.it

CF 80006480281  
P.IVA 00742430283

Spettabile

Dott.ssa Katya Carbone  
Head of Food Chemistry and  
Biotechnology Lab - CREA - ROMA

•  
Legnaro,20/10/2020

**OGGETTO:** Invito presentazione progetto: INNOVAzioni sostenibili per la LUPPOLicOltura: INNOVA.LUPPOLO il nuovo progetto CREA a sostegno della filiera .

Gentile Dottoressa Carbone,

a seguito dei colloqui telefonici intercorsi nei giorni scorsi ho il piacere di invitarla a tenere una breve relazione sul vostro progetto “INNOVAzioni sostenibili per la LUPPOLicOltura: INNOVA.LUPPOLO il nuovo progetto CREA a sostegno della filiera” nell’ambito del convegno coordinato dalla Regione Veneto e dal dipartimento DAFNAE dell’Università di Padova del giorno 28/10/2020. Il convegno si svolgerà alle ore 18.00 on-line sulla piattaforma ZOOM al seguente indirizzo [unipd.zoom.us/j/86515608701?pwd=WIZ1REFGUWZxWmZYaDFhNUtQaEd4Zz09](https://unipd.zoom.us/j/86515608701?pwd=WIZ1REFGUWZxWmZYaDFhNUtQaEd4Zz09) e avrà come titolo “Valorizzazione nuove varietà e luppoli autoctoni - Relazione finale di progetto”.

In relazione alla sua richiesta di mandare in streaming la diretta del convegno nel vostro sito, le confermo nostra risposta positiva (mia e del dott- Zannol per la Regione Veneto).

Sperando in una sua risposta positiva le auguro un buon lavoro.

Con i migliori saluti.

Prof. Stefano Bona

