

VICTORIA PACILÉO TREVISAN

**PÓS-COLHEITA DE CONES DE LÚPULO (*Humulus lupulus* L.): PERFIL
FITOQUÍMICO EM FUNÇÃO DO PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO**

Botucatu

2023

VICTORIA PACILÉO TREVISAN

**PÓS-COLHEITA DE CONES DE LÚPULO (*Humulus lupulus* L.): PERFIL
FITOQUÍMICO EM FUNÇÃO DO PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO**

Dissertação de mestrado, apresentada a
Faculdade de Ciências Agronômicas da
Unesp Campus de Botucatu, para a
obtenção do título de Mestre em Agronomia
(Horticultura)

Orientador: Prof. Dr. Filipe Pereira Giardini
Bonfim

Botucatu

2023

T814p Trevisan, Victoria Paciléio
Pós-colheita de cones de lúpulo (*Humulus lupulus* L.): perfil fitoquímico em função do processamento e armazenamento / Victoria Paciléio Trevisan. -- Botucatu, 2023
58 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu
Orientador: Filipe Pereira Giardini Bonfim

1. Pós-colheita. 2. Armazenamento. 3. Perfil Fitoquímico. 4. Óleos essenciais. 5. *Humulus lupulus* L.. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: PÓS-COLHEITA DE CONES DE LÚPULO (*Humulus lupulus* L.): PERFIL FITOQUÍMICO EM FUNÇÃO DO PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO

AUTORA: VICTÓRIA PACILÉO TREVISAN

ORIENTADOR: FILIPE PEREIRA GIARDINI BONFIM

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Agronomia (Horticultura),
pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. FILIPE PEREIRA GIARDINI BONFIM (Participação Presencial)
Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrômicas de Botucatu

Dr.ª DANIELA APARECIDA TEIXEIRA (Participação Presencial)
Serviço Nacional de Aprendizagem Rural

Prof. Dr. RICARDO FIGUEIRA (Participação Presencial)
Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrômicas de Botucatu - UNESP

Botucatu, 28 de agosto de 2023

A minha amada família,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos pais Cristina e Luciano, por todo suporte, compreensão e incentivo para perseguir meus sonhos, proporcionando sempre as melhores condições para o meu desenvolvimento.

Aos meus amados avós Heloisa e Nicola, por todos os ensinamentos de valores, sentimentos de orgulho, carinho e preocupação durante toda minha caminhada longe de casa.

Ao Danilo, por todo amor, paciência, tranquilidade e palavras de incentivo me ajudando a passar pelos momentos difíceis.

Ao Prof. Dr. Filipe Pereira Giardini Bonfim, pela confiança e incentivo de mergulhar no mundo da pesquisa, pela orientação, ensinamentos, paciência e pela querida parceria tanto dentro quanto fora da faculdade.

Aos meus colegas de pesquisa, Olivia Pak, Caio Scardini e Bárbara Claro, todos os dias de trabalho pesado no campo, por correrem essa trajetória comigo, compartilhando conhecimentos e sempre me socorrendo em momentos de apuro.

Aos meus amigos de coração que Botucatu trouxe para minha vida, por sempre trazerem momentos leves e alegres durante épocas turbulentas.

A Dra. Jordany por toda disposição em ajudar nas dúvidas que surgiram durante o trabalho e todo o grupo HorgBio, pelas mãos ajudantes em trabalhos pesados e pelos momentos de descontração.

Aos colaboradores do Instituto Agrônômicos de Campinas, em principal a professora Dra. Márcia Ortiz e a Dra. Roselaine, pelas orientações, ensinamentos e disponibilidade para ajudar na elaboração deste trabalho.

Aos meus colegas, Cesar, Fabrício, Francisco e Joseantonio que iniciaram a fase do mestrado junto a mim, sempre com o desejo de sucesso um do outro.

Ao departamento de Horticultura e a FCA pela estrutura física e humana disponibilizada para a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil – CAPES – Código de financiamento 001.

“A vida não é um amontoado de fatores, mas uma imensa teia que se inicia com micróbios do solo e inclui todos os seres vivos presentes na terra, na água e no ar”

Primavesi, A.M. Manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões subtropicais – São Paulo: Nobel, 2002.

RESUMO

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é conhecido principalmente pela sua utilização no mercado cervejeiro, sendo responsável pelo aroma, amargor e estrutura da bebida. Assim, pode ser dividido em categorias como: aromático, amargor e dupla aptidão. A variedade utilizada no presente trabalho foi a Fuggle, classificada como uns dois primeiros lúpulos de aroma com notas amadeiradas e cítricas, o que justifica os estudos direcionados à conservação dos seus compostos aromáticos. O objetivo do trabalho foi quantificar o rendimento da extração do óleo essenciais em diferentes tipos de processamento dos cones de lúpulo e avaliar as possíveis alterações no perfil químico, tanto quanto, verificar o tempo de estabilidade dos compostos de aroma e amargor sob as condições de armazenamento dos cones em embalagens a vácuo e refrigerado. Por vez, cones de lúpulo foram coletados do campo experimental instalado no Pomar Didático da FCA / UNESP – Botucatu – SP, no ponto de maturidade fisiológica. O material foi seco em estufa na temperatura de 40°C, até atingirem 10% de umidade. A extração dos óleos essenciais foi realizada no Laboratório de Plantas Medicinais, no Departamento de Horticultura da UNESP - FCA, Botucatu – SP. O óleo essencial foi obtido pelo método de hidrodestilação em aparato tipo Clevenger, utilizando balão de 2L contendo 1L d'água deionizada junto ao material vegetal seco, o rendimento de óleo essencial foi determinado com base na matéria seca de cones triturados e inteiros (gramas de óleo. 100-1 gramas de matéria seca) em tempos distintos de extração (30 minutos, 60 minutos, 120 minutos e 180 minutos), no primeiro estudo, e posteriormente foram realizadas análises da composição química dos óleos essenciais em cromatógrafo a gás Thermo Scientific (modelo TRACE 1300) equipado com detector de ionização em chamas (DIC), espectrômetro de massas (modelo ISQ 7000) e injetor automático Triplus RSH. Já para o segundo estudo, o tempo de extração de óleos essenciais adotado foi de 3 horas, para os quatro tratamentos caracterizado por tempos de armazenamentos (30, 60, 90, 120 dias), no qual procede-se a análise da composição química conforme supracitado e determinação dos teores de alfa- e beta- ácidos foi a partir da extração dos ácidos da amostra de lúpulo seguida de análise espectrofotométrica. Cones inteiros de lúpulo apresentaram maiores rendimentos de óleos essenciais, atingindo o ponto máximo

em 300 minutos. O perfil fitoquímico atendeu os parâmetros da literatura, onde a maioria foram extraídos em maior concentração em cones triturados. No armazenamento não houve alteração no perfil fitoquímico dos óleos essenciais em relação ao tempo, alterando apenas os compostos de amargor. Verificou-se a partir de 60 dias em condições de armazenamento a vácuo e congelado, já se inicia uma degradação do alfa-ácido

Palavras-chave: estocagem; Fuggle; óleo essenciais; alfa-ácidos; beta-ácidos.

ABSTRACT

Hops (*Humulus lupulus* L.) is mainly known for its use in the brewing market, being responsible for the aroma, bitterness, and structure of the beverage. Thus, it can be divided into categories such as: aromatic, bitterness, and dual purpose. The variety used in the present work was Fuggle, classified as the first two aroma hops with woody and citrus notes, which justifies the studies aimed at the conservation of its aromatic compounds. The objective of the present work was to quantify the yield of essential oil extraction in different types of processing of hop cones and to evaluate the possible changes in the chemical profile, as well as to verify the stability time of the aroma and bitterness compounds under the conditions of storage of cones in vacuum and refrigerated packaging. For that, hop cones were collected from the experimental field installed in the Orchard Didactic of FCA / UNESP – Botucatu – SP, at the point of physiological maturity. The material was dried in an oven at a temperature of 40°C, until reaching 10% moisture. The extraction of essential oils was carried out in the Medicinal Plants laboratory, in the Horticulture department of UNESP- FCA, Botucatu – SP. The essential oil was obtained by the hydrodistillation method in a Clevenger type apparatus, using a 2L flask containing 1L of deionized water together with the plant material, the essential oil yield was determined based on the dry matter of fragmented and whole cones (grams of oil 100-1 grams of dry matter) at different times of extraction (30 min., 60 min., 120 min. and 180 min.) in the first study, and later analyzes of the chemical composition of essential oils were carried out in a Thermo Scientific gas chromatograph (TRACE 1300) equipped with a flame ionization detector (FID), mass spectrometer (ISQ 7000 model) and a Triplus RSH auto-injector. For the second study, the time of extraction of essential oils adopted was 3 hours, for the four treatments characterized by storage times (30, 60, 90, 120 days), in which the analysis of the chemical composition is carried out according to mentioned above and determination of the alpha-and beta-acids contents was based on the extraction of acids from the hop sample followed by spectrophotometric analysis. Whole hop cones showed higher yields of essential oils, reaching a maximum at 300 minutes. The phytochemical profile met the parameters of the literature, where most were extracted in higher concentration in fragmented cones. During storage, there was no alteration in the phytochemical profile of essential oils in relation to time, only altering the

bitterness compounds. It was verified after 60 days in vacuum and frozen storage conditions a degradation of the alpha-acid already begins.

Keywords: storage; Fuggle; essencial oils; alpha acids; beta acids.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	17
CAPÍTULO 1.....	19
TEMPO DE EXTRAÇÃO E DO PROCESSAMENTO NO RENDIMENTO E PERFIL QUÍMICO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CONES DE LÚPULO.....	19
1.1 INTRODUÇÃO	21
1.2. MATERIAL E MÉTODOS	22
1.3. RESULTADO E DISCUSSÕES	27
REFERÊNCIAS	34
CAPÍTULO 2.....	37
TEMPO DE ARMAZENAMENTO NA ESTABILIDADE DOS COMPOSTOS DE AROMA E AMARGOR DE CONES DE LÚPULO	37
2.1 INTRODUÇÃO	39
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	41
2.3 RESULTADO E DISCUSSÕES	46
REFÊRENCIAS	52
CONSIDERAÇÕES FINAIS	55
REFERÊNCIAS	57

INTRODUÇÃO GERAL

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é conhecido principalmente pela sua utilização na fabricação de cervejas, trazendo as características de sabor característico e o aroma para a bebida. Atualmente, a indústria cervejeira é responsável por consumir 98% do lúpulo produzido mundialmente. Entretanto, há diversos setores que o lúpulo pode ser utilizado, como alimentício e cosméticos, como shampoo e hidratantes (Korpelainen, Pietiläinen, 2021).

É uma planta pertencente à ordem Rosales, família Cannabaceae, composta de hastes laterais e ramos vigorosos, podendo atingir crescimento de até 30 centímetros por dia durante sua fase vegetativa (4 a 5 meses). Apresenta também dois tipos de raízes, sendo as laterais, que podem atingir de 2 a 5 metros e as verticais que se desenvolvem em média de 2 a 3 metros (Santos, 2020; Edwardson, 1958), é uma cultura perene de comportamento anual, a qual atinge sua maturidade fisiológica a partir do terceiro ano de produção (Dodds, et al. 2019).

O gênero *Humulus* tem como característica ser constituído por plantas herbáceas, dioicas, anemófilas e trepadeiras dextrogiras, de dias curtos e nativas do hemisfério norte. Das espécies existentes, apenas o *Humulus lupulus* L. tem valor industrial (Sposito, 2019). As variedades são classificadas de acordo com a composição química, ou seja, de acordo com os óleos essenciais e alfa/beta-ácidos, sendo lúpulo de amargor, de aroma ou dupla aptidão (Roberts E Wilson, 2006).

A variedade Fuggle, classificada como lúpulo de aroma, originou-se na Inglaterra em 1861 e começou a ser propagada pelo cientista Richard Fuggle em 1875 (British Hops Association, 2023). Esta variedade é utilizada com o intuito de trazer aromas marcantes para a cerveja, muito utilizada pelas cervejarias principalmente nas receitas de cervejas tipo ale (Quelhas, 2017). É encontrado na literatura valores de 3,0-6,0% de alfa-ácidos, 2,0 a 3,0% de beta-ácidos e de 0,5-3% de óleos essenciais em sua composição (Fagherazzi, et al., 2017, Almaguer et al., 2014)

Apesar das inflorescências da planta feminina serem muito conhecidas no mundo da cervejaria, fornecendo amargor, aroma e outras características, são também utilizadas em composição de medicamentos, como Remilev da Aché, apresentando efeitos significativos na saúde humana devido às propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, sedativas, antifúngicas e antibacterianas proporcionadas pelas resinas e óleos essenciais (Miranda, 2015).

Os compostos responsáveis por essas atividades, estão presentes em maior concentração nas glândulas de lupulina. Essas glândulas podem ser divididas em óleos essenciais e resinas. Sendo as resinas formadas principalmente pela porção de alfa ácido que é constituído de quatro congêneres: Humulona, Adhumulona, Pós Humulona e Cohumulona, principal responsável por atribuir o amargor das bebidas. Já as resinas de beta ácidos, tem sua primordial atividade nos efeitos antibióticos, podendo destacar as Lupulonas, Colupulonas e Adlupulonas. Os óleos essenciais

também presentes nessas glândulas de lupulina, são os autores do marcante aroma da cerveja, devido aos compostos voláteis que o formam, como principal o Mirceno, sendo o mais volátil e aromáticos. Esses compostos são produzidos pela através do metabolismo secundário, ou seja, são acumulados pelas plantas com o intuito de proteção das mesmas devido a algum estresse sofrido durante o tempo no campo (Ceola, 2012).

Para que se atinja níveis comercialmente demandados dessas substâncias, deve-se atentar a toda a cadeia de produção dos cones, desde manejos no campo, colheita, processamento até o armazenamento, evitando ao máximo a volatilização dos compostos. A escolha de métodos de embalagens a vácuo, seja em pellets ou cones inteiros deve ser realizada imediatamente após a desidratação, contribuindo para a diminuição dessa perda, aumentando assim o tempo de comercialização, passando de horas de uso para meses (Aprolupulo, 2019).

Juntando o potencial de mercado do Brasil com o baixo conhecimento de tecnologias de produção do lúpulo em solo brasileiro, a demanda por pesquisas dessa cadeia é abrangente e necessária. Visto isso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o perfil fitoquímico do lúpulo de produção nacional quanto ao processamento de amostras e tempo de extração de óleos essenciais, bem como, o período de armazenagem de cones visando à estabilidade de seus compostos de aroma e amargor.

CAPÍTULO 1

TEMPO DE EXTRAÇÃO E DO PROCESSAMENTO NO RENDIMENTO E PERFIL QUÍMICO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CONES DE LÚPULO

RESUMO

Óleo essencial são substâncias voláteis resultantes do metabolismo especializado das plantas. O material é obtido a partir de uma fonte de origem vegetal, por destilação com água ou arraste a vapor, ou ainda por destilação a seco, ou por prensagem mecânica, dependendo da parte da planta trabalhada. Esses compostos químicos são responsáveis pelas características aromáticas presentes nas plantas. No lúpulo, estes são constituídos de terpenos, representando de 0,5 a 3% da massa do lúpulo seco e são produzidos nas glândulas de lupulina. Tendo em vista as informações citadas, o presente trabalho teve como objetivo verificar-se ocorrem alterações no rendimento e no perfil químico dos óleos essenciais em função do processamento e tempo de extração de cones de lúpulo da variedade Fuggle. Para tanto foram coletados do campo experimental instalado em setembro de 2021 no “Pomar Didático” FCA/UNESP – Botucatu – SP, em condições subtropicais, amostras de cones no ponto de maturidade fisiológica adotado um delineamento experimental inteiramente casualizado. A extração dos óleos essenciais foi realizada no Laboratório de Plantas Medicinais, no Departamento de Horticultura da UNESP - FCA, Botucatu – SP. O material coletado, foi secado método de estudo de circulação de ar forçado na temperatura de 40°C, até os cones atingirem cerca de 10% de umidade. O óleo essencial foi obtido pelo método de hidrodestilação em aparato tipo Clevenger, utilizando balão de 2L contendo 1L d’água deionizada junto ao material vegetal. Foi avaliado o rendimento de óleo essencial com base na matéria seca de cones moídos e inteiros (gramas de óleo. 100-1 gramas de matéria seca) em quatro tempos distintos de extração (30 minutos, 60 minutos, 120 minutos e 180 minutos) cada tratamento composto de três repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo o fator qualitativo comparado pelo teste Tukey a 5% de probabilidade e o fator quantitativo por análise de regressão, através do programa Sisvar 5.6. Nos resultados foi possível observar que não houve influência na relação dos tratamentos tempo e processamento. Os cones inteiros obtiveram o maior rendimento quando comparado aos cones triturados. Sendo o ponto máximo a 300 minutos para os inteiros e 125 minutos para os triturados. As análises da composição química dos óleos essenciais foram realizadas em cromatógrafo a gás Thermo Scientific (modelo TRACE 1300 Series GC) equipado com detetor de ionização em chamas (DIC), espectrômetro de massas (modelo ISQ 7000) e injetor automático Triplus RSH, tendo como compostos majoritários respectivamente: Mirceno, Linalol, Germacreno, Cariofileno, Farneseno, α -selineno e β -selineno. De forma isolada, verificou-se que para o processamento houve diferença no comportamento dos compostos. E para o tempo de extração os sesquiterpenos Cariofileno e Farneseno apresentaram

sensibilidade a variação, apresentando o pico de extração de 90 e 128 minutos respectivamente. Com base nos dados, pode-se concluir que o perfil químico do lúpulo nacional é próximo aos apresentados na literatura e mesmo compostos do mesmo grupo, podem apresentar comportamentos distintos de acordo com suas estruturas.

Palavras-chaves: pós-colheita; óleo essencial; hidrodestilação; monoterpenos; sesquiterpenos

ABSTRACT

Essential oil are volatile substances resulting from the secondary metabolism of plants. The material is obtained from a vegetable source, by distillation with water or steam, or by dry distillation, or by mechanical pressing. These chemical compounds are responsible for the aromatic characteristics present in plants. In hops, these are made up of terpenes, representing from 0.5 to 3% of the mass of dry hops and are produced in the lupulin glands. The aim of this study was to verify whether the yield and chemical profile of essential oils change as a function of the processing and extraction time of hop cones of the Fuggle variety. For this purpose, samples of cones at the point of physiological maturity were collected from the experimental field installed at the FCA / UNESP – Botucatu – SP, in subtropical conditions, using a completely randomized experimental design. The extraction of essential oils was carried out in the Medicinal Plants laboratory, in the Horticulture department of UNESP - FCA, Botucatu – SP. The collected material was dried in an oven at a temperature of 40°C, until the cones reached about 10% moisture. The essential oil was obtained by the hydrodistillation method in a Clevenger-type apparatus, using a 2L flask containing 1L of deionized water together with the plant material. The essential oil yield was evaluated based on the dry matter of fragmented and whole cones (grams of oil. 100-1 grams of dry matter) in four different extraction times (30 minutes, 60 minutes, 120 minutes, and 180 minutes) each treatment consisting of three repetitions. The data obtained were submitted to analysis of variance, with the qualitative factor being compared by the Tukey test at 5% probability and the quantitative factor by regression analysis, using the Sisvar 5.6 program. In the results it was possible to observe that there was no influence in the relation of treatments time and processing. Whole cones obtained the highest yield when compared to crushed cones. The maximum point being 300 minutes for whole and 125 minutes for fragmented ones. Analyzes of the chemical composition of the essential oils were carried out using a Thermo Scientific gas chromatograph (model TRACE 1300 Series GC) equipped with a flame ionization detector (FID), mass spectrometer (model ISQ 7000) and an automatic Triplus RSH injector, with the major compounds: Myrcene, Linalool, Germacrene, Caryophyllene, Farnesene, α -selinene and β -selinene. In isolation, it was found that there was a difference in the behavior of the compounds during processing. And for the extraction time, the sesquiterpenes Caryophyllene and Farnesene were sensitive to variation, presenting an extraction

peak of 90 and 128 minutes respectively. Based on the data, it can be concluded that the chemical profile of national hops is close to those presented in the literature and even compounds from the same group can exhibit different behaviors according to their structures.

Keywords: harvest; essential oil; hydrodistillation; monoterpene; sesquiterpenes

1.1 INTRODUÇÃO

O *Humulus lupulus* L., nome científico do lúpulo, pertencente à ordem das Rosales e a família Cannabaceae (Almaguer et al., 2014). É conhecido pelas substâncias químicas presentes na sua composição, as quais são responsáveis pelo seu marcante perfil aromático. Esses compostos são constituídos de terpenos, que representam de 0,5 a 3% da massa seca do lúpulo e são produzidos nas glândulas de lupulina (Bocquet et al., 2018; Almaguer et al., 2014; Eyres; Dufour, 2009). A composição química do óleo essencial de *H. lupulus* é complexa, sendo identificados na literatura 485 compostos (Eyres et al., 2007), pertencentes as classes dos monoterpenos, sesquiterpenos, cetonas, ésteres e aldeídos (Almeida, 2020).

Os óleos essenciais são definidos, segundo a norma 9235 da Internacional Organization for Standardization (ISO), como “produtos obtidos de matérias-primas naturais de origem vegetal, por destilação a vapor, por processos mecânicos a partir do epicarpo de frutos cítricos, ou por destilação a seco, após a separação da fase aquosa – se houver- por processos físicos”. Figueiredo (2010) afirma que há inúmeros fatores que podem vir a influenciar no rendimento e qualidade do óleo, como o método de extração.

Outro ponto que pode interferir no rendimento desse óleo é o método de secagem empregado, visto que são substâncias sensíveis à volatilização (Venskutonis, 1997). Manejos no campo como, época de colheita e armazenamento, são etapas da produção que também podem ocasionar perdas nas concentrações e composições. A colheita ideal deve ser realizada com um teor de umidade entre 75% e 80% e a

secagem em estufa a temperatura de 60oC a 70oC durante um período de 8 a 15 horas, chegando a um percentual de umidade de aproximadamente 10% a 12% (Almaguer et al., 2014). É importante se atentar a essas influências, para obter-se um produto que atenda as demandas dos consumidores.

A Indústria cervejeira é responsável por 98% do uso mundial da planta (Moir, 2000). Em vários países o lúpulo é considerado uma commodity, já no Brasil a produção é ainda sutil. Mesmo o país sendo o terceiro maior produtor de cerveja, 99% da matéria-prima é importada de países como EUA e Alemanha. Visto o potencial mercado, a tímida oferta e o enxuto conhecimento de produção, há demanda pelo desenvolvimento de pesquisas em todas as etapas da cadeia produtiva da cultura.

Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo a quantificação do rendimento e perfil químico do óleo essencial da variedade Fuggle, em diferentes processamentos dos cones e tempos de extração, subsidiando informações básicas sobre o componente aroma do lúpulo.

1.2. MATERIAL E MÉTODOS

1.2.1 Área experimental e condições de cultivo

O experimento foi implantado em 2021 no ‘Pomar Didático’ no Departamento de Horticultura pertencente à Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Campus Botucatu. A área experimental está localizada no município de Botucatu-SP, situada entre os paralelos 22°30’ a 23° 05’ de latitude Sul e os meridianos 48°15’ a 48° 52’ de longitude W Gr e altitude média de 800 m. Segundo Köppen (1948), clima classificado como mesotérmico de inverno seco (Cwb), com temperatura média anual de 19,4° C e precipitação pluviométrica média anual de 1314 mm (Cunha; Martins, 2009). O solo onde o experimento foi conduzido é classificado como Latossolo Vermelho Escuro e suas características químicas foram definidas através de análise de solo.

Para condução do lúpulo foi utilizado postes de eucalipto com altura exposta fora do solo de 6m, em cada poste foram usados como esteio e dois mourões em diagonal. Cabos de aço conectados aos postes formando um quadrado, e arames presos nos cabos e esticados paralelamente as linhas de plantio, com 1m de distância entre eles, para fazer a condução das plantas em “V” até os arames, com auxílio de cordas de sisal, sendo, portanto, puxados dois fios por planta, selecionando os ramos mais vigorosos e com a forma hexagonal (Peragine, 2011)

Foto 1 – Área experimental do lúpulo e condução das plantas, Botucatu-SP, 2022



Foto: Victoria Trevisan - 2022

Para preparo do solo foi realizada escarificação a 40cm, seguida de uma aração e gradagem. A correção e adubação foi realizada de acordo com a necessidade observada na análise de solo bem como requerimento de nutrientes estabelecidos para cultura em outras localidades. Para correção do solo foi usado

calcário e gesso, para adubação de plantio foram aplicados 2 kg/metro linear de esterco bovino curtido no sulco, superfosfato triplo e Yoorin master®.

Na primeira safra foi realizada a adubação de cobertura nitrogenada com nitrato de cálcio e uréia, a adubação potássica com cloreto de potássio, e a de micronutrientes com MIB®. Para controle fitossanitário, diante de infestação de ácaro rajado foram feitas aplicações de Abamex® (Abamectina). Para controle de formigas foi aplicado nos olheiros encontrados Regent® (Fipronil). Para combate de oídio (*Podosphaera macularis*) foi realizada pulverização de Folicur® (Tebuchunazol). Na segunda safra a adubação de cobertura nitrogenada seguiu com nitrato de cálcio e ureia, foi também adicionado cama de frango, a adubação potássica com cloreto de potássio, e a de micronutrientes com MIB®.

Foi também feita a adubação boratada com ácido bórico, adubação foliar com sulfato de zinco. O controle fitossanitário de ácaro e formiga foi idêntico ao da primeira safra, houve ocorrência de lagartas que foram controladas com Dipel® (*Bacillus thuringiensis*). O plantio das mudas da variedade Fuggle foi realizado em outubro de 2019 em covas, em espaçamento 3,0 m x 1,0 m. Foram semeadas nas entrelinhas do lúpulo, espécies de adubação verde: amendoim forrageiro (*Arachis pintoi*) e a *Crotalaria breviflora* no verão, e a aveia preta (*Avena strigosa*) e nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) no inverno. Essa adubação foi realizada em todas as safras duas vezes ao ano. Ao chegarem no ponto da iniciação floral, essas plantas foram roçadas e incorporadas ao solo ou utilizadas como cobertura morta nas linhas e entrelinhas.

A irrigação adotada foi por gotejamento, com duas linhas de fita gotejadora em cada linha de plantio, com espaçamento entre os emissores de 0,5m e 0,3m entre as fitas. As plantas espontâneas eram controladas semanalmente de forma mecânica, com o uso de roçadeira ou trator, capina com enxada ou manual e seletiva. Durante a fase de condução, foram podados os ramos que não foram selecionados para serem conduzidos, e os ramos identificados como ladrões. Na fase da colheita, as plantas foram podadas rentes ao solo, iniciando o processo de dormência no inverno.

Para a determinação do ponto ideal de colheita, foram utilizados parâmetros sensoriais qualitativos juntamente aos parâmetros quantitativos. Sendo os qualitativos; apertar os cones com as mãos e verificar se estão secos ao tato, ouvir o som de papel manteiga amassando, verificar se as pontas das brácteas estão

ligeiramente inclinadas, a lupulina deve estar com especto amarelo solido, o cone deve destacar-se facilmente da planta, ao esfregar o cone nas mãos, as brácteas começam a se soltar rapidamente, o aroma não pode estar gramíneo (o que indica que ainda não está no ponto de colheita). Características como, odor acebolado e cones amarelos são indicativos de que se passou o ponto de colheita (Foturna, 2021).

Já os parâmetros quantitativos, foram coletados de 4 a 6 cones das partes inferior, média e apical da planta, colocando dentro de um saco fechado. Rapidamente esses cones foram levados ao laboratório para serem pesados em uma balança digital de duas casas decimais, obtendo assim o peso fresco dos cones. Depois estes foram colocados no micro-ondas por 1 (um) minuto, e pesados novamente. Esse processo foi repetido até o valor estabilizar, determinando assim o peso seco do cone (Fortuna, 2021).

Obtendo esse valor, foi realizada a conta $(\text{peso seco/peso fresco}) * 100 =$ matéria seca. A percentagem para determinar o ponto de colheita é entre 20 e 33%. Após a colheita das plantas na área experimental, estas foram levadas ao laboratório de Plantas Medicinais, no departamento de Horticultura da UNESP - FCA, Botucatu – SP, onde as inflorescências foram destacadas da estrutura vegetativa da planta e levadas à estufa para secagem a 40°C por 24 horas até atingir o ponto entre 8 e 10% de umidade.

1.2.2 Delinhamento experimental

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x4, onde o primeiro fator refere-se ao processamento dos cones (inteiros e triturados em moínho) e o segundo fator tempos de extração (30 minutos, 60 minutos, 120 minutos e 180 minutos), contendo três repetições, totalizando 24 parcelas experimentais.

1.2.3 Extração e quantificação do óleo essencial

O óleo essencial foi obtido pelo método de hidrodestilação em aparato tipo Clevenger, utilizando balão de 2L contendo 1L d'água deionizada junto ao material vegetal, a partir

de 50 g de cones secos. Foi avaliado o rendimento de óleo com base na matéria seca de cones triturados e inteiros (expresso em gramas de óleo. 100-1 gramas de matéria seca) em quatro tempos distintos de extração (30 minutos, 60 minutos, 120 minutos e 180 minutos). Os óleos essenciais foram separados da fase aquosa e acondicionados em frascos de 5 mL, mantidos ao abrigo da luz sob refrigeração a - 4° C.

A determinação do perfil químico dos óleos essenciais foi realizada no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), as análises do perfil fitoquímico dos óleos foram realizadas em cromatógrafo a gás Thermo Scientific (modelo TRACE 1300 Series GC) equipado com detetor de ionização em chamas (DIC), espectrômetro de massas (modelo ISQ 7000) e injetor automático Triplus RSH. O injetor foi mantido a 220 °C, com vazão do gás de arraste (hélio, 99,9999% de pureza) na razão (split) de 1:20. O espectrômetro de massas (EM) operou no modo full scan, por impacto de elétrons (70 eV) e faixa de aquisição de 40 a 450m/z. A temperatura da interface foi mantida em 230°C e do detetor a 250°C.

A separação das substâncias foi realizada em coluna capilar Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm, Restek Co., Bellefonte, PA, USA), com vazão de gás de arraste de 1,0 mL.min⁻¹ no seguinte programa de temperatura: 60°C - 240°C, 3°C.min⁻¹. O software Chromeleon (Thermo Scientific-Waltham, MA, EUA) foi utilizado para aquisição e processamento dos dados. A identificação das substâncias foi efetuada por meio da análise comparativa dos espectros de massas com as bibliotecas National Institute of Standards and Technology (NIST 14); Flavour & Fragrance Natural & Synthetic Compounds (FFNSC 3) e os índices de retenção linear das substâncias (IRL) com a literatura (Adams, 2017). Os índices de retenção linear foram obtidos a partir da injeção de uma série de n-alcanos (C9- C24, Sigma-Aldrich, 99%) nas mesmas condições cromatográficas das amostras, utilizando a equação de Van den Dool e Kratz (1963).

1.2.4 Análise dos dados

Os dados de rendimento e perfil químico do óleo foram submetidos à análise de variância ($p < 0,01$), sendo as médias do processamento comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, através do programa computacional SISVAR (Ferreira,

2011) e o tempo de extração aplicado regressão, ajustando-se modelo quadrático conforme significância.

1.3. RESULTADO E DISCUSSÕES

1.3.1 Rendimento de extração dos óleos essenciais

Os dados de processamento (cones inteiros e triturados em moinho) e tempo de extração de óleos essenciais de lúpulo, variedade Fuggle, cultivado em condições subtropicais, Brasil, serão elucidados pela primeira vez neste estudo.

Por intermédio da análise de variância, observa-se que não houve interação entre os fatores: processamento da amostra e tempo de extração no rendimento de óleos essenciais ($p < 0,05$) (Tabela 1). A adoção de extração de óleos essenciais de lúpulo com cones inteiros proporcionou rendimento superior (0,6528%) quando comparado com cones triturados (0,5353%) (Tabela 1).

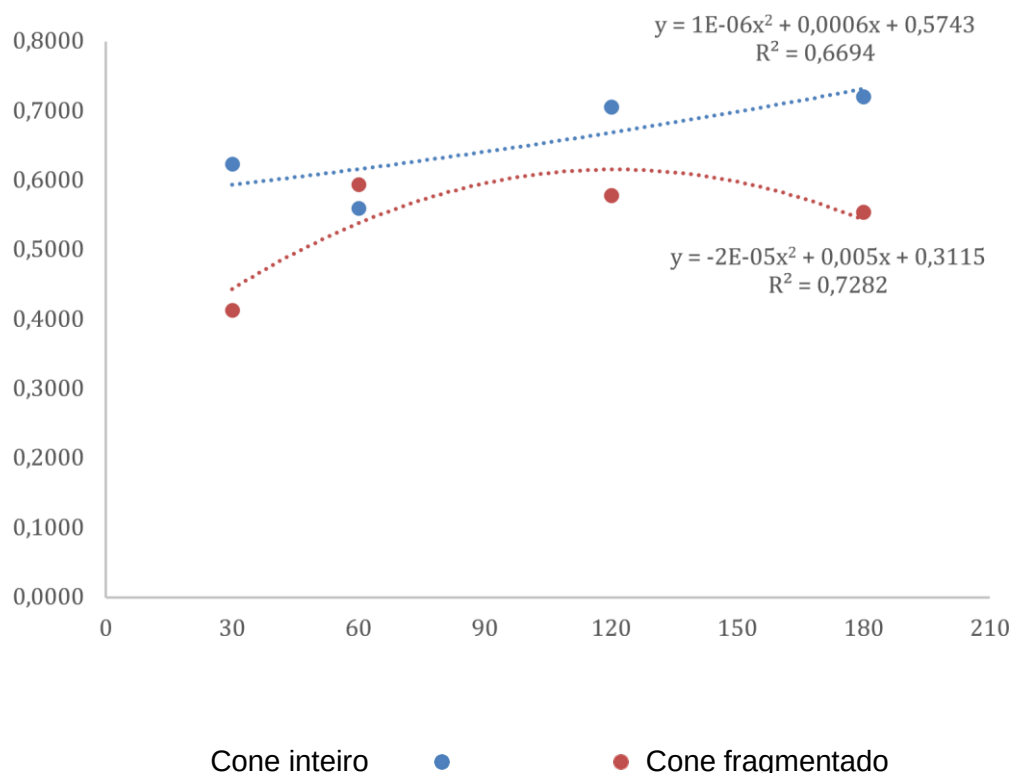
Tabela 1 - Valores médios de rendimento de óleo essencial (%) de cones de lúpulo, variedade Fuggle, em função do processamento de cones. Botucatu-SP, 2023

Tratamentos	Rendimento de OE (%)
Cones triturados	0,5353 b
Cones inteiros	0,6528 a

- As médias seguidas de letras distintas na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Em metodologias nacionais como internacionais, o tempo ideal de extração do óleo essencial tem variações, estando correspondentes entre 60 e 240 minutos. No presente estudo, cada processamento de forma isolada se ajustou ao modelo quadrático, conferindo ponto de máxima de 300 minutos (equivalente à 5 horas) e 125 minutos (equivalente à 2 horas e 5 minutos), para cones inteiros e triturados, respectivamente (Gráfico 1).

Gráfico 1: Rendimento de óleo essencial de cones de lúpulo em função do tempo de extração. Botucatu-SP, 2023.



Estudos de óleos essenciais extraídos em aparato Clevenger, semelhante ao usado neste, demonstram que o tempo de processamento de amostras para obtenção de máximo rendimento varia de acordo com a espécie e com a parte morfológica de interesse, como: 60 minutos para *Mentha x piperita* var. *citrata* (Oliveira et al., 2012); 130 minutos para *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf; 150 minutos para *Cymbopogon winterianus*; 160 minutos para *Lippia sidoides* Cham. e 230 minutos para *Eucalyptus globulus* Labill. (Ehlert et al., 2006).

Sobre o processamento, Rosa (2000) afirma que o aumento da velocidade de uma reação química está diretamente ligado a medida da área da superfície ($m^2.g^{-1}$) de contato do material, o que comumente é explicado pela teoria da superfície de contato. Quanto maior a exposição da espécie a reagentes, maior a colisão em um determinado espaço e intervalo de tempo (Godoi, 2012), ou seja, quanto mais fragmentado o material, mais rápido será a reação de extração do processo de hidrodestilação.

Todavia o resultado observado no presente trabalho vai ao encontro de inúmeros outros, como o de Govercini (2019), onde a autora afirma que a trituração aumenta a extração do óleo de extratos vegetais. Deve-se levar em consideração que os trabalhos citados são na maioria, relacionados a citros, onde as principais concentrações de óleos estão presentes nas cascas dos frutos, ou seja, estruturas morfológicas diferentes das extraídas no lúpulo.

O cone do lúpulo, que é constituído por uma raquis, na qual estão acopladas as flores e as brácteas (Spósito et al., 2019), onde são produzidos os tricomas glandulares peltados. Estes são levemente presos por um pedúnculo com apenas quatro células. Essa fragilidade faz com que a perda desses tricomas ocorram durante o manuseio na colheita e no beneficiamento (Campos, 2021). Como também, as características resinosas da lupulina, a qual adere-se com facilidade a estrutura do equipamento de moagem, aumentando a probabilidade de perda, justificando assim o maior rendimento dos cones inteiros quando comparado com os triturados.

1.3.2 Perfil fitoquímico dos óleos essenciais com enfoque nos compostos majoritários

Os fatores processamento e tempo de extração atuaram de forma independente no perfil químico dos óleos essenciais, não havendo interação entre os tratamentos. Mirceno, Germacreno, Cariofileno, Farneseno, Alfa-selineno e Beta-selineno apresentaram alterações significativas ($p < 0,01$) em função do processamento dos cones. Já em relação ao tempo de extração, as substâncias Cariofileno e o Farneseno tiveram variações nos seus conteúdos relativos (tabela 3).

Tabela 3 – Análise de variância dos compostos majoritários do perfil fitoquímico (%) de cones de lúpulo, variedade Fuggle, em função do processamento de cones. Botucatu-SP, 2023

FV	GL	Quadrados Médios						
		Mirceno	Linalool	Germacreno	Cariofileno	Farneseno	Alfa-selineno	Beta-selineno
PROC. (P)	1	34,9548**	0,0664 ^{ns}	1,1748 ^{ns}	63,6352**	857,2322**	632,6320**	357,5904**
TEMPO (T)	3	2,2280 ^{ns}	0,0721 ^{ns}	1,1613 ^{ns}	4,4916**	150,7050**	6,87701 ^{ns}	124,2472 ^{ns}
P*T	3	1,4791 ^{ns}	0,0479 ^{ns}	0,7798 ^{ns}	2,6821 ^{ns}	429,7613 ^{ns}	23,7753 ^{ns}	46,6130 ^{ns}
Resíduo Total	16 23	3,6044	1,6561	0,1845	0,7983	11,1517	10,61388	14,28765
CV (%)		34,31	27,94	34,11	24,14	23,69	45,35	59,41

Significativo ** e ^{ns} não significativo pelo teste de F a 1% de probabilidade

Discutindo de forma isolada os fatores que compõem este estudo, foi verificado que o processamento dos cones apresentou comportamento distinto para os monos e sesquiterpenos devido à diferença da estrutura e o perfil volátil. Ao realizar a fragmentação dos cones, aumenta-se a área de contato do material vegetal com a água durante a hidrodestilação, facilitando a extração dos sesquiterpenos (cariofileno, farneseno, α -selineno e β -selineno). Já para o monoterpene, neste caso o mirceno, o menor rendimento nos cones triturados se dá pelo fato de ocorrer perda na concentração já no processo de fragmentação do material em função da sua fácil volatilização (tabela 4).

Tabela 4 – Valores médios dos compostos majoritários do perfil fitoquímico (%) de cones de lúpulo, variedade Fuggle, em função do processamento de cones. Botucatu-SP, 2023

Tratamento	Mirceno	Cariofileno	Farneseno	Alfa-selineno	Beta-selineno
Cones triturados	19,2175 b	5,3300 a	8,0564 a	12,3175 a	10,2225 a
Cones inteiros	50,6625 a	2,0733 b	20,1341	2,0491 b	2,5025 b

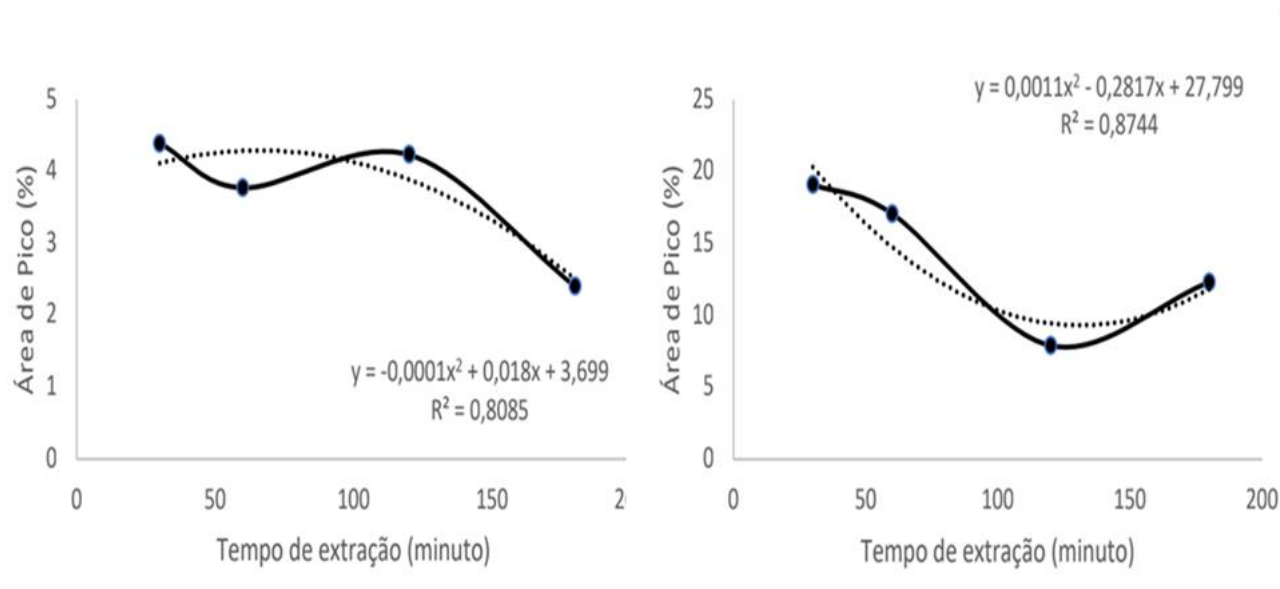
As médias seguidas de letra distinta na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Os componentes predominantes do óleo essencial do lúpulo, assim como da variedade Fuggle, são os monoterpenos e os sesquiterpenos. O grupo dos monoterpenos que tem como exemplo encontrados nesse trabalho o Mirceno e o Linalol, possuem uma estrutura com 10 carbonos, ou seja, compostos menores, mais leves quando comparados com os sesquiterpenos. Estes são formados por três unidades isoprênicas, somando um total de 15 carbonos ou mais em sua cadeia, fazendo com que sejam maiores e mais pesados que os monoterpenos. São exemplos de sesquiterpenos os Farneseno, Cariofileno, Garmacreno, alfa e beta-selineno.

A diferença nas cadeias de carbono dos compostos, muda o ponto de ebulição delas. Ou seja, quanto mais carbonos, maior será a área de superfície, aumentando a atração das moléculas, consequentemente aumenta a necessidade de energia para a separação delas.

Já para o fator tempo de extração, temos Cariofileno e Farneseno mostrando-se sensível a esta variação. Para verificação do comportamento destes sesquiterpenos, foram ajustados modelos quadráticos, tendo o tempo ideal de extração para obtenção da maior concentração do (E)-Cariofileno de 90 minutos (uma hora e meia) e 128 minutos (aproximadamente duas horas) para Farneseno, conforme apresentado nos gráficos abaixo (gráfico 2).

Gráfico 2 – Teor de Cariofileno e Farneseno no óleo essencial de cones de lúpulo em função do tempo de extração. Botucatu-SP, 2023



Essa diferença de tempo de extração está ligada diretamente estrutura de suas cadeias. Mesmo ambos fazendo parte do grupo dos sesquiterpenos, o Farneseno apresenta uma estrutura cíclica mais complexa constituída de três anéis isoprenoides já o Cariofileno apenas um anel.

1.4 CONCLUSÃO

Com base nos dados coletados e analisados nesse estudo, pode-se concluir que os fatores processamento dos cones e do tempo de extração através da hidrodestilação no rendimento dos óleos e em seu perfil químico atuam de forma independente. Sendo assim, ao avaliar o rendimento do óleo em relação as condições físicas do cone, aqueles que não foram submetidos ao processo de trituração, apresentaram valores maiores.

Observando o perfil químico, cada grupo de compostos encontrados apresentam um comportamento próprio de acordo com as circunstâncias em que foram submetidos. Os sesquiterpenos, apresentaram uma concentração maior nos

cones triturados quando comparado com os cones inteiros, e os monoterpenos apresentaram resultado oposto, tendo uma concentração maior nos cones inteiros. Esses comportamentos divergentes são justificados pela quantidade de carbonos em suas estruturas.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, Robert P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 online ed. Texensis Publishing, 2017.
- ALMAGUER, C.; SCHONBERGER, C.; GASTL, M.; ARENDT ELKE K.; BECKER, T. Humulus lupulus – a story that begs to be told. A review. Journal of the Institute of Brewing, n. 120, p. 289-314, 2014. DOI: 10.1002./jib.160.
- ALMEIDA, Juliana. ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DE VARIEDADES DE LÚPULO (Humulus lupulus L.) CULTIVADAS NO BRASIL POR CROMATOLOGRAFIA GASOSA UNI E BIDIMENSIONAL. 2020. Dissertação (Mestrado em Horticultura) - Unesp/FCA, [S. l.], 2020. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/192720/almeida_jm_me_botfca_int_su_b.pdf?sequence=11. Acesso em: 26 mar. 2023.
- BICCHI, C.; JOULAIN, D. Techniques for preparing essential oils and aromatic extracts. Flavour and Fragrance Journal, v. 33, p. 133-134, 2018. DOI: 10.1002/ffj.3433.
- BOCQUET L.; SAHPAZ, S.; HILBERT, J. L.; RAMBAUD C.; RIVIERE, C. Humulus lupulus L., a very popular beer ingredient and medicinal plant: overview of its phytochemistry, its bioactivity, and its biotechnology. Phytochemistry Reviews, v. 17, n. 5, p. 1047-1090, 2018. DOI: 10.1007/s11101-018-9584-y.
- CAMPOS., O. CONTRIBUIÇÕES AGRONÔMICAS AO CULTIVO DO LÚPULO: Densidade de estruturas secretoras e histoquímica de variedades sob manejo convencional e orgânico e rendimento de óleo essencial. Orientador: Prof. Dr. Filipe Pereira Giardini Bonfim. 2021. 19 f. Pré-Projeto (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, [S. l.], 2021
- CASTRO, J. P.; MORAIS, J. S.; RODRIGUES, M. A. Macrozonagem da Aptidão do Solo para a Cultura do Lúpulo no Distrito de Bragança. 2015. Jornadas de lúpulo e cerveja: Novas oportunidades de negócio: livro de atas. Bragança: Instituto Politécnico de Bragança, In: RODRIGUES, M. A.; MORAIS, J. S.;
- COSTA, L.C.B.; CORRÊA, R.M.; CARDOSO, J.C.W.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; FERRI, P.H. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. Horticultura Brasileira, Brasília, v.23, n.4, p.956-959, out-dez 2005.
- CUNHA A.R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. Irriga v.14: p. 1-11, 2009.

EHLERT, P.A.D. et al. Tempo de hidrodestilação na extração de óleo essencial de sete espécies de plantas medicinais. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, v.8, n.2, p.79-80, 2006.

EYRES, G.; DUFOUR J. P. Hop Essential Oil: Analysis, Chemical Composition and Odor Characteristics. In: *Beer in health and Disease Prevention*. Department of Food Science, University of Otago, Dunedin, New Zealand: Elsevier, p. 239- 254, 2009. ISBN: 978-0-12-373891-2. EYRES, G. T.; MARRIOTT, P. J.; DUFOUR, J. P. Comparison of odor-active compounds in the spicy fraction of hop (*Humulus lupulus* L.) essential oil from four different varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, n.15, 2007.

ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.8, n.15; p.2039

FIGUEIREDO, Bruna. Caracterização química dos óleos essenciais de *Lavandula angustifolia* e *Lavandula dentata*, ensaios “in vitro” e aplicação em nanoemulsões. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Unesp Araraquara, [S. l.], 2012. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/191229/figueiredo_bk_me_arafcf_int.pdf?sequence=5. Acesso em: 26 mar. 2023.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia, Lavras*, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FORTUNA, Gabriel. Desempenho agrônomo e fitoquímico de variedades de lúpulo produzidas em condições tropicais sob manejo orgânico e convencional. 2021. Tese Doutorado (Doutorado em Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônomicas UNESP, [S. l.], 2021. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/217246>. Acesso em: 7 ago. 2022.

GODOI, Glauber. Cinética Química. AVALIAÇÃO DOS FATORES QUE INFLUENCIAM A VELOCIDADE DAS REAÇÕES QUÍMICAS: PRESENÇA DE CATALISADOR E SUPERFÍCIE DE CONTATO., [s. l.], 2012. Disponível em: https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalogo/11410516022012Cinetica_Quimica_Aula_12.pdf. Acesso em: 2 out. 2022.

GOVERNICI, J. L. Influência da temperatura do ar de secagem e da fragmentação dos frutos no rendimento de óleo essencial de pimenta-rosa. 2019. 29 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2019.

JUSTEN, Denize. Composição química do óleo essencial de *Humulus Lupulus* L. 2019. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia Agroindustrial) - Universidade Federal do Rio Grande, [S. l.], 2019.

KORPELAINEN, H., PIETILAINEN, M. Hop (*Humulus lupulus* L.): Traditional and Present Use, and Future Potential. *Econ Bot* 75, 302–322 (2021). <https://doi.org/10.1007/s12231-021-09528-1> Acesso em: 13 fev 2023.

OLIVEIRA, A.R.M.F. et al. Determinação do tempo de hidrodestilação e do horário de colheita no óleo essencial de menta. *Horticultura Brasileira*, v.30, p.155-159, 2012.

MOIR, M.: Hops - A Millennium review. *J. Soc. Brew. Chem.*, 58, 2000, 131- 146

NAVARRETE, A.; WALLRAF, S.; MATO, R. B.; COCERO, M. J. Improvement of Essential Oil Steam Distillation by Microwave Pretreatment. *I&EC Research*, v. 50, p. 4667-4671, 2011.

PAVIANI, T. C. Extração com CO₂ a altas pressões e fracionamento do óleo essencial de capim-limão utilizando peneiras moleculares. 2004. 92 f. Dissertação (Mestrado) – Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim-RS, 2004.

PERAGINE, J. Growing your own hops, malts, and brewing herbs. Ocala: Atlantic, 2011.

PINHEIRO, A. L. Produção de Óleos Essenciais, Viçosa: CPT, 2003.

ROSA, A. Substâncias húmicas de turfa: estudo dos parâmetros que influenciam no processo de extração alcalina. *Quím. Nova*, [s. l.], 2000. DOI <https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000400008>.
<https://www.scielo.br/j/qn/a/DzS5wxvt8zDHfXHnbMJsrSb/?lang=pt>. Acesso em: 7 set. 2022

SHARP, F. R.; LAWS, D. R. J. The essential oil of hops - A Review. *Journal of the Institute of Brewing*, v. 87, p. 96-107, 1981.

SIANI, A. C.; SAMPAIO, A. L. F.; SOUSA, M. C.; HENRIQUES, M. G. M. O.; RAMOS, M. F.S. Óleos essenciais. v. 3, n. 16, p. 38-43, 2000.

SPÓSITO, M.B. et al. A cultura do lúpulo. Piracicaba: Editora da ESALQ, 2019.

VAN DEN DOOL, H. A. N. D.; KRATZ, P. Dec. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. 1963.

VENSKUTONIS, P.R. Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris*) And sage (*Salvia officinalis* L.). *Food Chemistry*, v.59, n.2, p.219-277, 1997.

ZHELJAZKOV, V.D. et al. Distillation time effect on lavender essential oil yield and composition. *Journal of Oleo Science*, v.62, n.4, p.195-199, 2013.

CAPÍTULO 2

TEMPO DE ARMAZENAMENTO NA ESTABILIDADE DOS COMPOSTOS DE AROMA E AMARGOR DE CONES DE LÚPULO

RESUMO

O lúpulo é um dos principais ingredientes na fabricação de cervejas. O interesse está nas inflorescências femininas, as quais produzem a lupulina. Um pó resinoso onde é sintetizado substâncias como alfa e beta ácidos e os óleos essenciais, esses compostos são os responsáveis por levar características de aroma, amargor e estrutura para as cervejas. Esses compostos são desenvolvidos pela planta através da interação do genótipo e relação com o ambiente e meios de produção. Mesmo alcançando uma produção adequada, o cuidado na pós-colheita é essencial para obter-se um produto de qualidade, visto que os compostos são altamente propícios à volatilização. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o tempo de estabilidade dos compostos de aroma e amargor sob as condições de armazenamento dos cones em embalagens a vácuo e refrigerado. Para tanto foram coletados do campo experimental instalado no Pomar Didático da FCA/UNESP – Botucatu– SP, em condições subtropicais, amostras de cones no ponto de maturidade fisiológica adotado um delineamento experimental inteiramente casualizado. A extração dos óleos essenciais foi realizada no Laboratório de Plantas Medicinais, no Departamento de Horticultura da UNESP - FCA, Botucatu – SP. O material coletado, foi secado método de estufa na temperatura de 40°C, até os cones atingirem cerca de 10% de umidade. O óleo essencial foi obtido pelo método de hidrodestilação em aparato tipo Clevenger, utilizando balão de 2L contendo 1L d'água deionizada junto ao material vegetal. As análises da composição química dos óleos essenciais foram realizadas em cromatógrafo a gás Thermo Scientific (modelo TRACE 1300 Series GC) equipado com detector de ionização em chamas (DIC), espectrômetro de massas (modelo ISQ 7000) e injetor automático Triplus RSH. A determinação dos teores de alfa- e beta-ácidos foi realizada a partir da extração dos ácidos da amostra de lúpulo seguida de análise espectrofotométrica em três comprimentos de onda. O perfil químico averiguado da variedade Fuggle está dentro dos parâmetros da literatura, sendo o monoterpeno Mirceno o de maior área relativa. O armazenamento a vácuo e em baixa temperatura

manteve o perfil fitoquímico até o dia 120. A degradação do alfa-ácido inicia-se aos 68 dias e os beta-ácidos aos 170 dias de armazenamento.

Palavras-chaves: estocagem; variedade Fuggle; óleo essencial; alfa-ácidos; beta-ácidos.

ABSTRACT

Hops are one of the main ingredients in brewing beer. The interest is in the female inflorescences, which produce lupulin. A resinous powder where substances such as alpha and beta acids and essential oils are synthesized, these compounds are responsible for bringing characteristics of aroma, bitterness, and structure to beers. These compounds are developed by the plant through the interaction of the genotype and relationship with the environment and means of production. Even achieving adequate production, post-harvest care is essential to obtain a quality product, since the compounds are highly prone to volatilization. The objective of the present work was to evaluate the stability time of the aroma and bitterness compounds under the storage conditions of the cones in vacuum and refrigerated packaging. For this purpose, samples of cones at the point of physiological maturity were collected from the experimental field installed at the FCA/UNESP – Botucatu– SP, in subtropical conditions, using a completely randomized experimental design. The extraction of essential oils was carried out in the Medicinal Plants laboratory, in the Horticulture department of UNESP - FCA, Botucatu – SP. The collected material was dried in an oven at a temperature of 40°C, until the cones reached about 10% moisture. The essential oil was obtained by the hydrodistillation method in a Clevenger-type apparatus, using a 2L flask containing 1L of deionized water together with the plant material. Analyses of the chemical composition of essential oils were carried out using a Thermo Scientific gas chromatograph (model TRACE 1300 Series GC) equipped with a flame ionization detector (FID), mass spectrometer (model ISQ 7000) and an automatic Triplus RSH injector. The determination of alpha- and beta-acids content was carried out from the extraction of acids from the hop sample followed by spectrophotometric analysis at three wavelengths. The verified chemical profile of the Fuggle variety is within the parameters of the literature, with the monoterpene Myrcene

having the largest relative area. Storage under vacuum and at low temperature kept the compounds up to day 120. Alpha-acid degradation starts at 68 days and beta-acids at 170 days of storage.

Keywords: storage; Fuggle variety; essential oil; alpha acids; beta acids.

2.1 INTRODUÇÃO

O *Humulus lupulus* L. é o nome científico do lúpulo, pertencente à ordem das Rosales e à família Cannabaceae (ALMAGUER et al., 2014). O gênero *Humulus* é composto por três espécies, *H. lupulus*, *H. japonicus* e *H. yunnanensis*, destas, apenas o *H. lupulus* e o *H. japonicus* são cultivadas em larga escala com finalidade comercial (Almaguer et al., 2014; Neve, 1991). O lúpulo é um dos principais ingredientes utilizado na fabricação da cerveja, sendo a indústria cervejeira responsável por 98% do uso mundial da planta (Moir, 2000). O interesse comercial pelo lúpulo se dá pelas plantas femininas, cujas inflorescências produzem a lupulina. As variedades podem ser classificadas de acordo com a sua principal contribuição na fabricação das cervejas sendo: aroma, amargor ou aroma e amargor (Reis, 2019).

A lupulina é um pó resinoso de coloração amarelo-dourado, rico em substâncias como resinas constituídas por alfa e beta ácidos, polifenóis e óleos essenciais (Rettberg, et al., 2018) que conferem características de amargor, aroma e estabilidade coloidal da espuma da cerveja. Além de conter ações antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatórios e outras bioatividades (Schonberger; Kostecky, 2011).

Para atingir um produto de qualidade, o qual atenda às necessidades dos consumidores, é de suma importância atentar-se às demandas da planta no campo, já que as condições de produção estão diretamente ligadas a formação dos teores de compostos ativos responsáveis pelas características desejadas pelas cervejarias (Paviani, 2004). Mesmo com a existência de um controle genético, a expressão dos metabólitos especializados pode sofrer modificações resultantes da interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos (Lindroth et al., 1987). De

fato, os metabólitos apresentam uma interface química entre as plantas e o meio, logo, sua síntese é frequentemente afetada por condições ambientais (Kutchan, 2001).

Diante dessas intervenções das condições da produção na qualidade do produto, vem uma demanda de desenvolvimento de tecnologias para a produção do lúpulo nacional, além da capacitação de profissionais e produtores. Essa necessidade vem também de um apelo principalmente do mercado micro e médio cervejeiro. Esses procuram um insumo nacional que apresentem padrões de qualidade tanto quanto os internacionais (Mongelli et al., 2016).

Além da produção, outro ponto importante da cadeia que requer uma atenção para que seja atingido um nível de qualidade é a o processo de pós-colheita. Depois que coletado os cones do campo, os processos fisiológicos e fatores ambientais iniciam a degradação dos cones. Um recurso que pode ser adotado para retardar esse processo de senescência, aumentando o tempo de vida, é a adoção de tecnologias de armazenamento e conservação no processo de pós-colheita (Sonego, 1995).

Uma tecnologia que vem sendo muito utilizada é a embalagem a vácuo, a qual constitui a redução da pressão parcial dos gases atmosféricos, sendo o oxigênio presente em maior concentração desses gases dentro da embalagem. A relevância em realizar a retirada principalmente do oxigênio, é diminuir ou cessar o processo de oxidação do material contido na embalagem (Rocha, 2005).

Essa é a etapa que engloba desde a colheita até a comercialização. Se não realizada adequadamente, o produto pode vir a sofrer deteriorações das características adquiridas através de uma boa produção, não atingindo as exigências dos consumidores, levando a perda do produto (Lindroth et al., 1987). Sendo assim, é de extrema importância o desenvolvimento de novas tecnologias e manejos adequados para que o produto mantenha sua qualidade dentro do tempo de comercialização. O intuito desse trabalho é avaliar o tempo de prateleira possível, assegurando a qualidade do produto até o final da cadeia.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Área experimental e condições de cultivo

O experimento foi implantado no “Pomar Didático”, do Departamento de Horticultura pertencente à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, Campus Botucatu. A área experimental está localizada no município de Botucatu-SP, situada entre os paralelos 22° 30' a 23° 05' de latitude Sul e os meridianos 48° 15' a 48° 52' de longitude W Gr e altitude média de 800 m. Segundo Köppen (1948), clima classificado como mesotérmico de inverno seco (Cwb), com temperatura média anual de 19,4° C e precipitação pluviométrica média anual de 1314 mm (Cunha e Martins, 2009). O solo onde o experimento foi conduzido é classificado como Latossolo Vermelho Escuro e suas características químicas foram definidas através de análise de solo.

Para condução do lúpulo foi utilizado postes de eucalipto com altura exposta fora do solo de 6m, em cada poste foram usados como esteio e dois mourões em diagonal. Cabos de aço conectados os postes formando um quadrado, e arames presos nos cabos e esticados paralelamente as linhas de plantio, com 1m de distância entre eles, para fazer a condução das plantas em “V” até os arames, com auxílio de cordas de sisal, sendo, portanto, puxados dois fios por planta, selecionando os ramos mais vigorosos e com a forma hexagonal (Peragine, 2011).

Foto 1 - Área experimental do lúpulo e condução das plantas em V. Botucatu-SP, 2022.



Fonte: Victoria Trevisan, 2022

Para preparo do solo foi realizada escarificação a 40cm, seguida de uma aração e gradagem. A correção e adubação foi realizada de acordo com a necessidade observada na análise de solo bem como requerimento de nutrientes estabelecidos para cultura em outras localidades. Para correção do solo foi usado calcário e gesso, para adubação de plantio foram aplicados 2 kg/metro linear de esterco bovino curtido no sulco, superfosfato triplo e Yoorin master®.

Para a primeira safra foi realizada a adubação de cobertura nitrogenada com nitrato de cálcio e uréia, a adubação potássica com cloreto de potássio, e a de micronutrientes com MIB®. Para controle fitossanitário, diante de infestação de ácaro rajado foram feitas aplicações de Abamex® (Abamectina). Para controle de formigas foi aplicado nos olheiros encontrados Regent® (Fipronil). Para combate de oídio (*Podosphaera macularis*) foi realizada pulverização de Folicur® (Tecobunazol). Na segunda safra a adubação de cobertura nitrogenada seguiu com nitrato de cálcio e

ureia, foi também adicionado cama de frango, a adubação potássica com cloreto de potássio, e a de micronutrientes com MIB®. Foi também feita a adubação boratada com ácido bórico, adubação foliar com sulfato de zinco. O controle fitossanitário de ácaro e formiga foi idêntico ao da primeira safra, houve ocorrência de lagartas que foram controladas com Dipel® (*Bacillus thuringiensis*).

O plantio das mudas da variedade Fuggle foi realizado em outubro de 2019 em covas, em espaçamento 3,0 m x 1,0 m. Foram semeadas nas entrelinhas do lúpulo, espécies de adubação verde: amendoim forrageiro (*Arachis pintoi*) e a *Crotalaria breviflora* no verão, e a aveia preta (*Avena strigosa*) e nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) no inverno. Essa adubação foi realizada em todas as safras duas vezes ao ano. Ao chegarem no ponto da iniciação floral, essas plantas foram roçadas e incorporadas ao solo ou utilizadas como cobertura morta nas linhas e entrelinhas.

A irrigação adotada foi por gotejamento, com duas linhas de fita gotejadora em cada linha de plantio, com espaçamento entre os emissores de 0,5m e 0,3m entre as fitas. As plantas espontâneas eram controladas semanalmente de forma mecânica, com o uso de roçadeira ou trator, capina com enxada ou manual e seletiva. Durante a fase de condução, foram podados os ramos que não foram selecionados para serem conduzidos, e os ramos identificados como ladrões. Na fase da colheita, as plantas foram podadas rentes ao solo, iniciando o processo de dormência no inverno.

Para a determinação do ponto ideal de colheita, foram utilizados parâmetros sensoriais qualitativos junto ao parâmetro quantitativo. Sendo os qualitativos, apertar os cones com as mãos e verificar se estão secos ao tato, ouvir o som de papel manteiga amassando, verificar se as pontas das brácteas estão ligeiramente inclinadas, a lupulina deve estar com aspecto amarelo sólido, o cone deve destacar-se facilmente da planta, ao esfregar o cone nas mãos, as brácteas começam a se soltar dentro de 5 segundos, o aroma não pode estar gramíneo (sinal que indica que ainda não está no ponto de colheita). Indicativos como, odor acebolado e cones amarelos são indicativos de que se passou o ponto de colheita.

Já os parâmetros quantitativos, foram coletados de 4 a 6 cones das partes inferior, média e apical da planta, colocando dentro de um saco fechado. Rapidamente esses cones foram levados ao laboratório para serem pesados em uma balança digital de duas casas decimais, obtendo assim o peso fresco dos cones. Depois estes foram

colocados no micro-ondas por 1 (um) minuto, e pesados novamente. Esse processo foi repetido até o valor estabilizar, determinando assim o peso seco do cone (Fortuna, 2021).

Obtendo esse valor, foi realizada a conta $(\text{peso seco/peso fresco}) \times 100 =$ matéria seca. A percentagem para determinar o ponto de colheita é entre 20 e 33%. Após a colheita das plantas na área experimental, estas foram levadas ao laboratório de Plantas Medicinais, no departamento de Horticultura da UNESP - FCA, Botucatu – SP, onde as inflorescências foram destacadas da estrutura vegetativa da planta e levadas à estufa para secagem a 40°C por 24 horas até atingir o ponto entre 8 e 10% de umidade.

2.2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, composto por quatro tratamentos, caracterizado por tempos de armazenamentos (30, 60, 90, 120 dias), contendo 4 repetições, totalizando 16 parcelas experimentais. A parcela foi constituída de 50g de cones secos embalados à vácuo, armazenados sob refrigeração a - 4°C ao abrigo de luz para a extração dos óleos. Já para a extração dos ácidos alfa e beta, cada parcela foi constituída de 15g de cones secos embalados a vácuo, armazenados sob refrigeração a - 4oC ao abrigo de luz.

2.2.3 Extração e processamento

O material coletado, foi secado em estufa de ar forçado na temperatura de 40oC, até os cones atingirem cerca de 10% de umidade. O óleo essencial foi obtido pelo método de hidrodestilação em aparato tipo Clevenger, utilizando balão de 2L contendo 1L d'água deionizada junto ao material vegetal durante 3 horas após a fervura. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo o fator qualitativo comparado pelo teste Tukey a 5% de probabilidade e o fator quantitativo por análise de regressão, através do programa Sisvar 5.6.

2.2.4 Identificação do perfil fitoquímico

A determinação do perfil químico dos óleos essenciais foi realizada no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). As análises da composição química dos óleos essenciais foram realizadas em cromatógrafo a gás Thermo Scientific (modelo TRACE 1300 Series GC) equipado com detector de ionização em chamas (DIC), espectrômetro de massas (modelo ISQ 7000) e injetor automático Triplus RSH. O injetor foi mantido a 220 °C, com vazão do gás de arraste (hélio, 99,9999% de pureza) na razão (split) de 1:20. O espectrômetro de massas (EM) operou no modo full scan, por impacto de elétrons (70 eV) e faixa de aquisição de 40 a 450 m/z. A temperatura da interface foi mantida em 230°C e do detector a 250°C.

A separação das substâncias foi realizada em coluna capilar Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm, Restek Co., Bellefonte, PA, USA), com vazão de gás de arraste de 1,0 mL.min⁻¹ no seguinte programa de temperatura: 60°C - 240°C, 3°C.min⁻¹. O software Chromeleon (Thermo Scientific-Waltham, MA, EUA) foi utilizado para aquisição e processamento dos dados. A identificação das substâncias foi efetuada por meio da análise comparativa dos espectros de massas com as bibliotecas National Institute of Standards and Technology (NIST 14); Flavour & Fragrance Natural & Synthetic Compounds (FFNSC 3) e os índices de retenção linear das substâncias (IRL) com a literatura (ADAMS, 2017). Os índices de retenção linear foram obtidos a partir da injeção de uma série de n-alcanos (C9-C24, Sigma-Aldrich, 99%) nas mesmas condições cromatográficas das amostras, utilizando a equação de Van den Dool e Kratz (1963).

2.2.5 Determinação de alfa e beta ácidos

A extração dos ácidos foi realizada utilizando-se amostras de 2,5 g de lúpulo (moído em pó fino) que foi adicionada a 50,0 mL de metanol. A mistura sofreu agitação por 30 min em temperatura ambiente seguido de repouso de 10 min. Em seguida, foi realizado filtração em membrana millipore (0,45 µm) para remoção do material particulado. Uma alíquota de 50 µL do filtrado foi colocada em balão volumétrico de 25 mL e o volume foi completado com a solução extratora NaOH metanólica (0,5 mL

de 6M NaOH em 250 mL de metanol). O resultante desta solução foi colocado em cubeta de quartzo de percurso óptico de 1 cm para a avaliação no espectro UV visível, usando como branco 50 µL de metanol em 25 mL de NaOH metanólico. Os valores de absorbância foram obtidos para os comprimentos de onda de 275, 325 e 355 nm. A partir destas leituras foram determinados: teor de alfa-ácido (%) = $[(-51,26 * A_{355nm}) + (73,79 * A_{325nm}) - (19,07 * A_{275nm})]$; e teor de beta-ácido (%) = $[(55,27 * A_{355nm}) - (47,59 * A_{325nm}) + (5,1 * A_{275nm})]$; em que: A = leitura da absorbância em cada comprimento de onda. (EGTS et al., 2012)

2.2.6. Análise dos dados

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ($p < 0,01$), através do programa computacional SISVAR (Ferreira, 2011) e o tempo de armazenamento foi aplicado regressão, ajustando o modelo para linear ou quadrático, conforme significância.

2.3 RESULTADO E DISCUSSÕES

A avaliação do tempo de vida útil (tempo de prateleira) de um produto pode ser realizada a partir da observação e análise de algum parâmetro de acordo com o tempo decorrido (Nimubona et al., 2013). A taxa de envelhecimento para uma variedade particular é medida utilizando o índice de guarda do lúpulo (HopStorage Index – HSI), desenvolvido em 1979 por Nickersen e Likens e representa a quantidade de alfa ácidos que potencialmente serão perdidos no período de 6 meses, quando o lúpulo é armazenado a uma temperatura constante de 20°C (Tedone et al., 2020).

Neste estudo serão acompanhados o teor de alfa- ácidos e beta-ácidos e perfil fitoquímico do óleo essencial. Por intermédio da análise de variância ($p < 0,01$) conclui-se que os compostos de amargor do lúpulo, alfa e beta-ácidos, são sensíveis ao tempo de armazenamento nas condições deste estudo (tabela 1).

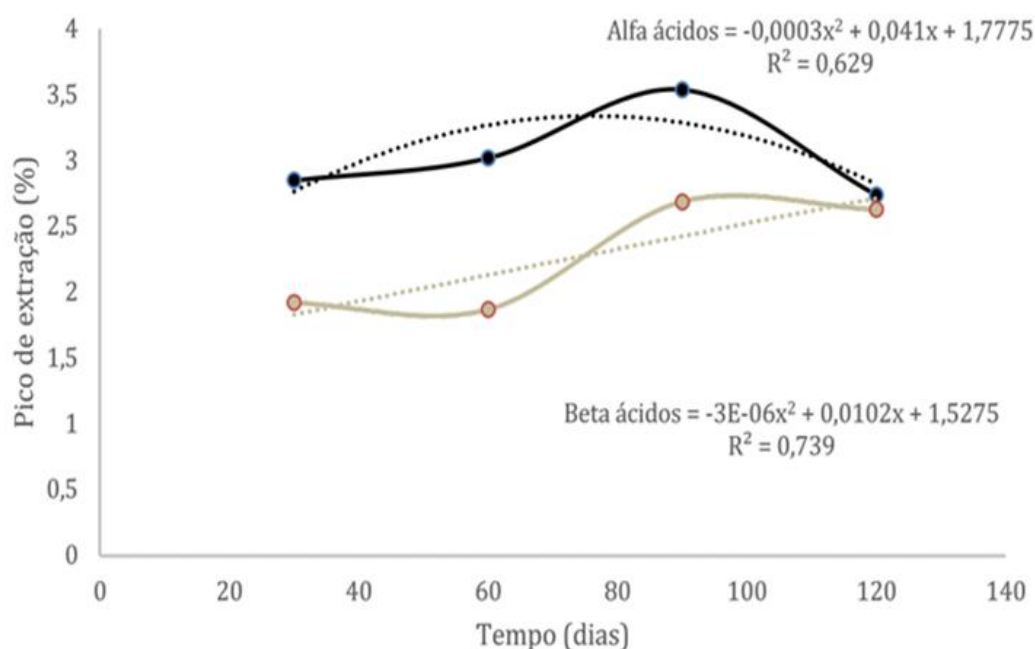
Tabela 1 – Análise de variância do teor de alfa-ácidos e beta-ácidos de cones de lúpulo, variedade Fuggle, em função do armazenamento dos cones. Botucatu-SP, 2023

FV	GL	Alfa-ácidos	Beta-ácidos
Tratamento	3	0,4994**	0,7831**
Resíduo	12	0,0000	0,0000
Total	15		
CV (%) =		0,04	0,06

** Significativo pelo teste de F a 1%

Para avaliação do efeito de estocagem do lúpulo nos compostos de amargor, foram ajustados modelos quadráticos conforme significância. Para o alfa-ácidos, o ponto de máxima se deu aos 68 dias, o que condiz com o trabalho de Veríssimo (2022), onde foi observado o início de degradação de alfa-ácidos de lúpulos armazenados em ambiente anaeróbico e de temperatura -10 °C, condições semelhantes ao presente trabalho, já nos primeiros dois meses de armazenamento. Já o beta-ácidos teve-se ponto de máxima em 170 dias, valor dentro do tempo citado na literatura de 180 dias (Emater-DR, 2021).

Gráfico 1 – Teor de alfa e beta-ácidos de cones de lúpulo em função do tempo de armazenamento. Botucatu-SP, 2023



Os alfa-ácidos são compostos resinosos presentes no lúpulo, como a Humulona. Eles possuem uma estrutura química suscetível a oxidação e degradação mais rápida quando comparado com o grupo de compostos do beta-ácidos, sendo esses mais estáveis. (Weckl, 2016) Ao observar os valores encontrados na quantificação dos alfa-ácidos e beta-ácidos, vimos que aproximadamente todos os valores obtidos estão dentro dos padrões citados na literatura, segundo Lohmann (2021) os teores encontram-se em uma média de 2 a 15% da matéria seca do lúpulo.

Quando comparado com a variedade Fuggle americana, segundo o Variety Manual Hops Growers of America (2016) os valores estão entre 4,0-5.5%. A percentagem de alfa-ácidos da Fuggle produzida no Brasil apresenta um valor menor, como visto no trabalho de Green (2013), que obteve médias entre 4,19 e 7,43% de alfa-ácido e 2,47 a 3,53% de beta-ácidos em amostras de Fuggle, em diferentes safras. Essa diferença é esperada, visto que a produção de lúpulos nacionais ainda não atingiu padrões qualitativos e quantitativos do hemisfério norte.

Os resultados apresentados no presente trabalho se assemelham com os dados apresentados por Durello (2019), onde os valores de alfa ácidos e beta ácidos dos lúpulos produzidos em solo brasileiro se distanciam dos valores comuns vistos na literatura. Essa diferenciação pode ser relacionada as condições climáticas e geográficas, processamento e manejos adotados no campo.

Quanto ao perfil fitoquímico dos óleos essenciais em função do tempo de armazenamento não foram observadas variações significativas ($p < 0,01$), ou seja, o tempo de estocagem não altera os compostos aromáticos do lúpulo (tabela 2).

Tabela 2 – Análise de variância do teor de dos compostos majoritários de cones lúpulo, variedade Fuggle, em função do tempo de armazenamento. Botucatu-SP, 2023.

FV	GL	Quadrados Médios					
		β- Pineno	Mirceno	Linalol	n-Nonanal	2-decanone	Undecanone
Tempo	3	0,2217 ^{ns}	470,804 ^{ns}	0,0334 ^{ns}	0,0778 ^{ns}	0,0160 ^{ns}	0,4764 ^{ns}
Resíduo	12	0,035 ^{ns}	183,65 ^{ns}	0,0356 ^{ns}	0,0847 ^{ns}	0,0173 ^{ns}	0,0992 ^{ns}
Total	15						
CV (%)		34,31	43,80	73,51	45,89	34,94	53,45

** Significativo e ^{ns} não significativo pelo teste F a 1% de probabilidade.

FV	GL	Quadrados Médios					
		4-decenoato de metila	(E)-cariofileno	α-trans-bergamoteno	α-farneseno	β-selineno	α-selineno
Tempo	3	0,0216 ^{ns}	7,7204 ^{ns}	0,6029 ^{ns}	484,851 ^{ns}	45,7842 ^{ns}	64,1643 ^{ns}
Resíduo	12	0,0114 ^{ns}	4,0524 ^{ns}	0,1936 ^{ns}	74,1825 ^{ns}	8,4461 ^{ns}	27,1509 ^{ns}
Total	15						
CV (%)		61,53	39,39	45,96	43,70	27,71	45,31

** Significativo e ^{ns} não significativo pelo teste F a 1% de probabilidade.

Na análise do perfil químico, pode-se verificar os compostos presentes, em porcentagem média de área do pico, que foram identificados e comparados os índices de Kovats calculados com os índices da literatura, em todas as repetições dos tratamentos (tabela 3).

Tabela 3 – Identificação e quantificação dos compostos presentes no lúpulo, variedade Fuggle, em função do tempo de armazenamento. Botucatu-SP, 2023

Nome Composto	IRk Cal.	IRk. Lit	Área de Pico (%)			
			T1	T2	T3	T4
Mirceno	992	988	24,505	46,682	29,495	23,080
β -pineno	984	974	0,247	0,752	0,322	0,595
Linalool	1106	1095	0,322	0,277	0,305	0,122
n-Nonanal	1113	1100	0,457	0,605	0,678	0,787
2-Decanona	1199	1190	0,377	0,292	0,445	0,392
2-Undecanona	1300	1291	0,650	0,432	0,675	0,600
4-Decenoato de metila	1314	1291	0,182	0,070	0,242	0,200
(E)-Cariofileno	1425	1417	5,477	3,307	6,657	5,000
α -trans-bergamoteno	1436	1432	28,992	14,545	6,645	28,660
β -farneseno	1456	1440	1,230	0,387	1,175	1,040
β -selineno	1496	1489	12,587	5,432	11,897	12,032
α -selineno	1503	1498	11,380	5,952	15,135	13,530
Intermedeol	1637	1658	0,667	0,187	0,587	0,702

T1 – 30 dias de armazenamento. T2 - 60 dias de armazenamento. T3 - 90 dias de armazenamento. T4 - 120 dias de armazenamento.

Os compostos observados nos tempos de armazenamento estão de acordo com os padrões apresentados na literatura, assim como suas percentagens estão dentro do padrão. Análogo aos dados apresentados por Farag (2012), onde ele propõe que os principais compostos de aroma do lúpulo (monoterpenos e sesquiterpenos) são o Mirceno (30-50%), Humuleno (15-25%) e o Cariofileno. No presente trabalho, o componente Humuleno não foi destacado entre os majoritários, pois foram detectadas em concentrações pouco relevantes quando comparado com os demais citados.

O Mirceno foi o composto que apresentou maior área relativa no espectro de massas das repetições. Ele é considerado um marcador de frescor na composição fitoquímica do óleo essencial do lúpulo, além de proporcionar o odor mais ressaltado no lúpulo (resina, pinho, ervas), todavia, segundo Machado (2020), o Mirceno geralmente não contribui diretamente no aroma da cerveja, devido a volatilização durante a fervura do lúpulo na preparação das cervejas.

A presença de compostos como o Beta-pineno e Linalol, indicam o processo de auto oxidação do Mirceno (Rettberg, Biendl, Garbe, 2018). Apesar desse indicativo, esses compostos estavam presentes desde a colheita das flores, ou seja, essa reação não ocorreu durante o armazenamento, mas sim, impedido de se prosperar, visto que

não houve mudanças de valores significativos estatisticamente durante o tempo analisado.

Através dos dados apresentados, pode-se afirmar que em 120 dias, o lúpulo desidratado, inteiro, armazenado sob as condições de embalado a vácuo, refrigerado e protegido da luz, permanece com perfil aromático semelhante.

2.4 CONCLUSÃO

O lúpulo da variedade Fuggle cultivado no Brasil demonstra um perfil fitoquímico que se assemelha ao descrito na literatura, destacando-se o monoterpeno Mirceno como o componente com maior área relativa. Uma vez que o Mirceno é reconhecido como um indicador de frescor e qualidade do lúpulo, pode-se concluir que é viável alcançar um produto comparável aos produzidos no hemisfério norte ao adotar práticas de manejo adequadas as condições climáticas brasileiras.

Ao atingir o marco de 120 dias de armazenamento, observou-se que o perfil fitoquímico dos óleos essenciais permaneceu inalterado em comparação com o estado inicial. Com base nesses resultados, é possível afirmar que as condições de armazenamento adotadas nesse estudo, ou seja, a vácuo, refrigerado e protegido da luz, demonstram ser benéficas para preservar a qualidade do produto.

A degradação dos alfa-ácidos inicia-se aos 68 dias e os do beta-ácidos aos 170 dias de armazenamento, afirmando o comportamento desses compostos, de acordo com a suscetibilidade a degradação e oxidação por conta de suas estruturas.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, Robert P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 online ed. Texensis Publishing, 2017.
- ALMAGUER, C.; SCHONBERGER, C.; GASTL, M.; ARENDT ELKE K.; BECKER, T. Humulus lupulus – a story that begs to be told. A review. Journal of the Institute of Brewing, n. 120, p. 289-314, 2014. DOI: 10.1002./jib.160.
- ALMEIDA, Julia Machado. Análise do óleo essencial de variedades de lúpulo (Humulus lupulus L.) cultivadas no Brasil por cromatografia gasosa uni e bidimensional. Orientador: Marcia Ortiz. 2020. Dissertação (Mestrado em Horticultura) - Unesp/FCA, [S. I.], 2020.
- CEOLA, D. et al. Headspace-solid phase microextraction and GC-MS followed by multivariate data analysis to study the effect of hop processing type and dry hopping time on the aromatic profile of top-fermented beers. Separation Science Plus, v. 2, n. 7, p. 245– 252, 2019.
- CUNHA A.R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. Irriga v.14: p. 1-11, 2009.
- DURELLO, Renato. Química do sabor de cervejas: detalhes moleculares de lúpulos (Humulus lupulus) cultivados no Brasil no processo cervejeiro. 2019. Dissertação (Mestre em Ciências) - Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, [S. I.], 2019.
- EGTS, H.; DURBEN, D. J.; DIXSON, J. A.; ZEHFUS, M. H. A Multicomponent UV Analysis of α - and β -Acids in Hops. J. Chem. Educ., v. 89, p. 117–120, 2012.
- EMATER-DF (Brasília). Chico Neto. Mercado e valor agregado do lúpulo atraem produtores no DF. Agencia Brasília , [S. I.], p. 1-1, 26 jul. 2023.
- FAO 2015. FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Itália. Disponível em: [http:// faostat3.fao.org](http://faostat3.fao.org). Acesso em: 8 ago. 2019.
- FARAG, M. A.; PORZEL, A.; SCHMIDT, J.; WESSEJOHANN, L. Metabolite profiling and fingerprinting of commercial cultivars of Humulus lupulus L. (hop): a comparison of MS and NMR methods in metabolomics. Metabolomics. v.8, n.3, p.492-507, 2012.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FORTUNA, Gabriel. Desempenho agrônômico e fitoquímico de variedades de lúpulo produzidas em condições tropicais sob manejo orgânico e convencional. 2021. Tese Doutorado (Doutorado em Horticultura) - Faculdade de Ciencias Agronomicas

UNESP, [S. I.], 2021. Disponível em:
<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/217246>. Acesso em: 7 ago. 2022.

GREEN, Colin. Comparison of tettnanger, saaz, Hallertau and Fuggle hops grown in the USA, Australia and Europe. *Journal of the Institute of Brewing*, [S. I.], p. 239-243, 21 jan. 2013.

KUTCHAN, T. M. Ecological and developmental dispatcher: The paradigm of secondary metabolism. *Plant physiology*, v. 125, p. 58, 2001.

LINDROTH, R. L. et al. Seasonal patterns in the phytochemistry of three populus species. *Biochemical Systematics and Ecology*. v.15, p. 681, 1987

LOHMANN, Andreia. APROVEITAMENTO DO LÚPULO RESIDUAL NA OBTENÇÃO DE EXTRATOS DE INTERESSE PARA INDÚSTRIA CERVEJEIRA. 2021. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, [S. I.], 2021.

MOIR, M.: Hops - A Millennium review. *J. Soc. Brew. Chem.*, 58, 2000, 131- 146

MONGELLI, A. et al. Are *Humulus lupulus* L. ecotypes and cultivars suitable for the cultivation of aromatic hop in Italy? A phytochemical approach. *Industrial Crops and Products*, [S.I.], v. 83, p. 693–700, 2016.

NEVE, R. A. Hops. 1.ed. Bury St. Edmunds, Suffolk: Chapman and Hall, 1991.

NIMUBONA, D.; BLANCO, C. A.; CABALLERO, I.; ROJAS, A.; ANDRÉS-IGLESIAS, C. An approximate shelf life prediction of elaborated lager beer in terms of degradation of its iso- α -acids. *Journal of Food Engineering*, V.116, p.138–143. 2013.

PAVIANI, T. C. Extração com CO₂ a altas pressões e fracionamento do óleo essencial de capim-limão utilizando peneiras moleculares. 2004. 92 f. Dissertação (Mestrado) – Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim-RS, 2004.

PERAGINE, J. Growing your own hops, malts, and brewing herbs. Ocala: Atlantic, 2011.

PAVOLOVIČ, V. et al. Modelling of quality prediction for hops (*Humulus lupulus* L.) in relation to meteorological variables. BALWOIS conference proceedings; Ohrid, Republic of Macedonia, 2010, 1-10

RETTBERG, N.; BIENDL, M.; GARBE, L.; *J. Am. Soc. Brew. Chem* 2018, 76,1.

ROCHA , A. Efeito do armazenamento sob vacuo na actividade da PPO e nos compostos fenólicos da cenoura descascada (cv. Nantes). 7º Encontro de Química dos Alimentos: Alimentos do século XXI: matérias-primas, processos e produtos, [S. I.], 2005. 7º Encontro de Química dos Alimentos, 13-16 Abril 2005, Viseu/ Portugal.

SCHONBERGER, C.; KOSTELECKY, T.; J. Inst. Brew 2011, 117, 259.

SEBRAE. Potencial de consumo de cervejas no Brasil. Disponível em:<
http://www.sebraemercados.com.br/wpcontent/uploads/2015/12/2014_05_20_RT_Mar_Agron_Cerveja_pdf.pdf>. Acesso em: 07/06/2021

SONEGO, Graciela. Conservação pós-colheita de flores. Ciência Rural , [s. l.], v. 25, p. 473-479, 1995.

TEDONE, L. et al. Hop (*Humulus lupulus* L.) Volatiles Variation During Storage. Journal of the American Society of Brewing Chemists, v. 78, n. 2, p. 114–125, 2020.

VAN DEN DOOL, H. A. N. D.; KRATZ, P. Dec. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. 1963.

VARIETY Manual Hop Growers of America. USA: [s. n.], 2016.

WECKL, A. Envelhecimento de Cervejas. Agraria. P 1-69, 2016. Disponível em:
https://agraria.com.br/extranet_2016/uploads/AgromalteArquivo/o_envelhecimento_de_cervejas_1596198525868.pdf.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O perfil químico do lúpulo é uma informação de grande relevância para a precificação sobre o produto na hora de comercializar. A dificuldade de identificação e a sensibilidade de degradação dos compostos exige um investimento em estruturas laboratoriais e na capacitação de profissionais para uma conduta correta dos procedimentos. Tornando-se disponível para o produtor informações sobre as condições do seu produto. Essas mudanças são um passo importante para o crescimento do mercado de lúpulo nacional.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE LÚPULO. Manual de Boas Práticas para o Cultivo do Lúpulo – A prolúpulo, versão 2019 Disponível em: <<https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKw615GQwOLjAhX9I7kGHeEZBecQFjAAegQIAxAC&url=http%3A%2F%2Fwww.aprolupulo.com.br%2Fpdf%2Fmanual.pdf&usg=AOvVaw3kWMgdSajhmCNSbLNnJwFD>>.
- BRITISH Hop Association: Varieties. [S. l.], 6 abr. 2023. Disponível em: <https://www.britishhops.org.uk/varieties/>. Acesso em: 5 fev. 2023.
- DODDS, K. Hops a guide for a new growers. 2019. Disponível em: <<https://www.plantgrower.org/uploads/6/5/5/4/65545169/hops-guide-for-new-growers.pdf>>. Acesso em: 04/07/2022
- EDWARDSON, J.R. Hops: Their Botany, History, Production and Utilization. Economic Botany, vol. 6 n°2, apr-jun., 1952, 160-175.
- FAGHERAZZI, M.. A cultura do lúpulo: botânica e variedades. Revista Agronomia Brasileira, [S. l.], p. 1-3, 31 out. 2017. Disponível em: <https://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/fitossanidade/laboratoriomatologia/agronomiabrasileira/rab201712doi.pdf>. Acesso em: 17 out. 2022.
- KORPELAINEN, H., PIETILAINEN, M. Hop (*Humulus lupulus* L.): Traditional and Present Use, and Future Potential. Econ Bot 75, 302–322 (2021). <https://doi.org/10.1007/s12231-021-09528-1> Acesso em: 13 fev 2023
- LOPES, Andrey et al. Desenvolvimento de metodologia para monitoramento de umidade do lúpulo (*Humulus lupulus* L.) para extração de óleo essencial. In:
- OPEN science research. Guarujá: Editora Científica Digital, 2022. v. 1, p. 1288. Disponível em: <https://downloads.editoracientifica.com.br/books/978-65-5360-055-3.pdf>. Acesso em: 2 jan. 2023.
- MIRANDA, P. (2015). Bragança, 13-14-15 de julho 2015. Acesso em: 13 fev. 2023
- QUELHAS, J. Avaliação do processo de dry-hopping durante a maturação de cervejas artesanais. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto., [S. l.], 2017. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/150056/quelhas_jof_me_sjrp.pdf?sequence=3&isAllowed=y. Acesso em: 15 jun. 2022.
- ROBERTS, T.; WILSON, Richard. Hops. In: HANDBOOK of Brewing. [S. l.: s. n.], 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1201/9781420015171>. Acesso em: 7 mar. 2023.

SANTOS, F. VARIABILIDADE FENOTÍPICA DE ALFA ÁCIDO DE LÚPULO (*Humulus Lupulus* L) CULTIVADOS NAS REGIÕES DO BRASIL. 2020. Dissertação (Mestre em Produção Vegetal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, 2020.