

MARIANA NUNES FERREIRA CABRAL

**ÓLEOS ESSENCIAIS E HIDROLATOS DE *Humulus lupulus* L.:
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE VARIEDADES CULTIVADAS NO
ESTADO DE SÃO PAULO**

**BOTUCATU
2023**

MARIANA NUNES FERREIRA CABRAL

**ÓLEOS ESSENCIAIS E HIDROLATOS DE *Humulus lupulus* L.:
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE VARIEDADES CULTIVADAS NO ESTADO
DE SÃO PAULO**

Dissertação apresentada à Faculdade
de Ciências Agronômicas da Unesp
Câmpus de Botucatu, para obtenção
do título de Mestre em Agronomia
(Horticultura).

Orientador(a): Profa. Dra. Marcia Ortiz
Mayo Marques

Coorientador(a): Prof. Dr. Filipe Pereira
Giardini Bonfim

**BOTUCATU
2023**

C117o	Cabral, Mariana Nunes Ferreira Óleos essenciais de <i>Humulus lupulus</i> L.: caracterização química de variedades cultivadas no Estado de São Paulo / Mariana Nunes Ferreira Cabral. -- Botucatu, 2023 86 p. : tabs., fotos Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu Orientadora: Marcia Ortiz Mayo Marques Coorientador: Filipe Pereira Giardini Bonfim 1. Composição química. 2. Constituintes voláteis. 3. Cromatografia gasosa bidimensional abrangente. 4. Hidrodestilação. 5. Lúpulo. I. Título.
-------	---

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

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ÓLEOS ESSENCIAIS E HIDROLATOS DE *Humulus lupulus* L.:
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE VARIEDADES CULTIVADAS NO
ESTADO DE SÃO PAULO

AUTORA: MARIANA NUNES FERREIRA CABRAL

ORIENTADORA: MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES

COORIENTADOR: FILIPE PEREIRA GIARDINI BONFIM

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



Documento assinado digitalmente
MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES
Data: 03/03/2023 18:39:07-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof.^a Dr.^a MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES (Participação Virtual)
Centro de Pesquisa de Recursos Genéticos Vegetais / Instituto Agrônomo de Campinas

Prof. Dr. MARCELO TELASCRÉA (Participação Virtual) "p/"
Engenharia Química / Centro Universitário Sagrado Coração

Documento assinado digitalmente
MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES
Data: 03/03/2023 18:33:10-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof.^a Dr.^a VALERIA CRISTINA RODRIGUES SARNIGHAUSEN (Participação Virtual)
Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu - UNESP

"p/"



Documento assinado digitalmente
MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES
Data: 03/03/2023 18:37:22-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Botucatu, 03 de março de 2023

Aos meus pais e irmãos,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Tereza e Dilmair, por, acima de tudo, compreenderem esse meu longo caminho nos estudos e me apoiarem.

Aos meus irmãos, Ana Luiza e Dalton: que vocês sigam caminhos enriquecedores.

Às minhas tias, Clarice, Cláudia, Eloísa, Kátia e Mônica, pela força e motivação. Mesmo distantes, sei do esforço de cada uma para ver os filhos e sobrinhos realizados. Amo vocês.

À minha orientadora, Marcia Ortiz, e ao meu coorientador, Filipe Bonfim, pelo acolhimento de sempre e pelas contribuições em minha formação.

À Faculdade de Ciências Agronômicas, em especial ao Departamento de Produção Vegetal (Horticultura), onde tanto aprendi desde o estágio na graduação.

Ao grupo HorgBio, principalmente a todos os alunos que se dedicam ao experimento em campo, cuidando e cultivando o lúpulo, para que nossas pesquisas sejam realizadas com qualidade.

Aos colegas do Laboratório de Fitoquímica do Instituto Agronômico de Campinas. À Dra. Roselaine Facanali, que me ajudou muito na conclusão do trabalho, assim como ao Me. Júlio Cesar Rodrigues Lopes Silva.

Ao Lucas Campos Ferreira, por tudo o que compartilhamos nos últimos anos.

A todos aqueles que estão se desafiando e aprendendo sobre a cultura do lúpulo e ajudando no desenvolvimento desta bela cultura em nosso país.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) possui destacada importância econômica, sendo cultivado mundialmente com destinação principal à indústria cervejeira. A importância desta planta decorre das suas inflorescências serem ricas em óleos essenciais, resinas e compostos fenólicos que são atribuídos, principalmente, ao amargor e aroma das cervejas, além de apresentarem importância para a indústria farmacêutica e cosmética. Os óleos essenciais compõem o perfil aromático das variedades de lúpulo e cada variedade pode apresentar uma composição química diferente. O hidrolato, por sua vez, é um subproduto da extração de óleos essenciais, frequentemente descartado após o processo de extração e, no entanto, este pode conter substâncias de valor aromático, assim como o óleo essencial. A literatura aponta que as substâncias mais comuns nos óleos essenciais de lúpulo são β -mirceno, α -humuleno e (*E*)-cariofileno. No entanto, a composição química pode variar de acordo com fatores genéticos e ambientais, dentre outros. O cultivo de lúpulo no Brasil é recente e informações sobre o perfil aromático dos óleos essenciais e hidrolatos das diversas variedades é escasso. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a composição química do óleo essencial e dos hidrolatos das variedades de aroma Cascade, Fuggle e Saaz e da variedade de dupla aptidão Centennial da safra de 2022 cultivadas no estado de São Paulo. As variedades de lúpulo apresentaram divergências no rendimento dos óleos essenciais sendo a variedade Cascade a de maior rendimento (0,73%), rendimento intermediário para Fuggle (0,49%) e menor para Centennial (0,33%) e Saaz (0,36%). As variedades também apresentaram composição química dos óleos essenciais e hidrolatos divergentes entre si. Foi possível identificar 48 e 46 substâncias por Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), nos óleos essenciais e nos hidrolatos, respectivamente. O β -mirceno foi o constituinte majoritário para os óleos essenciais das variedades Cascade (47,77%) e Fuggle (32,96%), enquanto para a Centennial foi o (*E*)- β -farneseno (33,27%) e para Saaz o β -selineno (19,02%) e (*E*)- β -farneseno (18,44%), respectivamente. Na análise por Cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas (CG $\times$ CG-EM) foram identificadas mais 27 substâncias nos óleos essenciais quando comparada a CG-EM, contribuindo para

reafirmar a distinção que existe na composição química do óleo essencial das variedades. Quanto aos hidrolatos, o limoneno foi a substância majoritária para todas as variedades, que também apresentaram linalol, β -pineno, α -felandreno, β -mirceno em abundância, revelando a importância deste subproduto da extração dos óleos essenciais de lúpulo.

Palavras-chaves: composição química; constituintes voláteis; cromatografia gasosa bidimensional abrangente; hidrodestilação; lúpulo.

ABSTRACT

Hops (*Humulus lupulus* L.) have outstanding economic importance, being cultivated worldwide with main destination to the brewing industry. The importance of this plant comes from its inflorescences that are rich in essential oils, resins and phenolic compounds that are mainly attributed to the bitterness and aroma of beers, in addition they are important for the pharmaceutical and cosmetic industry. Essential oils constitute the aromatic profile of hop varieties and each variety can have a different chemical composition. The hydrosol, in turn, is a by-product of the extraction of essential oils, often discarded after the extraction process and, however, it may contain substances of aromatic value, as well as the essential oil. The literature indicates that the most common substances in hop essential oils are β -myrcene, α -humulene and (*E*)-caryophyllene. However, the chemical composition may vary according to genetic and environmental factors, among others. The cultivation of hops in Brazil is recent and information about the aromatic profile of essential oils and hydrolates of the different varieties is scarce. Therefore, the objective of this work was to evaluate the chemical composition of the essential oil and hydrolates of the aroma varieties Cascade, Fuggle and Saaz and of the dual-purpose variety Centennial from 2022 harvest cultivated in the state of São Paulo. The hop varieties showed differences in the yield of essential oils, with the Cascade variety having the highest yield (0.73%), intermediate yield for Fuggle (0.49%) and lower for Centennial (0.33%) and Saaz (0.36%). The varieties also showed different chemical composition of essential oils and hydrosols. It was possible to identify 48 and 46 substances by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) in essential oils and hydrolates, respectively. β -myrcene was the major constituent for the essential oils of Cascade (47.77%) and Fuggle (32.96%) varieties, while for Centennial it was (*E*)- β -farnesene (33.27%) and for Saaz, β -selinene (19.02%) and (*E*)- β -farnesene (18.44%), respectively. In the comprehensive two-dimensional gas chromatography analysis coupled with mass spectrometry (GC $\times$ GC-MS), 27 more substances were identified in essential oils when compared to GC-MS, contributing to reaffirm the distinction that exists in the chemical composition of the essential oil of the varieties. As for hydrolates, limonene was the major substance for all varieties, which also had linalool, β -

pinene, α -phellandrene, β -myrcene in abundance, revealing the importance of this by-product of the extraction of hop essential oils.

Keywords: chemical composition; comprehensive two-dimensional gas chromatography; hop; hydrodistillation; volatile constituents.

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	Lúpulo (<i>Humulus lupulus</i> L.).....	17
2.2	Lúpulo no Brasil.....	22
2.3	Óleos essenciais.....	24
2.4	Biossíntese de compostos voláteis	25
2.5	Fatores que afetam a composição química do óleo essencial	28
2.6	Identificação de compostos voláteis.....	29
2.7	Substâncias voláteis de lúpulo.....	31
2.8	Hidrolatos	34
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.1	Material Vegetal.....	36
3.1.2	Colheita.....	37
3.1.3	Secagem.....	38
3.2	Amostras	38
3.2.1	Extração dos óleos essenciais.....	38
3.2.2	Obtenção dos constituintes voláteis dos hidrolatos.....	40
3.3	Análises da composição química dos óleos essenciais e constituintes voláteis dos hidrolatos.....	40
3.3.1	Composição química por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM).....	40
3.3.2	Cromatografia a gás bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas (CG×CG-EM)	41
3.4	Análise estatísticas dos dados	42
4	RESULTADO E DISCUSSÃO.....	43
4.3	Rendimento dos óleos essenciais.....	43
4.4	Caracterização da composição química dos óleos essenciais de lúpulo.....	45
4.5	Caracterização da composição química dos constituintes voláteis dos hidrolatos de lúpulo.....	63
5	CONCLUSÕES.....	75
	REFERÊNCIAS.....	77

1 INTRODUÇÃO

O lúpulo é uma planta nativa da Europa, Ásia e América do Norte que começou a ser utilizada na antiguidade, para diversos fins, como uso culinário e medicinal, e a partir do século XIII, para fabricação de cerveja (SPÓSITO, 2019). Hoje, a espécie *Humulus lupulus* L. possui destacada importância econômica, sendo cultivada mundialmente com destinação principal à indústria cervejeira (ARAÚJO, 2020).

A importância do lúpulo decorre das suas inflorescências serem ricas em óleos essenciais, resinas e compostos fenólicos que são atribuídos, principalmente, ao amargor e aroma das cervejas (DURELLO; SILVA; BOGUSZ, 2019). Porém, o lúpulo também é empregado nos setores cosméticos e farmacêutico, possuindo substâncias com atividade sedativa e outras propriedades neurofarmacológicas, além de atividades antibacterianas e antifúngicas, devido aos seus óleos essenciais e resinas (KARABÍN *et al.*, 2016). No entanto, cada variedade de lúpulo pode apresentar uma composição química diferente do óleo essencial, que varia pela influência genética e do ambiente externo na síntese dos compostos do metabolismo especializado (JORGE; TRUGO, 2003; INUI *et al.*, 2013; BRENDDEL; HOFMANN; GRANVOGL, 2019). Dessa forma, a composição química pode ser diferente para cada país e região de cultivo.

Os Estados Unidos e Alemanha produzem mais da metade da produção mundial (DURELLO; SILVA; BOGUSZ, 2019). O lúpulo tem origem no Hemisfério Norte e latitudes tidas como ideais para seu cultivo estão situadas entre 35° e 55° (Norte e Sul dos hemisférios). Seu cultivo também ocorre em outros países do hemisfério Norte, além de países no hemisfério Sul; incluindo Brasil e Austrália (SPÓSITO, 2019). No Brasil, o cultivo de lúpulo se expandiu a partir de 2016 e é visto como uma boa fonte de renda para o pequeno produtor rural, sendo possível ser realizado mesmo em um hectare (BRASIL, 2022). A crescente demanda por cervejas artesanais e perfis aromáticos diferenciados, alavancou o cultivo e comercialização de lúpulo nacionalmente e, portanto, estudos sobre sua qualidade química tem sido cada vez mais importantes (MARCUSO; MULLER, 2018; SILVA; JÚNIOR, 2021).

Nas técnicas de destilação por arraste a vapor e hidrodestilação, são obtidos o óleo essencial e o hidrolato, produto residual da extração, que apesar de conter compostos de valor aromático é descartado após o processo (RAO, 2012; AĆIMOVIĆ *et al.*, 2020). No entanto, enquanto a literatura relata a existência de mais de 400

substâncias identificadas no óleo essencial de lúpulo (EYRES; DUFOUR, 2009), as informações sobre a composição química dos hidrolatos são escassas.

Através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), técnica utilizada para análise de substâncias voláteis (ALMAGUER *et al.*, 2014), pode-se conhecer a qualidade química das substâncias voláteis de lúpulo, importante na geração de seu valor comercial (DURELLO; SILVA; BOGUSZ, 2019; BRASIL, 2022; DOS SANTOS *et al.*, 2022).

Devido ao grande interesse em novos sabores e aromas que podem ser proporcionados pelo lúpulo, além do seu uso medicinal, e com a crescente expansão da cultura no Brasil, estudos sobre sua composição química têm sido apontados como importantes indicadores da qualidade da produção nacional, além de contribuírem para a diferenciação das variedades (DUARTE *et al.*, 2020; ALMEIDA *et al.*, 2021; ARRUDA *et al.*, 2021; DOS SANTOS *et al.*, 2022). Apesar disso, por ser uma cultura recente no país, informações acerca da composição química dos óleos essenciais e hidrolatos das variedades cultivadas em diferentes regiões do Brasil são escassas.

Portanto, o estudo teve por objetivo caracterizar a composição química dos óleos essenciais e hidrolatos de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) das variedades de aroma (Saaz, Fuggle e Cascade) e de dupla aptidão (Centennial) cultivadas no estado de São Paulo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Lúpulo (*Humulus lupulus* L.)

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é uma espécie vegetal pertencente à família Cannabaceae. O gênero *Humulus* é composto por três espécies, *H. lupulus* L., *H. scandens* (Lourr.) Merr. (sin. *H. japonicus* Siebold e Zucc.) e *H. yunnanensis* Hu, sendo os dois primeiros os mais importantes para fins comerciais (BOCQUET, 2018). Muitas das variedades de lúpulo são resultantes de cruzamento entre as espécies nativas, o que originou plantas com diferentes características botânicas e químicas. Comercialmente, as variedades de lúpulos são classificadas em dois grupos: lúpulos europeus e lúpulos americanos, sendo o lúpulo proveniente da Europa mais aromático do que o proveniente da América do Norte (SPÓSITO *et al.*, 2019).

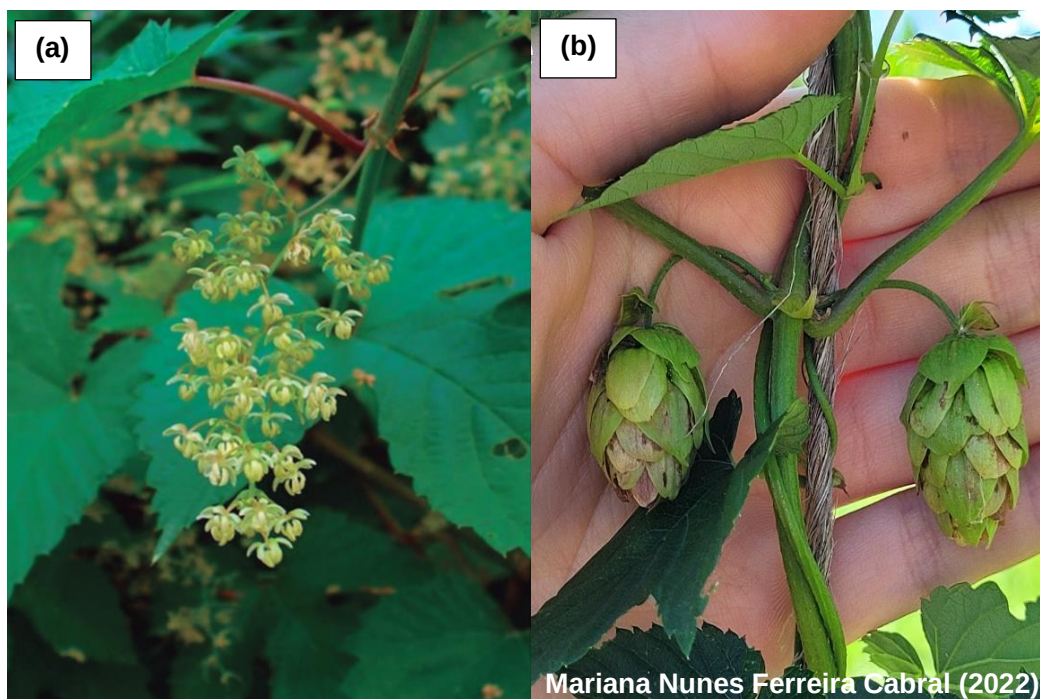
A botânica a descreve como uma planta perene, trepadeira, decídua e dióica. A princípio, a planta recebeu o nome de “*Lupus salictarius*” (lobo dos salgueiros), devido ao seu hábito trepador, crescendo sob salgueiros e outras árvores (SPÓSITO *et al.*, 2019). Spósito *et al.* (2019) descreve que seu hábito trepadeiro é auxiliado pela presença de pelos aderentes, então à medida que se desenvolvem, a planta se fixa ao entorno do suporte disponível e os ramos crescem a partir das brotações de gemas localizadas na coroa, possuindo alta taxa de crescimento diária (SPÓSITO *et al.*, 2019).

Por ser uma espécie dioica, há plantas femininas e plantas masculinas. Suas inflorescências masculinas são diferentes das inflorescências femininas, sendo aquela formada por uma panícula com flores individuais pequenas, de 5 a 6 mm, possuindo 5 pétalas e em torno de 50 estames, que produzem fino pólen de coloração amarela a partir das suas anteras. A Figura 1 mostra um exemplar de lúpulo (planta feminina) cultivado na área experimental da Faculdade de Ciências Agronômicas em Botucatu-SP e na Figura 2 (a) e (b) é exemplificada a inflorescência masculina e feminina da espécie, respectivamente.

Figura 1 – Planta de lúpulo cultivada em Botucatu, São Paulo, Brasil



Figura 2 – Inflorescência masculina (a) e feminina (b) de *H. lupulus*

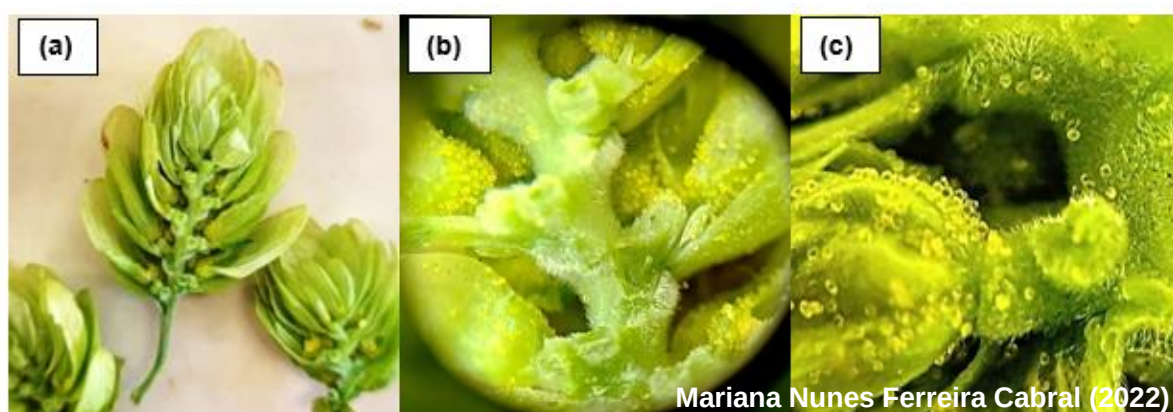


Fonte: Spósito *et al.* (2019)

Já na inflorescência feminina, cada par de flores é protegido por uma bráctea e cada flor contém uma bractéola. São nestas inflorescências, chamadas também de cones ou estróbilos, que se encontram os tricomas glandulares peltados, conhecidos por glândulas de lupulina, de coloração amarela, as quais secretam uma resina que contém as substâncias químicas de interesse (Figura 3) (DURELLO; SILVA; BOGUSZ, 2019; KAVALIER *et al.*, 2011). As inflorescências femininas contêm muito mais lupulina do que as inflorescências masculinas e as inflorescências utilizadas no processo de fermentação de cervejas são aquelas não fertilizadas, pois o contato com o pólen gera alterações químicas que podem influenciar no sabor da bebida (KAVALIER *et al.*, 2011).

As substâncias químicas desejáveis vão se acumulando conforme os cones se desenvolvem, e a colheita ocorre quando a umidade se encontra em um intervalo ideal, quando os cones alcançam o seu ponto de maturidade, atingindo o máximo de crescimento em tamanho e peso, assim como seu conteúdo de compostos químicos. Quando colhidos antes da maturação, o rendimento e a qualidade podem ser menores, no entanto, a colheita tardia acarretará em oxidação de compostos de valor comercial, perdendo valor no mercado cervejeiro (ČEH; NAGLIČ; OSET LUSKAR, 2012).

Figura 3 – (a) Inflorescência de lúpulo segmentado (b) Eixo central (c) Glândulas de lupulina



Os compostos de interesse do lúpulo são suas resinas (ácidos amargos), óleos essenciais e compostos fenólicos, mas a composição química das inflorescências (cones) do lúpulo é complexa. As flores femininas secas são constituídas por 15 a 30% de resinas, 0,5 a 3% de óleos essenciais, 15% de proteínas e 4% de polifenóis,

além de pectinas aminoácidos, ceras e esteroides, cinzas, água e celulose/lignina (DURELLO; SILVA; BOSGUZ, 2019). No caso dos óleos essenciais, são importantes porque empregam, principalmente, o aroma às cervejas. No entanto, o sabor e odor diferem de acordo com a composição química das diferentes variedades de lúpulo, sendo importante, portanto, conhecer os compostos químicos das variedades de lúpulo a serem cultivadas (YAN *et al.*, 2019).

As inflorescências do lúpulo possuem uma variedade de odores, incluindo: frutas cítricas, frutas tropicais, frutas de caroço, pinho, cedro, floral, picante, erval, terroso, tabaco, cebola/alho e gramíneo (YAKIMA, 2016). Krofta (2003) estudou os diferentes parâmetros de qualidade de diferentes variedades de lúpulo e as classificou em quatro grupos: aroma fino (Saaz, Tettnang e Spalter), aroma (Spalter Select, Hersbrucker, Mount Hood, Willamette, Cascade, Hallertau, Sterling, Golding, Celeia, Fuggie e Santiam) amargos de dupla aptidão (Centennial, Columbus, Chinook, Perle, Northern Brewer, Brewer's Gold, Challenger, Northdown, Aurora e Marynka, Mosaic) e lúpulo de alto alfa (Tillicum, Nugget, Horizon, Magnum, Taurus, Merkur, Target, Admiral e Agnus).

As variedades Saaz, Cascade, Centennial e Fuggie fazem parte das 15 variedades mais cultivadas no Brasil (BRASIL, 2022). Comercialmente, as variedades Cascade, Fuggie e Saaz são empregadas para aroma e apresentam baixo conteúdo de ácidos amargos, enquanto variedades que possuem ambos teores altos de ácidos amargos e também de óleos essenciais, como a Centennial, são classificadas como tendo dupla aptidão, ou seja, podem ser utilizadas para amargar e aromatizar cervejas (SPÓSITO, 2019).

A variedade Cascade possui origem dos Estados Unidos, é proveniente da polinização aberta entre a variedade Fuggie e a Serebrianka e é conhecida por atribuir notas cítricas às cervejas, sendo a variedade mais produzida nos Estados Unidos (SPÓSITO, 2019). A variedade Fuggie tem origem na Grã-Bretanha, resultado de uma planta obtida na natureza e descoberta na Inglaterra, e é um dos lúpulos com aromas mais condimentados do mundo. A variedade Saaz tem origem na República Tcheca e foi oficialmente registrada em 1952. No entanto, ela pode ter sido variedade básica para cervejeiros a mais de 700 anos. A variedade ainda é a mais cultivada na República Tcheca e seu aroma é considerado 'fino' e diferenciado das outras variedades. Já a variedade Centennial, tem origem americana e além de possuir alta

quantidade de α -ácidos, é também rica em óleos essenciais, apresentando características cítricas no seu aroma (SPÓSITO, 2019).

No entanto, devido às condições ambientais, fisiológicas e de cultivo, a composição química das variedades pode variar, sendo reconhecidamente importante que estudos de composição química sejam realizados de acordo com a região de cultivo. É reconhecido que os óleos essenciais são mais sensíveis a influência de fatores externos do que os α -ácidos. Dessa forma, a variada composição dos óleos voláteis pode acabar atribuindo diferentes notas de aroma ao produto final (BAMFORTH, 2010).

Na fabricação das cervejas, os cones são adicionados a receita geralmente na forma de *pellet* ou de lúpulo fresco na etapa final da fervura do mosto, sendo que a contribuição dos óleos essenciais no aroma das cervejas dependerá da quantidade de lúpulo adicionada a receita. Para isso, é importante elucidar a composição química do óleo essencial de lúpulo, uma vez que são os constituintes do óleo essencial contido nos cones que serão responsáveis por atribuir aroma a cerveja. O estudo de Muller (2021) demonstrou ser possível a adição de óleos essenciais extraídos do lúpulo em substituição ao uso dos *pellets* na cerveja, sem comprometer a característica aromática da cerveja. No entanto, para além do aroma, o óleo essencial de lúpulo pode ter empregabilidade em outros setores industriais, principalmente por apresentar propriedades biológicas, tais como sedativas, calmantes, digestivas, antioxidantes, anticancerígenas e outras propriedades positivas para a saúde (KARABÍN *et al.*, 2016; RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

Produtos de origem vegetal tem sido utilizados na formulação de cosméticos. Estudos mostram que componentes químicos do lúpulo, como seus compostos fenólicos atribuem atividades antimicrobianas, anti-inflamatórias e antioxidantes importantes para indústria de cuidados com a pele (HOANG; MOON; LEE, 2021).

A atividade antioxidante do lúpulo é principalmente atribuída à presença de polifenóis, especialmente o xantohumol. No entanto, componentes do óleo essencial também podem apresentar atividade antioxidante (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021). Portanto, para além do aroma, as substância do óleo essencial possuem atividades biológicas.

Além dos compostos majoritários do óleo essencial (β -cariofileno, β -mirceno, e α -humuleno) estarem relacionados com diversas atividades antiinflamatórias, o β -cariofileno, óxido de β -cariofileno, α -pineno, α -humuleno e β -mirceno também estão

relacionados com atividade anti-câncer de vários tipos (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021). Efeitos analgésicos também podem ser proporcionados pelo β -mirceno. No entanto, a complexidade da atividade antioxidante do óleo essencial de lúpulo é bastante complexa pela mistura de substâncias e, de acordo com Van Hoyweghen *et al.* (2010), o óleo essencial, em si, quase não apresenta atividade antioxidante.

Na Europa, há evidências do uso de lúpulo desde tempos antigos, tanto suas folhas quanto suas inflorescências, para uso alimentício, textil e cosmético (SPÓSITO *et al.*, 2019). A partir da Idade Média, o uso do lúpulo cresceu principalmente por ser um dos ingredientes principais para fabricação de cervejas. Para além do propósito na cervejaria, o lúpulo tem uma importância medicinal reconhecida (OLSOVSKA *et al.*, 2016; RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021; PEREIRA; SANTOS; SOUSA, 2022).

2.2 Lúpulo no Brasil

Nos últimos anos, a cerveja artesanal se tornou um produto cada vez mais apreciado no Brasil. Em 2020, 1.383 cervejarias estavam registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (ALMEIDA *et al.*, 2020; BRASIL, 2021). O crescente apelo por cervejas especiais, unidos ao alto preço do lúpulo importado e ao sabor único conferido por cada variedade, resultaram em um crescente interesse na produção de lúpulo no Brasil (SIRRINE *et al.*, 2010).

Países do hemisfério sul ainda possuem participação pouco expressiva na produção de lúpulo, somando apenas pouco mais de 2000 toneladas de produção da Austrália e Nova Zelândia (KUBES, 2021). No Brasil, desde 2016, cultivos começaram de forma isolada e atualmente, segundo uma pesquisa recente feita pelo Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura (IICA) e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o país conta com aproximadamente 25 hectares de cultivo de lúpulo. O estado de maior produção é Santa Catarina, com um total de 12,105 hectares de área plantada, destacando-se também pelo maior número de produtores. A área cultivada também tem crescido nos estados de São Paulo, Paraná, Minas Gerais e Rio de Janeiro (BRASIL, 2022). Além disso, já são 48 variedades registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, com destaque para Cascade, Comet, Chinook, Columbus, Nugget, Saaz, Hallertau Mittelfrüh, Hallertau, Magnum, Centennial e Zeus (BRASIL, 2020; BRASIL, 2021).

Por se tratar de uma cultura de alto valor agregado e não haver necessidade de grandes extensões territoriais, o cultivo de lúpulo é visto como uma boa fonte de renda para o pequeno produtor rural, sendo possível a produção ser realizada em 1 hectare (BRASIL, 2022). No entanto, até o momento, o lúpulo no Brasil ainda é pouco cultivado. A literatura aponta que o cultivo de lúpulo é ideal entre os paralelos 35 e 55 de latitude Norte ou Sul, sendo os maiores produtores os Estados Unidos e Alemanha (SPÓSITO, 2019). Até pouco tempo, acreditava-se que as condições climáticas no Brasil não atenderiam às necessidades para cultivo de lúpulo. Diferente dos principais países produtores, com clima subtropical, não se acreditava que o lúpulo poderia ser cultivado em locais com pouco frio. No entanto, já foi comprovado que frio ou vernalização não são garantias de boas produtividades no lúpulo (MÁRQUES-GUTIÉRREZ *et al.*, 2022). Um bom florescimento e produção está mais relacionado com a idade da planta e fotoperíodo (DODDS, 2017).

Com a criação da Associação de Produtores de Lúpulo (APROLÚPULO) em 2018 e o avanço do conhecimento técnico, cultivos comerciais de lúpulo se expandiram no Brasil, possibilitando a adaptação das variedades em território nacional (BRASIL, 2022). Com isso, as pesquisas cresceram exponencialmente nos últimos anos, com interesse cada vez maior pelos atributos qualitativos e quantitativos do lúpulo nacional, que já apresentam valores competitivos com o lúpulo internacional e podem ser melhoradas através dos estudos focados no manejo dessa cultura no Brasil e nos seus aspectos químicos (JASTROMBEK *et al.*, 2022).

O Brasil apresenta boas condições de clima e solo para o seu cultivo, considerando que ajustes podem ser feitos no manejo da cultura (BRASIL, 2022). O lúpulo se desenvolve bem em solos com grande acúmulo de matéria orgânica, solos de aluvião, sedimentares e em solos de várzea, os quais são normalmente descartados para outros cultivos comerciais (BRASIL, 2022). Importante considerar também que as condições climáticas desempenham um papel decisivo no cultivo dessa espécie e na sua qualidade, sendo a temperatura do ar, o fotoperíodo, a radiação solar e a disponibilidade hídrica as principais considerações (JASTROMBEK *et al.*, 2022).

Para aumentar a produção do lúpulo brasileiro, o melhoramento genético também pode ser um grande aliado (DOS SANTOS *et al.*, 2022). A interação entre genótipo e meio ambiente influencia no nível de α -ácidos. A variabilidade fenotípica ocorre devido a interação dos genes com o ambiente, resultando em diferente expressão genética

(DOS SANTOS *et al.*, 2022), por isso, é recomendado o desenvolvimento e seleção de variedades em cada microclima do país (DOS SANTOS *et al.*, 2022).

Principalmente devido ao grande interesse em novos sabores e aromas que podem ser proporcionados pelo lúpulo, a regionalidade pode agregar valor à produção. A alta capacidade produtiva e a tipicidade local de amargor e aroma são duas características desejáveis para atender à crescente demanda por matéria-prima pela indústria cervejeira no Brasil.

2.3 Óleos essenciais

Óleos essenciais são substâncias naturais extraídas das plantas (MALIK, 2019). Estas substâncias são caracterizadas por serem líquidos voláteis que apresentam aroma intenso e, por isso, chamados de “óleos essenciais”, pois neles está contida a “essência” do material vegetal. Por isso mesmo, óleos essenciais são frequentemente utilizados na perfumaria, na indústria de cosméticos, na aromaterapia e até mesmo na agricultura (VIEGAS JÚNIOR, 2003; RAVINDRA; KULKARNI, 2015).

Os óleos essenciais são conhecidos como fontes ricas de antioxidantes que podem ser utilizados para prevenir danos oxidativos (YANISHLIEVA-MASLAROVA *et al.*, 2001) e, por isso, suas propriedades medicinais são amplamente estudadas, principalmente pela busca de tratamento para doenças como Alzheimer, Parkinson, artrite, diabetes e câncer, além de doenças relacionadas com estresse oxidativo (STEPHANE; JULES, 2020). Possuem, ainda, em sua composição química, substâncias com atividade biológica incluindo atividades antimicrobianas, antifúngicas, antibacterianas, larvicidas e inseticidas, que são relatadas em diversas literaturas (PARÉ; TUMLINSON, 1999; DE MARTINO *et al.*, 2014).

Segundo Dewick (2009), as substâncias sintetizadas pelo metabolismo especializado estão relacionadas com o bem estar da planta, o que significa que esta os produz através da interação com o meio ambiente ao qual está inserida. Correia *et al.* (2008) argumentam que o papel ecológico de óleos essenciais é de regular o metabolismo da planta, de modo a liberar mais ou menos compostos voláteis que interagem com os agentes polinizadores ou com repelência de pragas. Óleos essenciais podem variar em quantidade e composição de acordo com o clima, a nutrição e composição do solo, o órgão da planta, a idade e o estágio do ciclo

vegetativo (MASOTTI *et al.*, 2003, ANGIONI *et al.*, 2006; PALAZZOLO; LAUDICINA; GERMANA, 2013).

Diferenças na composição de óleos essenciais sob diferentes tipos de cultivo e manejo tem sido reportado na literatura para lúpulo (ALMEIDA *et al.*, 2021; SU; YIN, 2021; MOZZON; FOLIGNI; MANNOZZI, 2020; TROCHINE *et al.*, 2020; FORTESCHI *et al.*, 2019; RODOLFI *et al.*, 2019). Além disso, altitude e sazonalidade influenciam na composição do óleo essencial, podendo-se encontrar diferenças na composição química de óleos essenciais de uma mesma espécie, porém de regiões ou países diferentes (BOARO *et al.*, 2019; ANGIONI *et al.*, 2006; MASOTTI *et al.*, 2003).

A extração dos óleos essenciais ocorre por hidrodestilação, destilação por arraste a vapor e prensagem a frio (LIGOR *et al.*, 2014). A destilação por arraste a vapor está entre os métodos mais convencionais usados para extração de óleo essencial com destinação comercial (MALIK, 2019). Já a hidrodestilação é um método usado principalmente em escala laboratorial, em que a extração ocorre a uma temperatura inferior a 100°C, o que evita a perda de substâncias sensíveis à alta temperatura. No entanto, é um método mais lento e de menor rendimento (MALIK, 2019).

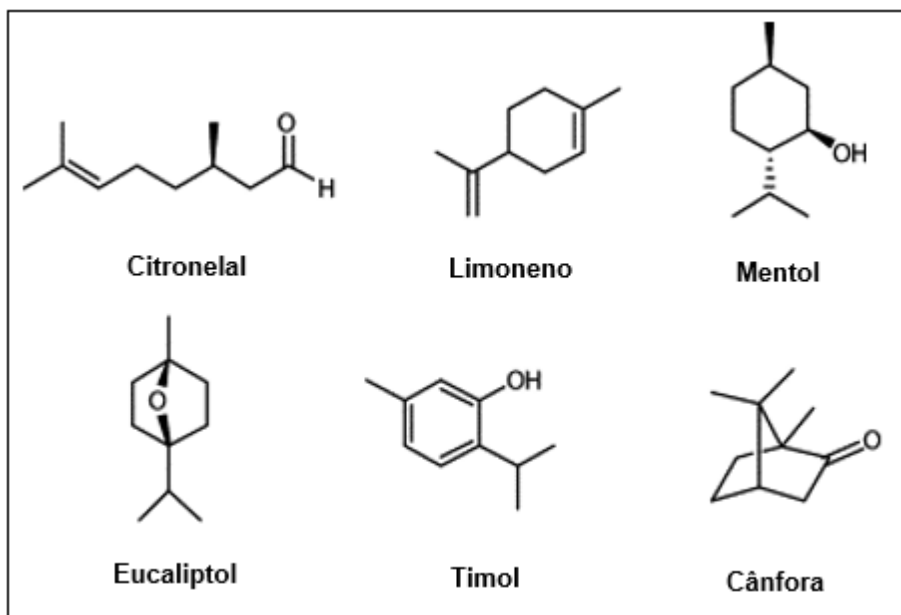
2.4 Biossíntese de compostos voláteis

Nas células vegetais, o metabolismo se divide em metabolismo primário, responsável pela produção de substâncias vitais como carboidratos, lipídeos e vitaminas, e metabolismo especializado, que corresponde pela produção de diferentes classes de substâncias, dentre estas, compostos com atividades biológicas, incluindo os constituintes dos óleos essenciais (DEWICK, 2009). A relação entre os dois tipos de metabolismo provém do uso de produtos das reações químicas do metabolismo primário (fotossíntese, glicólise, Ciclo de Krebs) para síntese de produtos do metabolismo especializado. Portanto, a biossíntese desses compostos depende da disponibilidade de carbono, nitrogênio, enxofre e outros minerais, bem como da energia fornecida pelo metabolismo primário (DUDAREVA *et al.*, 2013).

Os terpenos são um dos constituintes mais abundantes dos óleos essenciais (DEWICK, 2009). Estes são classificados de acordo com a quantidade de estruturas básicas de isopreno (C5). Nos óleos essenciais, os terpenos mais abundantes são os hidrocarbonetos monoterpênicos, formados por duas unidades de isopreno, podendo

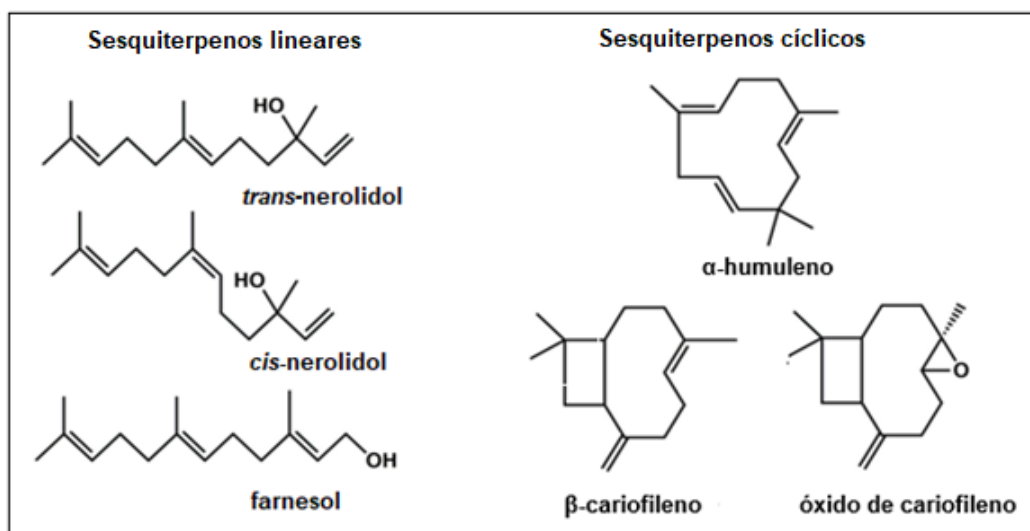
ser acíclicos, monocíclicos ou bicíclicos (Figura 4) e sesquiterpenos (Figura 5), formados por três unidades de isopreno, podendo ser cíclicos ou lineares (MALIK, 2019).

Figura 4 - Monoterpenos acíclico, monocíclico e bicíclico



Fonte: Adaptado de Chizzola (2013)

Figura 5 - Sesquiterpenos de cadeia linear e cíclica



Fonte: Adaptado de Chizzola (2013)

A síntese e catabolismo ocorrem durante todo o desenvolvimento do vegetal e, por isso, as plantas podem produzir diferentes terpenos, ligados a diferentes funções e sistemas de regulação. No entanto, todos os terpenos são produzidos por uma única via de biossíntese, contanto com mecanismos complexos que sinalizam a proporção adequada às diferentes situações de necessidade da planta. Com os avanços da engenharia metabólica, a compreensão da biossíntese de regulação de terpenóides vem sendo mais bem elucidada nas duas últimas décadas (NAGEGOWDA, 2010).

Os precursores universais de todos os terpenos são isopentenil pirofosfato (IPP) e seu isômero difosfato de dimetilalil pirofosfato (DMAPP). Duas vias metabólicas dão origem a esses compostos: a via clássica do ácido mevalônico (MVA), que ocorre no citosol; e a via do metileritritol fosfato (MEP), que ocorre nos cloroplastos, sendo esta última comprovadamente mais utilizada pelas plantas (KREUZWIESER; SCHNITZLERS; STEINBRECHERS, 1999; DEWICK, 2009). Na via MVA, a IPP é formada a partir de acetil-CoA no citosol. Pela via MEP, IPP e DMAPP são formados a partir de piruvato e gliceraldeído-3- fosfato nos plastídeos (NAGEGOWDA; GUPTA, 2020).

As unidades de C₅ que são formadas a partir da via citosólica do MVA servem como precursores principais para a biossíntese de sesquiterpenos, poliprenóis, fitoesteróis, brassinosteróides e triterpenos e para a biossíntese de terpenóides nas mitocôndrias (por exemplo, ubiquinonas, poliprenóis). Já os precursores IPP e DMAPP derivados da via de MEP plastidial são preferencialmente usados na formação de hemi-, mono-, di-, sester-, tetra- terpenóides (carotenóides e seus produtos de degradação), fitohormônios como citocininas e giberelinas, clorofila, tocoferóis e plastoquinonas (THOLL, 2015).

Após a formação dos blocos básicos para formação dos terpenóides IPP e DMAPP (formados das vias MVA citosólica e MEP plastidial), estes são fundidos em ligação cabeça-cauda pela atividade catalítica de preniltransferases de cadeia curta (prenil difosfato sintases). Essa ligação permite a polimerização dessas moléculas que servem como precursores centrais de todos os terpenóides pela ação da enzima geranyl difosfato (GPP). A condensação de moléculas de DMAPP com moléculas de IPP vai sofrendo ação de diferentes enzimas que formam diferentes tipos de composto. O neril difosfato (NPP) é um isômero cisóide da GPP, responsáveis por formar maioria dos monoterpenos. Farnesil difosfato C₁₅ (FPP) é formado pela ação da enzima FPP sintase (FPPS), atuando como precursor natural de sesquiterpenos,

triterpenos e esteróis. FPP é considerada precursora para todos os sesquiterpenos de configuração trans (KELLOGG; POULTER, 1997).

No lúpulo, a partir da GPP, outras enzimas atuam para formar seus principais compostos terpênicos. A enzima monoterpene sintase converte a GPP em β -mirceno, ou a farnesil difosfato (FPP) por esqualeno/fitoeno sintase ou ainda farnesil-PP sintase, a cariofileno ou humuleno pela sesquiterpene sintase. O linalol, composto oxigenado bastante comum no óleo essencial de lúpulo é formado a partir da do GPP pela S-linalol sintase (ERIKSEN *et al.*, 2021).

2.5 Fatores que afetam a composição química do óleo essencial

Além das variações que ocorrem entre variedades, a composição química dos óleos essenciais pode ser afetada por outros fatores, como: condições de cultivo, ponto de maturação no momento da colheita, condições de secagem, contato com o oxigênio do ar e condições de armazenamento. Ainda, cada variedade pode expressar um conteúdo de óleo diferente, ainda que nas mesmas condições climáticas e área geográfica, devido a fatores genéticos. No entanto, a área de cultivo é também um importante parâmetro, levando a mudanças no perfil fitoquímico do óleo essencial (DONNER *et al.*, 2020).

O óleo essencial de lúpulo, presente em diferentes teores nas variedades, é influenciado pelo meio ambiente bem mais do que são os α -ácidos (GUIMARÃES; NASCIMENTO; GHESTI, 2021). Dessa forma, entende-se que o perfil fitoquímico deve ser amplamente caracterizado de acordo com a variedade e a região de cultivo.

Segundo recente trabalho de Eriksen *et al.* (2021) foram identificados 44 genes transcritos envolvidos na síntese de metabólitos especializados do lúpulo. Os autores estudaram o efeito do estresse hídrico e térmico na variedade 'USDA Cascade' e observaram que sob essas condições, possíveis enzimas envolvidas no metabolismo de monoterpeneos, como humuleno sintases e mirceno sintases, além de esqualeno/fitoeno sintases (ou farnesil-difosfato farnesiltransferases) e nerolidol/linalol sintases tinham sua regulação decrescida. Sesquiterpenos sintases, ao contrário, tiveram a regulação acrescida sob estresse hídrico, como esqualeno/fitoenossintases e outras nerolidol/linalol sintases.

Outro fator se apresentou extremamente sensível a ambos os estresses. A valerofenona sintase, envolvida na produção de ácido amargo, teve os genes transcritos significativamente diminuídos, mais do que para outros genes envolvidos no metabolismo dos ácidos amargos. Portanto, os α -ácidos podem ser reduzidos quando as plantas forem expostas ao estresse térmico. Esses dados são uma grande contribuição para melhoramento genético das variedades de lúpulo, uma vez que existe um grande interesse por parte de produtores e pesquisadores em desenvolver variedades mais tolerantes ao estresse e com alta qualidade e conteúdo de α -ácidos e óleos essenciais (ERIKSEN *et al.*, 2021; DONNER *et al.*, 2020).

2.6 Identificação de compostos voláteis

A cromatografia em fase gasosa (CG) juntamente com espectrometria de massas (EM) é o método mais comumente utilizado para identificar e quantificar os compostos voláteis de origem vegetal (QUEIROZ, 2015). Os óleos essenciais são considerados amostras complexas e assim, métodos de separação eficientes devem ser empregados. Em alguns casos, o uso da técnica pela separação unidimensional (1D-CG) pode não trazer clareza na composição química devido a limitações da técnica, como por exemplo, devido à presença de estruturas similares, homogeneidade heteroatômica e graus de saturação similares.

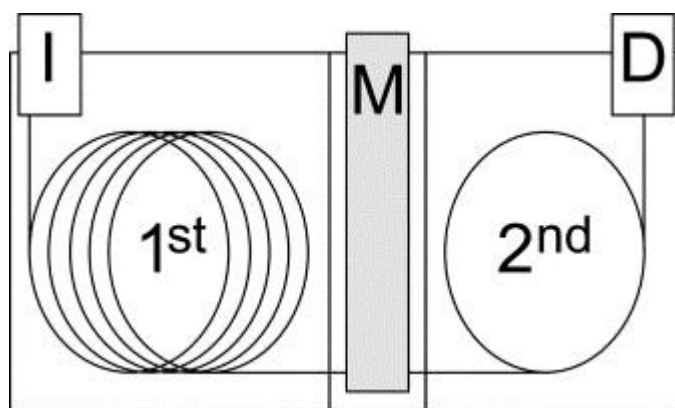
Algumas técnicas de identificação já atingiram limites máximos de desempenho e aperfeiçoamento, sendo assim, uma das vertentes mais promissoras é o método de separação multidimensional, no qual a amostra é submetida sequencialmente a diferentes processos de eluição. As separações bidimensionais em cromatografia gasosa são muito mais complexas, podendo expor componentes em maior quantidade. Nessa separação, ocorre a coleta e transferência de frações do eluato de uma coluna capilar para segunda coluna sem perdas significantes, contaminação ou alargamento excessivo da banda cromatográfica (PEDROSO *et al.*, 2009).

O princípio da análise por Cromatografia Bidimensional (CG×CG) envolve uma coluna cromatográfica de dimensões convencionais acoplada a um modulador. O eluente da primeira dimensão (coluna) é aprisionado e fracionado em pequenas porções e direcionado a uma segunda coluna cromatográfica, geralmente de menor tamanho, onde a separação das substâncias ocorre rapidamente (escala de

segundos), para que a coluna possa receber a próxima fração eluída. Assim, a capacidade de picos da coluna da primeira dimensão é multiplicada pela capacidade de picos da coluna da segunda dimensão, possibilitando que a identificação de compostos seja mais resolvida e maior do que para o sistema monodimensional convencional (1D-CG) (VON MÜHLEN, 2009).

A interface responsável pelo acoplamento entre colunas é denominada de “modulador”, cuja função é realizar o recolhimento, a reconcentração e a reinjeção da amostra proveniente da primeira coluna (1D) na segunda coluna (2D). O esquema da Figura 6 demonstra os componentes da cromatografia gasosa bidimensional abrangente. Todo eluato recolhido na primeira dimensão (1D) é reinjetado na segunda dimensão (2D), como é apresentado no esquema da Figura 6.

Figura 6 - Esquema representativo de um sistema CG×CG, em que: I, injetor; M, modulador; D, detector; 1D, coluna cromatográfica da primeira dimensão e 2D, coluna cromatográfica da segunda dimensão



Fonte: DALLÜGE *et al.* (2003)

A introdução da cromatografia gasosa bidimensional abrangente na análise de amostras complexas, como os óleos essenciais, possibilitou o aumento da capacidade analítica das técnicas cromatográficas. Para muitas amostras, o aumento da resolução cromatográfica permitiu dobrar ou triplicar o número de picos identificados pela cromatografia gasosa convencional (VON MÜHLEN, 2009).

Atualmente, técnicas multidimensionais são geralmente usadas para fins de pesquisa com potencial para a descoberta de novos compostos. O óleo essencial de lúpulo contém uma composição complexa de substâncias e a cromatografia

bidimensional se torna promissora no estudo minucioso da composição química nessa espécie (EYRES; DUFOUR, 2009).

2.7 Substâncias voláteis de lúpulo

A literatura relata a existência de mais de 400 compostos químicos diferentes já identificados no óleo essencial do lúpulo (EYRES; DUFOUR, 2009). Os primeiros compostos aromáticos do óleo essencial de lúpulo foram determinados por Chapman (CHAPMAN, 1907). Os componentes químicos são usualmente divididos em: 1) hidrocarbonetos (grupo que compreende os hidrocarbonetos alifáticos, monoterpenos e sesquiterpenos), 2) oxigenados (álcoois, aldeídos, ácidos, cetonas, epóxidos e ésteres), e 3) compostos contendo enxofre (organossulfurados diversos) (SHARPE; LAWS, 1981). Na literatura, os componentes majoritários do óleo essencial de lúpulo são frequentemente β -mirceno, α -humuleno e β -cariofileno (RETTBERG *et al.*, 2018).

Através do perfil terpênico das diferentes variedades, pode-se inferir sobre seu propósito de uso em cervejas: amargor, aroma ou dupla aptidão. No trabalho de Bernotiené *et al.* (2004), os autores apontam que as variedades de aroma apresentam maior abundância de α -humuleno e as variedades de amargor e dupla aptidão apresentam maiores conteúdos de β -mirceno. Duarte *et al.* (2020) utilizaram análise multivariada com o objetivo de caracterizar as variedades de lúpulo de acordo com seu perfil terpênico, encontrando como principais constituintes o β -mirceno (2,22-45,30%), α -humuleno (20,20-67,64%) e β -cariofileno (9,97-24,62%) em todas as amostras. Os autores descreveram que as variedades de aroma são aquelas com alta abundância de α -humuleno; de amargor, aquelas com alta abundância de β -mirceno e as de dupla aptidão, aquelas em que as substâncias terpênicas são mais complexas, com abundância intermediária de α -humuleno e de β -mirceno.

O β -mirceno é reconhecidamente a substância mais abundante da classe de terpenos encontrada em *H. lupulus*, sendo também comum à espécie da mesma família, *Cannabis sativa* (NUUTINEN, 2018). O β -mirceno garante aroma herbáceo e verde fresco, como de lúpulo fresco, podendo ser encontrado em níveis de até 60% da composição total do óleo essencial (NUUTINEN, 2018). A auto-oxidação do β -mirceno gera mais de 40 compostos oxigenados a partir de reações de ciclização, oxidação e polimerização (DIECKMANN; PALAMAND, 1974). Embora seja um

composto volatilizado no processo de fabricação da cerveja, os produtos formados a partir dessas reações podem estar presentes, como por exemplo, α -pineno, β -pineno, canfeno, *p*-cimeno (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018). Além disso, outros compostos também derivam dessas reações como: linalol, nerol, geraniol, citral, α -terpineol ou carvona (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018).

Os compostos β -mirceno e linalol são, geralmente, considerados os principais componentes de odor ativos na cerveja (STEINHAUS; WILHELM; SCHIEBERLE, 2007; ARAÚJO, 2010). O linalol atribui aroma caracterizado como floral (ALMAGUER *et al.*, 2014). É um monoterpene oxigenado encontrado com teor variando de 0,50 a 0,80% na variedade Nugget (DURELLO; SILVA; BOSGUZ, 2019), enquanto a variedade Chinook é rica em geraniol (0,70-1,0%), monoterpene oxigenado (DURELLO; SILVA; BOSGUZ, 2019). Outros compostos podem atribuir aos produtos oriundos de lúpulo outras notas de aroma. Os sesquiterpenos podem ser acíclicos (α e β -farneseno), monocíclicos (germacreno B, germacreno D e humuleno), bicíclicos (β -cariofileno, β -selineno e cadineno) e tricíclicos (muuroleno, α -cubebeno, calamuleno e β -elemeno).

O sesquiterpene α -humuleno atribui notas de amadeirado, e é um composto recorrentemente encontrado no óleo essencial, assim como o β -cariofileno, com aroma amadeirado e de especiarias, e também o β -farneseno, que pode atribuir aroma amadeirado, cítrico e doce. Estes três sesquiterpenos, além do β -mirceno, podem constituir entre 80 e 90% do teor de muitos óleos essenciais de lúpulo (DURELLO; SILVA; BOSGUZ, 2019).

De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, a variedade Hallertauer Mittelfrüh apresenta a seguinte composição: 40,2 % de β -mirceno, (*E*)-cariofileno (9,9%), humuleno (33,9%) e ausência de farneseno. Já a variedade Columbus apresenta β -mirceno na faixa de 25-45%, humuleno de 15-25% e (*E*)-cariofileno de 8-12%, de acordo Great Lakes Hops (2018). A variedade Cascade apresenta o β -mirceno na faixa de 45-60%, (*E*)-cariofileno na faixa de 3,5-5,5%, humuleno de 8,0-13% e farneseno variando de 3,0-7,0% (VARIETY MANUAL HOP GROWERS OF AMÉRICA, 2018). No entanto, esse teor pode variar, principalmente pela influência do ambiente externo na síntese dos compostos do metabolismo especializado.

Compostos sulfurosos de aroma agradável podem ser provenientes de tioéster S-metil-2-metil tiobutanoato (aroma de trufa), e o S-metil tiohexanoato que confere notas

intensas de aroma herbal e frutado, lembrando abacaxi (DURELLO; SILVA; BOSGUZ, 2019). Os epóxidos também são destacados por conterem uma complexidade de notas de aroma que influenciam o sabor das cervejas. Epóxido de humuleno I traz notas aromáticas de feno; epóxido de humuleno II traz nota de cedro e mofado; epóxido de humuleno III nota de aroma de cedro, enquanto o óxido de cariofileno confere notas doces, frutada, amadeirada e herbal (DURELLO; SILVA; BOSGUZ, 2019).

Um detalhe no estudo de compostos voláteis é diferenciar os compostos oxigenados naturais do óleo essencial, daqueles que podem se originar a partir da oxidação de outros compostos. Em certos processos, a oxidação pode ser proposital (como aumento de epóxidos de humuleno em lúpulo da variedade Hallertau Mittelfrüh durante envelhecimento da cerveja), mas também pode ocorrer por falhas no processamento e/ou armazenamento do lúpulo (DURELLO, 2019).

Apesar de determinados compostos serem específicos a algumas variedades, o seu aroma pode ser alterado no produto final. Cervejas que são aromatizadas com lúpulo da variedade Saaz (aroma), por exemplo, não apresentam o mesmo odor na cerveja. Enquanto o aroma dos cones frescos remete a picante como canela, cervejas aromatizadas com estas variedades apresentam um aroma mais floral e refrescante (NANCE; SETZER, 2013). Isso é explicado pela difusão que pode ocorrer pelos diferentes compostos aromáticos, então o aroma final pode ser muito dependente de como os compostos voláteis se comportaram no processamento (VÁZQUEZ-ARAÚJO *et al.*, 2011). Os lúpulos de aroma são comumente adicionados ao final da preparação de cerveja (etapa final da fervura) ou no momento de maturação da cerveja (*dry hopping*), para que seja preservado seu conteúdo volátil sensível ao calor (DURELLO; SILVA; BOSGUZ, 2019).

A etapa pós-colheita também influencia bastante a qualidade dos aromas do lúpulo. Quando se trata de cervejarias, a secagem e peletização são processos necessários para viabilizar o uso do lúpulo na preparação do mosto. No entanto, esses processos envolvem submeter os cones a altas temperaturas, o que pode comprometer a qualidade do aroma (RYBKA *et al.*, 2018).

Além das variações que ocorrem entre variedades, o aroma pode ser afetado por outros fatores, como: condições de cultivo, ponto de maturação no momento da colheita, condições de secagem, contato com o oxigênio do ar e condições de armazenamento (VERSELE; DE KEUKELEIRE, 2013). Ainda, cada variedade de

lúpulo contém óleo essencial com composição química própria. E cada variedade pode expressar um perfil de óleo essencial diferente, ainda que nas mesmas condições climáticas e área geográfica, devido a fatores genéticos. No entanto, a área de cultivo é também um importante parâmetro, levando a mudanças no perfil fitoquímico do óleo essencial (DONNER *et al.*, 2020). Dessa forma, para promover o uso do lúpulo nas indústrias, é importante selecionar variedades que possam promover o aroma desejado ao produto final.

2.8 Hidrolatos

O hidrolato é a água aromatizada que arrasta os constituintes voláteis da planta no processo de extração do óleo essencial (SOUZA *et al.*, 2007). Hidrolatos são obtidos no processo de extração de óleos essenciais de plantas aromáticas. Em particular, eles são compostos de água condensada do processo de destilação e constituintes polares, oxigenados, odoríferos, hidrofílicos e voláteis que formam ligações de hidrogênio com a água (JAKUBCZYK; TUCHOWSKA; JANDA-MILCZAREK, 2021). Esse possui características semelhantes às do seu óleo essencial, contendo de 0,05 a 0,20 g de óleo essencial por litro (RODRIGUES *et al.*, 2011). No entanto, é descartado pelas indústrias produtoras de óleo essencial, gerando desperdícios e possíveis contaminações ao meio ambiente (TELES, 2009), além de gerar desperdício de um produto com potencial de uso em formulações farmacêuticas, cosméticas e agrícolas, devido às suas atividades biológicas (DE OLIVEIRA JÚNIOR *et al.*, 2020)

Uma pequena quantidade de constituintes do óleo essencial se dissolve em hidrolatos, preciosos compostos oxigenados, proporcionando propriedades organolépticas e sabores específicos, bem como bem como atividade biológica que os torna úteis para alimentos e indústrias de cosméticos. Diferentes hidrolatos são usados comercialmente, principalmente como ingredientes cosméticos, bem como na indústria de alimentos. Sua popularidade ainda está em ascensão, especialmente na aromaterapia. Esses produtos naturais constituem fontes promissoras, novas e valiosas, que podem ser aprovadas como matéria-prima em diversos produtos (SOUZA *et al.*, 2007; AĆIMOVIĆ, 2020).

O hidrolato é um produto reconhecidamente aromático, porém, podendo apresentar composição química diferente do óleo essencial de uma mesma planta.

Quando os compostos são os mesmos, o teor tende a ser diferente (TAVARES *et al.*, 2022). Óleos essenciais compostos majoritariamente por hidrocarbonetos seguidos por compostos oxigenados, podem apresentar apenas compostos oxigenados em seus hidrolatos. Essas variações são observadas devido à solubilidade relativamente maior dos compostos oxigenados em água em relação à solubilidade dos hidrocarbonetos (TAVARES *et al.*, 2022).

A literatura a respeito dos hidrolatos descreve muitos trabalhos realizados na área farmacológica. Os hidrolatos são principalmente estudados quanto a sua composição química e atividade biológica (SOUZA, 2007). O óleo essencial é a porção lipofílica obtida no processo extração e o hidrolato a porção aquosa. O codestilado da extração, rico em compostos hidrofílicos e polares o qual por muitas vezes é descartado após o processo (DRAWANZ *et al.*, 2020). Os hidrolatos são ricos em aminas, aldeídos, ácidos carboxílicos e estima-se que uma pequena porção de óleo essencial também os constitua (DRAWANZ *et al.*, 2020).

Os hidrolatos possuem propriedades antibacterianas e anti-inflamatórias e já são empregados na indústria de cosméticos, incluindo aromaterapia (AĆIMOVIĆ, 2020). Ademais, estes produtos possuem outras aplicações interessantes para a indústria, sendo utilizados para saborear bebidas, confeitarias e refrigerantes, bem como para a preservação de alimentos, ou ainda pode ser empregado como bebida com fins medicinais (HAMED I *et al.*, 2017).

O óleo essencial de lúpulo é rico em linalol. Apesar de seu teor variar entre as variedades de lúpulo, este composto, além do β -mirceno, é considerado de odor ativo no lúpulo (ARAÚJO, 2020). Segundo estudo realizado por Guiomar (2020) o hidrolato das flores contém como constituintes majoritários o *cis*-óxido de linalol, *trans*-óxido de linalol, linalol, *p*-menta-1,8-dien-7-al e humuleno. No hidrolato da mistura das partes vegetativas e reprodutivas, encontrou-se como compostos majoritários o (*E*)-cariofileno, humuleno e humuleno II.

Ovidi *et al.* (2022) avaliaram a composição química do óleo essencial e do hidrolato de *Humulus lupulus* L. da variedade Chinook por HS-CG-MS, sendo os óleos essenciais ricos nos sesquiterpenos α -humuleno, β -cariofileno, δ -cadineno e β -mirceno (monoterpeno). Os autores verificaram 20 componentes presentes no hidrolato sendo o τ -cadinol, linalol e α -terpineol os mais abundantes.

No entanto, informações sobre a composição química de hidrolatos para as diferentes variedades da espécie *H. lupulus* ainda são escassas, e estes podem

apresentar compostos químicos de interesse para a indústria e, desta forma agregar valor a um sub-produto de lúpulo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material Vegetal

3.1.1 Caracterização do cultivo

O material vegetal foi obtido da safra de 2022 do cultivo experimental do Pomar Didático do Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômica UNESP- Botucatu (22°50'S, 48°26'W e altitude 791 m) (Figura 7). Segundo Köppen (1948), o clima local é classificado como subtropical com verão quente (Cfa), com temperatura média anual de 19,4°C e precipitação pluviométrica média anual de 1.314 mm (CUNHA e MARTINS, 2009). O solo é do tipo Nitossolo Vermelho.

A primeira área experimental foi implantada em 2018, contendo as variedades Centennial, Fuggle e Saaz. A segunda área foi implantada em 2020, onde foi plantada a variedade Cascade. O plantio das mudas foi feito em covas, adotando o espaçamento de 3,2 m x 1,0 m. Todas as variedades foram adquiridas em mudas certificadas de viveiro legalizado e foram cultivadas em sistema organo-mineral. O controle de plantas espontâneas foi realizado de forma mecânica e a palhada proveniente da roçagem foi colocada ao redor da área experimental, com o intuito de reduzir a mato competição.

Foi utilizada a irrigação por gotejamento, com duas linhas de fita gotejadora em cada linha de plantio, com espaçamento entre os emissores de 0,5 m e vazão de 1,1 L.h⁻¹. O sistema de irrigação foi manejado automaticamente pelo ASI (MEDICI *et al.*, 2010).

Figura 7 – Área experimental de cultivo de lúpulo, 2022, Botucatu-SP



3.1.2 Colheita

A safra de 2022 corresponde ao quarto ano de produção das variedades Centennial, Fuggle e Saaz e segundo ano de produção da variedade Cascade. A colheita de cada planta foi realizada em momentos diferentes, de acordo com o ponto de maturação das inflorescências (cones). A determinação do ponto ideal de colheita seguiu os parâmetros sensoriais qualitativos (cor, aroma, textura dos cones etc.) somados ao parâmetro quantitativo, que é realizado para confirmar se está no ponto ideal de colheita (DODDS, 2017).

Para determinar o ponto ideal de colheita, foi colhida amostra de 4 a 6 cones da parte inferior, média e apical da planta, e estes armazenados em saco plástico fechado. Logo após, os cones foram pesados, para a obtenção da massa fresca do cone. Os cones foram colocados no micro-ondas por 1 minuto, e pesados novamente. A operação foi repetida algumas vezes até a massa dos cones estabilizar, sendo assim determinada massa seca do cone através da seguinte fórmula:

$$\frac{\text{MATÉRIA SECA}}{\text{CONE (\%)}} = \frac{\text{MASSA SECA (cone) (g)}}{\text{MASSA FRESCA (cone) (g)}} \times 100$$

No ponto de maturação, esse valor deve ser entre 20 a 23% de matéria seca, podendo variar um pouco de acordo com as variedades. Na colheita são retirados os ramos inteiros da planta, com posterior separação das inflorescências (cones) e secagem (DODDS, 2017).

3.1.3 Secagem

A secagem dos cones foi feita em estufa de circulação de ar forçado a 35°C, até atingir teor de umidade de 10%. O ponto ideal de umidade dos cones para serem embalados e armazenados deve ser entre 8 a 10%. Para isso foi realizado o cálculo da “massa alvo” para cada variedade, através da fórmula:

$$\text{MASSA SECA ALVO (10\%)} = \frac{(\% \text{ MATÉRIA SECA DETERMINADA NA COLHEITA}) \times (\text{MASSA FRESCA DA AMOSTRA}) (\text{g})}{90}$$

Todas as variedades atingiram a massa seca alvo após em média 24 horas de secagem. Posteriormente, cada variedade foi separada em sacos plásticos identificados e armazenadas em freezer (-20°C) até o momento da extração do óleo essencial.

3.2 Amostras

3.2.1 Extração dos óleos essenciais

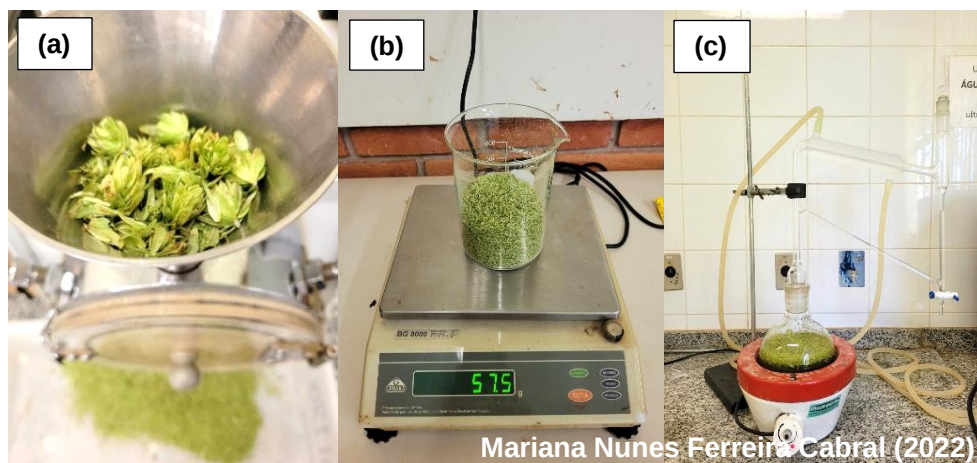
As amostras de cada variedade foram obtidas a partir de três plantas de cada variedade, caracterizando uma amostra composta. Foram realizadas duas extrações de óleo essencial simultaneamente, utilizando a mesma quantidade de cones secos para cada variedade. Para cada variedade, a massa da amostra variou de acordo com a quantidade de cones disponíveis para o estudo (Tabela 1).

Tabela 1 – Massa das amostras utilizadas para extração de óleo essencial de cada variedade de lúpulo (*H. lupulus*)

	Cascade	Centennial	Fuggle	Saaz
Amostra 1	10 g	30 g	15 g	8 g
Amostra 2	10 g	30 g	15 g	8 g

Após pesagem do material, os cones foram moídos em moinho de facas, pesados e a extração dos óleos essenciais realizada no Laboratório de Plantas Medicinais do departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu, estado de São Paulo. Para tanto, foi utilizado o método da hidrodestilação utilizando aparato tipo Clevenger. O tempo de extração dos óleos essenciais foi de 4 horas (Figura 8).

Figura 8 (a, b e c) - Etapas de maceração em moinho de facas (a), pesagem do material (b) e (c) extração de óleo essencial de lúpulo (*H. lupulus*)



O óleo essencial foi retirado do sistema com o auxílio de uma pipeta, transferido para frasco de vidro âmbar, com tampa e batoque e armazenado em freezer até o momento das análises da composição química. A água residual da extração (hidrolato) foi armazenada em frascos de 5 mL e mantida em freezer -20°C até o momento da análise da composição química. O rendimento do óleo essencial foi obtido a partir da seguinte fórmula:

$$\text{RENDIMENTO (\%)} = \frac{(\text{MASSA DO ÓLEO ESSENCIAL}) (\text{g}) \times 100}{\text{MASSA DE MATERIAL VEGETAL UTILIZADO (g)}}$$

3.2.2 Obtenção dos constituintes voláteis dos hidrolatos

Logo após a extração dos óleos essenciais, todo o volume recolhido de hidrolato foi armazenado em frascos de vidro âmbar e armazenados congelados em freezer até o momento da análise da composição química. Para a análise foi retirada uma alíquota de 1mL do hidrolato coletado, e os constituintes voláteis extraídos por 3 vezes com 1mL de diclorometano (Merck, grau cromatográfico). A solução diclorometânica foi armazenada em frascos de vidro, previamente pesados, e o volume de solvente reduzido a 50% do volume inicial em capela de exaustão. As amostras foram estocadas em freezer -20°C até a análise da composição química.

3.3 Análises da composição química dos óleos essenciais e constituintes voláteis dos hidrolatos

3.3.1 Composição química por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)

As análises foram realizadas na Unidade de Fitoquímica do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos Vegetais do Instituto Agrônomo, Campinas – SP.

As amostras de óleos essenciais foram diluídas em acetato de etila (grau cromatográfico, 1mg.mL⁻¹) e injetado, em triplicata, 1 µL de solução em cromatógrafo a gás Thermo (GC TRACE 1310) equipado com detector de ionização em chamas (DIC) e espectrômetro de massas (EM), com divisão de fluxo de 3:7, para o MS e FID, respectivamente. O injetor foi mantido a 220 °C, com divisão de vazão do gás de arraste (hélio, 99,9999% de pureza) na razão (split) de 1:20. A separação das substâncias foi realizada em coluna capilar Rtx-5 MS (20 m x 0,18 mm x 0,2 µm), seguindo a programação de temperatura de 60°C - 240°C (3 °C.min⁻¹) e vazão de gás de arraste de 0.5 mL.min⁻¹. 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 de ionização em chamas a 250°C. O software Chromeleon (Thermo Scientific-Waltham, MA, EUA) foi usado para aquisição de dados.

Para a caracterização dos constituintes voláteis nas amostras dos hidrolatos foram injetadas, em triplicata, 1 µL da solução diclorometânica em cromatógrafo a gás Thermo (GC TRACE 1310) equipado com detector de ionização em chamas (DIC) e espectrômetro de massas (EM), com divisão de fluxo de 3:7, para o EM e DIC, respectivamente, modo de injeção *splitless*, empregando-se as mesmas condições operacionais utilizadas para os óleos essenciais.

A identificação dos constituintes químicos foi realizada por meio da análise comparativa dos espectros de massas das substâncias com a biblioteca *National Institute of Standards and Technology* (Nist 62.lib) e os índices de retenção de literatura (Adams, 2017). Os índices de retenção linear das substâncias (IRLca) foram obtidos a partir da injeção da mistura de *n*-alcanos (C₉-C₂₄, Sigma USA) nas mesmas condições cromatográficas das amostras, aplicando-se a equação de Van den Dool e Kratz (1963).

3.3.2 Cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas (CG×CG-EM)

As amostras de óleos essenciais foram diluídas em acetato de etila (grau cromatográfico, 1mg.mL⁻¹) e injetado 1 µL de solução em cromatógrafo a gás Thermo (GC TRACE 1310) equipado com detector de ionização em chamas (DIC) e espectrômetro de massas (EM), com divisão de fluxo de 3:7, para o EM e DIC, respectivamente. O injetor foi mantido a 220 °C, com divisão de vazão do gás de arraste (hélio, 99,9999% de pureza) na razão (*split*) de 1:20. A separação das substâncias foi realizada em coluna capilar Rtx-5 MS (20 m x 0,18 mm x 0,2 µm) na primeira dimensão (¹D) e em coluna Rtx Wax (5 m x 0,25 mm x 0,25 µm) na segunda dimensão (²D), com vazão de gás de arraste de 0,5 e 10,0 mL.min⁻¹ e seguindo a programação de temperatura de 60°C - 240°C (3 °C.min⁻¹) e vazão de gás de arraste de 0.5 mL.min⁻¹. O espectrômetro de massas (MS) 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 de ionização em chamas a 250°C. O período de modulação foi definido a 6,0 s com um pulso de reinjeção (*flush*) de 250

ms. O software Chromeleon (Thermo Scientific-Waltham, MA, EUA) foi usado para aquisição de dados e processamento foi realizado usando o *software* GC Image (Zoex-Houston, TX, EUA).

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* (FFNSC3) e os índices de retenção linear das substâncias (IRlit) com a literatura (Adams, 2017). Os índices de retenção linear calculado (IRLca) foram obtidos a partir da injeção de uma série de *n*-alcanos (C₉-C₂₄, Sigma-Aldrich, 99%) nas mesmas condições cromatográficas das amostras, aplicando-se a equação de Van den Dool e Kratz (1963).

3.4 Análise estatísticas dos dados

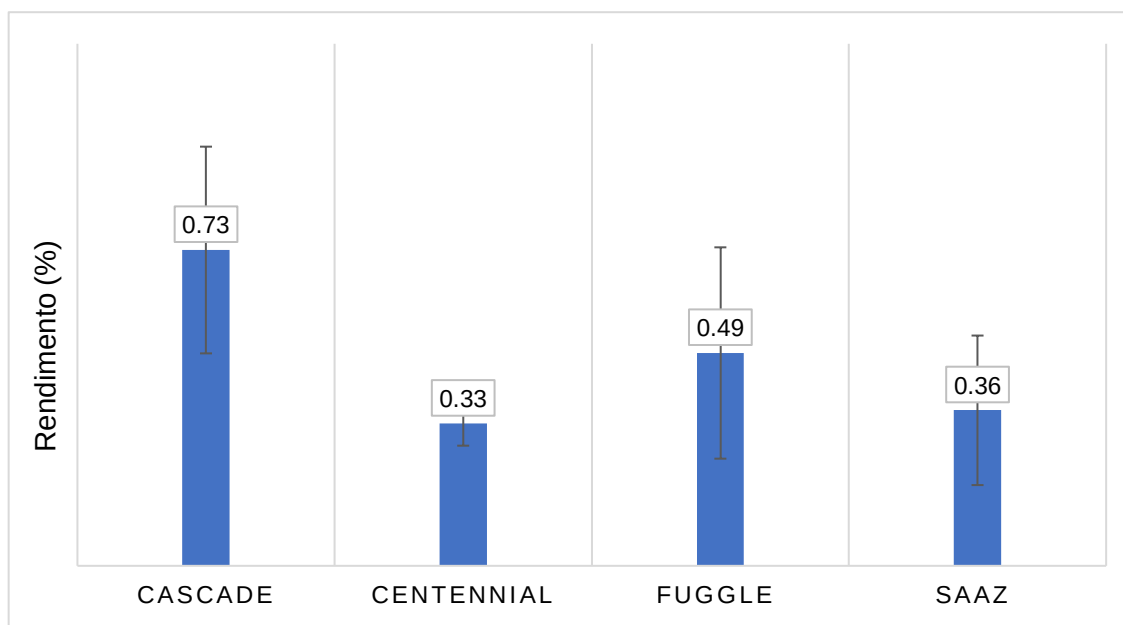
Os dados de composição química dos óleos essenciais foram submetidos a análise multivariada por meio do software estatístico MetaboAnalystR 5.0. (Xia *et al*; 2015). Os dados referentes às amostras foram normalizados e os valores das variáveis autoescalados, sendo aplicado aos dados a Análise de Componentes Principais (ACP), agrupamentos hierárquicos (AAH) com base na distância Euclidiana e Mapa de Calor (*Heatmap*).

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

4.1 Rendimento dos óleos essenciais

Neste trabalho, cada variedade de lúpulo apresentou um rendimento médio diferente, sendo a variedade Cascade a de maior rendimento (0,73%), rendimentos menores para Centennial (0,33%) e Saaz (0,36%) e rendimento intermediário para Fuggle (0,49%) como apresentado na Figura 9.

Figura 9 – Rendimento (%) dos óleos essenciais de lúpulo (*H. lupulus*) das variedades Cascade, Centennial, Fuggle e Saaz, cultivadas em Botucatu, Estado de São Paulo



Segundo a literatura, os óleos essenciais compõem o perfil aromático das variedades de lúpulo, geralmente variando de 0,5 a 3% de teor nos cones (DURELLO; SILVA; BOSGUZ, 2019). A variedade Cascade foi a única que apresentou rendimento médio dentro deste intervalo. Segundo a literatura, as plantas de lúpulo alcançam uma estabilização da maturidade fisiológica entre o 3º e 5º ano de crescimento, em que a produtividade e conteúdo de metabólitos especializados atingirão seu potencial máximo (MCADAM *et al.*, 2014; SIRRINE *et al.*, 2015). A variedade Cascade se encontra no 2º ano de produção e as demais no 4º ano, portanto, poderão apresentar maiores rendimentos em anos posteriores, após a maturidade fisiológica. No entanto,

outros fatores ambientais são considerados, como as próprias estruturas secretoras responsáveis pela produção de metabólitos especializados.

Santagostini *et al.* (2019) identificaram os tricomas peltados presentes nos cones de lúpulo os quais são os principais locais de produção e acumulação de terpenos. Pak (2020) identificou que este tipo de tricoma ocorre preferencialmente na região basal da face abaxial das brácteas, e ainda, em maior intensidade na face abaxial do cálice das flores pistiladas. A autora verificou que dentre as variedades estudadas, a Cascade apresentou maior densidade de tricomas nas brácteas, o que pode explicar o maior rendimento de óleo essencial. O tricoma glandular peltado, conhecido como glândula de lupulina, sintetiza e armazena os metabólitos especializados e, por isso, variedades com maior densidade de tricomas são desejáveis.

Durello (2019) encontrou rendimento de óleo essencial de 1,18% na Cascade. Também no Brasil, outros estudos mostraram resultados semelhantes ao rendimento de óleo essencial. No estudo de Fagherazzi (2020), a variedade Cascade cultivada em três locais diferentes do estado de Santa Catarina, apresentou média de rendimento de 0,86%, diferença de 0,13% do rendimento visto neste trabalho. Segundo Durello (2019), os óleos essenciais começam a ser produzidos após o desenvolvimento das resinas e continuam sendo sintetizados até o momento da colheita, portanto, a colheita feita no momento ideal, pode evitar a perda de óleos essenciais e compostos voláteis específicos, principalmente aqueles de menor peso molecular, com maiores chances de serem volatilizados.

Não foram encontrados na literatura, até o momento, dados do rendimento dos óleos essenciais específicos das variedades Saaz, Fuggle e Centennial cultivadas no Brasil.

A diversidade quantitativa, expressa pelo rendimento, assim como a diversidade qualitativa, relacionada à composição química dos óleos essenciais, pode ser influenciada pela genética e epigenética (GUPTA *et al.* 2017; CROTEAU; KUTCHAN; LEWIS, 2000) e fatores abióticos, incluindo nutrição mineral, água, luz, temperatura e tipos de solo, e fatores bióticos, como ataques de patógenos, pragas e herbívoros. Portanto, todos esses fatores podem atuar aumentando ou diminuindo o rendimento e a composição química dos óleos essenciais. Além disso, os fatores genéticos, bióticos e abióticos devem ser considerados em conjunto, os quais podem influenciar o metabolismo primário e, conseqüentemente, o metabolismo especializado (AMDOUNI *et al.* 2016; ORMENO; FERNANDEZ, 2012; FIGUEIREDO *et al.* 2007).

4.2 Caracterização da composição química dos óleos essenciais de lúpulo

Dentre as variedades avaliadas, foi possível identificar 48 substâncias presentes nos óleos essenciais através da análise por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas, sendo os hidrocarbonetos monoterpênicos mais abundantes na variedade Cascade (48,62%) e os hidrocarbonetos sesquiterpênicos nas variedades Fuggle (87,77%), Centennial (61,23%) e Saaz (59,34%). A composição química média (%) dos óleos essenciais é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição química média (%) dos óleos essenciais de lúpulo (*H. lupulus*) das variedades Cascade, Centennial, Fuggle e Saaz cultivadas em Botucatu, Estado de São Paulo

Nº	Substância	TR I (min)	IRca	IRlit	Porcentagem Relativa (%)			
					Cascade	Centennial	Fuggle	Saaz
1	α -pineno	5,573	939	932	0,09	—	tr	—
2	β -pineno	6,733	987	974	0,49	—	0,48	—
3	β -mirceno	6,902	994	988	47,77	1,46	32,96	0,59
4	isobutirato de isoamila	7,764	1021	1007	0,18	—	—	—
5	heptanoato de metila	8,034	1029	1021	0,1	—	0,08	—
6	β -felandreno	8,152	1033	1024*	tr	—	0,30	—
7	limoneno	8,325	1035	1024	0,2	—	tr	—
8	(<i>E</i>)- β -ocimeno	8,979	1057	1044	0,07	tr	tr	—
9	2-nonanona	10,457	1112	1095	tr	tr	tr	0,32
10	n-nonanal	10,888	1112	1095	0,35	0,16	0,48	0,95
11	linalol	11,048	1116	1095	0,39	0,21	0,37	0,51
12	octanoato de metila	11,614	1130	1123	0,15	tr	tr	0,41
13	2-decanona	14,388	1201	1190	tr	0,13	0,22	0,6
14	nonanoato de metila	15,623	1231	1223	0,14	tr	tr	0,55
15	2-undecanona	18,530	1301	1293	0,06	0,65	0,27	4,11
16	decanoato de metila	19,748	1332	1322*	1,06	tr	tr	0,16
17	geranato de metila	19,872	1335	1322	0,5	0,13	0,47	0,23
18	α -copaeno	21,685	1379	1374	0,26	tr	tr	tr
19	acetato de geranila	22,303	1394	1379	1,84	—	—	—
20	2-dodecanona	22,656	1403	1388	tr	0,17	0,14	0,6
21	(<i>E</i>)-cariofileno	23,491	1424	1417	7,12	12,02	5,42	0,89
22	β -copaeno	23,868	1434	1430	0,27	0,14	tr	—
23	(<i>E</i>)- α -bergamoteno	24,113	1440	1432	0,4	1,68	1,17	2,54
24	aromadendreno	24,259	1443	1439	—	0,20	—	—
25	α -humuleno	24,880	1459	1452	12,98	6,33	0,07	—
26	(<i>E</i>)- β -farneseno	25,046	1462	1454	9,82	33,27	28,48	18,59
27	4,5-di-epi-aristolocheno	25,511	1475	1471	—	0,33	0,4	0,47
28	selina-4,11-dieno	25,757	1481	1474	0,96	2,42	1,63	2,71

29 γ -muuroleno	25,802	1482	1475*	1,1	tr	—	—
30 propanoato de geranila	25,872	1484	1476	1,51	—	—	—
31 β -selineno	26,187	1492	1489	1,78	12,05	10,52	19,06
32 α -selineno	26,536	1501	1498	0,36	13,23	12,24	12,32
33 2-tridecanona	26,649	1504	1498	0,25	tr	—	2,7
34 (<i>E,E</i>)- α -farneseno	27,047	1514	1505	2,32	0,46	0,53	0,42
35 β -bisaboleno	27,309	1521	1505	1,23	tr	tr	—
36 γ -cadineno	27,648	1521	1513	—	0,42	0,22	0,43
37 7-epi- α -selineno	27,424	1524	1520	—	0,24	0,24	0,53
38 δ -cadineno	27,644	1530	1522	0,34	0,68	0,31	—
39 α -cadineno	28,080	1542	1537	—	—	—	1,38
40 selina-3,7(11)-dieno	28,085	1542	1545	—	1,14	—	tr
41 germacreno B	28,950	1565	1559	—	3,16	—	—
42 óxido de cariofileno	30,075	1594	1582	0,65	0,82	0,25	2,84
43 epóxido de humuleno II	31,094	1622	1609*	0,12	0,33	—	—
44 neo-intermedeol	31,406	1631	1658	—	0,31	0,34	0,56
45 intermedeol	33,068	1677	1665	tr	1,78	1,53	3,3
46 (6Z)-pentadecen-2-ona	33,198	1680	1667	1,28	tr	tr	3,77
47 2-pentadecanona	34,160	1707	1697	tr	0,11	—	0,77
48 ácido hexadecanóico	44,384	2019	1959	—	—	—	7,48
hidrocarbonetos monoterpênicos				48,62	1,46	33,74	0,59
monoterpenos oxigenados				0,39	0,21	0,37	0,51
hidrocarbonetos sesquiterpênicos				38,94	87,77	61,23	59,34
sesquiterpenos oxigenados				0,77	3,24	2,12	6,7
cetonas				1,59	1,06	0,63	12,87
ésteres				5,48	0,13	0,55	1,35
outros				0,35	0,16	0,48	8,43
não identificados				3,86	5,97	0,88	10,21

IRLca: Índice de Retenção Linear Calculado; IRLlit: Índice de Retenção Linear da Literatura (Adams, 2017)

TR I: Tempo de Retenção da coluna I

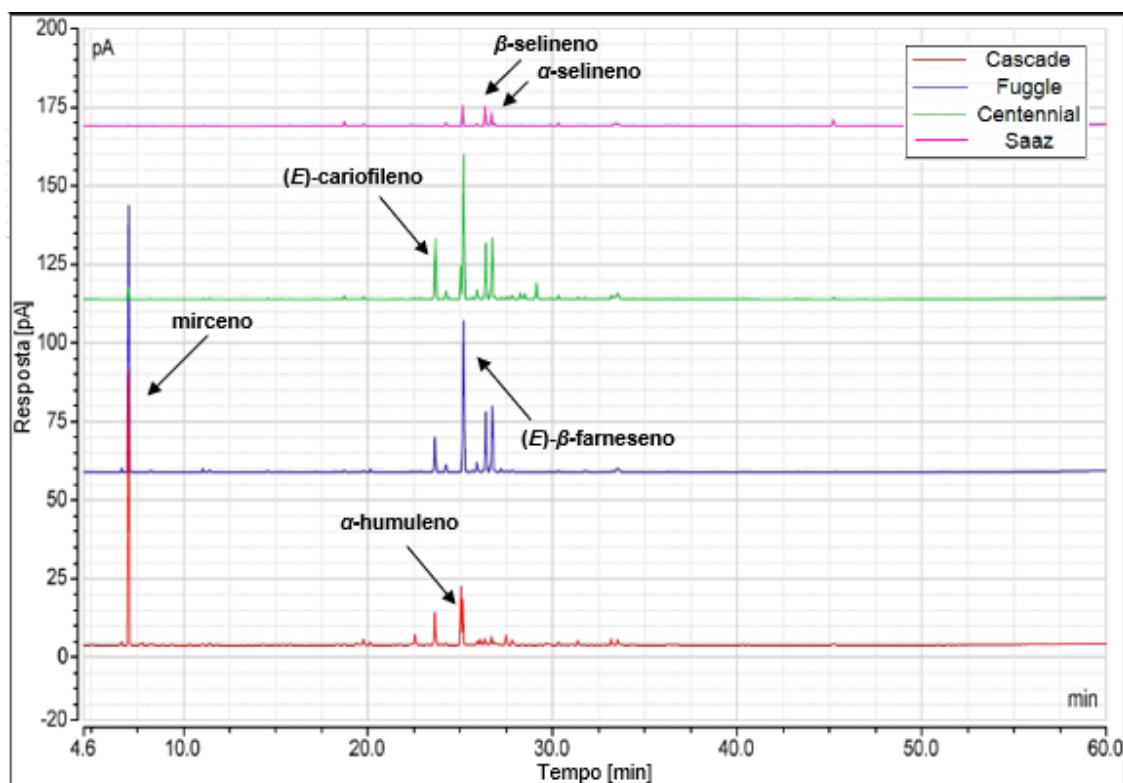
tr: traço

—: não detectado

*Índice de Retenção Linear da Literatura NIST National Institute of Standards and Technology

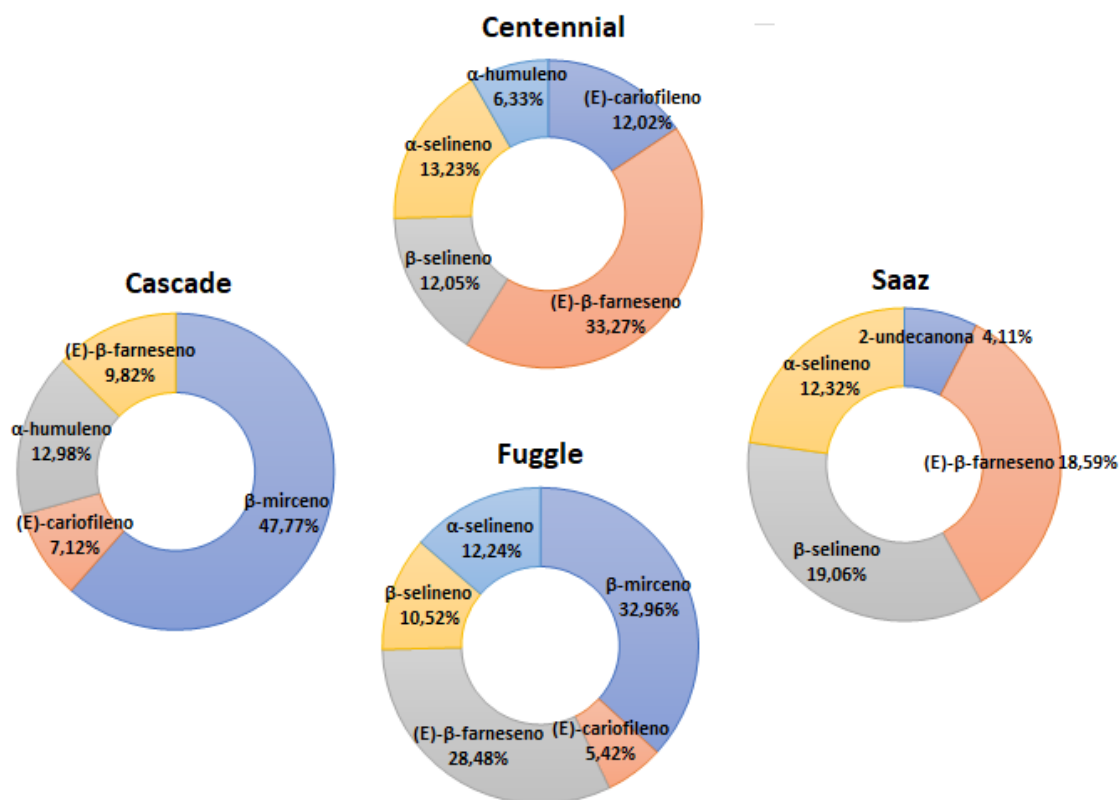
Conforme observado na Tabela 2 e nos cromatogramas dos óleos essenciais (Figura 10), as variedades apresentam divergência na composição química, variando a proporção relativa das substâncias β -mirceno, (*E*)- β -farneseno, α -humuleno, (*E*)-cariofileno, α -selineno e β -selineno. Embora os hidrocarbonetos monoterpênicos e sesquiterpênicos sejam os constituintes mais abundantes nos óleos essenciais de lúpulo, observa-se ainda, substâncias monoterpênicas e sesquiterpênicas oxigenadas, ésteres, aldeídos e cetonas em menor abundância.

Figura 10 – Cromatogramas das variedades de lúpulo cultivadas em Botucatu, Estado de São Paulo e as substâncias majoritárias identificadas



Dentre as variedades avaliadas, a Saaz apresentou a maior abundância de cetonas (12,87%), dentre elas a 2-undecanona (4,11%) e (6,*Z*)-pentadecen-2-ona (3,77%) (Tabela 2). As substâncias majoritárias também variaram entre as variedades e podem ser observadas na Figura 11.

Figura 11 – Substâncias majoritárias e seu porcentual relativo no óleo essencial de lúpulo (*H. lupulos*) das variedades Cascade, Centennial, Fuggle e Saaz



De acordo com Eyres e Dufour (2019), tanto o rendimento de óleo essencial pode variar entre as variedades, assim como proporções relativas dos seus compostos individuais. O β-mirceno foi o constituinte majoritário para as variedades Cascade (47,77%) e Fuggle (32,96%), enquanto nas variedades Centennial e Saaz este foi encontrado em baixa abundância, com 1,46% e 0,59%, respectivamente. Segundo o trabalho de Duarte *et al.* (2020), que avaliou várias variedades comercializadas, o β-mirceno foi a segunda substância em maior abundância no óleo essencial da Cascade, Fuggle e Saaz, pois o α-humuleno foi a substância majoritária. No entanto, neste trabalho, o α-humuleno foi detectado na Cascade (12,98%), na Centennial (6,33%) e na Fuggle (0,07%). Para a variedade Saaz, o β-mirceno foi encontrado em baixa quantidade e não foi detectado a ocorrência de α-humuleno pela análise 1D-CG. O α-humuleno é mais abundante que o β-mirceno nas variedades de aroma (DUARTE *et al.*, 2020;

BERNOTIENÉ *et al.*, 2004), contudo, esse padrão só foi observado na variedade de dupla aptidão (Centennial).

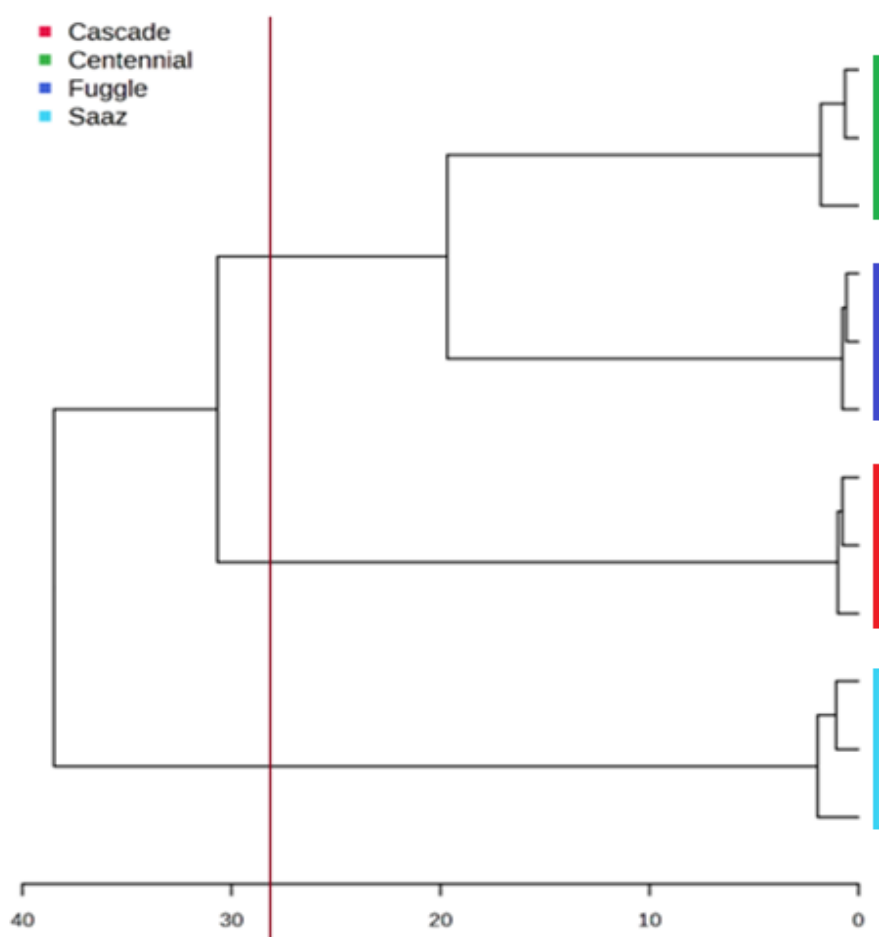
O β -mirceno é uma substância capaz de conferir notas aromáticas herbais, que remete ao aroma de lúpulo fresco (AMALGUER *et al.*, 2014). Segundo Tedone *et al.* (2019) esta substância é pouco estável durante o período de armazenamento pós-colheita.

A variedade Centennial apresentou como constituinte majoritário o (*E*)- β -farneseno (33,27%). Os trabalhos de composição química do óleo essencial da variedade Centennial são escassos, porém no trabalho de FENG (2014), β -mirceno e α -humuleno foram os constituintes mais abundantes nessa variedade. O (*E*)- β -farneseno também foi encontrado em abundância na Fuggle (28,48%) e na Saaz (18,44%). Estas variedades também apresentaram alto conteúdo de α - e β -selineno, sendo β -selineno o composto majoritário na Saaz (19,02%). Essas substâncias são encontradas com frequência no óleo essencial de várias variedades de lúpulo (DUARTE *et al.*, 2020). A Cascade apresentou o mais baixo conteúdo de (*E*)- β -farneseno (9,82%) entre as variedades estudadas, porém no trabalho de Almeida *et al.* (2020), esta foi a substância majoritária no óleo essencial da variedade, com média de 20,6%, seguida de β -selineno (18,78%), β -mirceno (16,57%) e α -selineno (16,22%).

Segundo Amalguer *et al.* (2014), as substâncias majoritárias do óleo essencial de lúpulo são β -mirceno, α -humuleno, (*E*)-cariofileno e β -farneseno. No entanto, a literatura aponta que o β -farneseno é encontrado apenas em algumas variedades e geralmente em pequena abundância, enquanto o β -mirceno, α -humuleno e (*E*)-cariofileno podem compor, juntos, de 80 a 90% da constituição química do óleo essencial. Neste trabalho, a abundância média de (*E*)- β -farneseno entre as variedades foi de 22,46%, substância em destacada abundância. Conforme visto no trabalho realizado por Almeida *et al.* (2020) com lúpulo (*H. lupulus*) cultivado em São Bento do Sapucaí-SP (Brasil, 22°37'32.3" sul e 45°34'54" oeste), o (*E*)- β -farneseno foi a substância majoritária (20,6%) no óleo essencial da variedade Cascade, em contrapartida, esse composto foi observado em menor quantidade na mesma variedade proveniente dos Estados Unidos (10,59%). No entanto, segundo Amalguer *et al.* (2014), o (*E*)- β -farneseno é encontrado em quantidades acima de 1% apenas em algumas variedades.

Os dados da composição química dos óleos essenciais foram submetidos à análise multivariada. O emprego da análise de agrupamentos hierárquicos (HCA) permitiu observar padrões entre as amostras analisadas. O dendograma gerado pela Análise de Agrupamentos Hierárquicos (*cluster*), a partir do corte realizado em 70% da distância Euclidiana, permitiu distinguir as variedades em três grupos (Figura 12).

Figura 12 - Análise de agrupamentos hierárquicos (*cluster*) de acordo com a distância Euclidiana de lúpulo (*H. lupulus*) das variedades Cascade, Centennial, Fuggle e Saaz

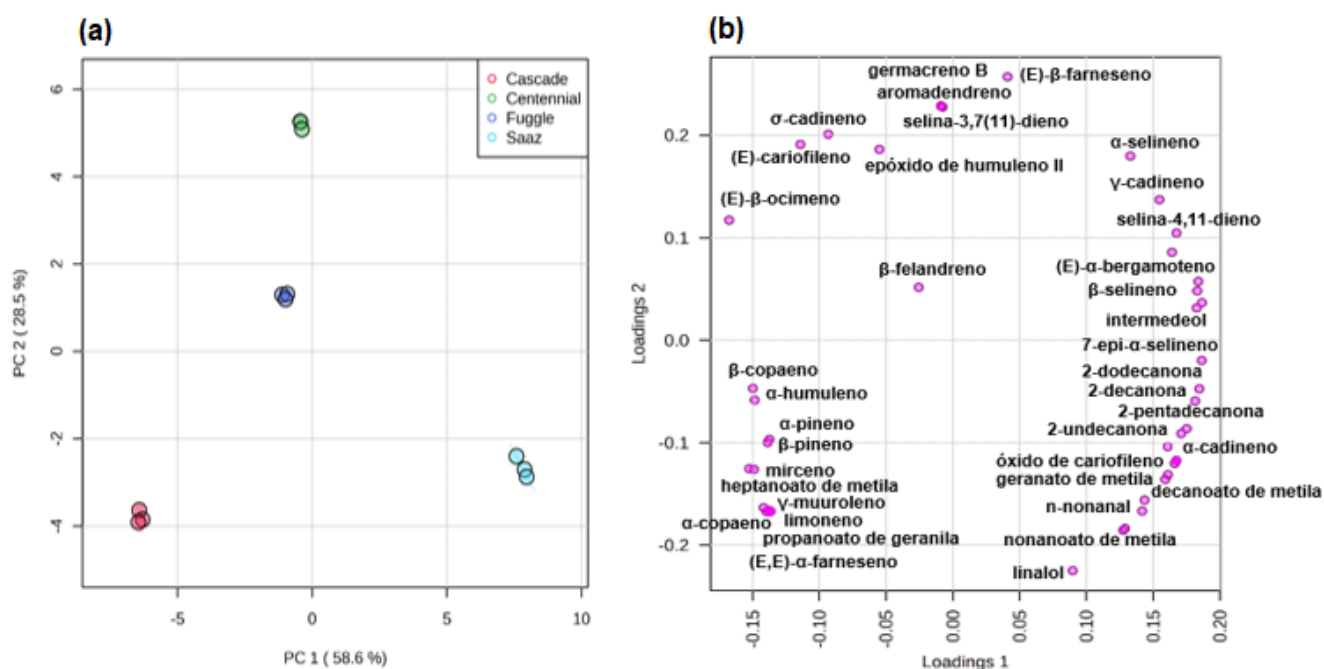


A variedade Saaz é a que mais se diferenciou entre todas as variedades, apresentando menos de 1% de hidrocarbonetos monoterpênicos, com baixo teor de β -mirceno e α -humuleno. Porém, a variedade apresentou o maior conteúdo de cetona (12,87%), além de outras substâncias como ésteres e ácido graxo. A variedade Cascade apresentou substâncias únicas como propanoato de geranila

e acetato de geranila, se destacando por apresentar o maior conteúdo de ésteres (5,48%), além do maior conteúdo de hidrocarbonetos monoterpênicos (48,62%). As variedades Fuggle e Centennial possuem similaridade, pois ambas apresentam conteúdo semelhante de substâncias, como por exemplo o (*E*)- β -farneseno, β -selineno e α -selineno, que na Centennial foi em média 33,27%, 12,05% e 13,23%, respectivamente e na Fuggle 28,48%, 10,52% e 12,24%, respectivamente. No entanto, estas variedades também possuem substâncias que as distinguem, como β -felandreno, α - e β -pineno e heptanoato de metila, que estão presentes no óleo essencial da variedade Fuggle mas não presente na variedade Centennial.

Na Figura 13 (a) é apresentado o gráfico de *score* (*scores plot*), gerado pela Análise de Componentes Principais (ACP), com duas componentes principais, que juntas explicaram 87,1% da variância observada, sendo a PC1 responsável por descrever 58,6% e a PC2 28,5% da variância total. A Figura 13 (b) (*loading plot*) mostra de acordo com sua distribuição, quais variáveis foram responsáveis pelas separações observadas no *scores plot*.

Figura 13 – Gráficos de *Scores Plot* (a) e *Loading Plot* (b) das componentes principais (ACP) aplicada aos dados da composição química dos óleos essenciais de lúpulo (*H. lupulus*) das variedades Cascade, Centennial, Fuggle e Saaz



Foi possível identificar que no plano longitudinal, quatro grupos distintos são formados de acordo com o perfil químico do óleo essencial. A variedade Centennial se diferencia pela presença de substâncias como germacreno B, aromadendreno, selina-3,7(11)-dieno e alta abundância de (*E*)- β -farneseno. A variedade Fuggle apresenta β -felandreno, substância exclusiva a essa variedade, e a variedade Saaz apresentou maiores conteúdos de cetonas, além do alto conteúdo de β -selineno. Já a variedade Cascade, se diferencia pela alta abundância de β -mirceno e α -humuleno, contendo também substâncias como limoneno, α -pineno e α -copaeno, além de ésteres como propanoato de geranila e heptanoato de metila.

Nas análises por CG-EM foi verificada a coeluição de substâncias dificultando a identificação das mesmas. Portanto, os óleos essenciais foram analisados por meio da Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente acoplada a Espectrometria, em que foi possível identificar mais 27 substâncias quando comparada a análise unidimensional (1D-CG), as quais estão destacadas em negrito na Tabela 3.

Tabela 3 – Composição química (%) dos óleos essenciais de lúpulo (*H. lupulus* L.) das variedades Cascade, Centennial, Fuggle e Saaz cultivadas em Botucatu, Estado de São Paulo analisados por Cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas (CG×CG/EM)

Nº	Substância	IRLca	IRLit	TR I (min)	TR II (min)	Porcentagem Relativa (%)			
						Cascade	Centennial	Fuggle	Saaz
1	α -pineno	936	924	10,10	2,21	0,17	—	0,15	—
2	propionato de isoamila	967	960	11,20	4,33	0,49	—	—	—
3	β -pineno	981	974	11,70	2,05	0,09	—	0,41	—
4	β -mirceno	989	988	12,00	2,99	41,16	1,95	36,08	0,61
5	isobutirato de isoamila	1010	1007	12,80	1,44	0,47	—	—	—
6	δ-3-careno	1014	1008	13,00	2,05	—	—	0,16	—
7	heptanoato de metila	1021	1021	13,30	5,49	0,5	—	0,28	—
8	limoneno	1031	1024	13,70	3,49	0,51	0,16	—	—
9	β -felandreno	1033	1025	13,80	2,73	—	—	0,61	—
10	(<i>E</i>)- β -ocimeno	1076	1044	15,60	4,29	0,18	0,43	0,02	—
11	terpinoleno	1093	1086	16,30	2,97	—	—	0,05	—
12	2-nonanona	1095	1095	16,40	0,05	—	—	0,17	2,44
13	linalol	1102	1095	16,70	5,56	0,24	3,02	—	—
14	perilleno	1102	1102	16,70	6,62	1,22	—	—	—
15	n-nonanal	1104	1100	16,80	5,04	—	—	1,06	2,9
16	isovalerato de isopentil	1107	1102	16,90	3,93	0,49	—	—	—
17	(<i>E</i>)-hidrato de pineno	1107	1119	16,90	4,08	—	—	0,01	—
18	octanoato de metila	1124	1123	17,70	5,65	0,34	—	—	1,81
19	2-decanona	1193	1190	20,80	6,22	—	0,51	0,47	1,21
20	n-decanal	1207	1201	21,40	5,54	—	—	0,17	—
21	nonanoato de metila	1223	1223	22,10	5,70	0,28	0,47	0,3	1,54
22	levulinato de butila	1223	1247	22,10	6,20	—	0,02	—	—
23	1-trideceno	1280	1290	24,60	5,96	—	—	—	0,11
24	2-undecanona	1293	1293	25,20	6,22	0,53	0,78	0,3	5,8

25	decanoato de metila	1323	1323	26,50	5,39	0,15	—	—	0,4
26	geranato de metila	1328	1324	26,70	1,51	0,68	0,2	0,69	0,22
27	α-cubebeno	1356	1348	27,90	2,45	0,09	—	0,04	—
28	2-metil-undecanal	1360	1365	28,10	0,26	0,13	—	—	—
29	acetato de geranila	1384	1379	29,10	6,71	1,64	—	—	—
30	α -copaeno	1386	1380*	29,20	1,41	—	0,92	0,12	—
31	2-dodecanona	1395	1388	29,60	4,85	—	0,42	0,2	1,06
32	β-elemeno	1400	1389	29,80	2,26	—	0,22	0,16	—
33	β-longipineno	1405	1400	30,00	1,93	—	0,1	0,02	—
34	(Z)-α-bergamoteno	1422	1411	30,70	1,98	—	0,1	0,2	0,12
35	(E)-cariofileno	1432	1417	31,10	3,20	5,24	11,51	—	1,69
36	(E)- α -bergamoteno	1441	1432	31,50	1,58	0,64	0,96	—	2,05
37	γ-elemeno	1441	1432	31,50	2,12	—	0,55	—	—
38	aromadendreno	1451	1439	31,90	1,93	—	0,24	—	—
39	(E)- β -farneseno	1459	1450*	32,20	3,13	3,42	28,17	25,68	11,93
40	propanoato de nerila	1461	1452	32,30	5,72	1,59	—	0,37	—
41	α -humulene	1466	1454	32,50	3,58	15,14	1,71	0,26	1,13
42	4,5-di-epi-aristolocheno	1480	1471	33,10	3,56	0,04	0,63	—	0,41
43	selina-4,11-dieno	1485	1474	33,30	2,14	—	1,83	0,87	1,35
44	propanoato de geranila	1485	1476	33,30	2,36	0,01	—	—	—
45	γ -muuroleno	1485	1478	33,30	3,42	0,62	—	—	—
46	α-amorfeno	1490	1483	33,50	3,46	0,04	—	—	—
47	(E)-β-bergamoteno	1493	1483	33,60	2,12	—	0,06	0,15	—
48	2-tridecanona	1495	1491*	33,70	5,30	0,66	1,15	—	2,08
49	β -selineno	1498	1492	33,80	2,94	1,12	11,18	8,72	13,25
50	(Z)-β-guaiano	1503	1492	34,00	2,80	—	—	0,86	—
51	α -selineno	1508	1498	34,20	3,75	1,25	10,87	8,76	8,49
52	(E,E)- α -farneseno	1513	1505	34,40	2,59	—	0,12	—	—
53	isobutanoato de geranila	1513	1511	34,40	4,48	1,66	—	—	—
54	β -bisaboleno	1513	1512	34,40	3,42	0,04	—	0,24	0,35
55	γ -cadineno	1526	1513	34,90	4,03	0,39	0,38	0,14	0,5

56	7-epi- α -selineno	1533	1520	35,20	3,11	—	—	0,41	—
57	δ -cadineno	1533	1522*	35,20	3,60	0,81	1,14	—	0,99
58	(Z)-calameneno	1536	1528	35,30	4,83	0,35	0,16	0,04	0,1
59	(E)-cadina-1,4-dieno	1544	1533	35,60	3,91	0,03	—	—	—
60	α -cadineno	1549	1537	35,80	3,96	0,07	—	0,02	—
61	selina-4(15),7(11)-dieno	1549	1544*	35,80	1,74	—	—	—	0,75
62	α-calacoreno	1556	1545	36,10	4,88	—	0,19	—	0,35
63	selina-3,7(11)-dieno	1556	1545	36,10	2,61	—	1,02	—	0,72
64	germacreno B	1572	1559	36,70	3,02	—	1,42	—	—
65	dendrolasina	1579	1570	37,00	3,72	—	—	—	0,8
66	óxido de cariofileno	1600	1582	37,80	6,55	0,53	0,93	0,38	2,49
67	epóxido de humuleno II	1629	1608	38,90	1,06	0,81	0,59	—	0,79
68	neo-intermedeol	1632	1658	39,00	2,17	—	0,7	0,44	—
69	14-hidroxi-(Z)-cariofileno	1663	1666	40,20	4,62	—	—	—	2,05
70	14-hidroxi-9-epi-(E)-cariofileno	1671	1668	40,50	2,21	1,43	1,09	—	—
71	intermedeol	1674	1669*	40,60	4,36	—	4,78	1,66	9,35
72	2-pentadecanona	1697	1697	41,50	5,23	0,08	0,16	—	1,48
73	ácido hexadecanoico	1969	1959	50,70	5,94	—	—	—	0,17
hidrocarbonetos monoterpênicos						42,11	2,54	37,48	0,61
monoterpenos oxigenados						1,95	3,02	0,01	0
hidrocarbonetos sesquiterpênicos						29,29	73,48	46,69	44,18
sesquiterpenos oxigenados						2,77	8,09	2,48	15,48
cetonas						1,27	3,02	1,14	14,07
ésteres						7,81	0,69	1,64	3,97
outros						0,13	0	1,23	3,18
não identificados						14,67	9,16	9,33	18,51

IRLca: Índice de Retenção Linear Calculado; IRLlit: Índice de Retenção Linear da Literatura (Adams, 2017)

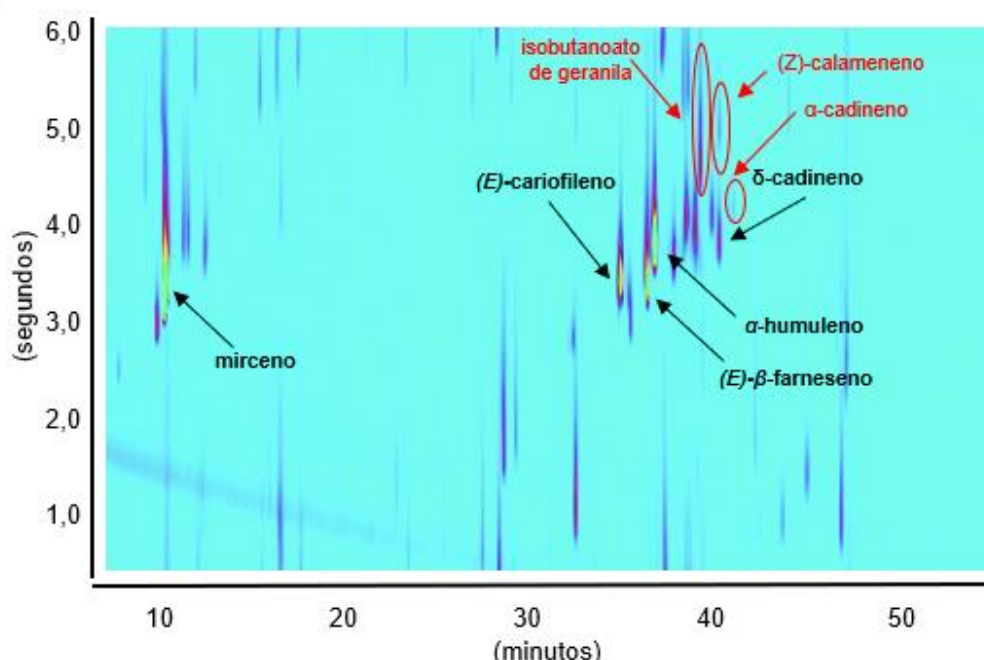
TR I: Tempo de Retenção na coluna I; TR II: Tempo de Retenção na coluna II

—: não detectado

*Índice de Retenção Linear da Literatura NIST National Institute of Standards and Technology

Pelo maior poder de resolução da análise CG×CG-EM (2D-CG), foi possível identificar outras substâncias no óleo essencial das variedades. A Figura 14 demonstra o cromatograma do óleo essencial da variedade Cascade obtido na análise bidimensional. As substâncias (Z)-calameneno (0,35%) e isobutanoato de geranila (1,66%), além de α -cadineno, destacadas em vermelho, foram identificadas exclusivamente na análise 2D-CG para a variedade Cascade. As substâncias destacadas em preto foram identificadas em ambas análises.

Figura 14 – Cromatograma CG×CG-EM do óleo essencial da variedade Cascade cultivada em Botucatu, Estado de São Paulo



Também foi possível identificar as substâncias (Z)- α -bergamoteno e (E)- α -bergamoteno, epóxido de humuleno e α -humuleno na variedade Saaz. Na análise 1D não havia sido detectada a presença do α -humuleno nesta variedade, uma das substâncias majoritárias do óleo essencial de lúpulo (DURELLO; SILVA; BOSGUZ, 2019). O epóxido de humuleno II também só havia sido detectado na Cascade e Centennial, no entanto, também foi encontrado no óleo essencial da variedade Saaz após análise 2D-CG. Essa substância é conhecida por contribuir com um aroma agradável a cerveja (ALMAGUER, 2014).

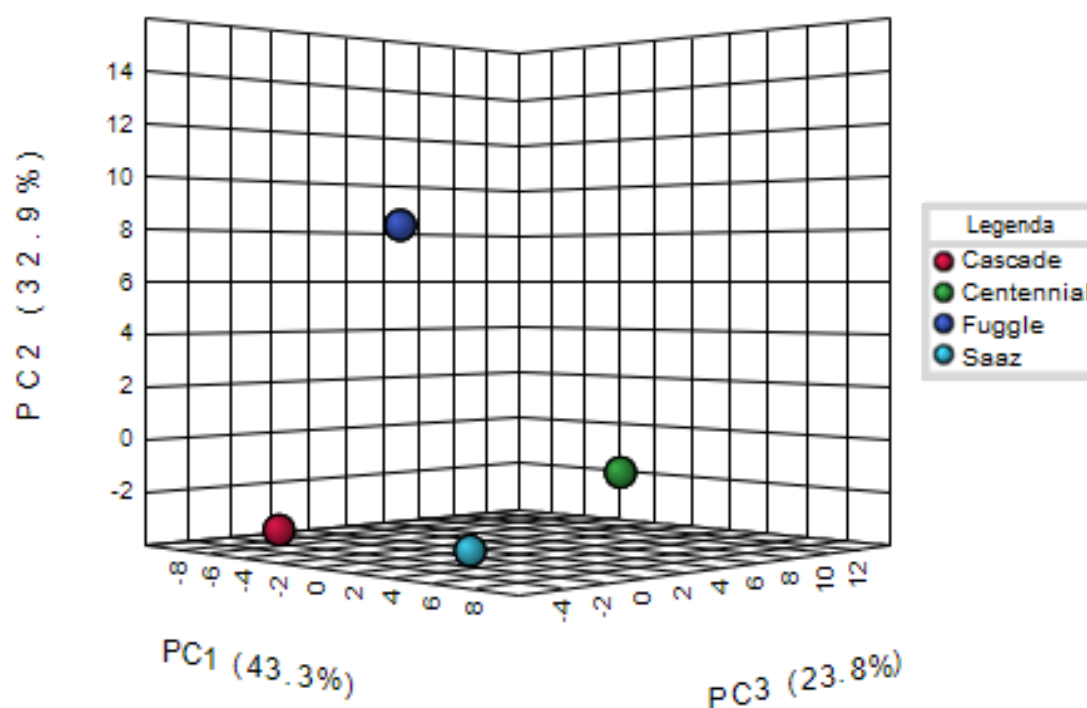
Na variedade Cascade, foram encontrados ésteres, como propionato de isoamila, isovalerato de isopentila, propanoato de nerila e isobutanoato de

geranila, além de outras substâncias como perilleno e 14-hidroxi-9-*epi*-(*E*)-cariofileno. Isobutirato de geranila (identificado na 2D-CG) e acetato de geranila (identificação em ambas as técnicas 1D-CG e 2D-CG). Estes ésteres são considerados compostos importantes para o aroma específico da variedade Cascade (TAKOI, 2019).

Na variedade Centennial foi possível encontrar outras substâncias em menor abundância, como (*E*)- β -bergamoteno, (*Z*)-calameneno, α -calacoreno, β -elemeno e γ -elemeno. E na variedade Fuggie o δ -3-careno, (*Z*)- β -guaieno, (*E*)- β -bergamoteno e propanoato de nerila, também detectada na Cascade.

Através da Análise de Componentes Principais (ACP) com 3 componentes, foi possível explicar 100% da variação, possibilitando a identificação de quatro grupos distintos. Portanto, assim como na ACP da análise 1D-CG, as quatro variedades se diferenciaram em quatro grupos distintos (Figura 15).

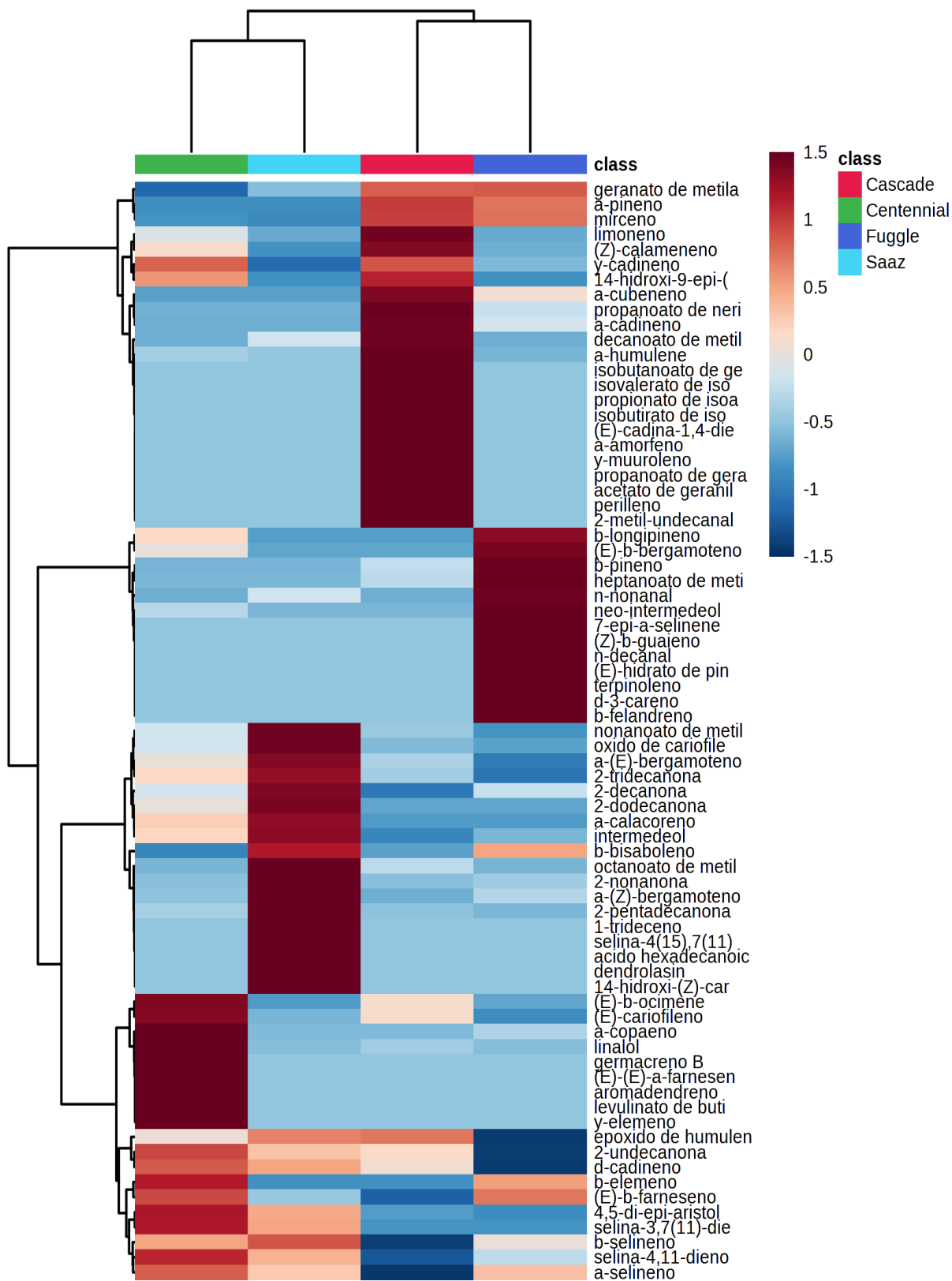
Figura 15- Análise de componentes principais tridimensional (3D) em função da composição química dos óleos essenciais de lúpulo (*H. lupulus*) das variedades Cascade, Centennial, Fuggie e Saaz



Foi possível notar que outras substâncias contribuem para a diferenciação da composição química do óleo essencial das variedades após a análise 2D-CG. Esse padrão de diferenciação dos grupos ocorre tanto na análise 1D-CG quanto na 2D-CG. No entanto, enquanto a composição química mais diferenciada pela análise 1D-CG foi da Saaz, a variedade Centennial teve o perfil mais distinto com a análise 2D-CG. No mapa de calor (*heatmap*) apresentado na Figura 16, foi possível perceber a diferença das variedades, baseado em suas correlações com as substâncias identificadas.

Ao analisar o *heatmap* da composição química da análise 2D-CG, observa-se a diferença entre as variedades. Para cada variedade, formaram-se blocos distintos que demonstram a correlação de substâncias específicas com as variedades, como no caso de linalol, germacreno B e γ -elemeno na Centennial; 2-decanona, intermedeol, octanoato de metila e (*Z*)- α -bergamoteno na Saaz; β -pineno, terpinoleno e σ -3-careno na Fuggle e geranato de metila, β -mirceno e α -humuleno na Cascade. Portanto, a análise 2D-CG permitiu identificar um maior número de substâncias no óleo essencial das variedades que também podem auxiliar na diferenciação da composição química de cada variedade.

Figura 16 - Mapa de calor (*Heatmap*) com base na composição química do óleo essencial de lúpulo (*H. lupulus*) das variedades Cascade, Centennial, Fuggie e Saaz analisadas por CG×CG-EM



A distinção das variedades em quatro grupos pode ser reafirmada pelo padrão que se forma na correlação das substâncias com as variedades. Um bloco bastante distinto é formado para Saaz pelo alto conteúdo de substâncias da classe das cetonas (2-tridecanona, 2-nonanona, 2-undecanona e 2-pentadecanona), e dos ésteres (nonanoato de metila, octanoato de metila, geranato de metila, decanoato de metila etc), além de maior conteúdo de (*E*)- α -bergamoteno e óxido de cariofileno entre as variedades. A Cascade também apresenta um perfil químico bastante distinto das demais variedades, com as substâncias acetato de geranila, α -copaeno, propanoato de geranila, isobutirato de isoamila, β -bisaboleno, γ -muuroleno, além de limoneno, ocorrendo em maior abundância nessa variedade, enquanto as outras apresentaram essas substâncias somente em nível de traço ou não foram detectadas. O (*E,E*)- α -farneseno, apesar de não ter sido único à variedade, ocorreu na Cascade em maior abundância (2,32%). Substâncias como heptanoato de metila, β -mirceno, α - e β -pineno, além de α -humuleno, também estão fortemente correlacionadas com a variedade, que apresentou as maiores porcentagens relativas.

É possível notar que a variedade Fuggles foi a única que apresentou β -felandreno, possuindo uma alta correlação com a variedade. Segundo Jeliaskova *et al.* (2018), esta substância é classificada como um hidrocarboneto monoterpênico monocíclico, que assim como o α -felandreno, pode estar presente no óleo essencial de lúpulo. A Centennial possui substâncias únicas como germacreno B, aromadendreno, selina-3,7(11)-dieno e epóxido de humuleno fortemente correlacionadas à ela.

O linalol foi identificado no óleo essencial de todas as variedades, embora todas abaixo de 1%. Mesmo que em baixo teor, o linalol é considerado o responsável pelo aroma floral da cerveja. No entanto, a contribuição do linalol para o aroma de lúpulo na cerveja é mais perceptível quando ocorre adição tardia, na etapa final da fervura, conhecida como a técnica *dry hopping* e é um dos poucos componentes do óleo de lúpulo que é universalmente aceito como aroma ativo na cerveja. Outros compostos com maior volatilidade também podem contribuir para o aroma se adicionados tardiamente, como no caso do β -mirceno (DURELLO; SILVA; BOSGUZ, 2019).

Naya e Kotake (1972) relataram que as variedades ricas em β -mirceno apresentam alto teor de ésteres. Esse padrão foi observado para Cascade, que

apresentou além do maior conteúdo de β -mirceno, maior conteúdo de ésteres. Segundo relatado por Van Holle *et al.* (2020), a composição química da Cascade possui significativo conteúdo de ésteres. Segundo os autores, os ésteres são, provavelmente, os mais importantes de todos os componentes do óleo essencial de lúpulo, devido à sua contribuição para o aroma e sabor do lúpulo. Relatos antigos de Wright e Connery (1951) revelam que os ésteres do óleo essencial de lúpulo são os constituintes mais intimamente associados à sua qualidade. Além disso, os autores observaram também que óleos essenciais com alto teor de ésteres e baixa acidez apresentam aroma mais delicado e agradável (KENNY, 1990). Peacock *et al.* (1981) e Lam *et al.* (1986) propuseram que linalol, geraniol, citronelol e seus derivados acetato de geranila e isobutirato de geranila são também compostos de sabor chave para o aroma específico da variedade Cascade, que apresenta notas florais ou frutadas. A Cascade apresentou 1,84% de acetato de geranila.

Epóxido de humuleno II e óxido de cariofileno estão relacionados com o sabor picante que pode ocorrer nas cervejas. O óxido de cariofileno ocorreu em maior abundância na variedade Saaz (2,84%). Em relação à substância undecan-2-ona, esta foi identificada pela primeira vez em 1928 e no final da década de 1950, identificada como o componente oxigenado mais abundante na maioria dos óleos essenciais de lúpulo. Foi relatado que este componente do óleo essencial de lúpulo dá um sabor floral à cerveja. Nas variedades analisadas, essa substância está presente no óleo essencial de todas as variedades, porém em baixa concentração (menos que 1%) na Cascade, Centennial e Fuggie, enquanto para Saaz o teor foi de 4,11%.

O óleo essencial da variedade Saaz apresentou uma composição química diferente do relatado na literatura, pois os compostos majoritários da Saaz frequentemente relatados são β -mirceno, α -humuleno, e β -cariofileno (DUARTE *et al.*, 2020; GONÇALVES *et al.*, 2012). Embora a composição química possa ser alterada de acordo com o local de cultivo, outros fatores como secagem e armazenamento podem acarretar perda de substâncias de maior volatilidade nos óleos essenciais (SALES *et al.*, 2020). Até o momento, estes são os primeiros dados de composição química da variedade Saaz cultivada no Brasil.

4.3 Composição química dos constituintes voláteis dos hidrolatos de lúpulo

Na Tabela 4 estão demonstrados os constituintes voláteis nas amostras dos hidrolatos identificados por Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). No total foram identificadas 46 substâncias, principalmente da classe dos hidrocarbonetos monoterpênicos e monoterpênicos oxigenados.

Tabela 4. Composição química média (% relativa) dos hidrolatos de lúpulo (*H. lupulus*) das variedades Cascade, Centennial, Fuggle e Saaz cultivadas em Botucatu, Estado de São Paulo e analisadas por CG-EM

Nº	Substância	TR I (min)	IRLca	IRLit	Cascade	Porcentagem Relativa (%)		
						Centennial	Fuggle	Saaz
1	α -pineno	5,646	942	932	1,93	2,08	3,3	4,5
2	β -pineno	6,804	990	974	5,03	4,43	6,01	6,5
3	β -mirceno	7,155	1003	988	7,25	4,34	9,13	5,79
4	α -felandreno	7,597	1016	1002	1,93	1,23	1,77	2,94
5	limoneno	8,375	1039	1024	66,35	52,73	65,35	61,81
6	(<i>E</i>)- β -ocimeno	9,071	1060	1044	0,25	0,32	0,39	tr
7	γ -terpineno	9,396	1070	1054	1,66	1,59	1,97	2,02
8	óxido de (<i>Z</i>)-linalol	10,200	1093	1067	0,08	0,09	—	tr
9	terpinoleno	10,503	1102	1086	0,31	0,28	0,39	0,45
10	2-nonanona	10,715	1107	1087	tr	—	—	0,38
11	linalol	11,331	1123	1095	8,92	3,15	1,36	8,19
12	cânfora	12,900	1163	1141	0,2	tr	—	tr
13	citronelal	13,234	1172	1148	0,17	—	—	—
14	terpinen-4-ol	14,262	1198	1174	0,22	0,12	—	0,27
15	α -terpineol	15,058	1217	1186	0,37	1,24	0,45	0,52
16	piperitona	17,528	1277	1249	0,15	—	—	—
17	geraniol	18,135	1292	1249	0,97	—	—	—
18	geranial	18,421	1299	1264	—	0,13	—	0,04
19	2-undecanona	18,743	1307	1293	—	0,24	—	0,07
20	metil geranato	20,133	1341	1322	—	0,13	—	—
21	propanoato de 2-fenil-etil	21,556	1376	1351	—	tr	0,08	—
22	acetato de geranila	22,559	1400	1379	0,17	—	—	—
23	(<i>E</i>)-cariofileno	23,742	1430	1417	—	0,35	—	tr
24	α -humuleno	25,109	1465	1452	—	0,29	—	—
25	(<i>E</i>)- β -farneseno	25,212	1467	1454	—	1,39	—	—
26	β -chamigreno	25,978	1487	1476	—	—	0,13	—
27	β -selineno	26,426	1498	1489	—	0,85	0,01	0,31

28	α -selineno	26,760	1507	1498	—	0,49	0,13	0,08
29	dendrolasina	29,879	1589	1570	—	0,13	—	—
30	óxido de cariofileno	30,296	1600	1582	—	1,49	—	tr
31	n-hexadecano	30,488	1605	1600	0,14	0,26	—	—
32	epóxido de humuleno II	31,315	1628	1609*	0,1	0,76	—	—
33	1-epi-cubenol	32,035	1648	1627	—	0,12	—	—
34	γ -eudesmol	32,315	1656	1630	—	1,09	—	—
35	epi- α -cadinol	32,621	1664	1638	—	0,65	—	—
36	β -eudesmol	33,063	1677	1649	—	1,37	—	tr
37	α -eudesmol	33,157	1679	1652	—	2,56	—	tr
38	neo-intermedeol	33,264	1682	1658	0,11	7,46	4	0,4
39	n-heptadecano	34,376	1713	1700	0,05	tr	0,12	0,1
40	eudesm-7(11)-en-4-ol	34,732	1724	1700	—	0,54	—	—
41	ciclocolorenona	36,590	1778	1759	—	0,25	—	—
42	acetato de (2Z,6E)-farnesila	39,251	1857	1821	—	0,26	—	—
43	n-hexadecanol	39,585	1867	1874	—	—	—	0,06
44	hexanoato de metila	41,897	1939	1921	—	0,29	—	—
45	ácido n-hexadecanóico	44,527	2024	1973	—	0,26	—	tr
46	n-octadecanol	46,022	2074	2077	—	—	—	0,07
hidrocarbonetos monoterpênicos					84,71	67	88,31	84,01
monoterpenos oxigenados					11	4,64	1,81	9,02
hidrocarbonetos sesquiterpênicos					0	3,37	0,27	0,39
sesquiterpenos oxigenados					0,21	18,3	4	0,4
cetonas					0	0,24	0	0,45
ésteres					0,17	0,42	0,08	0
outros					0,19	0,52	0,12	0,23
não identificados					3,72	5,51	5,41	5,5

IRLca: Índice de Retenção Linear Calculado; IRLlit: Índice de Retenção Linear da Literatura (Adams, 2017)

TR I: Tempo de Retenção da coluna I

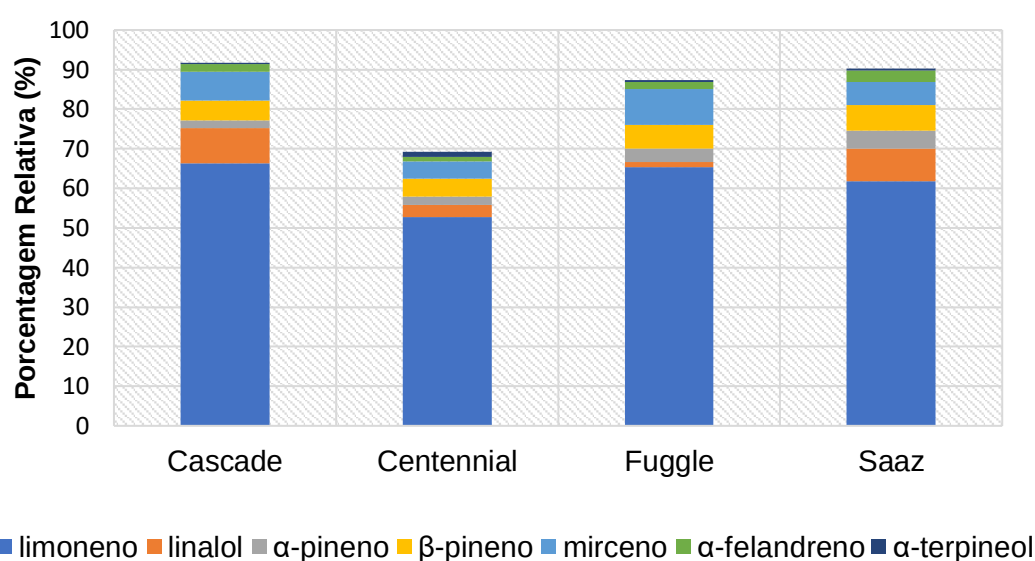
tr: traço

—: não detectado

*Índice de Retenção Linear da Literatura NIST National Institute of Standards and Technology

Em cada variedade foram detectadas proporções relativas diferentes dos constituintes voláteis. No entanto, o limoneno foi a substância comum em maior abundância a todos os hidrolatos das variedades de lúpulo, variando de 52,73% na Centennial a 66,35% na Cascade. Além do limoneno, os hidrolatos de todas as variedades apresentaram linalol, α -pineno, β -pineno, α -felandreno, β -mirceno e α -terpineol como as mais abundantes, variando a porcentagem relativa (Figura 17).

Figura 17 – Porcentagem relativa das substâncias majoritárias dos hidrolatos das variedades de lúpulo (*H. lupulus*) Cascade, Centennial, Fuggle e Saaz cultivadas em Botucatu, Estado de São Paulo



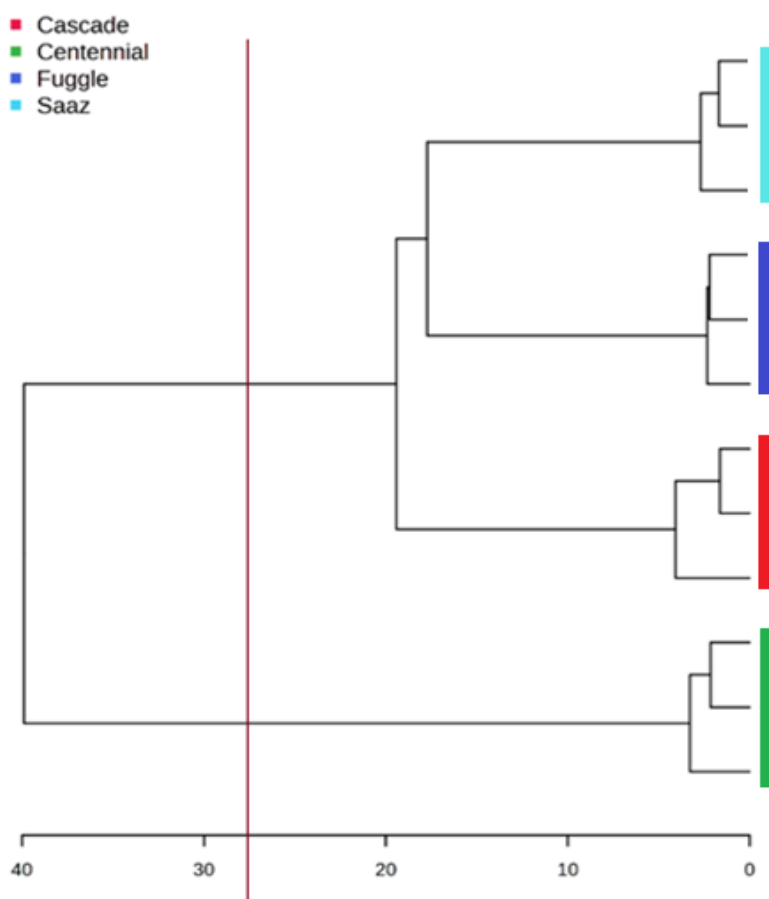
Para a variedade Cascade, a abundância de limoneno foi maior entre as variedades (66,35%), bem como, de linalol e β -mirceno, com 8,92% e 7,25%, respectivamente. A variedade Centennial apresentou maior quantidade de substâncias (38), apresentando uma composição rica em sesquiterpenos oxigenados, embora em menores abundâncias. A variedade Fuggle apresentou alta abundância de limoneno, que junto com β -mirceno, α - e β -pineno, somam mais de 80% da sua composição química. No entanto, a variedade apresentou uma composição química menos complexa, com apenas 16 substâncias identificadas. A variedade Saaz também teve alta proporção de limoneno (61,81%), seguida de linalol (8,19%) e β -pineno (6,5%).

Por ser uma amostra composta por água, é esperado que compostos oxigenados estejam presentes em maiores proporções relativas. Apesar disso, as substâncias em grande abundância nos hidrolatos são os hidrocarbonetos

monoterpênicos β -pineno, β -mirceno e limoneno. Sesquiterpenos oxigenados foram encontrados em maior abundância somente na variedade Centennial (18,3%), que apresentou em sua composição química o 1-*epi*-cubenol, γ -eudesmol, *epi*- α -cadinol, β -eudesmol e α -eudesmol.

Os resultados da composição química dos hidrolatos foram submetidos à análise multivariada. O emprego da Análise de Agrupamento Hierárquico (*cluster*), distinguiu as variedades de lúpulo em dois grupos distintos. Isto pode ser explicado devido à análise de agrupamento levar em consideração a variabilidade total entre as variedades. Com 70% de dissimilaridade, a variedade Centennial apresentou maior diferença em relação as demais (Figura 18). Apesar das variedades Cascade, Saaz e Fuggle apresentarem similaridades entre elas, estas possuem substâncias que também as distinguem.

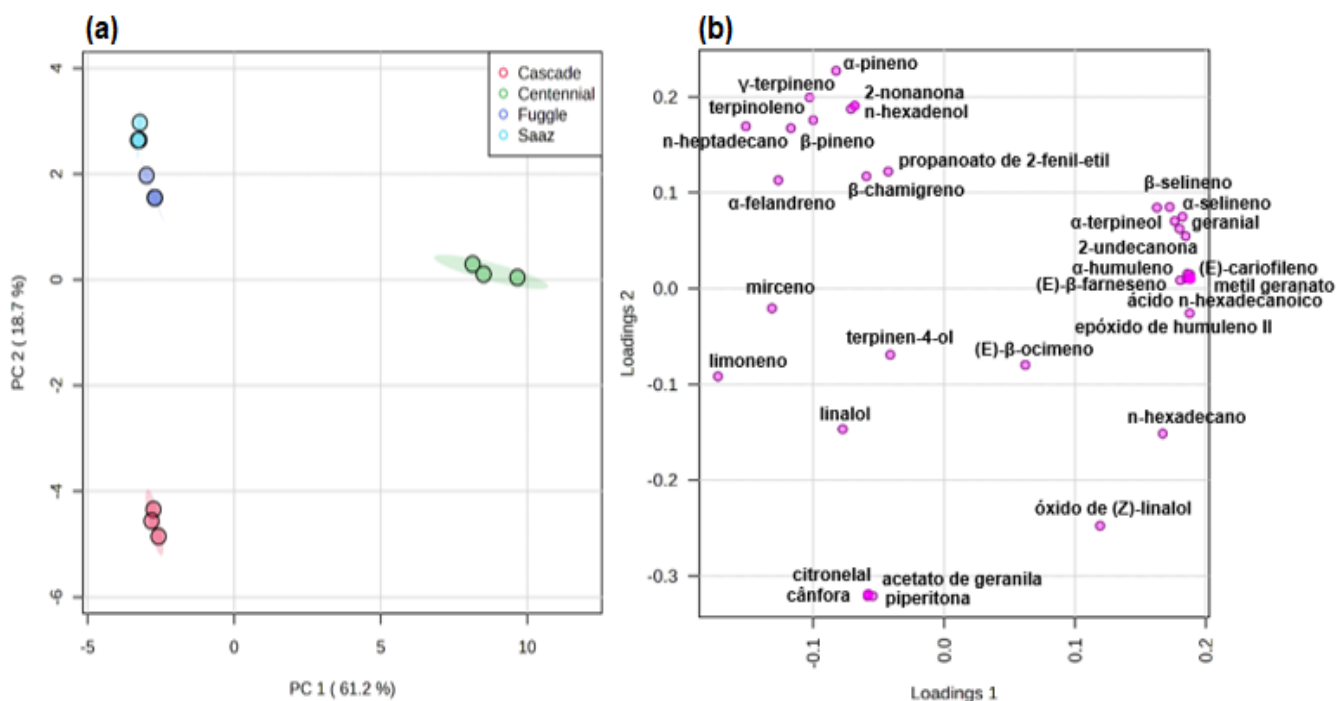
Figura 18 - Análise de agrupamentos hierárquicos (*cluster*) de hidrolato de lúpulo (*H. lupulus*) das variedades Cascade, Centennial, Fuggle e Saaz de acordo com a distância Euclidiana



A variedade Centennial foi a única que apresentou (*E*)- β -farneseno, α -humuleno e (*E*)-cariofileno na composição química de voláteis do hidrolato, indicando que substâncias presentes no óleo essencial podem ser residuais no hidrolato, sem sofrerem transformações químicas. Além disso, esta variedade apresentou maior número de substâncias que não foram detectadas nas outras variedades, como dendrolasina, óxido de cariofileno, 1-*epi*-cubenol, γ -eudesmol, *epi*- α -cadinol, β -eudesmol α -eudesmol, ciclocolorenona, acetato de (2Z,6E)-farnesila, n-hexadecanol, dentre outros sesquiterpenos oxigenados. As outras variedades foram menos distintas, principalmente devido ao conteúdo similar de substâncias da classe dos hidrocarbonetos monoterpênicos, como, por exemplo, α - e β -pineno, β -mirceno, limoneno. No entanto, a variedade Cascade apresenta substâncias diferenciadas como cânfora, piperitona, geraniol e citronelal.

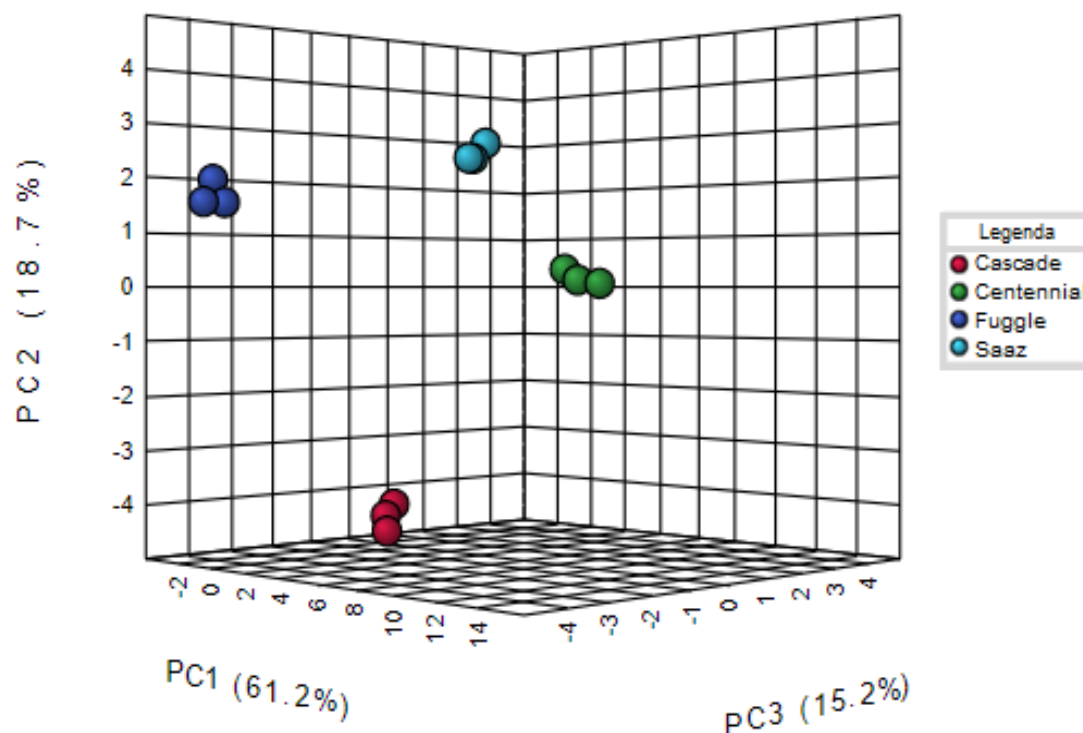
Com a Análise de Componentes Principais (ACP) da composição química dos hidrolatos, foi possível observar padrões entre as amostras analisadas. Na Figura 19 (a) é apresentado o gráfico de *score* (*scores plot*), com duas componentes principais, que juntas explicaram 79,9% da variância observada, sendo a PC1 responsável por descrever 61,2% e a PC2 18,7% da variância total. A Figura 19 (b) (*loading plot*) mostra, de acordo com sua distribuição, quais variáveis foram responsáveis pelas separações observadas no *score plot*.

Figura 19 – Gráficos de Scores Plot (a) e Loading Plot (b) das componentes principais (ACP) aplicada aos dados da composição química dos hidrolatos de lúpulo (*H. lupulus*) das variedades Cascade, Centennial, Fuggie e Saaz



As variáveis fornecidas pela ACP permitiram identificar três grupos distintos, sendo um grupo formado pela variedade Centennial, um pela variedade Cascade e um pelas variedades Saaz e Fuggie, mostrando uma maior similaridade entre estas duas variedades, quando comparadas às variedades Centennial e Cascade, conforme demonstrado na Figura 19 (a). No entanto, de acordo o gráfico bidimensional (PC1xPC2) (Figura 19 (a)), mesmo que as variedades Saaz e Fuggie possuam semelhanças, o gráfico tridimensional (Figura 20) mostrou a separação das variedades em quatro grupos distintos, indicando a existência de variáveis que só foram importantes nessa componente. As variáveis, juntas, explicaram 95,1% da variância observada, sendo a PC3 responsável por contribuir com mais 15,2% da variância observada.

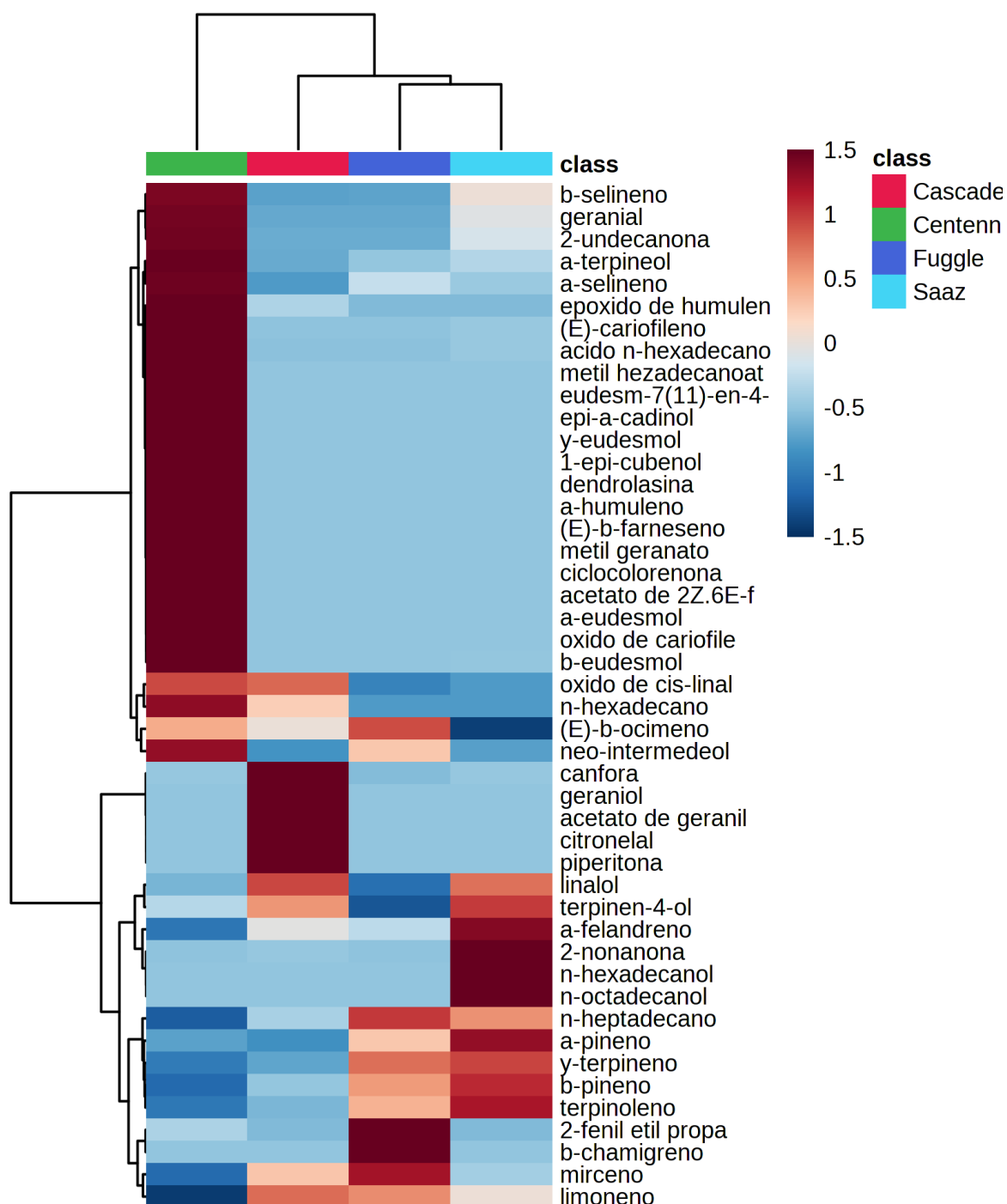
Figura 20 - Gráfico tridimensional (3D) da análise de componentes principais, em função da composição química dos hidrolatos de lúpulo (*H. lupulus*) das variedades Cascade, Centennial, Fuggle e Saaz



Os quatro grupos formados confirmam que as variedades possuem diferenças na composição química dos hidrolatos, assim como os resultados para os óleos essenciais.

Através do mapa de calor (*heatmap*) (Figura 21) é possível verificar que as variedades se diferenciam muito bem em relação às suas substâncias, sendo a Centennial aquela com maior número de substâncias não presentes nas outras. Assim como verificado na análise 2D-CG do óleo essencial, a Centennial foi a variedade mais diferenciada das demais.

Figura 21- Mapa de calor (*heatmap*) com base na composição química do hidrolato de lúpulo (*H. lupulus*) das variedades Cascade, Centennial, Fuggle e Saaz



O limoneno, substância majoritária nos hidrolatos, é um dos monoterpenos mais comuns na natureza e um dos principais constituintes de vários óleos

essenciais. É uma substância associada a um odor agradável de limão, o que o torna amplamente utilizado como aditivo de sabor e fragrância em alimentos comuns, como sucos de frutas, doces, gomas de mascar, refrigerantes e sorvete, sendo também uma fragrância barata utilizada na formulação de cosméticos (VIEIRA *et al.*, 2018). A grande abundância dessa substância no hidrolato atenta para o potencial desse produto que é resíduo da extração de óleos essenciais.

Além das aplicações relatadas, existem estudos comprovados sobre a atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante, antinociceptivo, anticâncer e inseticida do limoneno (ERASTO e VILJOEN, 2008). A substância também é facilmente convertida em α -terpineol e carvona, dependendo da condição do meio e do teor de oxigênio presente (ELSS; KLEINHENZ; SCHREIER, 2007).

As substâncias majoritárias presentes no hidrolato pertencem a classe dos hidrocarbonetos monoterpênicos. O β -mirceno ocorre em abundância na maioria das variedades de lúpulo e também foi detectado nos hidrolatos das variedades estudadas. As atividades biológicas relatadas do β -mirceno incluem efeito sedativo e analgésico, além de atividades antioxidante, anti-inflamatória, antibacteriana e efeitos anticancerígenos (SURENDRAN *et al.*, 2021).

O linalol é uma substância comum à diversos óleos essenciais, sendo considerado uma das substâncias mais importantes na indústria farmacêutica e cosmética, sendo amplamente utilizado como fixador de fragrâncias. Essa substância é mais solúvel do que outros compostos monoterpenos e possui aroma floral (CAMARGO; VASCONCELOS, 2014). O α -terpineol tem uma aplicação bastante difundida. Seu uso principal é para formulação de fragrâncias. A combinação de α -terpineol e citral produz fragrância de limão (SALES; FELIPE; BICAS, 2021). Já na indústria farmacêutica, as substâncias cânfora, eucaliptol e mentol, compõe a formulação de produtos para tratamento de bloqueios nasais, asma, resfriados e dores musculares (SALES; FELIPE; BICAS, 2021; KHALEEL; TABANCA; BUCHBAUER, 2018). O α -felandreno é usado para a produção de fragrâncias, sabonetes, detergentes, cremes e loções. Suas atividades biológicas também são de interesse na agricultura, podendo servir como aditivos de alimentos e rações. Óleos essenciais ricos nessas substâncias têm sido estudados como potenciais biopesticidas, larvicidas e repelentes de insetos (RADICE *et al.*, 2022).

Comparando a composição química do óleo essencial e do hidrolato, 34% das substâncias encontradas no hidrolato também foram encontradas no óleo essencial, sendo elas (*E*)-cariofileno, (*E*)- β -farneseno, (*E*)- β -ocimeno, 2-nonanona, 2-undecanona, acetato de geranila, epóxido de humuleno II, linalol, limoneno, β -mirceno, neo-intermedeol, óxido de cariofileno, α -humuleno, α -pineno, α -selineno, β -pineno e β -selineno. A tabela 5 abaixo mostra as substâncias presentes no óleo essencial e no hidrolato de cada variedade estudada e suas proporções médias (%).

Tabela 5 - Substâncias presentes nas amostras de óleo essencial e hidrolato das variedades Cascade, Centennial, Fuggle e Saaz

Substância	Cascade		Centennial		Fuggle		Saaz	
	O.E.	HDT	O.E.	HDT	O.E.	HDT	O.E.	HDT
(E)-cariofileno	7,12	—	12,02	0,35	5,42	—	0,89	tr
(E)- β -farneseno	9,82	—	33,27	1,39	28,48	—	18,59	—
(E)- β -ocimeno	tr	0,25	tr	0,32	tr	0,39	—	tr
2-nonanona	tr	tr	tr	—	tr	—	0,32	0,38
2-undecanona	0,06	—	0,65	0,24	0,27	—	4,11	0,07
acetato de geranila	1,84	0,17	—	—	—	—	—	—
epóxido de humuleno II	0,12	0,1	0,33	0,76	—	—	—	—
limoneno	0,2	66,35	—	52,73	tr	65,35	—	61,81
linalol	0,39	8,92	0,21	3,15	0,37	1,36	0,51	8,19
mirceno	47,77	7,25	1,46	4,34	32,96	9,13	0,59	5,79
neo-intermedeol	—	0,11	0,31	7,46	0,34	4	0,56	0,4
óxido de cariofileno	0,65	—	0,82	1,49	0,25	—	2,84	tr
α -humuleno	12,98	—	6,33	0,29	0,07	—	—	—
α -pineno	tr	1,93	—	2,08	tr	3,3	—	4,5
α -selineno	0,36	—	13,23	0,49	12,24	0,13	12,32	0,08
β -pineno	0,49	5,03	—	4,43	0,48	6,01	—	6,5
β -selineno	1,78	—	12,05	0,85	10,52	0,01	19,06	0,31

O.E.: Óleo essencial

HDT: Hidrolato

O β -mirceno, substância reconhecida na literatura como um dos principais componentes do óleo essencial de lúpulo, foi detectado em todas as variedades, tanto no óleo essencial quanto no hidrolato. O mesmo padrão foi observado para o linalol. Essas substâncias, além de serem importantes como componentes do aroma de cervejas aromatizadas por lúpulo, contém propriedades biológicas que revelam sua importância na composição de produtos de diferentes setores

industriais, seja farmacêutico, cosmético ou cervejeiro. Esses resultados indicam que assim como o óleo essencial de lúpulo possui substâncias com importância aromática, o sub-produto da hidrodestilação também possui uma composição química diversa, que pode atribuir aromas diferenciados aos produtos contendo hidrolato de lúpulo.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho são pioneiros para o rendimento e composição química do óleo essencial das variedades Cascade, Fuggle, Saaz e Centennial cultivadas no estado de São Paulo. O rendimento de óleo essencial variou entre as variedades, sendo maior para a Cascade. As variedades de lúpulo apresentaram composição química distinta para os óleos essenciais e hidrolatos tanto das variedades de aroma (Cascade, Fuggle e Saaz) quanto a de dupla aptidão (Centennial). Porém, as análises 1D-CG e 2D-CG do óleo essencial mostraram que todas as variedades contêm α -humuleno, β -mirceno, β -selineno, α -selineno, (*E*)- β -farneseno e (*E*)-cariofileno em diferentes proporções relativas.

A análise dos óleos essenciais por CG $\times$ CG-EM permitiu a identificação de um maior número de substâncias quando comparada com 1D-CG, contribuindo para reafirmar a distinção que existe na composição química do óleo essencial das variedades, o que indica que cada uma delas tem características específicas de conteúdo aromático. As substâncias encontradas nas variedades possuem importância não só para o aroma em cervejas, mas também para outras aplicações industriais, incluindo para uso cosmético e farmacêutico.

Quanto aos hidrolatos, todos apresentaram linalol, α -pineno, β -pineno, α -felandreno, β -mirceno e α -terpineol em alta proporção relativa, com destaque para limoneno, substância mais abundante no hidrolato de todas as variedades. Dada a reconhecida importância do limoneno, esse resultado evidencia que essa substância pode estar sendo descartada no processo de extração de óleo essencial, negligenciando um produto que pode ter valor para a indústria. Além disso, os hidrolatos apresentaram outras substâncias em menor abundância e, portanto, assim como para óleo essencial, os resultados mostraram uma composição química distinta entre as variedades.

Os resultados deste trabalho com óleos essenciais e hidrolatos das variedades de aroma (Cascade, Fuggle e Saaz) e dupla aptidão (Centennial) revelam que a qualidade nacional é similar com o que é relatado em outras regiões de cultivo no mundo. Contudo, há indício de que as variedades cultivadas no Estado de São Paulo apresentem outras substâncias majoritárias no óleo essencial, como (*E*)- β -farneseno, β -selineno e α -selineno, assim como foi relatado em outros estudos de lúpulo cultivado na região, além de β -mirceno, α -humuleno

e (*E*)-cariofileno, compostos comumente relatados na literatura para as diferentes variedades de lúpulo.

REFERÊNCIAS

- ACÍMOVIĆ, M. G. et al. Hydrolates: By-products of essential oil distillation: Chemical composition, biological activity and potential uses. **Advanced technologies**, v. 9, n. 2, p. 54-70, 2020.
- ALMAGUER, C. et al. *Humulus lupulus*—a story that begs to be told. A review. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 120, n. 4, p. 289-314, 2014.
- ALMEIDA, A. R. et al. Brazilian grown cascade hop (*Humulus Lupulus* L.): LC-ESI-MS-MS and GC-MS analysis of chemical composition and antioxidant activity of extracts and essential oils. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 79, n. 2, p. 156-166, 2021.
- AMDOUNI, T. et al. Effect of salt stress on the antimicrobial activity of *Ruta chalepensis* essential oils. **Acta Physiologiae Plantarum** 38:147, 2016.
- ANGIONI, A. et al. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 12, p. 4364-4370, 2006.
- ARAÚJO, L. C. S. et al. Importância econômica e medicinal de *Humulus lupulus*: uma revisão. **Hígia-Revista de Ciência da Saúde e Sociais Aplicadas do Oeste Baiano**, v. 5, n. 1, 2020.
- ARRUDA, T. R. et al. A new perspective of a well-recognized raw material: Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities and α - and α -acids profile of Brazilian hop (*Humulus lupulus* L.) extracts. **LWT**, v. 141, p. 110905, 2021.
- BAMFORTH, W. C.; Beer is Proof God Loves Us, 1st ed., FT Press: Upper Saddle River, 2010.
- BERNOTIENĖ, Genovaitė et al. Chemical composition of essential oils of hops (*Humulus lupulus* L.) growing wild in Aukštaitija. **Chemija**, v. 15, n. 2, p. 31-36, 2004.
- BOARO, C. S. et al. Factors influencing the production and chemical composition of essential oils in aromatic plants from Brazil. In: **Essential Oil Research**. Springer, Cham. p. 19-47, 2019.
- BOCQUET, L. et al. *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.
- BRASIL. Mercado cervejeiro cresce no Brasil e aumenta interesse pela produção nacional de lúpulo e cevada. 06 de Agosto de 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/agricultura-e-pecuaria/2021/08/mercado-cervejeiro-cresce-no-brasil-e-aumenta-interesse-pela-producao-nacional-de-lupulo-e-cevada> Acesso em: 19 de Agosto de 2021.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Lúpulo no Brasil: perspectivas e realidades** / Ministério da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento. Secretaria de Agricultura Familiar e Cooperativismo. Alexander Creuz, Stéfano Gomes Kretzer. – Brasília : MAPA/SAF 2022. 175p. ISBN 978-65-86803-89-1

BRENDEL, S.; HOFMANN, T.; GRANVOGL, M. Characterization of key aroma compounds in pellets of different hop varieties (*Humulus lupulus* L.) by means of the sensomics approach. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 67, n. 43, p. 12044-12053, 2019.

CAMARGO, S. B.; VASCONCELOS, D. F. S. A. Atividades biológicas de Linalol: conceitos atuais e possibilidades futuras deste monoterpeno. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas. Salvador**, v. 13, n. 3 – especial, p. 381-387, 2014.

CAMPOS, Olívia Pak. **Anatomia, histoquímica e densidade de tricomas de variedades de *Humulus lupulus* L. sob manejo orgânico e convencional.** Orientador: Filipe Pereira Giardini Bonfim. 2021. 59 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Agronomia (Horticultura), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2021. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/204680/campos_op_me_botfca_int.pdf?sequence=6&isAllowed=y

ČEH, B.; NAGLIČ, B.; OSET LUSKAR, M. Hop (*Humulus lupulus* L.) cones mass and length at cv. Savinjsk Golding. **Hmeljarski Bilten**, v. 19, 2012.

CHIZZOLA, R. (2013) Regular Monoterpenes and Sesquiterpenes (Essential Oils). In: Ramawat K., Mérillon JM. (eds) Natural Products. **Springer**, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_130

CORREIA, S. J. Flavonóides, norisoprenóides e outros terpenos das Folhas de *Tapirira guianensis*. **Química Nova**. v. 31, n° 8, p. 2056-2059, 2008.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M., LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). **Biochemistry & Molecular Biology of Plantas**. p. 1250-1318, 2000.

CUNHA A.R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. Irriga v.14: p. 1-11, 2009.

DE MARTINO, L. et al. (ed). 1° Ed. Essencial oils from Mediterranean Aromatic Plants. **The Mediterranean Diet: An Evidence-Based Approach**. Londres: Elsevier, 2014. Chap. 58, p. 649-661.

DE OLIVEIRA JÚNIOR, L. F. et al. Chemical profile and potential antifungal of essential oil *Schinus terebinthifolius* and its by-products. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e91491110623-e91491110623, 2020.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. John Wiley & Sons, 2002.

DIECKMANN, R. H.; PALAMAND, S. R. Autoxidation of some constituents of hops. I. Monoterpene hydrocarbon, myrcene. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 22, n. 3, p. 498-503, 1974.

DODDS, Kevin A. **Hops: a guide for new growers**. New South Wales Department of Primary Industries, 2017.

DONNER, P. et al. Influence of weather conditions, irrigation and plant age on yield and alpha-acids content of Czech hop (*Humulus lupulus* L.) variedades. **Plant, Soil and Environment**, v. 66, n. 1, p. 41-46, 2020.

DRAWANZ, B. B. et al. Óleos essenciais e hidrolatos de orégano e cravo-da-índia sobre o desenvolvimento micelial de *Botrytis cinerea* isolado de morangos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 15, n. 4, p. 341-345, 2020.

DUARTE, L. M. et al. Differentiation of aromatic, bittering and dual-purpose commercial hops from their terpenic profiles: An approach involving batch extraction, GC–MS and multivariate analysis. **Food Research International**, v. 138, p. 109768, 2020.

DUDAREVA, N. et al. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist**, v. 198, n. 1, p. 16-32, 2013.

DURELLO, R. S. **Química do sabor de cervejas: detalhes moleculares de lúpulos (*Humulus lupulus*) cultivados no Brasil no processo cervejeiro**. Orientador: Stanislau Bogusz Junior. 2019. 93 f. Tese de Doutorado. Química Analítica e Inorgânica, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2019. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75135/tde-03072019-104531/publico/RenatodaSilvaDurellorevisada.pdf>

DURELLO, R. S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ, S. Química do lúpulo. **Química Nova**, v. 42, p. 900-919, 2019.

ELSS, S.; KLEINHENZ, S.; SCHREIER, P. Odor and taste thresholds of potential carry-over/off-flavor compounds in orange and apple juice. **LWT-Food Science and Technology**, v. 40, n. 10, p. 1826-1831, 2007.

ERASTO, Paul; VILJOEN, Alvaro M. Limonene-a review: biosynthetic, ecological and pharmacological relevance. **Natural Product Communications**, v. 3, n. 7, p. 1934578X0800300728, 2008.

ERIKSEN, R. L. et al. Gene expression for secondary metabolite biosynthesis in hop (*Humulus lupulus* L.) leaf lupulin glands exposed to heat and low-water stress. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-18, 2021.

FAGHERAZZI, M. M. **Adaptabilidade de variedades de lúpulo na região do planalto sul catarinense**. 2020, 116 p. Tese de doutorado; Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agro veterinárias, Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Lages, SC, 2020.

FAGHERAZZI, M. M.; RUFATO, L. Produzir lúpulo no Brasil, utopia ou realidade? **Revista Agronomia Brasileira, Jaboticabal**, v. 2, n. 2, p. 1-2, 2018.

FENG, S. Aroma-active compounds in 'Centennial', 'Citra' and 'Nelson Sauvin' hop varieties and their aroma contribution to dry-hopped beer. *Dissertação de Mestrado* 102 f. 2014.

FIGUEIREDO, A. C. et al. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance journal**, v. 23, n. 4, p. 213-226, 2008.

FORTESCHI, M. et al. Quality assessment of Cascade Hop (*Humulus lupulus* L.) grown in Sardinia. **European Food Research and Technology**, v. 245, n. 4, p. 863-871, 2019.

GONÇALVES, J. et al. Headspace solid-phase microextraction combined with mass spectrometry as a powerful analytical tool for profiling the terpenoid metabolomic pattern of hop-essential oil derived from Saaz variety. **Journal of separation science**, v. 35, n. 17, p. 2282-2296, 2012.

GUIMARÃES, B. P.; NASCIMENTO, P. G.; GHESTI, G. F. Intellectual property and plant variety protection: Prospective study on Hop (*Humulus lupulus* L.) variedades. **World Patent Information**, v. 65, p. 102041, 2021.

GUPTA, A. K. et al. Genetic variability and correlations of essential oil yield with agro-economic traits in *Mentha* species and identification of promising variedades. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 726-732, 2017.

HAMEDI, A.; AFIFI, M.; ETEMADFARD, H. Investigating chemical composition and indications of hydrosol soft drinks (aromatic waters) used in Persian folk medicine for women's hormonal and reproductive health conditions. **Journal of evidence-based complementary & alternative medicine**, v. 22, n. 4, p. 824-839, 2017.

HOANG, H. T.; MOON, J.; LEE, Y. Natural antioxidants from plant extracts in skincare cosmetics: Recent applications, challenges and perspectives. **Cosmetics**, v. 8, n. 4, p. 106, 2021.

Hops and their contribution to beer flavor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 34:763-770.

INUI, Takako et al. Different beers with different hops. Relevant compounds for their aroma characteristics. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 61, n. 20, p. 4758-4764, 2013.

JAKUBCZYK, Karolina; TUCHOWSKA, Aleksandra; JANDA-MILCZAREK, Katarzyna. Plant hydrolates—Antioxidant properties, chemical composition and potential applications. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 142, p. 112033, 2021.

JASTROMBEK, J. M. et al. Hop: An Emerging Crop in Subtropical Areas in Brazil. **Horticulturae**, v. 8, n. 5, p. 393, 2022.

JELIAZKOVA, E. et al. Sequential Elution of Essential Oil Constituents during Steam Distillation of Hops (*Humulus lupulus* L.) and Influence on Oil Yield and Antimicrobial Activity. **Journal of Oleo Science**, v. 67, n. 7, p. 871–883, 2018.

JORGE, K.; TRUGO, L. C. Discrimination of different hop varieties using headspace gas chromatographic data. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, p. 411-415, 2003.

KHALEEL, C.; TABANCA, N.; BUCHBAUER, G. α -Terpineol, a natural monoterpene: A review of its biological properties. **Open Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 349-361, 2018.

KARABÍN, M. et al. Biologically active compounds from hops and prospects for their use. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 3, p. 542-567, 2016.

KAVALIER, A. R. et al. Phytochemical and morphological characterization of hop (*Humulus lupulus* L.) cones over five developmental stages using high performance liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry, ultrahigh performance liquid chromatography photodiode array detection, and light microscopy techniques. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. May 11;59(9):4783- 93, 2011.

KELLOGG, B. A.; POULTER, C. D. Chain elongation in the isoprenoid biosynthetic pathway. **Current opinion in chemical biology**, v. 1, n. 4, p. 570-578, 1997.

KENNY, S. T. Identification of US-grown hop variedades by hop acid and essential oil analyses. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 48, n. 1, p. 3-8, 1990.

KISHIMOTO, T. et al. Comparison of the odor-active compounds in unhopped beer and beers hopped with different hop varieties. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 23, p. 8855-8861, 2006.

KREUZWIESER, J.; SCHNITZLER, J.-P.; STEINBRECHER, R. Biosynthesis of organic compounds emitted by plants. **Plant Biology**, v. 1, n. 02, p. 149-159, 1999.

KROFTA, K. Comparison of quality parameters of Czech and foreign hop varieties. **Plant Soil and Environment**, v. 49, n. 6, p. 261-268, 2003.

LAM, K. C.; FOSTER, R. T.; DEINZER, M. L. Aging of hops and their contribution to beer flavor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 34, n. 4, p. 763-770, 1986.

LIGOR, M. et al. Comparative gas chromatographic–mass spectrometric evaluation of hop (*Humulus lupulus* L.) essential oils and extracts obtained using different sample preparation methods. **Food Analytical Methods**, v. 7, n. 7, p. 1433-1442, 2014.

MALIK, S. (Ed.). (2019). *Essential Oil Research*. doi:10.1007/978-3-030-16546-8

MARCUSSO, E. F.; MÜLLER, C. V. Anuário da cerveja no Brasil 2018: Crescimento e inovação. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/pasta-publicacoes-DIPOV/anuario-da-cerveja-no-brasil-2018/view> Acesso em: 15 de janeiro de 2023.

- MARCUSSO, E.F.; MÜLLER, C.V. **Anuário da cerveja no Brasil 2018:** crescimento e inovação. Brasília: MAPA, 2019. 6p. Disponível em: <http://agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/pastapublicacoes-DIPOV/anuario-da-cerveja->. Acesso em: 09 set. 2022.
- MÁRQUEZ-GUTIÉRREZ, R. et al. Genome-Wide Analyses of MADS-Box Genes in *Humulus lupulus* L. Reveal Potential Participation in Plant Development, Floral Architecture, and Lupulin Gland Metabolism. **Plants**, v. 11, n. 9, p. 1237, 2022.
- MASOTTI, V. et al. Seasonal and phenological variations of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 24, p. 7115-7121, 2003.
- MCADAM, E. L.; VAILLANCOURT, R. E.; KOUTOULIS, A.; WHITTOCK SP. Quantitative genetic parameters for yield, plant growth and chemical characteristics of the hop cone (*Humulus lupulus* L.). **BMC Genet.** 2014; 15 (2): 1–18
- MEDICI, L.O. et al. Automatic controller to water plants. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.67, n.6, p.727-730, 2010.
- MORAIS, J. S. O Lúpulo: Variedades e extrato. **Livro De Actas**, p. 11-21, 2015.
- MOZZON, M.; FOLIGNI, R.; MANNOZZI, C. Brewing quality of hop varieties cultivated in central Italy based on multivolatile fingerprinting and bitter acid content. **Foods**, v. 9, n. 5, p. 541, 2020.
- MÜLLER, Luciano da Silva. **Estudo comparativo das propriedades da cerveja artesanal produzida com e sem o óleo essencial do lúpulo.** 2021. Dissertação de Mestrado. 65f. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS. 2021.
- NAGEGOWDA, D. A.; GUPTA, P. Advances in biosynthesis, regulation, and metabolic engineering of plant specialized terpenoids. **Plant Science**, v. 294, p. 110457, 2020.
- NANCE, M. R.; SETZER, W. N. Volatile components of aroma hops (*Humulus lupulus* L.) commonly used in beer brewing. **Journal of Brewing and Distilling**, v. 2, n. 2, p. 16-22, 2011.
- NAYA, Y.; KOTAKE, M. The constituents of hops (*Humulus lupulus* L.). VII. The rapid analysis of volatile components. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 45, n. 9, p. 2887-2891, 1972.
- NEPLAME. **Núcleo de Estudos e Pesquisa de Plantas Medicinais.** Óleos Essências. Disponível em: <http://www.neplame.univasf.edu.br/oacuteteleos-essenciais.html>. Acesso em: 15 de janeiro de 2023
- NUUTINEN, T. Medicinal properties of terpenes found in *Cannabis sativa* and *Humulus lupulus*. **European journal of medicinal chemistry**, v. 157, p. 198-228, 2018.

ORMEÑO, E.; FERNANDEZ, C. Effect of soil nutrient on production and diversity of volatile terpenoids from plants. **Current bioactive compounds**, v. 8, n. 1, p. 71-79, 2012.

OLSOVSKA, J. et al. *Humulus lupulus* L. (hops) – a valuable source of compounds with bioactive effects for future therapies. **Military Medical Science Letters**, v. 85, n. 1, p. 19-30, 2016.

PALAZZOLO, E.; LAUDICINA, V. A.; GERMANÀ, M. A. Current and potential use of citrus essential oils. **Current Organic Chemistry**, v. 17, n. 24, p. 3042-3049, 2013.

PARÉ, P. W.; TUMLINSON, J. H. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. **Plant physiology**, v. 121, n. 2, p. 325-332, 1999.

PEACOCK, V. E. et al. Floral hop aroma in beer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 29, n. 6, p. 1265-1269, 1981.

PEREIRA, O. R.; SANTOS, G.; SOUSA, M. J. Hop By-Products: Pharmacological Activities and Potential Application as Cosmetics. **Cosmetics**, v. 9, n. 6, p. 139, 2022.

QUEIROZ, C. N. et al. A importância e aplicação da cromatografia gasosa na área farmacêutica: uma revisão da literatura. 2015.

RADICE, M. et al. Alpha-Phellandrene and Alpha-Phellandrene-Rich Essential Oils: A Systematic Review of Biological Activities, Pharmaceutical and Food Applications. **Life**, v. 12, n. 10, p. 1602, 2022.

RAO, B. R. Hydrosols and water-soluble essential oils of aromatic plants: Future economic products. **Indian Perfumer**, v. 56, p. 29-33, 2012.

RAVINDRA, N.S., KULKARNI, R.N. Essential oil yield and quality in rose-scented geranium: Variation among clones and plant parts. **Scientia Horticulturae**. v. 184, p.31–35, 2015.

RETTBERG, N.; BIENDL, M.; GARBE, L. Hop aroma and hoppy beer flavor: chemical backgrounds and analytical tools—a review. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 76, n. 1, p. 1-20, 2018.

RETTBERG, N.; BIENDL, M.; GARBE, L. Hop aroma and hoppy beer flavor: chemical backgrounds and analytical tools—a review. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 76, n. 1, p. 1-20, 2018.

RODOLFI, M. et al. Changes in chemical profile of Cascade hop cones according to the growing area. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 13, p. 6011-6019, 2019.

RODRIGUES, M. S. et al. Efeito do óleo essencial e do hidrolato de *Eugenia caryophyllata* thunb no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em manga. 2011.

RUTNIK, K.; HRNČIČ, M.; KOŠIR, I. Hop essential oil: Chemical composition, extraction, analysis, and applications. **Food Reviews International**, v. 38, n. sup1, p. 529-551, 2022.

RYBKA, A. et al. Effect of drying temperature on the content and composition of hopoils. **Plant, Soil and Environment**, v. 64, n. 10, p. 512-516, 2018.

SALES, A.; FELIPE, L. C.; BICAS, J. L. Production, properties, and applications of α -terpineol. **Food and bioprocess technology**, v. 13, n. 8, p. 1261-1279, 2020.

SALES, E. H. et al. Influência da secagem nos potenciais biológicos do óleo essencial de *Bixa orellana* L. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e737986371-e737986371, 2020.

SANTAGOSTINI, L. et al. *Humulus lupulus* L. cv. Cascade grown in Northern Italy: morphological and phytochemical characterization. **Plant Biosystems - An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology**, v.154, p. 316- 325, 2019.

SANTOS, F. C. et al. Phenotypic Variability in the Induction of Alpha Acids in Hops (*Humulus lupulus* L.) in Brazil. **Journal of Agricultural Science**, v. 14, n. 6, 2022.

SHARPE, F. R.; LAWS, D. R. J. The essential oil of hops a review. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 87, n. 2, p. 96-107, 1981.

SILVA, C. F.; JÚNIOR, J. L. Crescimento do Mercado de Cervejas Artesanais no Brasil. **Revista Científica e-Locução**, v. 1, n. 20, p. 20-20, 2021.

SIRRINE, R. (2015) Michigan fresh: Growing hops. Michigan State University Extension. Disponível em: https://www.canr.msu.edu/resources/michigan_fresh_growing_hops Acesso em: 15 de janeiro de 2023

SOUZA, K. S. et al. Atividade biológica de extratos, hidrolatos e óleos voláteis de pau-rosa (*Aniba duckei* Kostermans) e quantificação do linalol no hidrolato de folhas. **Rev. Bras. Plantas Med**, v. 9, p. 1-7, 2007.

SPÓSITO, M. B. et al. A cultura do lúpulo. **Piracicaba, SP: Esalq-Divisão de Biblioteca**, 2019.

STEINHAUS, M.; WILHELM, W.; SCHIEBERLE, P.; Comparison of the Most Odor-Active Volatiles in Different Hop Varieties by Application of a Comparative Aroma Extract Dilution Analysis. **Eur. Food Res. Technol.** 2007, 226, 45–55

STEPHANE, F. Y.; JULES, B. J. Terpenoids as important bioactive constituents of essential oils. In: **Essential Oils-Bioactive Compounds, New Perspectives and Applications**. London, UK: IntechOpen, 2020.

SU, X.; YIN, Y. Aroma characterization of regional Cascade and Chinook hops (*Humulus lupulus* L.). **Food Chemistry**, v. 364, p. 130410, 2021.

SURENDRAN, S. et al. Myrcene—what are the potential health benefits of this flavouring and aroma agent? **Frontiers in nutrition**, v. 8, p. 699666, 2021.

AN, Q. et al. Recent updates on bioactive properties of linalool. **Food & function**, v. 12, n. 21, p. 10370-10389, 2021.

TAKOI, K. Flavor Hops” varieties and various flavor compounds contributing to their “varietal aromas”: A review. **Master Brew. Assoc. Am. Tech. Q.**, v. 56, p. 113-123, 2019.

TAVARES, C. S. et al. Hydrolates: A review on their volatiles composition, biological properties and potential uses. **Phytochemistry Reviews**, p. 1-77, 2022.

TELES, R. M. Caracterização Química, Avaliação Térmica e Atividade Larvívora Frente ao *Aedes aegypti* do Óleo Essencial da Espécie Vegetal *Aniba duckei* Kostermans. João Pessoa, UFPB, 2009.

THOLL, D. Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. **Biotechnology of isoprenoids**, p. 63-106, 2015.

TROCHINE, A. et al. Chemical characterization of the two major hop varieties produced in Patagonia (Argentina) for the brewing industry. **Monatsschrift für Brauwissenschaft**, v. 73, p. 96, 2020.

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

VAN HOYWEGHEN, L.; BIENDL, M.; HEYERICK, A. Radical scavenging capacity of hop-derived products. **Brewing Science**, v. 63, n. 1-2, p. 1-5, 2010.

VÁZQUEZ-ARAÚJO, L. et al. Use of hydrodistillation and headspace solid-phase microextraction to characterize the volatile composition of different hop variedades. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 10, p. 2568-2574, 2013.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n° 3, p. 390-400, 2003.

VIEIRA, A. J. et al. Limonene: Aroma of innovation in health and disease. **Chemico-Biological Interactions**, v. 283, p. 97-106, 2018.

VON MÜHLEN, C. Índices de retenção em cromatografia gasosa bidimensional abrangente. **Sci Chromatogr**, v. 1, n. 3, p. 21-8, 2009.

WRIGHT, R. G.; CONNERY, F. E. Studies of hop quality. **Proc. American Society of Brewing Chemists**. pp. 87-101, 1951.

Yakima Chief Hops. Hop Varieties. (2019) Disponível em: <https://www.yakimachief.com/hop-varieties/> Acesso em: 15 de janeiro de 2023

YAN, D. et al. Assessment of the phytochemical profiles of novel hop (*Humulus lupulus* L.) variedades: A potential route to beer crafting. **Food Chemistry**. 275:15-23, 2019