

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de 01/03/2023

At the author's request, the full text of this thesis / dissertation will not be available online until March 01, 2023

JULIANA MACHADO ALMEIDA

ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DE VARIEDADES DE LÚPULO (*Humulus lupulus* L.) CULTIVADAS NO BRASIL POR CROMATOGRAFIA GASOSA UNI E BIDIMENSIONAL

Botucatu

2020

JULIANA MACHADO ALMEIDA

ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DE VARIEDADES DE LÚPULO (*Humulus lupulus* L.) CULTIVADAS NO BRASIL POR CROMAOTOGRAFIA GASOSA UNI E BIDIMENSIONAL

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

Orientadora: Dra. Marcia Ortiz Mayo Marques

Botucatu

2020

A447a Almeida, Juliana Machado
Análise do óleo essencial de variedades de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) cultivadas no Brasil por cromatografia gasosa uni e bidimensional / Juliana Machado Almeida. -- Botucatu, 2020
67 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu
Orientadora: Marcia Ortiz Mayo Marques

1. Terpenos. 2. Mirceno. 3. Cannabaceae. 4. Constituintes químicos. 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: **“ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DE VARIEDADES DE LÚPULO (*Humulus lupulus* L.) CULTIVADAS NO BRASIL POR CROMATOGRAFIA GASOSA UNI E BIDIMENSIONAL”**

AUTORA: JULIANA MACHADO ALMEIDA

ORIENTADORA: MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES

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

Dr.^a MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES

Centro de P&D de Recursos Genéticos Vegetais / Instituto Agrônomo de Campinas

Prof. Dr. MARCELO TELASCRÊA

Engenharia Química - Centro de Ciências Exatas e Sociais Aplicadas / Universidade do Sagrado Coração

Prof.ª Dr.ª JORDANY APARECIDA DE OLIVEIRA GOMES

Pós-Doutoranda - Departamento de Produção Vegetal (Horticultura) / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu - UNESP

Botucatu, 28 de fevereiro de 2020.

Pos meus amados pais,

Marilene e Cleudes,

dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida e por ter me dado saúde e força para enfrentar as dificuldades.

Aos meus pais e irmã Patrícia Machado Almeida por serem meu apoio e base na minha jornada acadêmica.

A Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp, pela oportunidade de realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida

Ao Instituto Agronômico (IAC) por disponibilizar o laboratório e equipamentos onde foi possível a realização das análises da pesquisa.

Aos produtores pela doação das amostras de lúpulo e Associação Brasileira de Produtores de Lúpulo (APROLÚPULO) pelo apoio a realização da pesquisa.

A Dra. Roselaine Facanali e ao professor Dr. Leandro Wang Hantao pelo suporte e ajuda nas análises cromatográficas em 2D no Instituto de Química da UNICAMP.

A minha orientadora, Dra. Marcia Ortiz Mayo Marques, pela oportunidade e apoio no andamento da dissertação. Agradeço muito pelas sugestões e conselhos importantes que me foram dados. Todo o meu ganho profissional durante esse período foi devido a sua paciência e amizade, sou eternamente grata!

Ao meu colega de trabalho e amigo Júlio Cesar Rodrigues pelo suporte nas análises estatísticas e interpretação dos dados. Não tenho palavras suficientes para descrever minha gratidão por todo apoio que você proporcionou, não só no âmbito profissional, mas também pessoal. Sua amizade é muito importante.

Aos amigos que fiz no laboratório de Fitoquímica do IAC, Dani, Lilian, Leticia, Leila, Jordany e Ana. Agradeço pelas agradáveis conversas no café da manhã, pela paciência em me ensinar a manusear os equipamentos, pelo suporte em todas as dúvidas que eu tive durante esse período, todos vocês contribuíram muito para que eu conseguisse finalizar essa pesquisa.

A todos que direta e indiretamente contribuíram na conclusão do trabalho meu profundo agradecimento.

RESUMO

Pertencente à família Cannabaceae, o lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é considerado um dos ingredientes mais importante da cerveja por proporcionar amargor e odor na bebida, devido aos α -ácidos e β -ácidos e ao óleo essencial presentes nas inflorescências femininas. Os óleos essenciais são responsáveis pelo perfil aromático das variedades de lúpulo, podendo variar de 0,5 a 3% de teor nos cones secos. No Brasil, o cultivo de lúpulo ainda é recente e advém de iniciativas de agricultores, em boa parte, de pequena escala, com potencial de crescimento desse nicho de mercado. Para o fomento da mesma, é importante analisar o perfil químico dos óleos essenciais, uma vez que, fatores genéticos, ambientais, de cultivo, época de colheita e processamento do material vegetal podem afetar sua composição química. O objetivo desse estudo foi caracterizar a composição química dos óleos essenciais de variedades de *Humulus lupulus*, cultivadas em diferentes localidades no Brasil. No total foram avaliadas 18 amostras de 13 variedades (Cascade, Chinook, TP, Medusa, Suíço, Mantiqueira, Saaz, EKG1, Columbus, Comet, Hallertau Mittelfruch, Brazylinsk e Nugget) provenientes dos estados de São Paulo, Rio Grande do Sul e Rio de Janeiro, safra de 2019. Os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação em aparato Clevenger por três horas, a partir de 45 g de cones secos. A análise da composição química dos óleos essenciais foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia em fase gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas (CG $\times$ CG-EM). Os rendimentos dos óleos essenciais variaram de 0,09 % (Chinook/SP) a 2,29 % (Cascade/RJ). Houve variação do perfil químico entre as variedades. O mirceno, responsável por prover odor herbal no lúpulo, foi o constituinte majoritário em 15 amostras, seguido por α -humuleno (variedade Medusa, L09) e β -farneseno (Cascade/SP: L04, e Saaz/RJ: L05). A técnica CG $\times$ CG-EM possibilitou a identificação adicional de 14 substâncias em relação a CG-EM.

Palavras-chave: Terpenos. Mirceno. Cannabaceae. Constituintes químicos.

ABSTRACT

Belonging to the Cannabaceae family, hop (*Humulus lupulus* L.) is considered one of the most important ingredients in beer by providing the bitterness and odor of the drink due to α and β -acids and to the essential oil present in its female inflorescences. Essential oils are responsible for the aromatic profile of hop varieties, ranging from 0.5 to 3% of the content in dry cones. In Brazil, the cultivation of hops is still recent and comes from initiatives of small farmers with potential expansion of this market niche. However, to promote it, it is important to analyze the essential oils chemical profile, since genetic, environment and cultivation factors, as well as harvest season and plant material processing might affect its chemical composition. Thus, the aim of this study was to characterize the chemical composition of essential oils of *Humulus lupulus* varieties, cultivated in different locations of Brazil. In total, 18 samples of 13 varieties (Cascade, Chinook, TP, Medusa, Suíço, Mantiqueira, Saaz, EKG1, Columbus, Comet, Hallertau Mittelfrüh, Brazylinsk and Nugget) from São Paulo, Rio Grande do Sul and Rio de Janeiro states were evaluated, from a 2019 harvest. The essential oils were extracted by hydrodistillation in Clevenger apparatus for three hours, from 45 g of dry cones. The analysis of the chemical composition of essential oils was performed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and Comprehensive two dimensional gas chromatography coupled to mass spectrometry (GCxGC-MS). The essential oil yields ranged from 0.09 % (Chinook/SP) to 2.29 % (Cascade/RJ). There was variation in the chemical profile between the varieties. Myrcene, compound responsible for providing herbal odor in hops, was the major constituent in 15 samples, followed by α -humulene (Medusa variety, L09) and β -farnesene (Cascade / SP: L04, and Saaz / RJ: L05). The GCxGC-MS technique allowed the additional identification of 14 substances in relation to GC-MS.

Keywords: Terpenes. Myrcene. Cannabaceae. Chemical constituents.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Corte transversal do cone de lúpulo feminino mostrando as glândulas de lupalina.....	23
Figura 2 - Área de plantio de lúpulo.....	24
Figura 3 - Estrutura química dos α -ácidos e β -ácidos do lúpulo.....	26
Figura 4 - Reação de isomerização dos α -ácidos.....	27
Figura 5 - Estrutura química do mirceno, (<i>E</i>)-cariofileno, α -humuleno, β -farneseno.....	28
Figura 6 - Maiores produtores de lúpulo por área em 2017.....	30
Figura 7 - Rendimento dos óleos essenciais dos lúpulos cultivados no Brasil, safra 2019.....	38
Figura 8 - Cromatograma de íons totais (TIC) do óleo essencial de lúpulo, variedade Cascade produzido no Rio Grande do Sul.....	40
Figura 9 - Classes de substâncias encontradas nos óleos essenciais nas 18 amostras das 13 variedades de lúpulo avaliadas.....	41
Figura 10 - Estrutura química das cetonas identificadas nas variedades de lúpulo.....	42
Figura 11 - Proporção relativa (%) do mirceno, α -humuleno, (<i>E</i>) cariofileno e β -farneseno nas amostras de lúpulo.....	49
Figura 12 - Análise de Componentes Principais (ACP) aplicada a composição química das 18 amostras de 13 variedades de lúpulo.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química de cones secos de lúpulo	25
Tabela 2 - Características de variedades de lúpulo cultivadas no Brasil	31
Tabela 3 - Código, variedade, local de cultivo, safra, temperatura de secagem, embalagem e época de colheita de lúpulo	35
Tabela 4 - Composição química dos óleos essenciais de 18 amostras de 13 variedades de lúpulo cultivadas no Brasil, safra 2019	44
Tabela 5 - Substâncias identificadas, exclusivamente, por cromatografia em fase gasosa bidimensional abrangente (CG×CG) de 16 amostras de 13 variedades de lúpulo, cultivadas no Brasil, safra 2019	53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	OBJETIVOS.....	21
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	22
3.1	Aspectos botânicos e de cultivo de lúpulo.....	22
3.2	Composição química e atividade biológica do lúpulo.....	24
3.3	Variedades de lúpulo.....	30
3.4	Análise da composição química dos óleos essenciais.....	32
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	34
4.1	Material vegetal.....	34
4.2	Extração e rendimento do óleo essencial.....	36
4.3	Análise da composição química do óleo essencial por Cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM).....	36
4.4	Cromatografia em fase gasosa bidimensional abrangente (CG×CG-EM).....	37
4.5	Análise estatística.....	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
5.1	Rendimento do óleo essencial.....	38
5.2	Caracterização da composição química dos óleos essenciais por cromatografia em fase gasosa unidimensional (CG).....	39
5.3	Análise de Componentes Principais dos óleos essenciais.....	50
5.4	Caracterização da composição química dos óleos essenciais por cromatografia em fase gasosa bidimensional abrangente (CG×CG).....	52
6	CONCLUSÃO.....	55
	REFERÊNCIAS.....	57

1 INTRODUÇÃO

Pertencente à família Cannabaceae, o lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é uma planta de hábito trepador, perene, dioica, nativa da Europa, sendo distribuída pela América do Norte, Ásia e algumas áreas temperadas da América do Sul, África e Austrália. É considerado um dos ingredientes mais importante da cerveja, devido ao fornecimento e impacto nas características de amargor, controle bacteriano e aroma da bebida (PISTELLI 2018; ROSA ; AFONSO, 2014).

As propriedades desejáveis do lúpulo são provenientes dos α -ácidos e β -ácidos, óleos essenciais e compostos fenólicos. Esses metabolitos estão presentes na base dos tricomas das inflorescências de plantas femininas (não fertilizadas) do lúpulo, chamadas glândulas de lupulina, as quais são responsáveis pela secreção de um pó amarelo resinoso, denominado de lupulina, cujo acúmulo aumenta com o estágio de maturação das inflorescências (BOCQUET ET al., 2018; JELIAZKOVA et al., 2018). As glândulas de lupulina também são encontradas em plantas masculinas em pequena quantidade, motivo pelo qual nos cultivos comerciais são utilizadas plantas femininas (SPOSITO, et al 2019).

Os óleos essenciais são responsáveis pelo perfil aromático das variedades de lúpulo, podendo variar de 0,5 a 3% de teor nos cones secos (inflorescências de plantas femininas). A composição química do óleo essencial de *H. lupulus* é complexa sendo descrito na literatura 485 compostos identificados (EYRES et al., 2007), pertencentes as classes dos monoterpenos, sesquiterpenos, cetonas, ésteres e aldeídos.

A fração de hidrocarbonetos pode corresponder de 50% a 80% do óleo essencial. O mirceno (monoterpeno) é comumente descrito como o composto majoritário com até 60% da constituição química do óleo essencial, sendo o responsável pelo aroma característico de lúpulo fresco. Os sesquiterpenos (*E*)-cariofileno, α -humuleno e β -farneseno também são citados como componentes do óleo essencial, sendo o percentual relativo diferente de acordo variedade (AMALGUER et al., 2014; YAN et al., 2017).

Mundialmente, o cultivo de lúpulo é considerado uma *commoditie* em vários países. Em 2018, a Europa foi a maior produtora com cerca de 58 mil t, onde 41 mil t foram referentes à produção da Alemanha e 5 mil t da República Tcheca, seguidos de EUA com 49 mil t ao ano (BARTH REPORT, 2018). No que se refere ao Brasil, 98% das importações de todo o lúpulo usado pelas cervejarias nacionais vieram da

Alemanha (55%) e dos Estados Unidos (43%), sendo em torno de 2,4 mil toneladas por ano, ao custo de cerca de US\$ 35 milhões (CERVBRASIL, 2016; REVISTA FAPESP, 2018).

O cultivo de lúpulo no Brasil ainda é recente e advém de iniciativas de agricultores, em boa parte, de pequena escala. Mas, esse cenário vem se modificando. Segundo dados de Sarnighausen et al. (2017), a área de plantio de lúpulo na safra 2017/2018 no Brasil foi de 18 hectares. Segundo informações obtidas da Associação Brasileira de Produtores de Lúpulo (Aprolúpulo), há no Brasil cultivos nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Distrito Federal, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Rio Grande do Sul, Rio Grande do Norte, Santa Catarina e Paraná.

Considerando o fato do Brasil ser o terceiro maior produtor de cerveja do mundo e, conseqüentemente, tendo uma demanda considerável de matéria-prima, o cultivo do lúpulo nacional é uma importante estratégia para o fomento da cadeia produtiva, possibilitando, futuramente, o desenvolvimento de produtos com identidade brasileira nas escolas de cervejaria. No entanto, é necessário que haja pesquisas visando a qualidade do lúpulo brasileiro, pois a composição química dos óleos essenciais pode ser influenciada por fatores genéticos, características agronômicas e condições ambientais dos locais de cultivo (LAFONTAINE et al., 2018).

Tendo em vista o potencial do lúpulo cultivado no Brasil, a demanda de mercado e a escassez de informações sobre a composição química dos óleos essenciais das variedades cultivadas nas diferentes regiões do Brasil, torna-se imprescindível o desenvolvimento de pesquisas com foco na caracterização química desta matéria-prima, a fim de contribuir para a diferenciação das variedades e controle de qualidade.

CONCLUSÃO

Os óleos essenciais das 13 variedades de lúpulo obtiveram rendimentos distintos, com maior rendimento para Cascade cultivado Rio de Janeiro (L01: 2,56%) e menor Chinook cultivado em São Paulo (L12: 0,13%).

Das 18 amostras avaliadas o mirceno foi o constituinte majoritário nos óleos essenciais nas variedades Saaz/SP (L11), EKG1/SP (L10), Cascade/SP (L02), Cascade/RS (L03), Cascade/RJ (L01), Hallertauer Mittelfrüh/RS (L15), Comet/SP (L17), Chinook/RS (L18), Chinook/SP (L12), Nugget/RS (L14), TP/SP (L08), Brazylinsk/RJ (L06) e Mantiqueira/SP (L07), Suiço/SP (L13) e Columbus/RS (L16),

Para o óleo essencial da variedade Medusa/SP o constituinte majoritário é o α -humuleno, variedade Saaz/RJ (L05) e a amostra Cascade/SP (L04) o β -farneseno.

Houve variação do perfil químico dos óleos essenciais entre as variedades de lúpulo avaliadas e dentro da mesma variedade cultivada em diferentes regiões do Brasil. Há a necessidade da continuidade do estudo da composição química dos óleos essenciais a fim de caracterizar o perfil químico em diferentes épocas de colheita.

O uso da cromatografia em fase gasosa bidimensional abrangente (CG×CG) resultou em ganho na separação das substâncias na análise dos óleos essenciais de lúpulo quando comparada com o unidimensional (CG).

A falta de padronização no processamento pós-colheita (processo de secagem, tipo de embalagem) do lúpulo cultivado no Brasil pode ter contribuído para a variação das amostras estudadas. Por isso, é importante pesquisas visando a padronização dessas etapas de processamento voltada a realidade brasileira para garantir a uniformidade do produto.

REFERÊNCIAS

- ABERL, A, COELHAN, M. Determination of Volatile Compounds in Different Hop Varieties by Headspace-Trap GC/MS In Comparison with Conventional Hop Essential Oil Analysis. **Journal of agricultural and food chemistry**. 2012 Mar 7;60(11):2785-92.
- Adams, R.P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, 4.1rd ed.;Allured Publ. Corp: Carol Stream, IL, USA, 2017.
- ALMAGUER, C. *et al.* *Humulus lupulus* - a story that begs to be told. A review. **Journal of the Institute of Brewing**, 120(4), 289–314, 2014.
- BAMFORTH, C. (Ed.). Brewing materials and processes: A practical approach to beer.
- CASTRO, M. Â. R.; MORAIS, J. S.; J. P. M. de. Jornadas de lúpulo e cerveja: novas oportunidades de negócio. **Livro de atas**, p. 101–111, 2015.
- 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**, 17(5), 1047–1090.2018.
- CARVALHO, L.M.; COSTA, J.A.; [M; CARNELOSSI, M.A.G. **Qualidade em plantas medicinais**. Embrapa. p.1-56.7, 2010
- CERVBRASIL, Anuário 2016. Disponível em: <http://www.cervbrasil.org.br/arquivos/anuario2016/161130_CervBrasilAnuario2016_WEB.pdf>. Acesso em: 13 de Junho. 2019.
- CHIN, S. T.; MARRIOTT, P. J. Multidimensional gas chromatography beyond simple volatiles separation. **Chemical Communications**. 2014,
- DA SILVA, P. H. A., & DE FARIA, F. C. Avaliação da intensidade de amargor e do seu princípio ativo em cervejas de diferentes características e marcas comerciais. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, 28(4), 902–906, 2008.
- DURELLO, R. S; Silva, L.M; Jr, S. B. Química do lúpulo. **Quim. Nova**. Vol. 42, 900-919.2019
- DODDS, Kevin. **Hops a guide for new growers**. Development Officer – Temperate Fruits NSW Department of Primary industries. 2017.
- EYRES, G. T.; MARRIOTT, P. J.; DUFOUR, J. P. Comparison of odor-active compounds in the spicy fraction of hop (*Humulus lupulus* L.) essential oil from four different varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55(15), 2007.
- EYRES, G.; DUFOUR, J. P. Hop essential oil: Analysis, chemical composition and odor characteristics. **In Beer in Health and Disease Prevention**, p. 239–254, 2009.

FLAVORNET. Disponível: <<https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&q=flavornet>>. Acesso em: 15- 10-2019.

FERGUS, G.; GRAHAM, G.; STEWART, PRIEST. **Handbook of Brewing**. (2006).

GOIRIS, K. *et al.* The Flavoring Potential of Hop Polyphenols in Beer. **J. Am. Soc. Brew. Chem.** 72(2). 135-142, 2014.

HEALEY, Julian. *The Hops List: 265 Beer Hop Varieties From Around the World*. 1 ed. Julian Healey,. 550 P. 2016

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**, 871–883, 2018.

KROFTA, K. *et al.* Changes in the composition of hop secondary metabolites induced by high hydrostatic pressure. **Journal of the Institute of Brewing**. 158–172, 2018.

LAFONTAINE, S. *et al.* Impact of harvest maturity on the aroma characteristics and chemistry of Cascade hops used for dry-hopping. **Food Chemistry**, 278, 228–239. 2019

MATSUI, H. *et al.* The influence of pruning and harvest timing on hop aroma, cone appearance, and yield. **Food Chemistry**. (2016)

MIRANDA, C. L. *et al.* Xanthohumol improves dysfunctional glucose and lipid metabolism in diet-induced obese C57BL/6J mice. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 599, 22–30, 2016.

MIRANDA, C. L. *et al.* Prenylated chalcones and flavanones as inducers of quinone reductase in mouse Hepa 1c1c7 cells. **Cancer Letters**, 149(1–2), 21–29, 2000.

MORAIS, L. A. S. **Adubação e sazonalidade na produção de fitomassa, metodologia de extração, rendimento e qualidade do óleo essencial de *Ocimum selloi*** BENTH. Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu. SP, 2003.

MATSUI, H. *et al.* The influence of pruning and harvest timing on hop aroma, cone appearance, and yield. **Food Chemistry**, 2016.

NEVE, R. A.; Hops, 1st ed., Springer: London, 1991.

NUUTINEN, T. Medicinal properties of terpenes found in *Cannabis sativa* and *Humulus lupulus*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2008.

OPSTAELE, F. V. *et al.* Characterization of novel single-variety oxygenated sesquiterpenoid hop oil fractions via headspace solid phase microextraction and gas

chromatography–mass spectrometry/olfactometry. **Journal of agricultural and food chemistry**, 61(44). 2013.

PERCIVAL, J. The hop plant, in The Hop and its Constituents – A Monograph on the Hop Plant (Chapman, A. C., Ed.) pp. 1–9, **TheBrewing Trade Review**: Lond, 1995

PISTELLI, L. *et al.* Aroma profile and bitter acid characterization of hop cones (*Humulus lupulus* L.) of five healthy and infected Polish cultivars. **Industrial Crops and Products**. v. 124, p. 653-662. 2018.

RIBEIRO, M. V.O. crescimento do lúpulo influenciado por calagem e fornecimento de fósforo. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Do Solo, Lages. p.65. 2016.

ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. **A química da cerveja**. Quím. Nova esc. São Paulo. v. 37, n. 2, p. 98-105, 2015.

Rybka, A. *et al.* Effect of drying temperature on the content and composition of hop oils. **Plant, Soil and Environment**, 64(10), 512–516. 2018.

SARNIGHAUSEN, P; SARNIGHAUSEN, V. C. R.; DAL PAI, A. O Lúpulo e a oportunidade do Agronegócio no Brasil. **6a Jornada de Iniciação Científica da FATEC de Botucatu**, 23 a 27 de outubro de 2017, Botucatu, São Paulo, Brasil.

SMALL, E. A **numerical and nomenclatural analysis of morphogeographic taxa of Humulus**. System. Bot. 3. 37–76, 1978.

SANTAGOSTINI, L. *et al.* *Humulus lupulus* L. cv. Cascade grown in Northern Italy: morphological and phytochemical characterization. **Plant Biosystems**, 2019.

SHARP, D. C. *et al.* Effect of harvest maturity on the chemical composition of cascade and willamette hops. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 72(4), 231–238, 2014.

SPOSITO, M. B. *et al.* A cultura do lúpulo (2019). Piracicaba: ESALQ, 82p, , 2019. Disponível em: https://www.esalq.usp.br/biblioteca/file/4098/download?token=h3Ea_cPL

TECHAKRIENGKRAIL, I. *et al.* Relationships of sensory bitterness in lager beers to iso-alfa-acid contents. **Journal of the Institut of Brewing**, v. 110, n. 1, p. 51-56, 2004.

The Barth Report. Disponível em: https://www.barthhaas.com/fileadmin/user_upload/news/2019-07-23/barthreport20182019en.pdf

VAN OPSTAELE F. *et al.* Characterization of novel single-variety oxygenated sesquiterpenoid hop oil fractions via headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry/olfactometry. **Journal of agricultural and food chemistry**, 61(44):10555-64, 2013.

WATERMAN, P. G. The chemistry and volatile oils. In: HAY, R.K.M.; WATERMAN, P.(Ed.).G. Volatile oil crops: their biology, **Biochemistry and Production**. Essex: Longman,. p. 47-61, 1993.

XIA, Jianguo et al. MetaboAnalyst 3.0—**making metabolomics more meaningful. Nucleic acids research**, v. 43, n. W1, p. W251-W257, 2015.

YAN, D. D. *et al.* Chemotyping of new hop (*Humulus lupulus* L.) genotypes using comprehensive two-dimensional gas chromatography with quadrupole accurate mass time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1536, 110–121, 2018.

ZANOLI, P., & ZAVATTI, M. Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. **Journal of Ethnopharmacology**. 2008.

ZINI, C.A. Cromatografia Gasosa Bidimensional. **Scientia Cromatografica**. Porto Alegre. v. 1, n1.p.35-44, 2009.