

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DOS ALIMENTOS

Tatiane Angela Marchesan

**POTENCIAL QUÍMICO E TECNOLÓGICO DO LÚPULO BRASILEIRO**

Santa Maria, RS  
2020

**Tatiane Angela Marchesan**

**POTENCIAL QUÍMICO E TECNOLÓGICO DO LÚPULO BRASILEIRO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cláudia Kaehler Sautter  
Co-orientador: Prof. Dr. Cristiano Augusto Ballus

Santa Maria, RS  
2020

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pela autora.

Marchesan, Tatiane Angela  
Potencial Químico e Tecnológico do Lúpulo Brasileiro /  
Tatiane Angela Marchesan.- 2020.  
82 p.; 30 cm

Orientadora: Cláudia Kaehler Sautter  
Coorientador: Cristiano Augusto Ballus  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós  
Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2020

1. Lúpulo Brasileiro 2. Cascade 3. Columbus 4.  
Hallertau Mittelfruh 5. Nugget I. Kaehler Sautter,  
Cláudia II. Ballus, Cristiano Augusto III. Título.

---

© 2020

Todos os direitos autorais reservados a Tatiane Angela Marchesan. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.  
E-mail: Tatiane-marchesan@hotmail.com

---

Tatiane Angela Marchesan

POTENCIAL QUÍMICO E TECNOLÓGICO DO LÚPULO BRASILEIRO

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

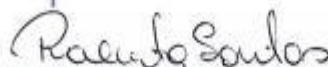
Aprovado em 20 de julho de 2020:



Cláudia Kaehler Sautter, Dra. (UFSM)  
(Presidente/Orientador)



Mari Sílvia Rodrigues de Oliveira, Dra. (UFSM)



Roberta de Oliveira Santos, Dra. (UNISC)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por sempre iluminar e guiar o meu caminho.

A minha família, amo vocês!

À professora Dra. Cláudia Kaehler Sautter, minha orientadora, pela oportunidade no mundo da pesquisa, pelos ensinamentos e confiança.

Aos colegas do Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análise Laboratoriais (Nidal), especialmente aos colegas de pesquisa do laboratório 114.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos (PPGCTA) por contribuírem de alguma forma para conquista desse título.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado para o desenvolvimento dessa pesquisa.

## RESUMO

### POTENCIAL QUÍMICO E TECNOLÓGICO DO LÚPULO BRASILEIRO

AUTORA: Tatiane Angela Marchesan  
ORIENTADORA: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cláudia Kaehler Sautter  
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr Cristiano Augusto Ballus

A indústria cervejeira requer matérias primas de grande qualidade para a sua produção devido ao crescimento exponencial do consumo de cervejas no Brasil nos últimos anos. A cerveja possui diversos compostos de aroma e sabor, provenientes em sua grande maioria do malte e do lúpulo (*Humulus lupulus L.*). Tradicionalmente a produção de lúpulo ocorre no hemisfério norte, desta forma o Brasil importa toda sua demanda de outros países. Apesar das características edafoclimáticas serem consideradas desfavoráveis à produção espontânea, em 2016 houve sucesso no plantio de mudas importadas da Europa, o que garantiu as primeiras safras em 2018. Assim, o objetivo desta pesquisa foi destacar as características físico-químicas, potencial fenólico, atividade antioxidante e sensorial dos lúpulos adaptados ao clima brasileiro na forma de flor das variedades: Cascade, Columbus, Hallertau Mittelfruh e Nugget, das safras 2018 e 2019. Além de lúpulos paletizados das mesmas variedades, porém produzidos internacionalmente na safra 2018. Assim como as cervejas elaboradas com a adição dos lúpulos adaptados ao clima brasileiro, comparativamente aos lúpulos paletizados das mesmas variedades internacionais. Dos lúpulos foram elaborados extratos hidroalcoólicos, nos quais foram estudados os teores de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a capacidade antioxidante pelos métodos DPPH e ORAC. A análise sensorial aromática foi realizada com os quatro lúpulos em flor referentes a safra de 2018 por meio do teste CATA. Foram elaboradas oito formulações de cervejas, sendo quatro com adição de lúpulos nacionais da safra 2018 e quatro internacionais das mesmas variedades também da safra 2018. As cervejas foram avaliadas quanto ao extrato real e primitivo, drenagem de espuma, teor alcoólico, pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, cor, amargor, teor de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e capacidade antioxidante pelo método ORAC. As cervejas foram analisadas sensorialmente por meio do teste afetivo de preferência por comparação pareada. Houve diferença estatística entre as safras 2018 e 2019 dos lúpulos nacionais em todos os parâmetros analisados. As variedades Columbus e Nugget foram as que apresentam uma maior evolução da quantidade de compostos fenólicos totais da safra de 2018 para 2019. A variedade Columbus também mostrou maior capacidade antioxidante e maior evolução antioxidante da safra de 2018 para 2019. O resultado da análise sensorial CATA demonstrou que os provadores encontraram características distintas entre os lúpulos sendo possível caracterizá-los e diferenciá-los através dos seus aromas. O resultado das análises físico-químicas das cervejas com adição dos lúpulos nacionais e internacionais influenciou no comportamento do teor de espuma, cor, amargor e acidez total. As cervejas elaboradas com os lúpulos nacionais apresentaram valores de compostos fenólicos e antioxidante superiores quando comparadas as mesmas cervejas elaboradas com as variedades internacionais, apresentando diferença significativa ao nível de 5%. O resultado da análise sensorial de comparação pareada demonstrou que as cervejas elaboradas com os lúpulos nacionais Cascade, Columbus e Nugget foram preferidas quando comparadas as mesmas cervejas elaboradas com as variedades internacionais.

**Palavras Chave:** Lúpulo Brasileiro. Cascade. Columbus. Hallertau Mittelfruh. Nugget.

## ABSTRACT

### CHEMICAL AND TECHNOLOGICAL POTENTIAL OF THE BRAZILIAN HOP

AUTHOR: Tatiane Angela Marchesan  
ADVISOR: Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cláudia Kaehler Sautter  
CO ADVISER: Prof. Dr Cristiano Augusto Ballus

The beer industry requires high quality raw materials for its production due to the exponential growth in beer consumption in Brazil in recent years. Beer has several aroma and flavor compounds, mostly from malt and hops (*Humulus lupulus* L). Traditionally, hop production occurs in the northern hemisphere, so Brazil imports all its demand from other countries, due to the edaphoclimatic characteristics that until then were considered unfavorable to its spontaneous production. However, in 2016 there was success in planting seedlings imported from Europe of this crop, which guaranteed the first harvests in 2018. The objective of this research was to highlight the physical-chemical characteristics, phenolic potential, antioxidant and sensory activity of hops adapted to the climate in the flower form of the varieties: Cascade, Columbus, Hallertau Mittelfruh and Nugget, from the 2018 and 2019 vintages. In addition to palletized hops of the same varieties but produced internationally in the 2018 vintage. As well as beers made with the addition of hops adapted to the Brazilian climate, compared to palletized hops of the same international varieties. From the hops, hydroalcoholic extracts were elaborated, in which the contents of total phenolic compounds, total flavonoids and the antioxidant capacity by the DPPH and ORAC methods were studied. The aromatic sensory analysis was carried out with the four flower hops for the 2018 harvest through the CATA test. Eight beer formulations were prepared, four with the addition of national hops from the 2018 harvest and four international hops from the same harvest also from the 2018 harvest. The beers were evaluated for real and primitive extract, foam drainage, alcohol content, pH, total acidity titratable, total soluble solids, color, bitterness, content of total phenolic compounds, total flavonoids and antioxidant capacity by the ORAC method. The beers were analyzed sensorially through the affective test of preference by paired comparison. There was a statistical difference between the 2018 and 2019 harvests of national hops in all parameters analyzed. The Columbus and Nugget varieties showed the greatest evolution in the amount of total phenolic compounds from the 2018 to 2019 harvest. The Columbus variety also showed greater antioxidant capacity and greater antioxidant evolution from the 2018 to 2019 harvest. The result of the CATA sensory analysis demonstrated that the tasters found different characteristics among the hops, being possible to characterize and differentiate them through their aromas. The result of the physical-chemical analysis of the beers with the addition of national and international hops influenced the behavior of the foam content, color, bitterness and total acidity. The beers made with national hops showed higher values of phenolic compounds and antioxidant when compared to the same beers made with international varieties, showing a significant difference at the level of 5%. The result of the sensory analysis of paired comparison showed that the beers made with the national hops Cascade, Columbus and Nugget were preferred when compared to the same beers made with the international varieties.

**Key words:** Brazilian hops. Shell of. Columbus. Hallertau Mittelfruh. Nugget.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Revisão literatura

Figura 1 – Flores de lúpulo ( <i>Humulus Lupulus L.</i> ).....	20
Figura 2 – $\alpha$ -Ácidos (Humulonas) responsáveis pelo amargor e $\beta$ -ácidos (Lupulonas) responsáveis pelo aroma dos lúpulos ( <i>Humulus Lupulus L.</i> ).....	22
Figura 3 – Morfologia das flores de lúpulo e a glândula de lupulina.....	23
Figura 4 – Eletromicrografia de lupulina em diferentes estágios de diferenciação.....	24

### Artigo 1

Figura 1 – Resultado teste sensorial CATA referente aos descritores de aroma dos lúpulos Cascade, Columbus, Hallertau Mittelfhur e Nugget nacionais.....	47
--	----

### Artigo 2

Figura 1 – Fluxograma do processamento das cervejas com adição dos lúpulos( <i>Humulus lupulus L.</i> ) nacionais e internacionais.....	56
Figura 2 – Processo fermentativo das cervejas elaboradas com os lúpulos nacionais e internacionais	61
Figura 3 – Resultado da análise sensorial do teste afetivo de preferência por comparação pareada de cervejas elaboradas com lúpulos nacionais e internacionais.....	68



## LISTA DE TABELAS

### Revisão literatura

Tabela 1 –	Inflorescências femininas de cone de lúpulo.....	21
Tabela 2 –	Principais constituintes encontrados nas flores secas de lúpulo.....	23

### Artigo 1

Tabela 1 –	Dados climáticos da soma dos meses de janeiro a dezembro 2017 e 2018, Caxias do Sul/RS.....	39
Tabela 2 –	Resultados físico químicos dos lúpulos ( <i>Humulus Lupulus</i> ) nacionais (flor) e internacionais (pallet).....	40
Tabela 3 –	Dados referentes ao amargor dos lúpulos ( <i>Humulus Lupulus</i> ) em flor da safra 2019.....	42
Tabela 4 –	Polifenóis Totais, Flavonoides Totais, DPPH e ORAC dos lúpulos ( <i>Humulus Lupulus</i> ) nacionais (flor) e internacionais (pallet).....	44

### Artigo 2

Tabela 1 –	Descrição das cervejas com seus respectivos códigos, referentes as cervejas nacionais e internacionais.....	55
Tabela 2 –	Extrato real, Extrato primitivo, espuma e teor alcoólico em cervejas com adição dos lúpulos ( <i>Humulus Lupulus</i> ) nacionais e internacionais.....	62
Tabela 3 –	Análises de pH, acidez total, sólidos solúveis totais, cor e amargor das cervejas elaboradas com os lúpulos ( <i>Humulus Lupulus</i> ) nacionais e internacionais.....	64
Tabela 4 –	Polifenóis Totais, Flavonoides Totais e ORAC nas cervejas com adição dos lúpulos ( <i>Humulus Lupulus</i> ) nacionais e internacionais.....	66

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

AAPH – (2,2'-Azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride)

ANOVA – Análise de variância

ATT – Acidez total titulável

BU – *Bitterness Units*

CAI – Cascade internacional

CAN – Cascade nacional

CAT – Catequina

CATA – *Check all that apply*

COI – Columbus internacional

CON – Columbus nacional

DPPH – 2,2-Difenil-1-picrilhidrazila

EAG – Equivalente Ácido Gálico

EBC – *European Brewery Convention*

HMI – Hallertal Mittelfruh internacional

HMN – Hallertau Mittelfruh nacional

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia

MAPA – Ministério da Agricultura e do Abastecimento

NUI – Nugget internacional

NUN – Nugget nacional

ORAC – *Oxygen Radical Absorbance Capacity*

pH – Potencial hidrogeniônico

SST – Sólidos solúveis totais

TEAC – Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox

*Trub* – Sedimento precipitado do mosto cervejeiro

**LISTA DE ANEXOS**

ANEXO I –	Ficha de avaliação sensorial utilizada para o teste CATA.....	82
ANEXO II –	Ficha de avaliação sensorial utilizada para o teste afetivo de preferência por comparação pareada.....	82

## SUMÁRIO

<b>AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>4</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	15
2.1.1 Objetivos específicos .....	15
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>16</b>
3.1 CERVEJA .....	16
3.1.1 Constituintes da cerveja.....	16
<b>3.2 LÚPULO .....</b>	<b>18</b>
3.2.1 Áreas Geográficas para Produção de Lúpulo.....	18
3.2.2 Histórico do uso do Lúpulo .....	19
3.2.3 Classificação Botânica do Lúpulo .....	20
3.2.4 Estrutura Botânica do Lúpulo .....	20
3.3 COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA DO LÚPULO .....	22
3.3.1 Componentes Majoritários do Lúpulo .....	22
3.3.2 Lupulina .....	23
3.3.3 Proteínas.....	26
3.3.4 Compostos fenólicos e capacidade antioxidante do lúpulo .....	26
3.4 CULTIVARES DO LÚPULO .....	27
3.4.1 Lúpulo Cascade .....	27
3.4.2 Lúpulo Columbus.....	27
3.4.3 Hallertau Mittelfrüh .....	27
3.4.4 Nugget.....	28
<b>4 ARTIGOS CIENTÍFICOS .....</b>	<b>29</b>
Artigo 1:Potencial fenólico, antioxidante e sensorial de lúpulos produzidos no Brasil. ....	29
<b>4.1 ARTIGO 1:Potencial fenólico, antioxidante e sensorial de lúpulos produzidos no Brasil .....</b>	<b>30</b>
4.1.2 Introdução.....	32
4.1.2 Material e Métodos.....	34
4.1.3 Resultados e Discussão.....	39
4.1.4 Conclusão .....	48
4.1.5 Referências Bibliográficas .....	50
<b>4.2 ARTIGO 2: Elaboração de cerveja com lúpulos brasileiros .....</b>	<b>53</b>
4.2.1 Introdução.....	55
4.2.2 Material e Métodos.....	56
4.2.3 Resultados e Discussão.....	62
4.2.4 Conclusão .....	70
4.2.5 Referências Bibliográficas .....	70

<b>5. DISCUSSÃO GERAL .....</b>	<b>73</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>77</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>83</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A cerveja é considerada a bebida alcoólica mais consumida mundialmente com uma produção anual, totalizando em torno de 14,01 bilhões de litros no ano de 2019, esta produção possui uma enorme importância socioeconômica para o país e corresponde a 1,6% do PIB brasileiro (CERVBRASIL, 2019).

O aumento do mercado de cervejarias artesanais no Brasil do ano de 2018 para 2019 foi positivo, uma vez que apresentou um aumento de 889 para 1.209 cervejarias, isto representa um aumento de 35% de um ano para outro. O estado de São Paulo possui o maior número de cervejarias artesanais com 241 unidades, seguido do estado do Rio Grande do Sul com 236 unidades (SINDICERV, 2019).

De acordo com o Decreto n. 6.871, de 4 de junho de 2009, da legislação brasileira, a cerveja pode ser definida como uma bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação de levedura, com adição de lúpulo.

A cerveja possui diversos compostos de aroma e sabor, provenientes na sua grande maioria do malte e do lúpulo (*Humulus lupulus* L). O lúpulo quando incorporado à produção de cerveja oferece características fundamentais de sabor e aroma, além de possuir ação antisséptica, pois contém ácidos bacteriostáticos (AQUARONE et al., 2001; SILVA et al., 2008; BRUNELLI et al., 2012).

Durante o processo de fabrico da cerveja, o lúpulo pode ser incorporado sob várias formas de apresentação as quais são denominadas de produtos do lúpulo, são elas: inflorescências, pellets e extratos (RODRIGUES, 2015). O *Humulus lupulus* L. é descrito como uma trepadeira perene, pertencente à ordem das Rosales e à família Cannabaceae, o qual produz flores femininas e masculinas (ALMAGUER et al., 2014).

No entanto, somente as flores femininas são utilizadas na produção de cerveja, as quais produzem um material resinoso denominado lupulina, que é responsável em conferir o sabor amargo e aroma à cerveja, através dos  $\alpha$ -ácidos,  $\beta$ -ácidos e óleos essenciais. Portanto, o perfil sensorial da cerveja depende diretamente da intensidade e qualidade desses compostos presentes no lúpulo (LOPES; SILVA, 2011).

A maior parte da produção mundial de lúpulo (75 a 80%) é atribuída à países como Alemanha e Estados Unidos. Durante o ano de 2015 a quantidade de área total plantada de lúpulo mundialmente teve um alcance de 51.512 hectares e uma produção total de 87.415

toneladas (ECONOMIC COMMISSION SUMMARY REPORTS, 2016). Estes locais são favorecidos por possuir características vantajosas ao seu cultivo, como solos argilosos ou arenosos profundos e de fácil drenagem, alta exposição à luz durante o crescimento da planta, necessidade de 15 a 18 horas de sol por dia e clima frio (NEVE, 2001).

Em função destas exigências de clima e solo para cultivo, acreditava-se que não era possível cultivar lúpulo no Brasil. No entanto, o Brasil tem conseguido adaptar a planta ao solo brasileiro e o Rio Grande do Sul vem apresentando características climáticas similares as encontradas no hemisfério norte, assim atualmente tem-se conseguido uma produção em baixa escala.

Segundo informações levantadas o Brasil conta com cerca de 18 hectares, e segundo informações levantadas no 1º Encontro de Plantadores de Lúpulo em 2017, grande parte do cultivo de lúpulo no Brasil é realizada por poucos produtores e ainda em forma de testes de adaptação climática. A capacidade de algumas áreas de testes foi de 3.200 plantas por hectare, com potencial de produção de 2,5 kg de cones frescos (flores) com plantas maduras (SARNIGHAUSEN, 2017).

Não existem documentos públicos relatando as características químicas e sensoriais do lúpulo produzido no Brasil. Considerando que os fatores edafoclimáticos brasileiros sobre as variedades adaptadas podem apresentar resultados distintos dos lúpulos importados quanto a sua composição química e características sensoriais da cerveja produzida, torna-se indispensável uma caracterização físico-química, tecnológica e sensorial dos mesmos, bem como analisar as cervejas produzidas com estes lúpulos.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Caracterizar os lúpulos adaptados ao clima brasileiro na forma de flor das variedades: Cascade, Columbus, Hallertau Mittelfruh e Nugget, das safras 2018 e 2019, e estudar o seu potencial fenólico, antioxidante e sensorial.

#### **2.1.1 Objetivos específicos**

- Caracterizar as variedades de lúpulos produzidos nacionalmente comparando as safras de 2018 e 2019;
- Analisar os lúpulos paletizados das mesmas variedades, porém produzidos internacionalmente na safra 2018.
- Avaliar os teores de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a capacidade antioxidante dos lúpulos nacionais e internacionais.
- Analisar sensorialmente os lúpulos.
- Caracterizar as oito cervejas produzidas, sendo elas quatro produzidas com lúpulos nacionais e quatro com lúpulos internacionais das mesmas variedades.
- Analisar sensorialmente as cervejas produzidas com a adição do lúpulo adaptado ao clima brasileiro comparativamente ao lúpulo paletizado internacional;
- Determinar as propriedades tecnológicas pertinentes à cerveja;



### **3. REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1 CERVEJA**

A cerveja é uma bebida carbonatada, preparada a partir de malte de cevada, lúpulo, levedura e água de boa qualidade, podendo fazer o uso de adjuntos para substituir o grão de cevada, como arroz, milho e trigo, visando reduzir o custo final da bebida. Seu sabor é determinado pela matéria prima, pelos compostos produzidos durante a fermentação e maturação, pelo tipo de processo, pela levedura utilizada, mas principalmente pelos diversos compostos de aroma e sabor, provenientes do lúpulo (OLIVEIRA, 2011).

##### **3.1.1 Constituintes da cerveja**

###### **3.1.1.1 Água**

A água é o principal ingrediente na produção de cerveja, representando entre 90 a 95 % do volume final e suas características de qualidade influenciam diretamente no produto (BOULTON; QUAIN, 2008; VENTURINI FILHO, 2018).

Para a produção de cerveja, a água deve ser potável, incolor, inodora, insípida, translúcida, ter alcalinidade máxima de  $50 \text{ mg L}^{-1}$ , o pH deve estar entre 4 e 9 e possuir concentrações de cálcio ao redor de  $50 \text{ mg L}^{-1}$  (AQUARONE, 2001).

###### **3.1.1.2 Malte**

O malte é a matéria-prima resultante da germinação interrompida de um cereal, sob condições controladas de temperatura, umidade e aeração. Qualquer cereal pode ser malteado e a escolha do cereal será devido ao seu poder diastásico, seu valor econômico e outros fatores (VENTURINI FILHO, 2018).

A transformação do grão de cevada em cevada maltada, ocorre quando o cereal é mantido em condições apropriadas de germinação, com controle de umidade, aeração e temperatura. Ao iniciar a germinação, o processo é interrompido, pois nesta fase o amido apresenta cadeias menores, possuindo enzimas no interior dos grãos que são fundamentais para o processo de produção de cerveja (EVANGELISTA, 2012).

O malte utilizado em cervejarias é obtido de cevada que é uma gramínea pertencente ao gênero *Hordeum*, cujos grãos na espiga podem estar alinhados em duas ou seis fileiras e envoltos por diversas camadas celulósicas. A primeira camada deste grão é designada palha a qual é eliminada no beneficiamento, enquanto as outras camadas aderentes ao grão (casca) são não eliminadas no processamento desempenham um papel importante na técnica cervejeira (SILVA, 2005).

### 3.1.1.3 Levedura

A levedura utilizada na fermentação não é restrita ao processo de fermentação cervejeira. As características de sabor e aroma das cervejas são determinadas principalmente pelo tipo de levedura empregada na produção. Pois, além de produzir o principal produto etanol, produzem também ácidos orgânicos, ésteres, álcoois superiores, aldeídos, entre outros compostos que fornecerão aromas distintos para a cerveja (HEGGART, 2000; AQUARONE, 2001; VENTURINI FILHO, 2018).

No processo de fabricação de cerveja, o tipo de levedura utilizada e a forma como é conduzida a fermentação, gera dois tipos de cerveja: tipo *Ale* e tipo *Lager*. Para as cervejas do tipo *Ale*, são usadas leveduras de alta fermentação, com temperaturas entre 18 a 22 °C. Já, a cerveja *Lager* é produzida por leveduras de baixa fermentação (7 a 15 °C), as quais precipitam no final do processo, sendo coletada na base do fermentador (AQUARONE, 2001; OETTERER, 2006; VENTURINI FILHO, 2018).

### 3.1.1.4 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é uma planta originalmente pertencente a regiões frias como Estados Unidos e Alemanha. As flores femininas, também conhecidas como cones, possuem glândulas onde é produzida a lupulina, que são as substâncias de interesse cervejeiro por conter o seu amargor e aroma característicos da cerveja. Existem várias formas para a comercialização de lúpulo como na forma de flores secas (*in natura*), *pellets* (flores secas, prensadas e extrusadas) ou em extrato (aquoso ou alcoólico) (DURELLO et al., 2019.)

O lúpulo é um dos principais responsáveis pelas características sensoriais de diversos estilos de cerveja. As suas principais contribuições para a cerveja são no amargor e aroma, além de ter ação antisséptica, pois contém ácidos bacteriostáticos (RODRIGUES, 2015).

Algumas substâncias presentes no lúpulo são de extrema importância como os óleos

essenciais, as resinas amargas e os polifenóis. Os óleos essenciais conferem à cerveja o caráter aromático do lúpulo. As resinas do lúpulo por sua vez, podem ser resinas moles e duras, as resinas moles são os compostos precursores do gosto amargo da cerveja e a sua composição química é composta por  $\alpha$ -ácidos e  $\beta$ -ácidos. Já as resinas duras, são menos solúveis durante o processo fabril, no entanto contribuem para a estabilidade da espuma da cerveja (DURELLO et al., 2019). A quantidade de lúpulo a ser utilizada depende da Unidade de Amargor (*Bitternes Units* – BU), unidade que quantifica o amargor da bebida e do lúpulo que está sendo utilizado. Há uma relação direta entre a quantidade de lúpulo utilizada e o amargor e aroma presente na cerveja (VENTURINI FILHO, 2018).

### **3.1.1.5 Compostos fenólicos e capacidade antioxidante da cerveja**

Os compostos fenólicos representam um grupo químico de substâncias caracterizadas pela presença de pelo menos um anel aromático no qual, ao menos, um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. São classificados pelo tipo e número de compostos presentes (ARON e SHELLHAMMER, 2010).

As cervejas por serem produzidas a partir do malte de cevada e o lúpulo, possuem uma matriz complexa rica em compostos fenólicos, nos quais já foram atribuídas diversas propriedades benéficas para a saúde humana (GERHAUSER, 2005).

Os compostos fenólicos possuem influência direta nas propriedades sensoriais da cerveja (aroma, cor e sabor) e na microbiota da bebida (JANDERA, 2009). Os polifenóis são ricos em taninos de baixa peso molecular, que conferem proteção à cerveja quanto à oxidação. Estes compostos são importantes devido à sua influência na estabilidade coloidal da cerveja, sendo responsável pela turbidez originada pela interação com as proteínas (FREITAS et al., 2006).

## **3.2 LÚPULO**

### **3.2.1 Áreas Geográficas para Produção de Lúpulo**

No contexto internacional, em 2015 os Estados Unidos e a Alemanha foram os maiores produtores de lúpulo com cerca de 30 milhões de toneladas, seguidos da Etiópia com cerca de 20 milhões de toneladas, China com 15 milhões de toneladas e República Checa com 5 milhões de toneladas (FAO, 2015).

Por continente, a Europa lidera com 39,8% da produção mundial de lúpulo, seguida de

Américas (25,7%), África (20,1%), Ásia (12,8%) e Oceania (1,6%) (FAO, 2015).

### 3.2.2 Histórico do uso do Lúpulo

Os primeiros registros de utilização de lúpulo encontram-se no Antigo Egito, onde a planta era considerada uma erva medicinal, utilizada para tratamentos de doenças do tubo digestivo e fígado. As folhas e flores do lúpulo eram empregadas como um ingrediente fundamental em chás, infusões e banhos medicinais (NATIONAL HOP ASSOCIATION OF ENGLAND, 2001a).

A utilização do lúpulo é bastante diversificada, podendo ir desde a indústria cosmética até a aromatização de tabaco e águas minerais. Seus óleos essenciais também são frequentemente utilizados na produção de sobremesas congeladas, gelatinas e pudins. Também são utilizados em algumas bebidas não alcoólicas. No entanto, é na produção de cerveja que o lúpulo apresenta o seu maior valor comercial a nível internacional (DUKE, 1983).

De acordo com Farag e Wessjohann (2012), o lúpulo é uma planta de grande importância econômica e cultivada em zonas temperadas do planeta. Por volta de 1516, a Alemanha decretou que o lúpulo seria o único ingrediente utilizado pelas cervejarias com o intuito de conferir amargor e aroma ao produto (BERNOTIENÉ; NIVINSKIENÉ; BUTKIENÉ, 2004).

As formas mais comuns de utilização do lúpulo são: através das suas flores inteiras, pellets, Plugs e também aparecem na forma de extrato. Esses extratos são obtidos principalmente por processo de extração em meio etanólico, maceração em CO<sub>2</sub> gasoso e por fluido supercrítico com CO<sub>2</sub> líquido (RODRIGUES, 2015).

Independentemente da forma como é processado, apresenta diversos compostos, os quais recentemente vêm recebendo atenção devido aos seus benefícios à saúde, como antioxidantes, agente antibacteriano, agente antiviral e até mesmo preventivos ao câncer (ABRAM et al. 2015).

Apesar de se cultivar basicamente uma espécie de lúpulo, há grande diferenciação deste entre suas variedades, as quais são classificadas de acordo com seu objetivo na produção da cerveja, estas podem ser definidas como variedades de amargor, aroma e *flavour* (MORAIS, 2015).

A principal característica das variedades de amargor é apresentarem um elevado teor de  $\alpha$ -ácidos, que é a característica predominante na manipulação do amargor em cervejas. Em contrapartida os lúpulos considerados aromáticos apresentam sempre um teor mais baixo de  $\alpha$ -

ácidos e a sua componente aromática possui maior relevância. Já, as variedades de *flavour* foram desenvolvidas com o objetivo de ter uma planta com um elevado teor de  $\alpha$ -ácidos e ao mesmo tempo ter a componente aromática (MORAIS, 2015).

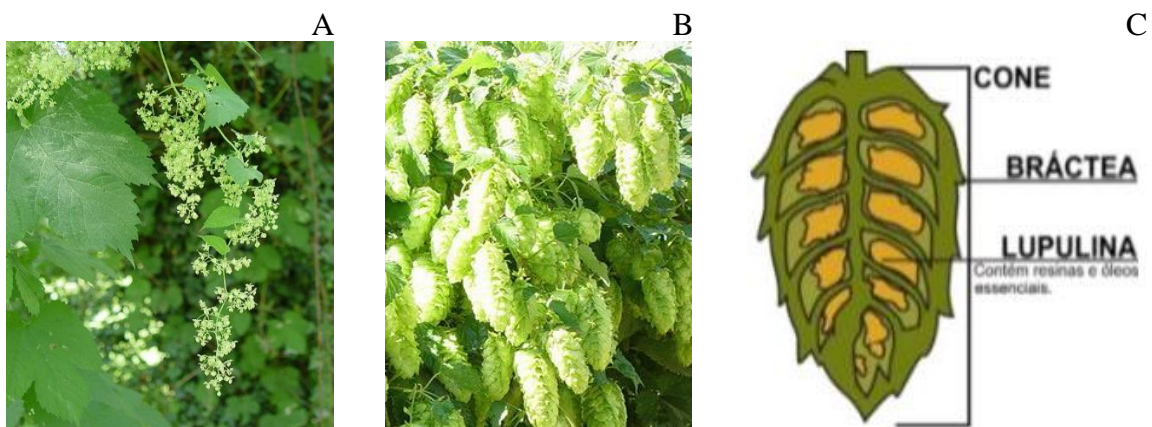
### 3.2.3 Classificação Botânica do Lúpulo

Classificado botanicamente como planta trepadeira perene com flores verdes e cônicas é pertencente ao reino Plantae, da Classe Magnoliopsida, ordem Rosales, família *Cannabaceae*, gênero *Humulus*, espécie *H. lupulus* (SILVA; FARIA 2008). Possui algumas características particulares, como o seu rápido crescimento, podendo crescer de 7 a 9 metros de altura, em menos 5 meses (HEALE et al., 1989).

### 3.2.4 Estrutura Botânica do Lúpulo

O lúpulo é uma planta dioica, ou seja, apresenta flores masculinas e femininas em indivíduos diferentes (Figura 1A e 1B). As flores masculinas são responsáveis principalmente pela reprodução. Já as flores femininas, também conhecidas como cones, são agrupadas em cachos que possuem uma vértebra a qual apresenta várias dobras sobre as quais se fixam os pares de brácteas (pétalas modificadas) e bractéolas (primeira bráctea de uma ramificação axilar) (Figura 1C). Portanto a indústria cervejeira utiliza as flores femininas, as quais possuem glândulas denominadas lupulinas, as quais armazenam grande quantidade de resinas e óleos essenciais (FARAG; WESSJOHANN, 2012).





Figura 1: Flores de lúpulo (*Humulus Lupulus* L.)



(A) Flor masculina, (B) Flor feminina, (C) Esquema da flor fêmea. Fonte: Condado da cerveja, (2014).

Histologicamente as inflorescências femininas são subdivididas em pedúnculo, brácteas e lupulina que apresentam características específicas (Tabela 1).

Tabela 1: Inflorescências femininas de cone de lúpulo.

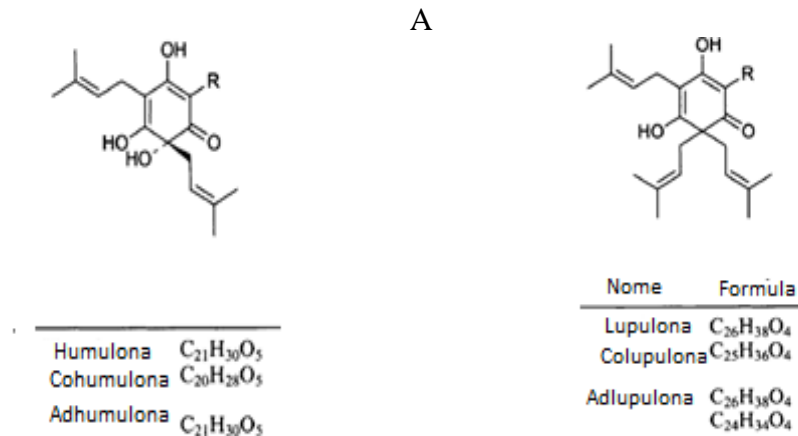
Parte do cone	Propriedades	
Pedúnculo		Estrutura oriunda do caule modificado, que sustenta as brácteas e nutre a inflorescência através da seiva bruta e elaborada.
Bráctea		Folha modificada, de forma oval, verde amarelada, sendo mais amarela na base do que na ponta. O conjunto das primeiras bracteas (bracteólas), presentes junto ao pedicelo, formam o cálice. Este é coberto com uma membrana, com o propósito de evitar uma fuga do material secretado
Cone		O cone é formado pelas brácteas dispostas alternadamente e inseridas no pedúnculo.
Lupulina		Pó amarelo, pegajoso encontrado na face interior da bráctea, no qual se retiram as resinas amargas e os óleos.

Adaptado de TAGLIAFERRO et al., (2019); TAIZ et al., (2017); KUNZE (2006).

As substâncias presentes no lúpulo conferem à planta diversas propriedades relacionadas à saúde, tais como: caráter anti-inflamatórias e antibacterianas, além de propriedades organolépticas (LEITE, 2009). Essas mesmas substâncias são importantes indicadores da qualidade do lúpulo (KRALJ et al., 1991). As suas resinas são responsáveis pelo amargor e aroma característicos, sendo compostas de  $\alpha$ -ácidos e  $\beta$ -ácidos (CANBAŞ; ERTEN; ÖZŞAHIN, 2001). Os  $\alpha$ -ácidos, ao serem aquecidos, sofrem reações de isomerização e se transformam em iso- $\alpha$ -ácidos, compostos muito mais solúveis e amargos que seus precedentes. Estes são constituídos de humulonas que podem estar presentes de três formas: n-humulonas, co-humulonas e ad-humulonas, (Figura 2A) diferenciando-se assim apenas por um radical

(BERNOTIENĖ; NIVINSKIENĖ; BUTKIENĖ, 2004).

Figura 2:  $\alpha$ -Ácidos (Humulonas) responsáveis pelo amargor e  $\beta$ -ácidos (Lupulonas) responsáveis pelo aroma dos lúpulos (*Humulus Lupulus* L.)



Fonte: (KEUKELEIRE, 2000).

Os  $\beta$ -ácidos são responsáveis pelas características aromáticas do lúpulo distinguindo-se das variedades de amargor pelo seu teor de  $\alpha$ -ácidos mais baixo, o que faz com que a sua componente aromática tenha maior relevância. Estes são constituídos por lupulonas, (Figura 2B) podendo também estar presente nas três formas: n-lupulonas, co-lupulonas e ad- lupulonas (MORAIS, 2015).

### 3.3 COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA DO LÚPULO

Antes de descrever os métodos de análise de compostos fenólicos em alimentos, quando se trata de bebidas e extratos vegetais, geralmente é necessário realizar a extração desses compostos utilizando um solvente, como água, etanol, metanol ou mistura de dois ou mais solventes. Não há regra ou solvente universal para a extração desses compostos, entretanto, água, etanol e metanol são os mais utilizados, dependendo da polaridade dos compostos a serem extraídos (GRANATO; NUNES, 2016).

#### 3.3.1 Componentes Majoritários do Lúpulo

A composição química das flores do lúpulo é complexa e possui como componentes principais as resinas totais, polifenóis, óleos essenciais, proteínas, ceras, cinzas, entre outros (BAXTER, 2001; ALMAGUER et al., 2014).

Na Tabela 2, podem ser observadas as principais classes dos constituintes majoritários em flores de lúpulo e suas respectivas quantidades.

Tabela 2: Principais constituintes encontrados nas flores secas de lúpulo.

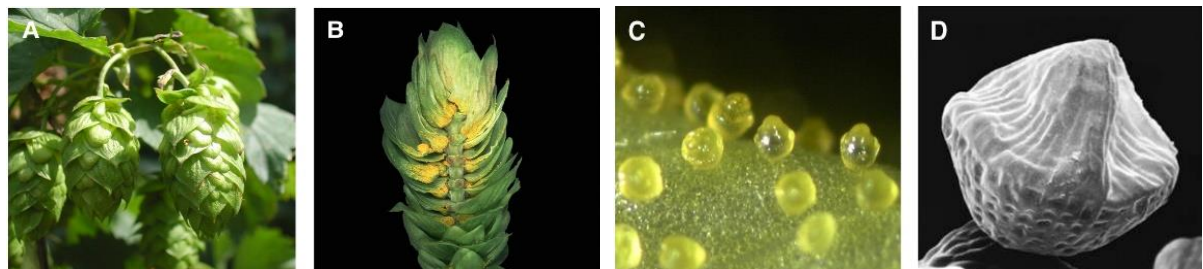
Constituinte	Quantidade % (m/m)
Resinas totais	15-30
Óleos essenciais	0,5-3
Proteínas	15
Monossacarídeos	2
Polifenóis	4
Pectinas	2
Aminoácidos	0,1
Ceras e esteroides	Traços-25
Cinzas	8
Água	10-12
Celulose/lignina	43

Fonte: (ALMAGUER et al.,2014).

### 3.3.2 Lupulina

Grande parte dos compostos que fazem parte da composição química do lúpulo (Figura 3A), são encontrados na lupulina (Figura 3B), a qual é composta por resinas moles, resinas duras e óleos essenciais. Na base de cada bractéola são formados tricomas, também chamados de glândulas de lupulina (Figuras 3C e 3D) que se desenvolvem em forma de pico à medida que a cavidade subcuticular se enche durante o desenvolvimento do lúpulo (NAGEL et al., 2008). Os teores dos compostos existentes na lupulina são em função da cultivar, mas o tipo de compostos que fazem parte desta é comum a todas as variedades (MORAIS, 2015).

Figura 3: Morfologia das flores de lúpulo e tricomas de lupulina.



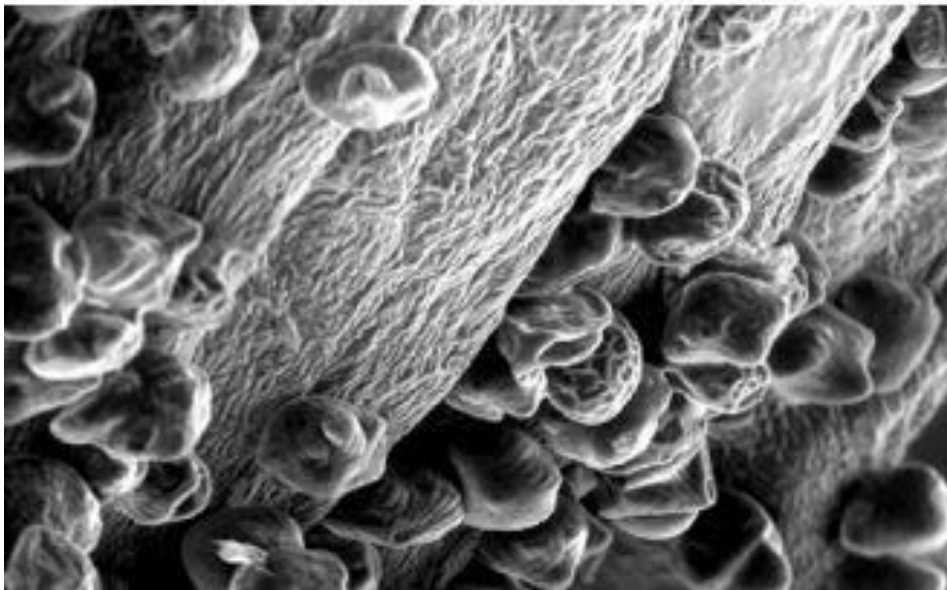
Flor feminina (A), corte transversal com lupulina entre as bractéas (B), tricomas de lupulina madura (1/4 500  $\mu\text{m}$ ) (C) e saco subcuticular cheio (1/4 100  $\mu\text{m}$ ) (D). Fonte: (NAGEL et al., 2008)

A maturação morfológica dos tricomas glandulares do lúpulo ocorre a partir das células



epidérmicas. Estudos histológicos com microscopia de varredura de elétrons, demonstram os diferentes estágios de morfogênese desde o tricoma vazio até os sacos subcuticulares cheios caracterizados pelo com o ápice em forma de pico (Figura 4).

Figura 4: Eletromicrografia de lupulina em diferentes estágios de diferenciação.



Fonte: (KRPAN et al. 2012)

Existe uma grande variabilidade na acumulação de alguns metabólitos secundários do lúpulo, como os  $\alpha$ -ácidos e  $\beta$ -ácidos, xantohumol, óleos essenciais, polifenóis totais e flavonóides. Essa variabilidade depende principalmente da cultivar do lúpulo e de fatores edafoclimáticos. O processamento dos cones naturais de lúpulo em insumos cervejeiros como pallets e extratos de lúpulo também alteram a composição através da oxidação (KROFT et al., 2008).

### 3.3.2.1 Resinas Moles

As resinas moles são os compostos precursores do gosto amargo da cerveja e a sua composição química é composta por  $\alpha$ -ácidos e  $\beta$ -ácidos. Os  $\alpha$ -ácidos conferem à cerveja o gosto amargo e dão estabilidade à sua espuma. No entanto, não são exatamente os  $\alpha$ -ácidos que transmitem estas características, mas sim as suas formas isomerizadas (DURELLO et al., 2019).

### 3.3.2.2 Resinas Duras

As resinas duras são menos solúveis durante o processo fabril. No entanto contribuem para a estabilidade da espuma da cerveja. Entre os compostos presentes nas resinas duras o composto xantohumul é o que aparece em maior quantidade com 0,3 a 1,5 % (DURELLO et al., 2019).

### 3.3.2.3 Óleos Essenciais

Alguns compostos de aroma presentes na cerveja são provenientes do lúpulo, que assim como toda planta, possui compostos voláteis que promovem seu aroma característico. Óleo essencial é definido como a fração volátil do lúpulo sendo oriundo do metabolismo secundário da planta. O lúpulo possui de 0,5 a 3,0% de óleos essenciais nos cones secos, os quais podem possuir entre 0,4 a 2,5 mL 100g<sup>-1</sup> de óleo essencial dependendo da variedade do lúpulo (BOCQUET, 2018).

Os óleos essenciais são grupo de compostos químicos responsáveis pela componente aromática das várias cultivares e, portanto, aqueles que vão conferir à cerveja o seu perfil aromático. Os grupos a que pertencem estes compostos são os terpenos, sesquiterpenos e os álcoois terpênicos (MORAIS, 2015).

A composição dos óleos essenciais pode divergir por diversos motivos, citando-se condições climáticas da época de colheita, solo, variedade e estágio de maturação da planta na colheita (GAMA, 2011).

Os lúpulos que apresentam baixas quantidades de humulonas e lupulonas são capazes de conferir aromas característicos e intensos em função da composição química dos seus óleos essenciais são denominados de lúpulos de aroma (PALMER, 2017). Estes, diferentemente dos lúpulos de amargor, são geralmente adicionados no final do processo de fervura do mosto ou na etapa de lupulagem tardia (nos últimos minutos de fervura), ou então durante a maturação da cerveja, onde o lúpulo é exposto em embalagem permeável diretamente na cerveja sendo conhecido por *dry hopping*. Este último processo tem o objetivo de evitar as perdas dos voláteis presentes nos óleos essenciais por ação do calor, concentrando assim os compostos de aroma na cerveja (BOCQUET, 2018).

Os óleos essenciais do lúpulo contribuem para o aroma e o sabor da cerveja conferindo uma

enorme gama de notas de aromas para os diferentes tipos de cerveja (notas de amadeirado, cítrico, especiarias, floral, frutado, sulfuroso, picante, herbal, terroso e picante) (BAMFORTH, 2010).

### **3.3.3 Proteínas**

As proteínas provenientes do lúpulo desempenham diversos papéis na estabilidade da cerveja, na formação de corpo, estabilidade de espuma e estabilidade microbiológica (BRIGGS et al., 2004).

Dentre os principais constituintes encontrados nas flores secas de lúpulo, as proteínas são um dos componentes majoritários, totalizando cerca de 15% da composição total do lúpulo (DURELLO et al., 2019).

A presença de proteínas está diretamente ligada à atividade enzimática. Estas enzimas têm papel fundamental em diversas etapas do processo de fabricação da cerveja. Elas atuam na hidrólise enzimática de proteínas, que fornecerá aminoácidos e peptídeos importantes para o metabolismo das leveduras. Também provém proteínas solúveis, as quais são responsáveis pela qualidade, estabilidade e retenção da espuma ( PELTONEN et al., 1994; FOX et al., 2002; GRUPTA et al., 2010).

### **3.3.4 Compostos fenólicos e capacidade antioxidante do lúpulo**

Os compostos fenólicos pertencem a uma classe de compostos que inclui uma grande diversidade de estruturas, simples e complexas, que possuem pelo menos um anel aromático no qual, ao menos, um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila (SIMÕES et al., 2000).

Os compostos fenólicos do lúpulo são antioxidantes naturais e uns dos responsáveis pela atividade antioxidante da cerveja. Estes antioxidantes de origem vegetal são importantes, pois possuem um efeito benéfico na saúde humana. Eles são capazes de eliminar do organismo os radicais reativos de oxigênio e nitrogênio que danificam irreversivelmente os tecidos vivos e induzem a doenças. O dano oxidativo é considerado a principal causa do envelhecimento e de várias doenças degenerativas, como doenças cardiovasculares e câncer (DURELLO et al., 2019).

O lúpulo não é um material alimentar direto, mas os antioxidantes presentes nele, os quais representam cerca de 4% do peso seco do cone de lúpulo são de considerável importância na indústria cervejeira. Eles atuam no processo de produção e armazenamento da cerveja, como

proteção contra a geração de substâncias ativas de sabores indesejáveis e têm um efeito favorável à saúde dos consumidores (KROFTA et al., 2008).

O lúpulo é rico em polifenóis prenilados, como os prenilflavonoides e os ácidos amargos (humulonas e lupulonas). Os polifenóis do lúpulo são compostos característicos da cerveja, o seu teor depende da quantidade e variedade do lúpulo que é adicionado durante a elaboração da cerveja (ESTRUCH et al., 2015).

Os compostos fenólicos podem ser encontrados em sua forma livre ou, mais frequentemente, ligados a outros compostos. Os polifenóis mais encontrados no lúpulo são: flavonóis (quercetina, canferol), chalconas (xanthohumol) e flavanonas (isoxanthohumol e prenilnaringenina) catequinas, procianidinas e taninos derivados (GARCIA et al., 2004).

### 3.4 CULTIVARES DO LÚPULO

#### 3.4.1 Lúpulo Cascade

O lúpulo Cascade é de origem Europeia sendo uma das variedades mais populares entre os cervejeiros devido às suas características aromáticas. O Cascade é uma cultivar de aroma com notas cítricas, frutadas, florais e de especiarias. Esta cultivar também possui um alto teor de  $\alpha$ -ácidos variando de 4,5 a 9,0% e  $\beta$ -ácidos variando entre 4,5 a 7,0% possuindo ainda 0,7 a 1,4% de óleos essenciais em sua composição (YCHHOPS; BREWHOUSE, 2017).

#### 3.4.2 Lúpulo Columbus

O lúpulo Columbus é oriundo da Europa, sendo uma variedade com características de amargor. Esta cultivar possui alto teor de  $\alpha$ -ácidos, variando entre 12,0 a 16,5% e  $\beta$ -ácidos variando entre 4,0 a 5,0 % possuindo ainda 2,0 a 3,0% de óleos essenciais em sua composição. O lúpulo Columbus confere à cerveja notas aromáticas picantes, cítricas, terrosas e herbácea (YCHHOPS; BREWHOUSE, 2017).

#### 3.4.3 Hallertau Mittelfrüh

Hallertau Mittelfrüh é um lúpulo de origem alemã, utilizado principalmente para conferir aroma à cerveja. Quando comparado com os lúpulos anteriores esta cultivar apresenta

notas menos intensas. Portanto, é bem equilibrado com notas frutadas, terrosas e herbais podendo também apresentar notas florais e picantes. Esta variedade possui baixo teor de  $\alpha$ -ácidos, variando entre 3,0 a 5,5%,  $\beta$ -ácidos variando entre 3,5 a 5,5% e possuindo ainda 0,6 a 1,0 % de óleos essenciais em sua composição (YCHHOPS; BREWHOUSE,2017).

#### **3.4.4 Nugget**

O lúpulo Nugget também é de origem Europeia, sendo uma cultivar de amargor. Este lúpulo possui notas de aromas terrosas e herbáceas, podendo também apresentar notas amadeiradas e de gengibre. Possui alto teor de  $\alpha$ -ácidos variando entre 9,5 a 14,0%,  $\beta$ -ácidos variando entre 4,2 a 5,8% e possuindo ainda 1,8 a 2,2 % de óleos essenciais em sua composição (YCHHOPS; BREWHOUSE,2017).

#### **4 ARTIGOS CIENTÍFICOS**

**Artigo 1:** Potencial fenólico, antioxidante e sensorial de lúpulos produzidos no Brasil.

**Artigo 2:** Lúpulos brasileiros na elaboração de cervejas artesanais.

#### **4.1 ARTIGO 1:Potencial fenólico, antioxidante e sensorial de lúpulos produzidos no Brasil**

##### **Phenolic, antioxidant and sensory potential of humps produced in Brazil**

Tatiane Angela Marchesan<sup>1</sup>, Cláudia Kaehler Sautter<sup>1</sup>Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos  
– Universidade Federal de Santa Maria, UFSM – CEP: 97060160 – Santa Maria – RS – Brasil, Telefone: (55)  
996888476 – e-mail: tatiane-marchesan@hotmail.com

#### **RESUMO**

A indústria cervejeira requer matérias primas de grande qualidade para a sua produção devido ao crescimento exponencial do consumo de cervejas artesanais no Brasil nos últimos anos. Apesar desse crescimento, atualmente a grande maioria da produção utiliza lúpulo cultivado internacionalmente, devido as características edafoclimáticas que até então eram consideradas desfavoráveis à sua produção espontânea no Brasil. No entanto, em 2016 houve sucesso no plantio de mudas importadas da Europa desta cultura, o que garantiu as primeiras safras em 2018, mostrando assim uma abertura de mercado para a produção de lúpulos nacionais com um custo benefício maior para a elaboração de cervejas. O lúpulo além de produzir características sensoriais distintas a cervejas, ele também possui em sua composição vegetal uma grande quantidade de compostos bioquimicamente ativos que possuem um eficiente poder antioxidante. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi caracterizar físico-quimicamente os lúpulos adaptados ao clima brasileiro na forma de flor das variedades: Cascade, Columbus, Hallertau Mittelfruh e Nugget, comparando o seu potencial entre as safras 2018 e 2019. Em adição foram analisados os lúpulos paletizados das mesmas variedades, porém produzidos internacionalmente na safra 2018. Além de estudar o seu potencial fenólico, antioxidante e sensorial. As análises realizadas foram: umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e amargor. A capacidade antioxidante foi analisada a partir da elaboração de extratos hidroalcoólicos, nos quais foram estudados os teores de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a capacidade antioxidante pelos métodos de DPPH e ORAC. Para os resultados das análises físico-químicas dos lúpulos houve diferença estatística entre as safras em todos os parâmetros analisados. Entre os extratos estudados, as variedades Columbus e Nugget foram as que apresentam uma maior evolução da quantidade de compostos fenólicos durante as safras de 2018 e 2019. A variedade Columbus mostrou-se ser a mais antioxidante dentre as quatro analisadas, sendo a que também apresentou maior capacidade antioxidantes da safra de 2018 para 2019. Logo, pode-se concluir que os lúpulos nacionais estão se adaptando as condições edafoclimáticas brasileiras e são uma alternativa de qualidade para a produção de cervejas.

**Palavras-chave:** Evolução. Compostos Bioativos. Brasileiro.

## ABSTRACT

The brewing industry requires high quality raw materials for its production due to the exponential growth in the consumption of craft beers in Brazil in recent years. Despite this growth, most of the production currently uses hops grown internationally, due to the edaphoclimatic characteristics that until then were considered unfavorable to their spontaneous production in Brazil. However, in 2016 there was success in planting seedlings imported from Europe of this crop, which guaranteed the first harvests in 2018, thus showing an opening of the market for the production of national hops with quality and a higher cost benefit. In addition to producing sensory characteristics distinct from beers, hops also have a large amount of biochemically active compounds in their vegetable composition that have an efficient antioxidant power. Therefore, the objective of this work was to physico-chemically characterize hops adapted to the Brazilian climate in the form of flower of the varieties: Cascade, Columbus, Hallertau Mittelfruh and Nugget, comparing their potential between the 2018 and 2019 harvests. In addition, the palletized hops were analyzed of the same varieties, but produced internationally in the 2018 harvest. In addition to studying its phenolic, antioxidant and sensory potential. The analyzes performed were: moisture, ash, proteins, lipids and bitterness. The antioxidant capacity was analyzed from the elaboration of hydroalcoholic extracts, in which the contents of total phenolic compounds, total flavonoids and the antioxidant capacity by the methods of DPPH and ORAC were studied. For the results of the physico-chemical analysis of hops there was a statistical difference between harvests in all parameters analyzed. Among the extracts studied, the Columbus and Nugget varieties showed the greatest evolution in the amount of phenolic compounds during the 2018 and 2019 harvests. The Columbus variety proved to be the most antioxidant among the four analyzed, the one also presenting greater antioxidant capacity of the harvest from 2018 to 2019. Therefore, we can conclude that national hops are adapting to Brazilian edaphoclimatic conditions and are a quality alternative for beer production.

**Keywords:** Evolution. Bioactive compounds. Brazilian.



#### 4.1.2 Introdução

De acordo com o Decreto n. 6.871, de 4 de junho de 2009, da legislação brasileira, a cerveja pode ser definida como uma bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação de levedura, com adição de lúpulo.

Segundo Lopes et al. (2018) o lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é uma trepadeira da família Cannabinaceas, com provável origem na China, sendo cultivada ao longo da região temperada de todo o planeta para a obtenção das inflorescências femininas, as quais são utilizadas na indústria cervejeira para incorporar amargor, aroma e sabor à cerveja.

São de interesse para a indústria cervejeira apenas as flores femininas do lúpulo, pois somente nelas são encontradas as chamadas glândulas de lupulina, que são responsáveis pela secreção de um pó amarelo que contém as substâncias químicas de interesse, as resinas, os polifenóis e os óleos essenciais (WANNENMACHER, GASTL, BECKER, 2018; TING, RYDER, 2017).

O lúpulo como ingrediente na produção de cerveja possui várias funções como ação antioxidante e antimicrobiana protegendo a cerveja de processos oxidativos e de contaminações microbiológicas. Todavia sua principal função é conferir o amargor e aroma a cerveja, sendo a principal característica das cultivares de amargor um teor elevado de  $\alpha$ -ácidos, enquanto as cultivares de aroma apresentam sempre um teor mais baixo e possuem como componente principal a questão aromática (DE ALMEIDA, 2011). A importância do lúpulo para a indústria cervejeira é tanta, que variando-se apenas a cultivar e a quantidade em uma formulação base é possível fabricar cervejas totalmente distintas em termos de amargor e aroma (NACHE, ETTLINGER, 2012; INUI et al., 2013).

Atualmente destacam-se como produtores de lúpulo a Alemanha e os Estados Unidos com aproximadamente 17.309 e 15.536 hectares respectivamente, estes mesmos países se destacam pela quantidade de variedades que produzem, 19 e 29 respectivamente. A produção de lúpulo nestes locais é favorecida devido ao fato de que eles cumprem as exigências de clima e solo para cultivo (NEVE, 2001; MIRANDA, 2015).

Atualmente a área de plantio de lúpulo no Brasil é de 18 hectares e segundo informações levantadas no 1º Encontro de Plantadores de Lúpulo em 2017 grande parte do seu cultivo é realizada por produtores que estão conduzindo esta cultura em forma de testes para a adaptação climática. A densidade de plantio de algumas áreas de testes foi de 3.200 plantas por hectare, com potencial de produzir 2,5 kg de cones frescos com plantas maduras (SARNIGHAUSEN,

2017).

Em função das exigências de clima e solo para o seu cultivo, acreditava-se que não era possível cultivar lúpulo no Brasil. Contudo, existem algumas iniciativas para a sua produção em diferentes cidades das regiões sul, sudeste, norte e nordeste do Brasil comprovando-se que é possível cultivar e produzir lúpulo no país. Originalmente, a cultura ocorre nos países do hemisfério norte onde são encontradas condições edafoclimáticas de baixa temperatura e elevada altitude favoráveis a produção de lúpulo. Estudos no Brasil enfrentam muitos obstáculos, pois esta cultura necessita de demandas específicas de clima tais como: exposição ao frio intenso durante o inverno e necessidade de aproximadamente 15 a 18 horas de luz solar durante sua floração, desconhecendo-se ainda a soma térmica. A sensibilidade a estas variações locais das condições climáticas dificultam a sua produção a nível nacional. Ainda assim, certas variedades têm se adaptado ao clima do Brasil e vem conseguindo uma baixa produção (RODRIGUES, 2015; DURELLO et al., 2019). As cultivares Cascade, Columbus, Hallertau Mittelfruh e Nugget são utilizadas em diversos estilos de cervejas.

Por serem variedades que vem sendo adaptadas ao Brasil, estas podem apresentar resultados distintos dos lúpulos importados quanto a sua composição química e características sensoriais e também apresentarem diferenças nas cervejas elaboradas com estes lúpulos, torna-se indispensável uma caracterização físico-química, tecnológica e sensorial de lúpulos produzidos em solo brasileiro.

## **4.1.2 Material e Métodos**

### **4.1.2.1 Amostras**

Os lúpulos (Cascade, Columbus, Hellertau Mittelfrüh, Nugget) foram cedidos pelo produtor de São Francisco de Paula, no Rio Grande do Sul. Município localizado a uma latitude de 29°, e uma longitude de 50°, situando-se a 880 metros de altitude. O clima do município é classificado como subtropical, com temperatura média anual entre 18 e 20°C e a pluviosidade média anual, dos 10 últimos anos, de 2.100 mm (INMET, 2018).

### **4.1.2.2 Colheita**

As colheitas referentes aos anos 2018 e 2019 foram realizadas em março, os sarmentos foram cortados a 1 metro do solo e posteriormente foram separados os cones (flores) manualmente.

Em seguida as flores foram secas a 75°C  $\pm$ 5°C em estufa até 12 % de umidade. Depois de secas foram prensadas e armazenadas em câmara frigorífica 4°C  $\pm$ 1°C.

### **4.1.2.3 Delineamento Experimental**

Foram realizados dois experimentos totalmente casualizados. O primeiro experimento foi composto de dois fatores (flor safra 2018 e flor safra 2019) com quatro variedades de lúpulos (Cascade, Columbus, Hellertau Mittelfrüh, Nugget) e quatro repetições, constituindo 24 unidades amostrais.

O segundo experimento foi realizado com *pallets* da safra 2018, composto de quatro variedades de lúpulos (Cascade, Columbus, Hellertau Mittelfrüh, Nugget) e quatro repetições, constituindo 16 unidades amostrais.

### **4.1.2.4 Preparo dos Extratos**

Os extratos foram preparados segundo a metodologia descrita pela Farmacopeia Brasileira (2010). As amostras de lúpulo foram previamente trituradas utilizando um micro moinho (Marconi® MA-630), obtendo partículas menores de 1 mm. Os extratos foram elaborados pesando-se 1,25 g de amostra e 25 mL do extrato hidroalcoólico (1:1) os quais foram

adicionados em tubos Falcon. Os tubos foram agitados por 24 horas em mesa agitadora, centrifugados a 2.099,2 g durante 5 minutos e os sobrenadantes reservados em frascos âmbar até o momento das análises.

#### 4.1.2.5 Umidade

A umidade das amostras de lúpulo foi realizada de acordo com IAL (2008), foram trituradas 3g de amostra as quais foram colocadas em uma cápsula de porcelana, previamente aquecida em estufa à 105°C, por 1 hora, onde posteriormente foi resfriado em dessecador até a temperatura ambiente e pesado. Após isso a amostra foi aquecida em estufa à 105°C por 3 horas. Posteriormente resfriado em dessecador e pesado. A operação foi realizada até peso constante e calculada a percentagem através da Equação 1 .

$$Umidade (\%) = \frac{100 \cdot N}{P}$$

Onde:

(1)

N = perda de peso em grama

P = número de grama da amostra

#### 4.1.2.6 Cinzas

A determinação do teor de cinzas foi realizada segundo IAL (2008). As amostras trituradas foram secas em estufa a 105°C por 24 horas, seguido da incineração de 3 g da amostra seca em cadinhos de porcelana por 3 horas em mufla a 550°C. Armazenadas em dessecador à temperatura ambiente, e pesados até peso constante. Os resultados obtidos foram expressos (%), de acordo com a Equação 2.

#### 4.1.2.7 Proteínas totais

A determinação de nitrogênio total foi através da digestão da amostra seca e posterior determinação do íon amônio por destilação com KOH. Realizado segundo método de Kjeldahl (AOAC, 1990). O teor de nitrogênio foi calculado pela Equação 2.

$$Nitrogênio(\%) = \frac{V_t \cdot NR \cdot Eq \cdot 100}{V_a}$$

Onde:

(2)

V<sub>t</sub>: volume titulado (mL)

NR: normalidade real do HCl

$V_a$ : volume da amostra (mL)

Eq: equivalente grama  $N_2$  (0,014g)

% proteína = % N x 6,25 (fator de correção)

#### 4.1.2.8 Determinação de lipídeos

A determinação dos lipídios seguiu a metodologia descrita pelo método AOAC (1995). Foi pesado 2 g da amostra seca em cartucho e destilado em extrator tipo Soxhlet a 105°C com éter e mantido sob aquecimento em chapa elétrica sob extração contínua por 8 horas. Posterior a isso retirou-se o cartucho, destilou-se o éter e transferiu-se o balão com o resíduo extraído para uma estufa a 105°C, mantendo por cerca de uma hora. Resfriou-se em dessecador até a temperatura ambiente e pesado. O teor de lipídeos foi calculado pela Equação 3.

$$\text{Lipídeos (\%)} = \frac{(Pb + Pg) - Pa}{Pa} \cdot 100$$

Onde: (3)

Pb: peso do Béquer

Pg: peso da gordura

Pa: peso da amostra úmida

#### 4.1.2.9 Determinação de unidades de amargor

A análise global de amargor (EBC, 1987), expressa como *Bitterness Units* (BU), foi determinada após extração com isooctano (2,2,4-trimetilpentano) em amostras de lúpulo, acidificadas com HCl 6N, seguido de medição espectrofotométrica (FEMTO® 600 plus) em comprimento de onda de 275 nm e calculado de acordo com a Equação 4.

$$BU = \text{Absorbância}_{275\text{nm}} \cdot 50 \quad (4)$$

#### 4.1.2.10 Compostos fenólicos totais

A concentração dos compostos fenólicos totais dos extratos dos lúpulos foi determinada pelo método de Singleton e Rossi (1965). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO® 600 plus) em comprimento de onda de 765 nm, após duas horas ao abrigo da luz. Utilizou-se como padrão o ácido gálico, para construir uma curva de calibração ( $Y = 136,2x - 4,3422$   $R^2 = 0,98$ ). Os resultados obtidos foram expressos em gramas de equivalentes de ácido gálico por litro (g EAG L<sup>-1</sup>).

#### 4.1.2.11 Flavonoides totais

O teor de flavonoides totais foi analisado pelo método descrito por Zhishen; Mengcheng; Jianming (1999). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO<sup>®</sup> 600 plus), em comprimento de onda de 510 nm. O teor de flavonoides foi determinado utilizando-se uma curva padrão de catequina, e os resultados determinados a partir de uma equação de regressão ( $Y = 0,0033 + 0,0103 R^2 = 0,99$ ) expressos em miligramas de equivalentes de catequina por litro (mg CAT L<sup>-1</sup>).

#### 4.1.2.12 Método DPPH

A metodologia utilizada foi descrita por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995). O método tem por base a redução do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH•+) por antioxidantes da amostra produzindo um decréscimo da absorbância a 517 nm, após serem mantidas por 24 horas no escuro à temperatura ambiente. As medidas das absorbâncias foram efetuadas em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO<sup>®</sup> 600 plus) contra um branco de controle. A concentração do DPPH foi calculada utilizando-se o Trolox como padrão. Os resultados foram expressos em (mM TEAC L<sup>-1</sup>).

#### 4.1.2.13 Método ORAC

Para a determinação da atividade antioxidante pelo método ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) pelo método de Ou; Hampsch-Woodill; Prior (2001). O radical peroxila é gerado por termo decomposição do 2,2- azobis (2-amidiniprano) di-hidrocloro (AAPH) a 37 ° C. A capacidade de desativar o radical peroxila é medida pelo monitoramento do decaimento da fluoresceína por oxidação gerando produtos não fluorescentes. Para a curva de calibração foi utilizado o Trolox como controle positivo. A absorbância foi monitorada pelo leitor de microplacas no comprimento de onda de excitação de 485 nm e emissão de 528 nm, por um período de 2 horas ( $Y = 1806,5 x + 14,392 R^2 = 0,98$ ). O resultado final foi expresso em (µM TE 100g<sup>-1</sup>).

#### 4.1.2.14 Análise sensorial CATA

#### Desenho do estudo

Os lúpulos foram avaliados sensorialmente por meio do teste CATA (*Check-All-That-Apply*) que permitiu que os consumidores escolhessem todos os atributos potenciais das listas dadas para descrever o produto teste. Os provadores foram apresentados a uma lista de termos e solicitados a selecionar todos aqueles que remetem ao aroma dos lúpulos das variedades Cascade, Columbus, Hellertau Mittelfruh e Nugget referente a safra de 2019.

### **Amostra**

As amostras foram codificadas com números contendo 3 dígitos aleatórios. O teste sensorial consistiu em sentir o aroma das amostras, previamente preparadas em rigorosas condições higiênico-sanitárias. As mesmas foram servidas em recipiente transparente. O teste sensorial visa selecionar todos os aromas que remetem ao aroma dos lúpulos. Para a limpeza olfativa foi fornecido pó de café. Os julgadores foram orientados pelos pesquisadores quanto à maneira correta de como sentir o aroma através do olfato e após esta etapa, preencheram as fichas de testes, registrando sua opinião sobre o produto.

### **População alvo**

O teste foi realizado com 100 julgadores não-treinados, homens e mulheres, entre 18 a 60 anos de idade (alunos e funcionários da UFSM). Os julgadores foram selecionados para participação com base em sua preferência por cerveja, interesse e disponibilidade.

### **Critérios de inclusão e de exclusão**

Participaram da pesquisa, 100 julgadores não-treinados, homens e mulheres, com faixa etária de 18 a 60 anos (alunos e funcionários da UFSM), não fumantes, livres de doenças olfativas. Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Foram excluídos do estudo indivíduos menores de 18 anos ou maiores de 60 anos, que não apreciam cerveja e que estivesse fazendo uso de algo que interfira no olfato.

### **Aspectos éticos**

Os julgadores foram convidados a sentir o aroma dos lúpulos através do olfato, sendo instruídos quanto às informações contidas no documento e a forma correta de fazer a análise. Também foram instruídos sobre o direito de desistir de participar da pesquisa a qualquer momento, sem nenhuma penalidade. Os pesquisadores responderam todas as dúvidas antes que houvesse a decisão de participação e foi explicado que a participação consiste apenas em sentir

o olfato das amostras de lúpulo e preencher um questionário de acordo com a opinião sobre o produto. Após o teste sensorial, os provadores responderam às perguntas de um questionário de forma totalmente voluntária. Os riscos para a realização desta análise foram considerados mínimos, uma vez que a análise sensorial foi baseada apenas em sentir o cheiro dos lúpulos através do olfato.

### **Aspectos éticos**

O resultado da análise sensorial CATA foi determinada descrevendo o número de consumidores que usaram o termo para especificar cada amostra. A pontuação CATA foi calculada somando as pontuações fornecidas pelos consumidores que selecionaram o termo como aplicável para descrever cada amostra (ARES et al., 2014).

#### **4.1.2.15 Análise estatística**

Os dados obtidos foram submetidos aos testes ANOVA e Tukey ( $p \leq 0,05$ ), com auxílio do *software* Statistica, versão 7.0 (StatSoft Inc., 1984-2004, Tulsa, EUA).

### **4.1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A qualidade da cerveja é muito influenciada pela qualidade do lúpulo, o qual, por sua vez, é fortemente dependente das condições de solo e clima. É importante salientar que o papel do clima, em produtos de alta diferenciação, como o lúpulo destinado a fabricação de cerveja, necessita de uma alta precipitação pluviométrica e temperaturas baixas, assim como muitas horas de insolação. Segundo dados do INMET (2019) durante o ano de 2017 e 2018 da cidade de Caxias do Sul/RS, cidade próxima a São Francisco de Paula, localidade na qual foram obtidas as amostras, obteve uma insolação de 2.250 horas no ano de 2017 e 2.201 horas no ano de 2018, dados solares que estão próximos aos do hemisfério norte, uma vez que lá tem-se 2.800 a 3.000 horas de sol durante o ano (NEVE, 2001). Outro parâmetro importante é a temperatura média, sendo a média de 13 °C no ano de 2017 e 12 °C no ano de 2018 (INMET,2019). Essas temperaturas são semelhantes as que o lúpulo necessita para seu crescimento e desenvolvimento, como pode ser visto na Tabela 1.

Tabela 1: Dados climáticos da soma dos anos de 2017 e 2018, Caxias do Sul/RS.

<b>Parâmetros</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>
Insolação Total-anual (horas)	2250	2201



Precipitação Total-anual (mm)	1967	2058
Precipitação Total Março (mm) (mês antecede a colheita)	260	117
Temperatura Máxima Média (°C)	23±4	23±5
Temperatura Mínima Média (°C)	13±3	12±4
Umidade Relativa Média(%)	77±15	79±17

Fonte: INMET (2019).

Com o intuito de se produzir cervejas com lúpulos brasileiros que sejam economicamente viáveis e de qualidade estudou-se as características físico-químicas, antioxidantes e sensoriais dos lúpulos produzidos nacionalmente. Os teores de umidade, cinzas, proteínas e lipídeos (%) são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Resultados físico químicos dos lúpulos (*Humulus Lupulus*) nacionais (flor) e internacionais (*pallets*).

Cultivar	Umidade (%)				Cinzas (%)				Proteínas (%)				Lipídeos (%)			
	2018		2019		2018		2019		2018		2019		2018		2019	
<b>Flor</b>																
Cascade	13,6	aA	11,6	bB	7,3	aB	8,0	aA	15,0	aA	13,7	aB	5,3	Bb	7,5	aA
Columbus	13,0	bA	12,8	aB	6,2	cA	6,0	dB	12,8	dA	12,5	cB	5,0	Cb	6,0	dA
Hallertau	13,0	bA	11,0	cB	6,5	bB	7,2	bA	14,0	cA	10,6	dB	4,6	dB	6,5	cA
Nugget	13,0	bA	12,8	aB	6,0	dB	6,1	cA	14,9	bA	12,8	bB	7,2	Aa	7,2	bA
<b>Pallets</b>																
Cascade	10,2	b			8,0	a			15,0	a			5,4	B		
Columbus	11,5	a			7,8	c			14,9	b			5,3	C		
Hallertau	9,3	c			7,9	b			13,8	c			4,9	D		
Nugget	8,0	d			7,3	d			15,0	a			7,1	A		

Letras minúsculas, na mesma coluna e na mesma forma de apresentação, iguais não apresentam diferença significativa; Letras maiúsculas, iguais na linha no mesmo parâmetro, não apresentam diferença significativa entre as safras pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Observa-se, que o parâmetro umidade variou significativamente entre as variedades, sendo a cv. Cascade nacional da safra 2018 a que apresentou o maior teor de umidade com 13,6%. Porém na safra 2019 as variedades Columbus e Nugget apresentaram os maiores teores de umidade. Analisando entre as safras, os lúpulos de 2018 apresentaram maior teor de umidade, isto pode estar relacionado ao fato das plantas estarem sujeitas a uma série de condições adversas no campo, como ataque de patógenos (fungos) e insetos. Quanto às condições edafoclimáticas, a turgescência é preponderante pois a planta é altamente suscetível à contrações e expansões dos tecidos devido à absorção ou perda de água (TAIZ et al., 2017). As alterações do teor de umidade podem ocorrer como consequência da ocorrência de chuvas no período da colheita (JUDD et al., 2009). Este fenômeno interferiu na composição fitoquímica

dos lúpulos, como pode ser visualizado através da Tabela 1, a média de chuvas no mês de março do ano de 2017 foi superior a março de 2018 com uma diferença do índice pluviométrico de 143 mm. Este alto índice pluviométrico na época da colheita do lúpulo possivelmente propiciou um teor de umidade mais elevado nesta safra de 2017 em todas as variedades estudadas.

Para os lúpulos internacionais da safra de 2018 houve uma variação de 8 a 11,5% entre as variedades, sendo o lúpulo Nugget o que apresentou o menor teor de umidade e o lúpulo Columbus o que apresentou o maior teor de umidade.

Almaguer et al., (2014) em um estudo sobre a química do lúpulo, observou que as flores de lúpulo devem apresentar 10 a 12% de umidade, estes valores demonstram que alguns lúpulos estudados neste trabalho se encontram com a umidade um pouco superior ao recomendado para esta matéria prima.

Os minerais e as proteínas presentes no lúpulo contribuem para a estabilização coloidal da cerveja e estas interações entre o lúpulo e as cinzas contribuem para formar uma película forte e que pode proteger a cerveja da oxidação pelo oxigênio através da sua espuma (DURELLO et al., 2019). Através dos resultados presentes neste trabalho é possível observar que entre as variedades nacionais a Cascade é que apresentou o maior teor de cinzas e proteínas (Tabela 2). Para o parâmetro cinzas foi obtido um teor de 7,3 e 8,0 % nas safras de 2018 e 2019 respectivamente, já para o teor proteico os valores obtidos foram 15,0 e 13,7 % correspondentes as safras 2018 e 2019 respectivamente. Como pode ser observado através dos valores obtidos esta variedade é a que apresenta os maiores valores de proteínas e cinzas possivelmente contribuindo assim para a proteção da cerveja contra oxidação.

A variedade Cascade nacional apresentou um aumento no teor de cinzas da safra de 2018 para 2019 de 7,3% para 8,0%, o mesmo comportamento ocorreu com os lúpulos Hallertau Mittelfrüh e Nugget nacional de 6,5% para 7,2% e 6,0% para 6,1%, respectivamente. Este aumento no teor de cinza para estas três variedades demonstram que houve um aumento na concentração de minerais da safra de 2018 para 2019, corroborando com os teores de umidade relativa maior nas amostras da safra 2018 do que da safra 2019. A variedade Cascade destaca-se no teor de minerais tanto na forma de flor quanto na forma de *pallet*, sugerindo que esta cultivar apresenta uma parede celular bem estruturada e que possivelmente seja rica em cálcio. Portanto, possivelmente este lúpulo está bem adaptado ao solo brasileiro, demonstrando que a nutrição mineral da planta foi satisfatória resultando assim em tecidos bem desenvolvidos.

As variedades internacionais também apresentaram diferença estatística quanto ao teor de cinzas, com valores variando entre 7,3 e 8,0 %, sendo o menor valor encontrado para a variedade Nugget e o maior valor para a variedade Cascade respectivamente. Os resultados

encontrados no presente trabalho então dentro do que é encontrado normalmente para esta matéria prima, onde é possível encontrar até 8% de cinzas na composição de lúpulo (ALMAGUER et al., 2014).

O vigor das plantas envolve uma série de fatores como biossíntese de energia e compostos metabólicos, tais como as proteínas. O potencial de desenvolvimento das plantas é influenciado pelos teores dos compostos presentes e, de modo geral, quanto maior o teor proteico maior o seu vigor (BUCHANAN, 2000). Entre as variedades estudadas, o lúpulo Cascade foi o que apresentou o maior teor proteico tanto na safra de 2018 tanto na safra de 2019 mostrando ser a variedade de lúpulo que está se desenvolvendo bem e que se adaptou melhor ao clima brasileiro. Para o parâmetro proteínas (Tabela 2) obteve-se diferença estatística entre as amostras nacionais, sendo a variedade Cascade da safra de 2018 a que apresentou um maior teor proteico com 15,0 %, já o menor valor foi encontrado para a variedade Hallertau Mittelfrüh com 10,6 % da safra 2019.

As variedades internacionais apresentaram diferença estatística entre elas, com valores variando entre 13,8 e 15,0 %, sendo o menor valor encontrado para a variedade Hallertau Mittelfrüh e o maior valor para as variedades Cascade e Nugget, respectivamente.

Observa-se, que o parâmetro lipídeos (Tabela 2) variou significativamente entre as variedades nacionais, sendo a variedade Cascade da safra de 2019 a que apresentou o maior valor com 7,5%. Já o menor valor encontrado foi para a variedade Hallertau Mittelfrüh da safra de 2018 com 4,6%. A safra de 2019 parece ter proporcionado o acúmulo de lipídeos. Os resultados referentes aos lúpulos internacionais variaram entre 4,9 e 7,1 %, sendo que as quatro variedades apresentaram diferença estatística entre elas.

Em relação a análise de amargor (Tabela 3), são quantificados os iso- $\alpha$ - ácidos totais presentes no lúpulo, formados durante a etapa de processamento de fervura das cervejas. A quantidade  $\alpha$ -ácidos presente no lúpulo depende da variedade da planta (NOONAN, 1996).

Tabela 3: Dados referentes ao amargor dos lúpulos (*Humulus Lupulus*) em flor e pallets.

Variedades		Amargor (BU)	
<b>Nacionais (Flor)</b>	Cascade	7,9	aB
	Columbus	4,7	cB
	Hallertau Mittelfhur	6,5	bA
	Nugget	3,5	dB
<b>Internacionais (Pallets)</b>	Cascade	9,0	cA
	Columbus	13,0	bA
	Hallertau Mittelfhur	5,2	dB
	Nugget	13,8	aA

---

Letras minúsculas, na mesma coluna e na mesma forma de apresentação, iguais não apresentam diferença significativa; Letras maiúsculas, iguais na coluna no mesmo parâmetro, não apresentam diferença significativa entre as formas de apresentação pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Há pouca bibliografia que relate o amargor apenas do lúpulo e assim como a dispersão deste amargor. Os resultados da análise de amargor (Tabela 3), variaram de 3,5 BU (Nugget nacional) a 13,8 BU (Nugget internacional). Ressalta-se que esses valores também diferenciam a forma de apresentação, onde o *pallet* é mais amargo do que a flor, exceto na variedade Hallertau Mittelfhur.

Segundo Ychhops; Brewhouse (2017) a variedade de lúpulo Cascade é conhecida pelo seu teor médio de  $\alpha$ -ácidos variando entre 4,5 e 9,0 BU. Através da Tabela 3 é possível verificar que o lúpulo Cascade nacional apresentou resultados que se encontram entre a faixa descrita apresentando um amargor de 7,9 BU para a variedade nacional, e um amargor de 9,0 BU para internacional.

A variedade Columbus nacional apresentou menor amargor do que habitualmente encontra-se para esta variedade, segundo Ychhops; Brewhouse (2017) o lúpulo Columbus é reconhecido pelo seu alto teor de  $\alpha$ -ácidos, variando entre 12,0 e 16,0 BU. Como pode ser verificado através da Tabela 3, onde o nacional apresentou um amargor de 4,7 BU. Em contrapartida o lúpulo internacional apresentou um amargor de 13 BU, encontrando-se assim dentro da faixa que normalmente é encontrada para esta variedade.

A variedade Hallertau Mittelfhur nacional também apresentou um resultado em desacordo com o que habitualmente encontra-se para esta variedade (Tabela 3), conforme Ychhops; Brewhouse (2017) ela é conhecida por possuir um baixo teor de  $\alpha$ -ácidos, variando entre 3,0 a 5,5 BU. O lúpulo Hallertau Mittelfhur nacional apresentou um resultado de 6,5 BU, sugerindo que este valor está acima do que normalmente é encontrado para esta cultivar. O lúpulo Hallertau Mittelfhur internacional apresentou um amargor de 5,2 BU, enquadrando-se na faixa de valores.

Segundo Ychhops; Brewhouse (2017) o lúpulo Nugget é reconhecido pelo seu alto teor de  $\alpha$ -ácidos, variando entre 9,5 a 14,0 BU e através da Tabela 3 pode-se verificar que o Nugget nacional apresentou um comportamento distinto ao frequentemente encontrado para esta variedade, apresentando um amargor de 3,5 BU. Em contrapartida o lúpulo Nugget internacional apresentou um amargor de 13,8 BU.

A insolação através da radiação em especial a irradiação ultravioleta do tipo A e tipo B, podem modificar a estrutura e desenvolvimento das plantas. Quando ocorre uma maior incidência solar também pode ocorrer um maior estresse oxidativo da planta durante a fotossíntese. Estes

radicais livres estimulam a fenilalanina amônio liase (FAL) que desencadeia a síntese de diversos compostos fenólicos (TAIZ et al., 2017), isso gera mudanças nos seus constituintes e consequentemente nas características sensoriais. O Brasil possui uma menor insolação durante o período vegetativo dos lúpulos quando comparados com países como Estados Unidos e Alemanha, isto possivelmente deve ter gerado menor estresse oxidativo, oriundo da fotossíntese e possivelmente não estimulou a síntese de resinas fazendo com que o amargor dos lúpulos nacionais apresentasse valores menores que os internacionais. No entanto, as condições do sul do Brasil favoreceram o metabolismo lipídico acumulando durante o ano maior teor de lipídios (Tabela 2), especialmente na safra de 2019 onde ocorreu a maior precipitação total anual e, portanto, menos horas de sol.

Com a finalidade de contribuir com compostos bioativos na cerveja, estudou-se a composição fenólica e antioxidante dos lúpulos para a sua futura inserção na bebida alcoólica. Na Tabela 4 podem ser observadas as principais classes antioxidantes de lúpulo e suas respectivas quantidades.

Tabela 4: Polifenóis Totais, Flavonoides Totais, DPPH e ORAC dos lúpulos (*Humulus Lupulus*) nacionais (flor) e internacionais (pallets).

Variedade	Polifenóis Totais (g EAG L <sup>-1</sup> )				Flavonoides Totais (mg CAT L <sup>-1</sup> )				DPPH (mM TEAC L <sup>-1</sup> )				ORAC (μM TE 100 g <sup>-1</sup> )			
	2018		2019		2018		2019		2018		2019		2018		2019	
<b>Nacional (Flor)</b>																
<b>Cascade</b>	2,0	aB	2,5	bA	120,7	cB	135,9	cA	1,7	bA	0,8	bB	11,9	dB	15,6	dA
<b>Columbus</b>	1,8	cB	2,6	aA	257,0	aA	211,6	aB	1,7	bA	0,7	cB	14,6	cB	20,6	cA
<b>Hallertau</b>	1,9	bB	2,3	cA	135,9	bA	75,3	dB	1,7	bA	0,7	cB	19,7	aB	23,2	aA
<b>Nugget</b>	1,8	cB	2,6	aA	107,0	dB	166,2	bA	1,8	aA	0,9	aB	17,9	bB	21,0	bA
<b>Internacional (Pallet)</b>																
<b>Cascade</b>	1,4	d			60,0	d			1,2	d			19,7	d		
<b>Columbus</b>	1,5	c			82,0	b			1,3	c			22,1	a		
<b>Hallertau</b>	2,0	a			110,0	a			1,4	b			20,2	c		
<b>Nugget</b>	1,9	b			69,0	c			1,7	a			21,0	b		

Letras minúsculas na mesma coluna e na mesma forma de apresentação iguais não apresentam diferença significativa, letras maiúsculas iguais na linha no mesmo parâmetro não apresenta diferença significativa entre as safras.

No que diz respeito a evolução dos polifenóis durante as safras foi possível observar que todos os lúpulos apresentaram aumento no teor de compostos fenólicos da safra de 2018 para 2019 (Tabela 4). A variedade Cascade nacional apresentou um aumento significativo na composição fenólica da safra de 2018 para 2019 com valores de 2,0 para 2,5 g EAG L<sup>-1</sup>, apresentando um aumento de 24% no teor de polifenóis totais de uma safra para outra. O

lúpulo Columbus nacional foi o que apresentou o maior incremento na composição fenólica (46%) com um aumento de 1,8 para 2,6 g EAG L<sup>-1</sup> da safra de 2018 para 2019. A variedade Hallertau Mittelfruh teve um aumento de 1,9 para 2,3 g EAG L<sup>-1</sup>, mostrando ser o lúpulo que apresentou a menor alta na composição fenólica, tendo um aumento de apenas 16%. A variedade Nugget, exibiu um aumento de 1,8 para 2,6 g EAG L<sup>-1</sup>, o que representa um acréscimo de 45% no teor de polifenóis totais de uma safra para outra.

Já os lúpulos internacionais Cascade, Columbus, Hallertau Mittelfruh e Nugget apresentaram valores de 1,4, 1,5, 2,0 e 1,9 g EAG L<sup>-1</sup>, respectivamente sendo compatíveis com a safra 2018 na forma de apresentação em flor.

Como é possível observar, de uma maneira geral os lúpulos nacionais em flor possuem um teor de compostos fenólicos mais elevado do que os lúpulos internacionais em *pallets* e também apresentaram um aumento significativo de compostos fenólicos da safra de 2018 para 2019 (Tabela 4). Durante o ano de 2018 houve uma alta precipitação total anual e, portanto, menos horas de sol (Tabela 1) o que possivelmente propicia maiores condições de proliferação para fungos. Adicionalmente a isto, a principal linha de defesa vegetal é a síntese de compostos fenólicos e flavonoides que atuam como fitoalexinas atacando diretamente os fungos (TAIZ et al. 2017). Estes fatores contribuem para o entendimento sobre o aumento no teor de compostos fenólicos da safra de 2018 para 2019.

Os teores de flavonoides totais são apresentados na Tabela 4. Ocorreu uma variação de 107,0 a 257,0 mg CAT L<sup>-1</sup> na safra de 2018, valores referentes aos lúpulos Nugget e Columbus, respectivamente. Já para a safra 2019 houve uma variação de 75,3 a 211,6 mg CAT L<sup>-1</sup>, valores referentes aos lúpulos Hallertau Mittelfruh e Columbus, respectivamente.

Os lúpulos Cascade e Nugget nacionais apresentaram um acréscimo na concentração de flavonoides. A variedade Cascade apresentou um aumento (12%), de 120,7 para 135,9 mg CAT L<sup>-1</sup> e a variedade Nugget um aumento (55%) de 107,0 para 166,2 mg CAT L<sup>-1</sup>.

Através dos dados foi possível observar que as variedades Columbus e Hallertau Mittelfruh nacionais apresentaram um decaimento no teor de flavonoides totais da safra de 2018 para 2019, sendo que a primeira apresentou um decaimento de 257,0 para 211,6 mg CAT L<sup>-1</sup>, o que em porcentagem representa um decaimento de 15%, e a segunda apresentou um declínio de 135,9 para 75,3 mg CAT L<sup>-1</sup>, exibindo um decaimento de 45% respectivamente.

Em uma resposta fisiológica para defesas contra fungos as plantas respondem produzindo altas taxas de compostos fenólicos totais como comentado anteriormente, no entanto, predominam fenólicos de baixo peso molecular (ácidos fenólicos simples e estilbenos) (JUDD et al., 2009). Como pode ser observado na Tabela 4 não houve grandes alterações da

safra 2018 para safra de 2019 quanto ao teor de flavonoides totais exceto para as cultivares Columbus e Hallertau Mittelfruh. Isto indica que os compostos fenólicos totais elevados da safra de 2019 sejam estilbenos ou fenólicos de baixo peso molecular.

Os lúpulos internacionais Cascade, Columbus, Hallertau Mittelfruh e Nugget apresentaram valores de 60,0, 82,0, 110,0 e 69,0 mg CAT L<sup>-1</sup>, respectivamente. Como é possível observar, os lúpulos nacionais apresentaram um teor flavonoides bem mais elevado do que os lúpulos internacionais, apresentando o mesmo comportamento que os fenólicos.

Na Tabela 4 são apresentados os resultados da capacidade antioxidante, pelos métodos DPPH e ORAC. Independentemente do método analisado o comportamento apresentado por eles foi semelhante.

O lúpulo Columbus nacional foi a variedade que apresentou a maior capacidade antioxidante da safra de 2018 para a safra de 2019, independentemente do método antioxidante analisado, no método DPPH apresentou resultados de 1,7 para 0,7 mM TEAC L<sup>-1</sup>, apresentando um aumento de 57% na capacidade antioxidante de uma safra para outra. No método ORAC observou-se resultados de 14,6 para 20,6 μMTE 100 g<sup>-1</sup>, apresentando 41% de aumento de uma safra para outra. Assim com os compostos fenólicos totais, demonstrando que são fenólicos de baixo peso molecular, pois sintetizou menos flavonoides em 2019.

Já o lúpulo Nugget nacional foi o que apresentou a menor resposta fisiológica da safra 2018 para safra 2019, tanto na análise de DPPH quanto na análise de ORAC. Para a análise de DPPH, foi encontrado um valor de 1,8 mM TEAC L<sup>-1</sup> na safra de 2018 e 0,9 mM TEAC L<sup>-1</sup> na safra de 2019, apresentando um aumento de 48% na capacidade antioxidante de uma safra para outra. Já o método ORAC exibiu resultados de 17,9 para 21,0 mM TEAC L<sup>-1</sup>, apresentando um aumento 17% na capacidade antioxidante de uma safra para outra. Entretanto apesar deste valor menor aos demais lúpulos estudados, esta variedade possui uma considerável capacidade antioxidante.

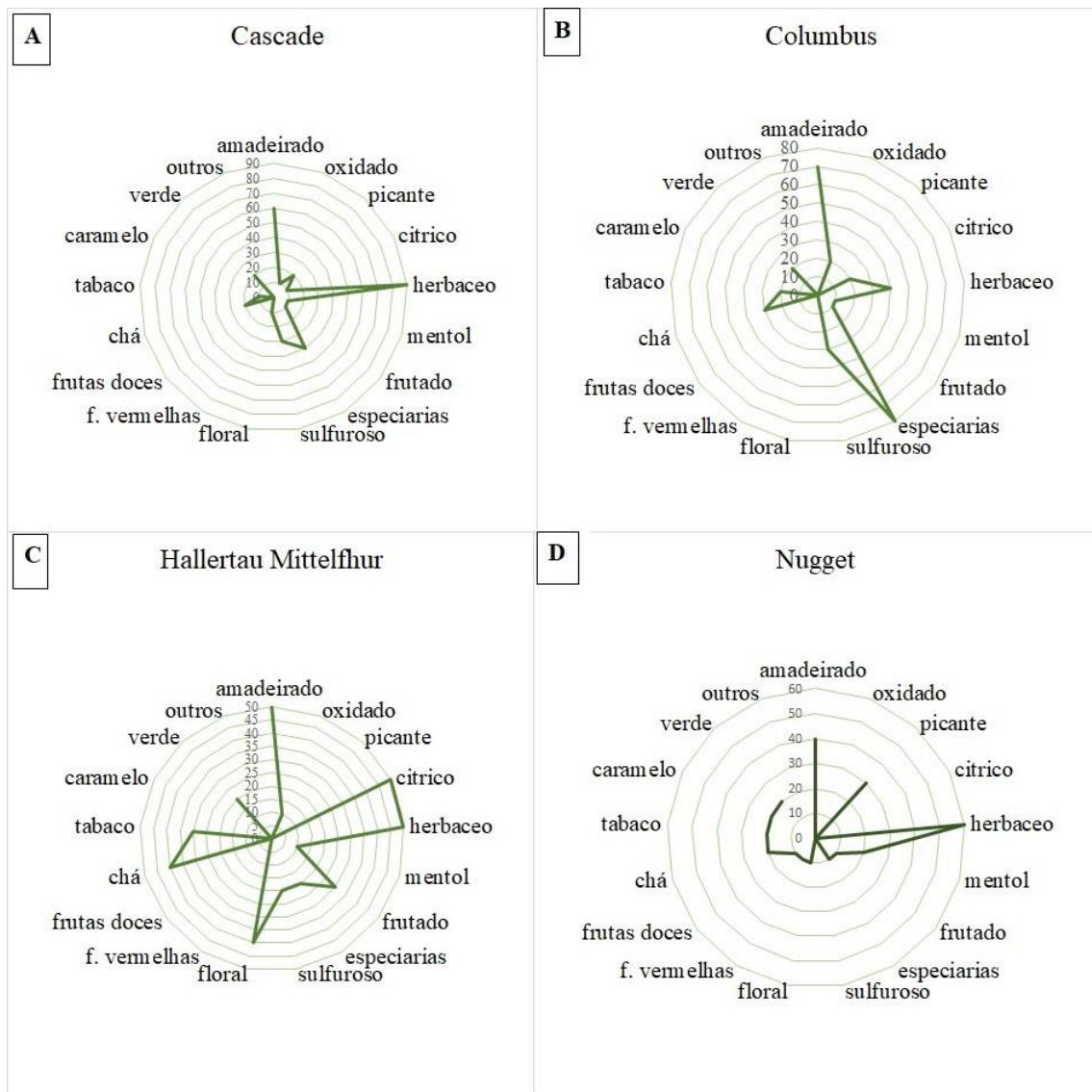
No método DPPH as variedades Cascade e Hallertau Mittelfruh também apresentaram evolução na capacidade antioxidante de uma safra para outra com diferença significativa ( $p > 0,05$ ). O lúpulo Cascade apresentou valores de 1,7 para 0,8 mM TEAC L<sup>-1</sup> apresentando um aumento de 53% na capacidade antioxidante de uma safra para outra e o lúpulo Hallertau Mittelfruh apresentou valores de 1,7 para 0,7 mM TEAC L<sup>-1</sup>, apresentando um aumento de 54% na capacidade antioxidante de uma safra para outra.

No método ORAC as variedades Cascade e Hallertau Mittelfruh também apresentaram evolução na capacidade antioxidante de uma safra para outra com diferença significativa, sendo que o lúpulo Cascade apresentou uma evolução de 11,9 para 15,6 mM TEAC L<sup>-1</sup> apresentando

um aumento de 30% na capacidade antioxidante de uma safra para outra e o lúpulo Hallertau Mittelfruh apresentou um aumento de 19,7 para 23,2 mM TEAC L<sup>-1</sup>, apresentando um aumento de 18% na capacidade antioxidante de uma safra para outra.

Não foram encontrados na literatura resultados referentes a atividade antioxidante determinada pelas técnicas de DPPH e ORAC para amostras de lúpulo. No entanto, comparativamente, os resultados de polifenóis totais, DPPH e ORAC são semelhantes à safra de 2018, exceto os flavonoides totais que são mais estimulados nas condições edafoclimáticas do sul do Brasil.

Figura 1: Resultado teste sensorial CATA referente aos descritores de aroma dos lúpulos Cascade, Columbus, Hallertau Mittelfruh e Nugget nacionais.



Fonte: Autoria própria.



A variedade de lúpulo Cascade é conhecida pelo seu aroma com notas cítricas, frutadas, florais e de especiarias (YCHHOPS, 2017). Pelo teste de Tukey, foi possível verificar que o lúpulo Cascade nacional diferiu significativamente em três descritores que podem ser visualizados através do gráfico (Figura 1A) com maiores notas herbáceas, seguida de amadeiradas e de especiarias. Resultado semelhante foi encontrado por Grizotto (2017) que ao analisar o perfil sensorial do aroma de lúpulo Cascade brasileiro encontrou notas intensas de chá, notas amadeiradas de especiarias e herbal. O lúpulo Columbus é reconhecido pelo seu aroma terroso, herbal, picante e cítrico (YCHHOPS, 2017). Através da análise estatística (Figura 1B), foi possível verificar que o lúpulo Columbus nacional diferiu significativamente em quatro descritores, sendo encontradas notas de especiarias, amadeirado, herbáceo e chá respectivamente. Grizotto (2017) encontrou resultados semelhantes neste mesmo lúpulo como notas intensas de chá, cítrico e mentol.

A variedade Hallertau Mittelfhur é conhecida por ser bastante equilibrada com notas frutadas, terrosas e herbais podendo também apresentar notas florais e picantes (YCHHOPS, 2017). O lúpulo Hallertau Mittelfhur nacional diferiu significativamente em seis descritores, sendo eles os aromas elencados pelas características: amadeirado, herbáceo, cítrico, floral, chá e tabaco (Figura 1C). Os resultados corroboram com os dados encontrados por Grizotto (2017) que evidenciam notas intensas de amadeirado, cítrico, floral, chá e tabaco, para o lúpulo Hallertau Mittelfhur, ressaltando-se que no presente estudo o aroma floral não diferiu estatisticamente.

O lúpulo Nugget nacional (Figura 1D) diferiu significativamente em três descritores, sendo eles herbáceo, amadeirado e picante, isso diferencia o lúpulo cultivado no sul do Brasil. Pois, o encontrado normalmente para esta variedade na literatura internacional são aromas de especiarias, herbáceo e chá (YCHHOPS, 2017). Sendo este o primeiro registro sobre estes aromas no Brasil.

#### **4.1.4 Conclusão**

A partir dos resultados, conclui-se que os parâmetros físico-químicos de maneira geral são semelhantes aos lúpulos internacionais, com exceção do parâmetro amargor, o qual os lúpulos nacionais apresentaram um comportamento menos expressivo aos internacionais.

Os lúpulos nacionais apresentam teores relevantes de compostos bioativos, sendo que o lúpulo Columbus se sobressaiu na concentração de compostos fenólicos totais, flavonoides

totais e na capacidade antioxidante.

Foi possível caracterizar os quatro lúpulos nacionais através dos seus aromas e descrever cada lúpulo, predominando entre eles notas herbáceas e especiarias.

A produção de lúpulo no Brasil tem obtido êxito, o que incentiva estudos e pesquisas na área. Fomentar o cultivo de lúpulo no país, melhoraria os custos da elaboração da bebida, que cresce de modo exponencial ao decorrer dos últimos anos.

#### 4.1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMAGUER, C.; SCHÖNBERGER C.; GASTL, M.; ARENDT, E. K.; BECKER, T. Humulus lupulus – a story that begs to be told. A review. **Institute of Brewing & Distilling**, p. 289-314, 2014. Doi: 10.1002/jib.160 BAMFORTH.

ARES, G. et al. Are consumer profiling techniques equivalent for some product categories? The case of orange-flavoured powdered drinks. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 8, p. 1600–1608, 2011.

Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16 ed. Washington: AOAC, 1995. 2v.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.22, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Decreto n. 6.871 de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, 4 jun. 2009.

BREWHOUSE. **Brewhouse, insumos cervejeiros**, 2017. Disponível em: <https://www.brewhouseinsumos.com.br/lúpulos>. Acesso em: 04/10/2018.

BUCHANAN, B.B., GRUISSEM, W., JONES, R.L. Biochemistry and molecular biology of plants. Maryland: American society of Plant physiologists, c2000.

DE ALMEIDA, N. E. C. **Reatividade de iso- $\alpha$ -ácidos e seus derivados hidrogenados frente ao radical 1-hidroxietila: implicações na perda de qualidade sensorial da cerveja**, 2011.

DURELLO, R. S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ, S. **Quim. Nova.**, v. 42, n. 8, p. 900–919, 2019. Disponível em : <http://www.scielo.br/pdf/qn/v42n8/0100-4042-qn-42-08-0900.pdf>.

FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/260079/5%C2%AA+edi%C3%A7%C3%A3o++Volume+1/4c530f86-fe83-4c4a-b907-6a96b5c2d2fc> Acesso em: 30/09/2018.

IAL – INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos**. 4. ed. São Paulo: IAL, 1020p.. Versão eletrônica, 2008.

INMET. **Instituto Nacional de Meteorologia**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2017. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/>. Acesso em:

03julho.2018.

INMET. **Instituto Nacional de Meteorologia**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2019. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/>. Acesso em: 03julho.2019.

INUI, T.; TSUCHIYA, F.; ISHIMARU, M.; OKA, K.; KOMURA, H.; **J. Agric. Food Chem.** 2013, 61, 4758.

JUDD; CAMPBELL; KELLOGG; STEVENS; DONOGHUE. Sistema vegetal-Um enfoque filogenético. 3ed. 2009.

MIRANDA, P. Jornadas de lúpulo e cerveja. **Bragança, 13-14-15 de julho 2015**. 2015. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/153416104.pdf>

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

NOONAN, G. J. **New brewing lager beer**. Boulder: Brewers Publications, 1996. 363p.

OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R.L. Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. **J. Agric. Food Chem.** 2001, 49, 4619-4626.

RENATO MATOS LOPES, P.; MARIN MORALES, E.; NALLIN MONTAGNOLLI, R. Cerveja brasileira: do campo ao copo. **Revista Agronomia Brasileira**, v. 1, n. 1, 2018.

RODRIGUES, M.A.; MORAIS, J. S.; CASTRO, J. P. M. Jornada de lúpulo e cerveja: novas oportunidades de negócios. **Bragança: Livro de Atas**. 2015.

SARNIGHAUSEN V. C. R.; ALEXANDRE D. P. **O lúpulo e a oportunidade do agronegócio no brasil**, 2017.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. **Colorimetry of phenolics with phosphomolybdicphosphotungsticacidre agents**. American Journal of Enology and Viticulture, Davis, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

TAIZ.L; ZEIGER.E.; MOLLER.I.M; MURPHY.A. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6 edição, 2017.disponivelem[https://grupos.moodle.ufsc.br/pluginfile.php/474835/mod\\_resource/content/0/Fisiologia%20e%20desenvolvimento%20vegetal%20-%20Zair%206%C2%AAed.pdf](https://grupos.moodle.ufsc.br/pluginfile.php/474835/mod_resource/content/0/Fisiologia%20e%20desenvolvimento%20vegetal%20-%20Zair%206%C2%AAed.pdf)  
TING, P. L.; RYDER, D. S.; **J. Am. Soc. Brew. Chem.** 2017, 75, 161.

WANNENMACHER, J.; GASTL, M.; BECKER, T.; Compr. **Rev. Food Sci. Food Saf.** 2018, 17, 953.

YCHhops. **Fornecedor de lúpulo e seus produtos**, 2017 Disponível em

<<https://ychops.com/>> Acesso em dezembro de 2019.

ZHISHEN, J., MENGCHENG T. E JIANMING W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, p. 555-559, 1999.

## 4.2 ARTIGO 2: Lúpulos brasileiros na elaboração de cervejas artesanais Brazilian hops in the preparation of craft beers

Tatiane Angela Marchesan<sup>1</sup>, Cláudia Kaehler Sautter<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos – Universidade Federal de Santa Maria, UFSM – CEP: 97060160 – Santa Maria – RS – Brasil, Telefone: (55) 996888476 – e-mail: tatiane-marchesan@hotmail.com

### RESUMO

Na composição da cerveja o lúpulo exerce um papel essencial por conferir amargor e aroma. O Brasil importa toda sua demanda de lúpulo de outros países, entretanto recentemente o país tem tido sucesso na produção desta cultura. Diante disso o objetivo deste trabalho foi analisar a composição físico-química, fenólica, antioxidante e sensorial das cervejas elaboradas com a adição dos lúpulos adaptados ao clima brasileiro das variedades Cascade, Columbus, Hallertau Mittelfruh e Nugget, comparativamente as cervejas produzidas através dos lúpulos internacionais paletizados das mesmas variedades. Foram elaboradas oito cervejas com adição dos lúpulos nacionais e internacionais, sendo quatro nacionais e quatro internacionais. O resultado das análises físico-químicas das cervejas com adição dos lúpulos nacionais e internacionais influenciou no comportamento do teor de extrato real e primitivo, teor de espuma, acidez total, cor e amargor. As cervejas elaboradas com os lúpulos nacionais apresentaram valores de compostos fenólicos e antioxidante superiores quando comparadas as mesmas cervejas elaboradas com as variedades internacionais, apresentando diferença significativa ao nível de 5%. O resultado da análise sensorial demonstrou que as cervejas elaboradas com os lúpulos Cascade, Columbus e Nugget nacionais foram preferidas quando comparadas as mesmas cervejas elaboradas com as variedades internacionais. Somente as cervejas fabricadas com a variedade Hallertau Mittelfruh internacional foram as preferidas. Desta forma, a elaboração de cervejas com os lúpulos adaptados ao solo brasileiro demonstram excelente qualidade físico-química, sensorial e também evidenciam um alto potencial fenólico e antioxidante, demonstrando capacidade para desenvolver tal cultura para suprir ao menos em parte a demanda da indústria cervejeira existente no Brasil.

**Palavras Chave:** Bebida Alcoólica. Compostos Bioativos. Sensorial.

## ABSTRACT

In the composition of beer, hops play an essential role by imparting bitterness and aroma. Brazil imports all its demand for hops from other countries, however recently the country has been successful in producing this crop. Therefore, the objective of this work was to analyze the physical-chemical, phenolic, antioxidant and sensory composition of beers made with the addition of hops adapted to the Brazilian climate of the varieties Cascade, Columbus, Hallertau Mittelfruh and Nugget, comparatively the beers produced through international hops pallets of the same varieties. Eight beers were made with the addition of national and international hops, four national and four international. The result of the physical-chemical analysis of the beers with the addition of national and international hops influenced the behavior of the real and primitive extract content, foam content, total acidity, color and bitterness. The beers made with national hops showed higher values of phenolic compounds and antioxidant when compared to the same beers made with international varieties, showing a significant difference at the level of 5%. The result of the sensory analysis showed that beers made with national Cascade, Columbus and Nugget hops were preferred when compared to the same beers made with international varieties. Only beers made with the Hallertau Mittelfruh variety had the international preference. Thus, the production of beers with hops adapted to the Brazilian soil shows excellent physical-chemical, sensory quality and also shows a high phenolic and antioxidant potential, demonstrating the capacity to develop such a culture to supply at least part of the existing beer industry's demand in Brazil.

**Key words:** Alcoholic beverage. Bioactive compounds. Sensory.

### 4.2.1 Introdução

A cerveja é uma das bebidas mais apreciadas e disseminadas no mundo, possuindo sabor e aroma característicos oriundos dos diversos compostos que são formados nas diferentes etapas de seu processamento. Um dos ingredientes que deve ser destacado é o lúpulo, o qual é adicionado a cerveja durante o processo de fervura e possui um papel essencial na produção cervejeira. As suas inflorescências femininas possuem uma substância designada de lupulina, a qual é responsável por conferir o amargor e aroma a cerveja (PIRES et al., 2014, GRASSI et al., 2014). Desta forma, o lúpulo e seus componentes são considerados indispensáveis na produção de cerveja e responsáveis pela distinção desta, de qualquer outra bebida alcoólica carbonatada (ESTEVINHO, 2015).

O aumento do mercado de cervejarias artesanais no Brasil do ano de 2018 para 2019 foi positivo, uma vez que apresentou um aumento de 889 para 1.209 cervejarias, isto representa um aumento de 35% de um ano para outro. O estado de São Paulo é o que possui o maior número de cervejarias artesanais com 241 fábricas, seguido do estado do Rio Grande do Sul com 236 fabricas (CERVBRASIL, 2019).

A produção cervejeira no Brasil tem grande importância socioeconômica para o país. A produção anual da bebida é da ordem de 14,1 bilhões de litros anuais, o que corresponde a 1,6% do PIB brasileiro, gerando mais de R\$ 21 bilhões em tributos anuais (CERVBRASIL, 2019). No entanto, a indústria cervejeira nacional é dependente parcialmente da importação dos produtos que utiliza para a fabricação de cerveja, e um destes produtos é o lúpulo, o qual é totalmente importado para a fabricação de cerveja.

Contudo, alguns pequenos produtores estão começando o cultivo do lúpulo no Brasil, e têm-se obtido êxito, o que incentiva estudos e pesquisas na área. O produto utilizado nas cervejarias brasileiras por ser importado é de alto custo. Esta iniciativa de cultivo do lúpulo no Brasil vem de encontro à produção cervejeira, e tem gerado uma grande expectativa para que o país caminhe para autossuficiência sobre esta importante matéria-prima para indústria (DURELLO et al., 2019). Fomentar o cultivo de lúpulo no país, melhoraria os custos da elaboração da bebida, que cresce de modo exponencial ao decorrer dos últimos anos.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade e características sensoriais das cervejas elaboradas com a adição dos lúpulos adaptados ao clima brasileiro das variedades Cascade, Columbus, Hallertau Mittelfruh e Nugget.



## 4.2.2 Material e Métodos

### 4.2.2.1 Delineamento Experimental

Foram elaboradas oito formulações de cervejas com adição dos lúpulos nacionais e internacionais (Tabela 1) com quatro repetições, sendo analisado em triplicata.

Tabela 1: Descrição das cervejas com seus respectivos códigos, referentes as cervejas nacionais e internacionais.

Tratamento	Descrição	Código
T1	Cascade nacional	CAN
T2	Columbus nacional	CON
T3	Hallertau Mittelfruh nacional	HMN
T4	Nugget nacional	NUN
T5	Cascade internacional	CAI
T6	Columbus internacional	COI
T7	Hallertau Mittelfruh internacional	HMI
T8	Nugget internacional	NUI

### 4.2.2.2 Elaboração das cervejas

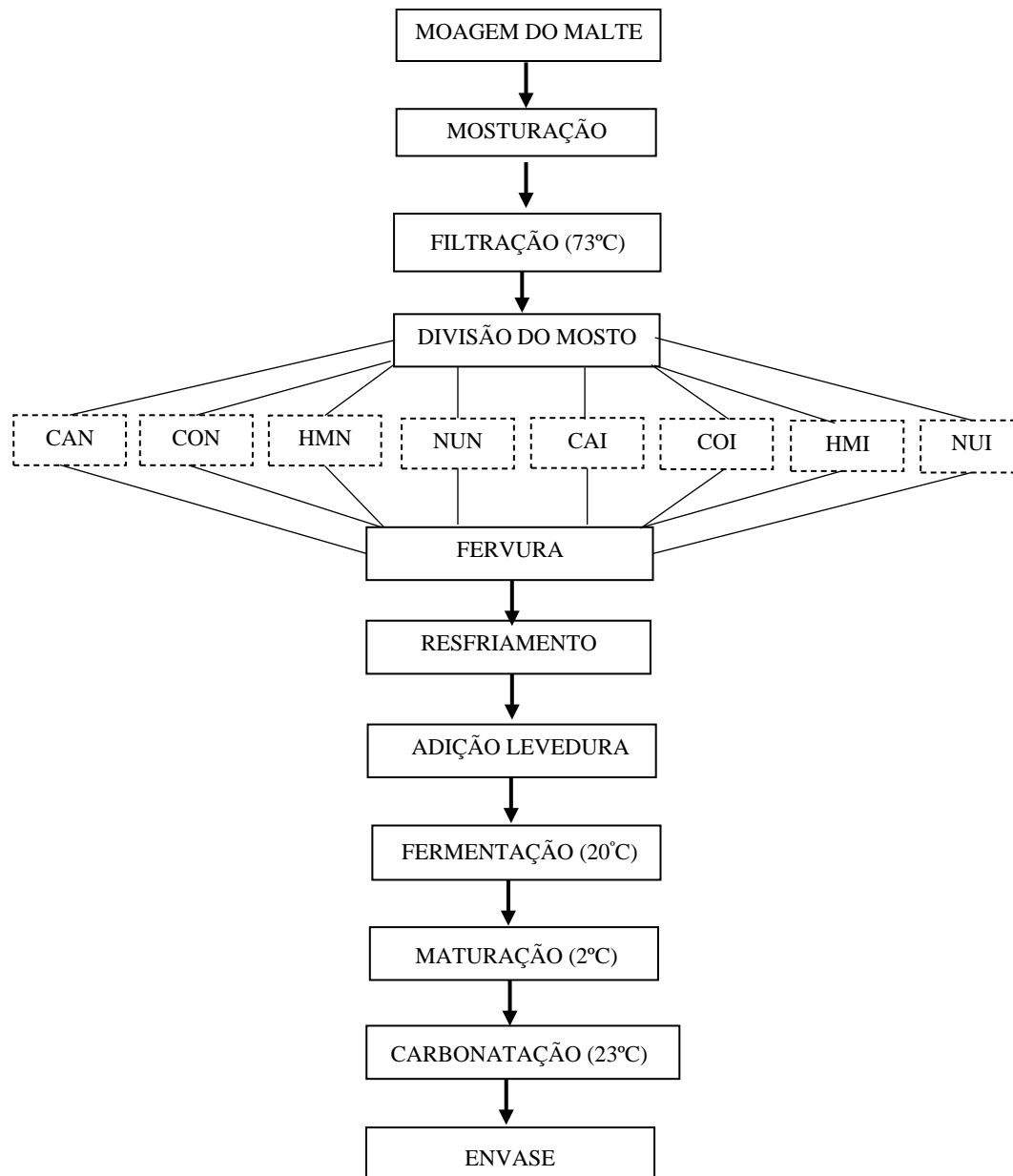
Para a elaboração das cervejas foi utilizado malte pilsen da marca Agrária, água destilada, levedura *Saccharomyces cerevisiae* de alta fermentação (Fermentis SafAle US-05) e os lúpulos nacionais e internacionais:

**Nacionais em flor:** Cascade com teor de ( $\alpha$ -ácidos de 7,9%), Columbus ( $\alpha$ -ácidos de 4,7%), Hallertau Mittelfruh ( $\alpha$ -ácidos de 6,5%) e Nugget com ( $\alpha$ -ácidos de 3,5%).

**Internacionais em pellet:** Cascade com teor de ( $\alpha$ -ácidos de 9,0%), Columbus ( $\alpha$ -ácidos de 13,0%), Hallertau Mittelfruh ( $\alpha$ -ácidos de 5,2%) e Nugget com ( $\alpha$ -ácidos de 13,8%).

As formulações foram elaboradas conforme a Figura 1. Devido ao fato das formulações serem elaboradas na forma de flor para as nacionais, e na forma de pallet para as internacionais, estas apresentam diferenças, e por isso foi preciso ser realizada a análise de BU dos lúpulos para que se soubesse exatamente a quantidade de  $\alpha$ -ácidos presentes em cada variedade, para então fazer a sua equivalência, comparando cada variedade nacional com a respectiva variedade internacional, afim de que todos ficassem com um amargor semelhante.

Figura 1: Fluxograma de processamento das cervejas com adição dos lúpulos (*Humulus lupulus L.*) nacionais e internacionais.



Fonte: Autoria própria.

As cervejas foram elaboradas em escala laboratorial, conforme Venturini Filho (2018). Os seguintes procedimentos foram seguidos para a sua elaboração: Foi realizada a pesagem da cevada malteada e moagem dos grãos, nesta etapa os grãos foram quebrados para expor o amido contido no seu interior (este serão convertidos em açúcares fermentáveis, pela ação de enzimas presentes no malte). Após esta etapa foi realizada a mosturação, na qual foi adicionada a água.

O processo de mosturação consistiu em aquecimento até 45°C seguido de incubação por 15 minutos para ativação da enzima  $\beta$ -glucanase, em seguida incubação a 55°C por 30 minutos para ativação das enzimas proteolíticas, responsáveis pela formação da espuma.

Posteriormente foi realizado um novo aquecimento até atingir 65°C seguido de incubação por 30 minutos para ativação da enzima  $\beta$ -amilase. Por fim foi realizado um novo aquecimento à 73°C seguido de repouso por 60 minutos para ativação das enzimas  $\alpha$ -amilases, responsáveis por quebrarem as ligações  $\alpha$ -1-4 do amido.

Logo em seguida foi realizada a filtração, separando-se o líquido do bagaço de malte com auxílio de uma peneira, este foi mensurado em proveta para a posterior lavagem do bagaço com água a 73°C. Nesta etapa o mosto foi fracionado para a adição dos lúpulos conforme os tratamentos utilizados (Tabela 1) . Então o mosto foi aquecido a 100°C para a lupulagem de amargor por 55 minutos, onde foram extraídas as resinas de amargor. Seguiu-se então o acréscimo de mais lúpulo para a lupulagem de aroma, faltando 5 minutos para o término da fervura. Após o resfriamento do mosto a 24°C foi inoculado a levedura (*Saccharomyces cerevisiae* – S05<sup>®</sup>) previamente ativada, seguida de uma remontagem. A fermentação foi realizada em garrafas de polietilenotereftalato (PET) de 5L , ao abrigo da luz, a 20 °C  $\pm$  2 °C.

O controle da fermentação foi monitorado diariamente através da determinação dos sólidos solúveis totais (SST). Após o seu término as cervejas foram clarificadas por trasfega.

Neste momento foi calculada a necessidade de sacarose para a fermentação secundária afim de carbonatar a cerveja. A cerveja foi então envasada, em garrafas de vidro esterilizadas de 300 mL e armazenada por 14 dias ao abrigo da luz a 23 °C, com controle de pressão de CO<sub>2</sub>. Posteriormente foram realizadas as análises físico-químicas e sensoriais.

#### **4.2.2.3 Determinação do teor de extrato real e primitivo**

A determinação do extrato real (ER) é baseada na pesagem do resíduo seco de um certo volume de amostra submetido a evaporação (IAL, 2008). O procedimento consistiu em transferir 10 mL de amostra descarbonatada, para uma cápsula previamente aquecida em estufa à 100  $\pm$  5 °C por 1 hora, resfriada em dessecador e pesada. Após, realizou-se o aquecimento da cápsula com amostra em banho-maria até a secagem, posteriormente foi levada à estufa a 100 $\pm$ 5 °C por 1 hora, resfriada a temperatura ambiente em dessecador e pesada novamente. Os valores das pesagens foram aplicados na Equação1.

$$ER = \frac{(100 \cdot P)}{V}$$

Onde: (1)  
 P: massa do resíduo, em g,  
 V: volume da amostra, em mL.  
 O ER foi expresso em %m/v.

O extrato primitivo (EP) foi obtido por meio de cálculo envolvendo os valores de teor alcoólico e extrato real segundo a fórmula de Balling (IAL, 2008). O EP foi calculado de acordo com a Equação 2.

$$EP = \frac{[(P \cdot 2,066) + Er] \cdot 100}{[100 + (P \cdot 1,06)]}$$

Onde: (2)  
 P: % de álcool em peso,  
 Er: % de extrato real, e expresso em %m/m.

#### 4.2.2.4 Determinação do teor de espuma

O procedimento para determinar o teor de espuma foi realizado com 300 mL de amostra de cerveja a  $20 \pm 2$  °C, e consistiu em verter a amostra com auxílio de um funil para uma proveta de 1 L, em fluxo constante sem encostar na parede do recipiente. O volume de espuma e líquido presentes inicialmente na proveta foram verificados, e após 15 minutos mensurou-se o volume de espuma e de líquido finais (DE CLERK, 1958). Para obtenção do valor de drenagem, expresso em porcentagem, os valores foram aplicados na Equação 3.

$$Drenagem (\%) = \frac{(\Delta Vf \cdot 100)}{\Delta Vo}$$

Onde: (3)  
 $\Delta Vf$ : volume de espuma final,  
 $\Delta Vo$ : volume de espuma inicial.

#### 4.2.2.5 Determinação do pH e da acidez total titulável (ATT)

O pH foi verificado por método potenciométrico em medidor de pH (DM 22 Digimed®), previamente calibrado com soluções tampões (Merck®) pH 4,0 e 7,0, a temperatura constante de  $20 \pm 2$  °C (AOAC, 2005). A acidez total titulável (ATT) foi determinada após titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1 N e indicador fenolftaleína até coloração rósea. Utilizou-se o volume de NaOH gasto para obter o valor de acidez total titulável em %v/v (AOAC, 2005).

#### 4.2.2.6 Determinação dos sólidos solúveis totais (SST)

Os sólidos solúveis totais (SST) foram determinados através de leitura direta em refratômetro portátil (Biobrix-Refractometro, 103), em sala climatizada a  $20 \pm 2$  °C e os valores expressos em °Brix (AOAC, 2005).

#### 4.2.2.6 Determinação de cor

A determinação da cor foi realizada de acordo com a *European Brewery Convention* (EBC, 1987). Amostras de cervejas descarboxatadas em banho ultrassônico com frequência de 40 KHz (*Ultra Sonic Clean*, modelo USC 1600) foram lidas em triplicatas em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO<sup>®</sup> 600 plus) no comprimento de onda de 430 nm, e a cor calculada de acordo com a Equação 4.

$$\text{EBC} = \text{Absorbância}_{430\text{nm}} \cdot 25 \quad (4)$$

#### 4.2.2.7 Determinação de unidades de amargor

A análise global de amargor (EBC, 1987), expressa como *Bitterness Units* (BU), foi determinada após extração com isooctano (2,2,4-trimetilpentano) em amostras de cervejas descarboxatadas, acidificadas com HCl 6N, seguido de medição espectrofotométrica (FEMTO<sup>®</sup> 600 plus) em comprimento de onda de 275 nm e calculado de acordo com a Equação 5.

$$\text{BU} = \text{Absorbância}_{275\text{nm}} \cdot 50 \quad (5)$$

#### 4.2.2.8 Compostos fenólicos totais

A concentração dos compostos fenólicos totais dos extratos dos lúpulos foi determinada pelo método de Singleton e Rossi (1965). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO<sup>®</sup> 600 plus) em comprimento de onda de 765 nm, após duas horas ao abrigo da luz. Utilizou-se como padrão o ácido gálico, para construir uma curva de calibração ( $Y = 136,2x - 4,3422$   $R^2 = 0,98$ ). Os resultados obtidos foram expressos em gramas de equivalentes de ácido gálico por litro (mg EAG L<sup>-1</sup>).

#### 4.2.2.9 Flavonoides totais

O teor de flavonoides totais foi analisado pelo método descrito por Zhishen; Mengcheng;

Jianming (1999). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO® 600 plus), em comprimento de onda de 510 nm. O teor de flavonoides foi determinado utilizando-se uma curva padrão de catequina, e os resultados determinados a partir de uma equação de regressão ( $Y = 0,0033 + 0,0103 R^2 = 0,99$ ) expressos em miligramas de equivalentes de catequina por litro (mg CAT L<sup>-1</sup>).

#### 4.2.2.10 Método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

Para a determinação da atividade antioxidante pelo método ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) pelo método de Ou; Hampsch-Woodill; Prior (2001). O radical peroxila é gerado por termo decomposição do 2,2'-azobis (2-amidiniprano) di-hidroclorato (AAPH) a 37 ° C. A capacidade de desativar o radical peroxila é medida pelo monitoramento do decaimento da fluoresceína por oxidação gerando produtos não fluorescentes. Para a curva de calibração foi utilizado o Trolox como controle positivo. A absorbância foi monitorada pelo leitor de microplacas no comprimento de onda de excitação de 485 nm e emissão de 528 nm, por um período de 2 horas ( $Y = 1806,5 x + 14,392 R^2 = 0,98$ ). O resultado final foi expresso em (µM TE 100g<sup>-1</sup>).

#### 4.2.2.11 Análise sensorial das cervejas

As formulações de cervejas com adição dos quatro lúpulos Cascade, Columbus, Hallertau Mittelfrüh e Nugget, foram avaliadas sensorialmente por meio do teste de preferência de comparação pareada, no qual determina entre duas amostras qual é a preferida pelos consumidores, as amostras foram codificadas com números contendo 3 dígitos aleatórios.

O teste sensorial consistiu em degustação das amostras, previamente preparadas em rigorosas condições higiênico-sanitárias, as quais foram servidas em recipientes transparentes, numerados com três dígitos aleatórios, refrigeradas (4 °C), em volume de 20 mL e de forma randomizada.

Para a limpeza gustativa foi fornecida água mineral e bolacha água-e-sal. A avaliação foi conduzida sob luz branca, e foi realizada em dois dias diferentes. Os julgadores foram orientados pelos pesquisadores quanto a maneira correta de degustação e após a apreciação da bebida, preencheram as fichas de teste, registrando sua opinião sobre o produto (Anexo I). Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido – TCLE para participarem da pesquisa.

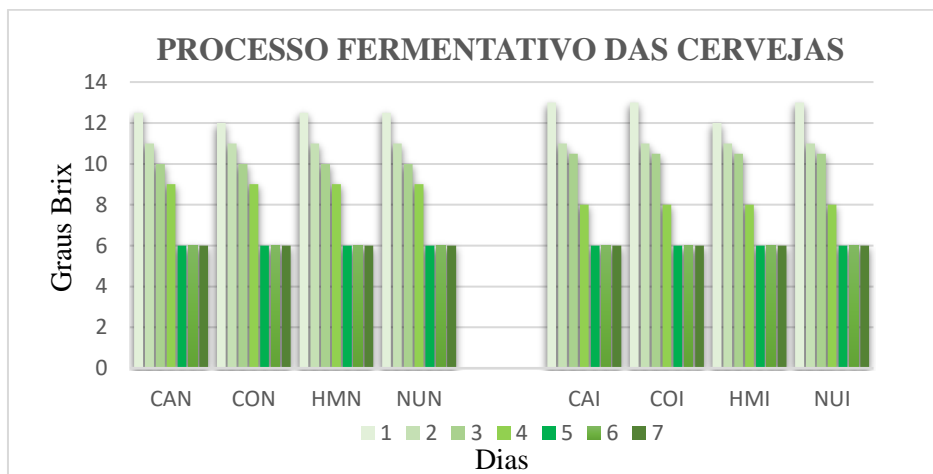
#### 4.2.2.12 Análise estatística

Os dados obtidos são apresentados como média e foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), com auxílio do software Statistica, versão 7.0 (StatSoft Inc., 1984-2004, Tulsa, EUA).

#### 4.2.3 Resultados e Discussão

Na Figura 2 pode ser observada a cinética fermentativa através dos valores de sólidos solúveis totais (SST), acompanhados durante a fermentação das cervejas elaboradas com os lúpulos nacionais e internacionais. A fermentação ocorreu por um período de 7 dias, até a estabilização dos SST.

Figura 2: Processo fermentativo das cervejas elaboradas com os lúpulos nacionais e internacionais.



CAN: Cascade Nacional; CON: Columbus Nacional; HMN: Hallertau Mittelfhur Nacional; NUN: Nugget Nacional. CAI: Cascade Internacional; COI: Columbus Internacional; HMI: Hallertau Mittelfhur Internacional; NUI: Nugget Internacional. Fonte: Aatoria própria.

Observa-se que o comportamento da fermentação nas formulações das cervejas foi semelhante, com um declínio até o 4º dia seguido da estabilização (Figura 1). Os Tratamentos CON e HMI no primeiro dia de fermentação apresentaram um valor menor de SST com 12 °Brix, o restante das cervejas iniciaram o processo com um teor de 13°Brix.

Os resultados de extrato real são apresentados na Tabela 2, variando de 4,7 a 5,7 % resultados estes referentes as cervejas HMI e CAI, respectivamente.

Tabela 2: Extrato real, Extrato primitivo, espuma e teor alcoólico em cervejas com adição dos lúpulos (*Humulus Lupulus*) nacionais e internacionais.

Variedades		Extrato Real (%m/v)	Extrato Primitivo (%m/m)	Espuma (%Drenagem)	Teor Alcoólico (%)
<b>Nacionais</b>	<b>CAN</b>	5,0 bB	12,5 bB	43,2 bB	4,1 aA
	<b>CON</b>	4,9 cB	12,3 cB	25,2 dB	4,0 aA
	<b>HMN</b>	5,5 aA	13,0 aA	44,1 aB	4,1 aA
	<b>NUN</b>	5,0 bA	12,5 bB	40,0 cB	4,1 aA
<b>Internacionais</b>	<b>CAI</b>	5,7 aA	13,1 aA	52,4 aA	4,1 aA
	<b>COI</b>	5,1 bA	12,6 bA	51,2 bA	4,1 aA
	<b>HMI</b>	4,7 cB	12,0 cB	43,2 cA	4,0 aA
	<b>NUI</b>	5,1 bA	12,6 bA	51,3 bA	4,1 aA

Os valores representam as médias. Letras minúsculas diferentes na mesma forma de apresentação e na mesma coluna diferem entre si, letras maiúsculas diferentes entre as variedades nacionais e internacionais ( $p < 0.05$ ) pelo teste Tukey. CAN: Cascade Nacional; CON: Columbus Nacional; HMN: Hallertau Mittelfhur Nacional; NUN: Nugget Nacional. CAI: Cascade Internacional; COI: Columbus Internacional; HMI: Hallertau Mittelfhur Internacional; NUI: Nugget Internacional.

Entre as variedades nacionais estudadas no presente trabalho a que apresentou o menor valor de extrato real foi a CON com 4,9 % (Tabela 2), variedade que também apresentou o maior teor de polifenóis totais com 419,6 mg EAG L<sup>-1</sup> (Tabela 4) e maior teor de flavonoides 96,3 mg CAT L<sup>-1</sup>, o que possivelmente acarretou em uma alta precipitação. Esta interação acarretou uma boa clarificação desta cerveja. Porém, esta mesma cerveja também apresentou a menor drenagem de espuma com 25,2 % (Tabela 3), propiciando assim uma alta persistência na espuma.

O tratamento que apresentou o maior valor de extrato real foi a HMN com 5,5 % (Tabela 2), variedade que também apresentou o menor teor de polifenóis totais com 393,7 mg EAG L<sup>-1</sup> (Tabela 4) e maior teor de flavonoides 72,4 mg CAT L<sup>-1</sup>, e uma baixa precipitação e consequentemente uma menor clarificação. No entanto, esta cerveja foi também a que apresentou a drenagem de espuma mais alta com 44,1 % (Tabela 3), portanto, uma baixa persistência na espuma.

Entre as variedades internacionais a que apresentou o menor valor de extrato real foi a HMI com 4,7 % (Tabela 2), variedade a qual também apresentou o maior teor de polifenóis totais com 395,1 mg EAG L<sup>-1</sup> (Tabela 4) e maior teor de flavonoides 56,3 mg CAT L<sup>-1</sup>, apresentando uma boa precipitação e consequentemente uma boa clarificação. Da mesma forma que a HMN, foi a cerveja que apresentou menor drenagem de espuma (43,2%) e, portanto, a



que apresentou a persistência de espuma mais alta (Tabela 2).

Observando o maior valor de extrato real, o tratamento CAI apresentou 5,7 % de ER, apresentando maior teor de polifenóis totais com 416,9 mg EAG L<sup>-1</sup> (Tabela 4) e também o menor teor de flavonoides 51,1 mg CAT L<sup>-1</sup> apresentando uma baixa precipitação e consequentemente uma menor clarificação. Esta mesma cerveja foi a que apresentou a maior drenagem de espuma (52,4%) (Tabela 2) e, portanto, uma baixa persistência na espuma.

Observando-se o ER, drenagem de espuma, polifenóis totais e flavonoides totais, pode-se inferir que o tipo de fenólico interfere mais na estabilidade da espuma devido à precipitação ocorrida na clarificação. Segundo os tratamentos CON, HMN, HMI e CAI, identifica-se que os flavonóides são responsáveis nestas condições pela precipitação, consequentemente melhor clarificação, maior drenagem e menor estabilidade de espuma. Na técnica para determinação de polifenóis totais quantifica-se o número de hidroxilas reagentes. Neste caso, as próprias proteínas são um possível interferente. Ressalta-se também que nos fenólicos não flavonoides há fenólicos de baixo peso molecular que possuem menor capacidade de precipitação de proteínas (DURELLO et al., 2019).

Os resultados de extrato real deste estudo são mais elevados do que os encontrados por Alves (2014) que ao analisar 4 amostras de cervejas tipo pilsen encontrou um extrato real variando entre 3,52 e 3,86 (%). As formulações das cervejas elaboradas com os lúpulos nacionais e internacionais, enquadraram-se na legislação, recebendo a classificação de cerveja extra (BRASIL, 2009).

Os tratamentos CAN e NUN apresentaram um valor de extrato primitivo de 12,5 %m/m respectivamente. Comportamento semelhante foi observado para os tratamentos COI e NUI com 12,6 %m/m respectivamente. As cervejas elaboradas com os lúpulos internacionais apresentaram valores de drenagem de espuma mais altos que as nacionais o que consequentemente acarreta cervejas com menor persistência de espuma (Tabela 2).

Quanto ao teor alcoólico (Tabela 2), o valor obtido para as cervejas dos tratamentos CON e HMI foi de 4,0%, o restante das cervejas ficaram com um teor alcoólico de 4,1%. Todas as formulações enquadraram-se dentro do padrão estabelecido pela legislação brasileira, que considera cerveja de baixo teor alcoólico (BRASIL, 2009). O menor teor alcoólico foi observado para os tratamentos CON e HMI, devido ao menor teor de SST inicial. Isto deve-se ao fato de que apresentaram uma concentração mais baixa de açúcares fermentescíveis no mosto, e a partir disto uma concentração de álcool menor ao final da fermentação. Os resultados das formulações de cerveja deste estudo estão de acordo com os encontrados por Zhao et al. (2010) que ao analisarem 34 amostras de cervejas nacionais e importadas encontraram teores

alcoólicas variando de 2,5 a 5%. Já Moura-Nunes et al. (2016) ao analisarem 29 cervejas brasileiras de 14 marcas comerciais diferentes encontraram teores alcoólicos variando de 4,0 a 6,2 %, valores estes que corroboram com o presente trabalho.

Tabela 3: Análises de pH, acidez total, sólidos solúveis totais, cor e amargor das cervejas elaboradas com os lúpulos (*Humulus Lupulus*) nacionais e internacionais.

Variedades		pH		Acidez Total (% v/v)		Sólidos Solúveis Totais (°Brix)		Cor (EBC)		Amargor (BU)	
<b>Nacionais (For)</b>	<b>CAN</b>	4,1	aA	3,9	cB	6,0	aA	17,0	bB	26,2	aB
	<b>CON</b>	4,0	Aa	4,1	bB	6,0	aA	13,5	cB	17,0	cB
	<b>HMN</b>	4,0	Aa	3,9	cA	6,0	aA	17,9	aA	22,9	bB
	<b>NUN</b>	4,0	aA	4,3	aA	6,0	aA	17,9	aA	14,7	dA
<b>Internacionais (Pallet)</b>	<b>CAI</b>	4,1	Aa	4,0	aA	6,0	aA	18,7	aA	27,1	aA
	<b>COI</b>	4,0	aA	3,7	bA	6,0	aA	18,7	aA	25,1	bA
	<b>HMI</b>	4,0	aA	3,5	cB	6,0	aA	16,5	cB	27,1	aA
	<b>NUI</b>	4,0	aA	4,0	aB	6,0	aA	18,0	bA	17,2	cA

Os valores representam as médias. Letras minúsculas diferentes na mesma forma de apresentação e na mesma coluna diferem entre si, letras maiúsculas diferentes entre as variedades nacionais e internacionais ( $p < 0,05$ ) pelo teste Tukey. CAN: Cascade Nacional; CON: Columbus Nacional; HMN: Hallertau Mittelfhur Nacional; NUN: Nugget Nacional. CAI: Cascade Internacional; COI: Columbus Internacional; HMI: Hallertau Mittelfhur Internacional; NUI: Nugget Internacional.

Observando os resultados de pH (Tabela 3), nota-se que os valores permaneceram próximos variando de 4,0 a 4,1. Os tratamentos CAN e CAI apresentaram valores maiores de pH (4,1), o restante dos tratamentos apresentaram um pH de 4,0. Os valores de pH presentes neste trabalho foram mais baixos que os descritos por Granato et. al. (2011) que variaram de 4,13 a 4,97. Já os resultados de pH encontrados por Alves (2014) ao analisar 4 amostras de cervejas tipo pilsen variaram entre 3,86 e 4,24, valores semelhantes aos encontrados neste trabalho.

Em relação aos teores de acidez total titulável (Tabela 3). O tratamento HMI apresentou a menor acidez com 3,5 % v/v, já o NUN apresentou a maior acidez com 4,3% v/v. As cervejas NUN e NUI foram as que apresentaram a maior acidez com 4,3 e 4,0% v/v, quando comparado na mesma forma de apresentação. Os tratamentos de menor acidez foram as HMN e HMI com 3,9 e 3,5 %v/v. Portanto, parece que as cultivares de lúpulo podem influenciar na acidez resultante das cervejas. Os valores de acidez presentes neste trabalho foram mais elevados que os descritos por Granato et. al. (2011) que variaram de 3,0 a 3,6 % v/v.

Os resultados da análise de cor são apresentados na Tabela 3. As cervejas apresentaram diferença significativa nos valores de EBC. De acordo com a legislação brasileira, as cervejas

podem ser classificadas quanto a cor em clara quando obterem menos de vinte EBC (BRASIL, 2009). Portanto, todas são classificadas como cervejas claras.

Os tratamentos CAN, CAI, CON e COI apresentaram diferença estatística entre eles e de modo semelhante uma tendência entre NUN e NUI, indicando que o processo de paletização pode interferir na cor acrescentando compostos pardos. Exceto o tratamento HMN no qual houve um decréscimo de cor de 17,9 para 16,5 EBC.

Porém, estes resultados sugerem que o lúpulo contribui na cor da cerveja, além do malte. Pois, quando analisado os tratamentos na mesma forma de apresentação, há diferença significativa destacando-se os tratamentos HMN e NUN (17,9 EBC) e CAI e COI com 18,7 EBC (Tabela 3). A diferença na cor entre os tratamentos pode ser explicada através da clorofila e carotenoides que são responsáveis pela cor dos vegetais. A análise de cor das cervejas estão próximos dos encontrados por Teles (2007), que ao analisar cervejas produzidas a partir de mosto concentrado lupulado encontrou valores variando entre 6,25 e 18,22 EBC.

Em relação a análise de amargor (Tabela 3), são quantificados os iso- $\alpha$ -ácidos totais presentes no lúpulo os quais são formados durante a etapa de fervura das cervejas. Durante esta etapa, os  $\alpha$ -ácidos são isomerizados com o calor, produzindo os iso- $\alpha$ -ácidos, esses compostos tem sido relacionados com a intensidade do amargor em cervejas (TECHAKRIENGRAIL et al., 2004). As cervejas elaboradas com os lúpulos conferiram diferentes teores de amargor em bebidas, variando entre 14,7 e 27,1 BU. Há uma tendência do teor de amargor mais elevado nas cervejas elaboradas com os lúpulos internacionais. Exceto os tratamentos NUN e NUI apresentaram valores mais próximos com 14,7 e 17,2 respectivamente, e não diferiram estatisticamente. As condições edafoclimáticas brasileiras parecem interferir também na produção de lupulina entre as variedades de lúpulo, pois a proporção de amargor não corresponde à proporção dos lúpulos internacionais. Deste modo, os lúpulos adaptados ao clima brasileiro possuem características distintas ao internacional e assim possivelmente caracterizam-se como lúpulos aromáticos e não de amargor. Os resultados de amargor das formulações de cerveja deste estudo estão de acordo com os encontrados por Moura; Nunes et al. (2016) ao analisarem 29 cervejas brasileiras de 14 marcas comerciais diferentes e encontraram um amargor variando de 10,3 a 35,7 (BU). Já Teles (2007) ao analisar cervejas produzidas a partir de mosto concentrado lupulado encontrou valores variando entre 4,10 a 10,25, valores bem abaixo aos encontrados no presente trabalho.

Tabela 4: Polifenóis Totais, Flavonoides Totais e ORAC nas cervejas com adição dos lúpulos (*Humulus Lupulus L.*) nacionais e internacionais.

Variedades		Polifenóis Totais (mg EAG L <sup>-1</sup> )	Flavonoides Totais (mg CAT L <sup>-1</sup> )	ORAC (µMTE L <sup>-1</sup> )
<b>Nacionais (Flor)</b>	<b>CAN</b>	403,3 cB	88,8 cA	2,19 cA
	<b>CON</b>	419,6 aA	96,3 aA	2,95 aA
	<b>HMN</b>	393,7 dB	72,4 dA	2,05 bA
	<b>NUN</b>	404,6 bB	94,1 bA	2,09 cA
<b>Internacionais (Pallet)</b>	<b>CAI</b>	416,9 aA	51,1 dB	1,77 bB
	<b>COI</b>	406,0 cB	52,6 bB	1,26 dB
	<b>HMI</b>	395,1 dA	56,3 aB	1,43 cB
	<b>NUI</b>	408,7 bA	52,3 cB	1,78 aB

Os valores representam as médias. Letras minúsculas diferentes na mesma forma de apresentação e na mesma coluna diferem entre si, letras maiúsculas diferentes entre as variedades nacionais e internacionais ( $p < 0.05$ ) pelo teste Tukey. CAN: Cascade Nacional; CON: Columbus Nacional; HMN: Hallertau Mittelfhur Nacional; NUN: Nugget Nacional. CAI: Cascade Internacional; COI: Columbus Internacional; HMI: Hallertau Mittelfhur Internacional; NUI: Nugget Internacional

Os compostos fenólicos desempenham papéis críticos tanto na estabilidade do sabor quanto na estabilidade coloidal da cerveja. Os compostos fenólicos também são geralmente considerados como uma fonte antioxidante importantes na cerveja (VANDERHAEGEN et al., 2006).

Verificou-se através da Tabela 4, para a quantificação do teor de compostos fenólicos totais que os valores das amostras variaram de 393,7 a 419,6 mg EAG L<sup>-1</sup>, sendo a cerveja de maior valor a CON, e a de menor valor a cerveja HMN. Os teores de compostos fenólicos diferiram entre as cervejas elaboradas com os lúpulos nacionais e suas correspondentes internacionais, sendo as internacionais as que se sobressaíram, com exceção da cerveja CON, como pode ser observado pela Tabela 4.

Os resultados da análise de antioxidantes pelo método ORAC (Tabela 4) apresentaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ). As cervejas desenvolvidas a partir da variedade de lúpulo Cascade apresentaram valores distintos, de CAN (2,19 µMTE L<sup>-1</sup>) para a CAI (1,77 µMTE L<sup>-1</sup>), apresentando uma diferença de 19% de antioxidantes. Já os tratamentos referentes as cervejas elaboradas com o lúpulo Columbus designadas como CON (2,95 µMTE L<sup>-1</sup>) e COI (1,26 µMTE L<sup>-1</sup>), apresentando uma diferença de 57% de antioxidantes. É possível observar que a amostra CON possui um uma capacidade antioxidante superior quando comparada as demais cervejas analisadas neste presente estudo. Correlacionando-se ao alto teor de polifenóis totais (419,6 mg EAG L<sup>-1</sup>) e flavonoides totais (96,3 mg CAT L<sup>-1</sup>).

As cervejas elaboradas com a variedade de lúpulo Hallertau Mittelfruh, apresentaram as

menores capacidades antioxidantes, sendo o tratamento HMN ( $2,05 \mu\text{MTE L}^{-1}$ ) para e HMI ( $1,43 \mu\text{MTE L}^{-1}$ ), exibindo uma diferença de 30% na capacidade antioxidante. Não foram encontrados dados na literatura referentes a atividade antioxidante determinada pela técnica de ORAC para cervejas. No entanto, o poder antioxidante observado possivelmente está relacionado ao teor de flavonoides totais. Pois, as cervejas elaboradas com lúpulos nacionais possuem maior poder antioxidante do que os internacionais assim como as cervejas nacionais têm maior teor de flavonoides totais. Em contrapartida, esta correlação não é observada quanto ao teor de compostos fenólicos totais (Tabela 4).

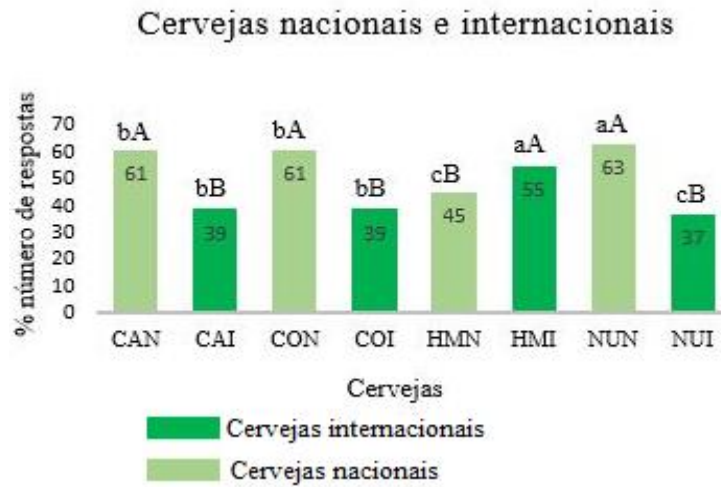
A análise sensorial realizada nesse estudo foi conduzida com o intuito de verificar a preferência dos provadores frente às características gerais das cervejas produzidas com os lúpulos brasileiros. As cervejas foram apresentadas para o teste sensorial aos julgadores, os mesmos foram orientados pelos pesquisadores quanto a maneira correta de degustação e também como deveriam preencher as fichas do teste, registrando sua opinião sobre o produto.

O painel de provadores do teste afetivo de preferência por comparação pareada contou com a presença de 100 participantes não treinados. Houve um predomínio de provadores do gênero feminino (70%), e os provadores em sua maioria apresentaram-se na faixa etária compreendida entre 19 e 30 anos.

Os dados referentes ao teste são apresentados pela Figura 3 que mostra o número de respostas obtidas para as formulações das cervejas. Conforme Ferreira et al., (2000) o número de resposta mínimo para estabelecer preferência ao nível de significância de 5%, utilizando 100 provadores, é de 61. As cervejas elaboradas com os lúpulos nacionais apresentaram de um modo geral, uma preferência quando comparadas as internacionais.

De acordo com o número de respostas obtidas (Figura 3), as cervejas CAN, CON e NUN foram preferidas quando comparadas as suas correspondentes internacionais, apresentando diferenças significativas ao nível de significância de 5%. Entre as cervejas produzidas com lúpulos nacionais a cerveja com lúpulo Nugget foi a preferida seguida das cervejas elaboradas com lúpulo Cascade e Columbus. Apenas a cerveja com o lúpulo nacional Hallertau Mittlefur não foi preferida, sendo escolhida por apenas 45 provadores.

Figura 3: Resultado da análise sensorial do teste afetivo de preferência por comparação pareada das cervejas elaboradas com os lúpulos nacionais e internacionais.



Letras minúsculas diferentes entre as cervejas nacionais e internacionais apresentam diferença significativa; Letras maiúsculas diferentes entre as cervejas nacionais e internacionais apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%. Número de provadores: 100.

CAN: Cascade Nacional; CON: Columbus Nacional; HMN: Hallertau Mittelfhur Nacional; NUN: Nugget Nacional. CAI: Cascade Internacional; COI: Columbus Internacional; HMI: Hallertau Mittelfhur Internacional; NUI: Nugget Internacional.

Os comentários nas fichas de avaliação sensorial indicam que os provadores julgaram a cerveja elaborada com o lúpulo Cascade Nacional e atribuíram a ela notas cítricas, herbáceas e refrescantes. Estes comentários corroboram com as características da variedade Cascade presentes no comércio. A cerveja CON foi julgada como a mais agradável ao paladar, mais leve, além de possuir uma persistência maior na espuma e apresentar também características como amadeirada e de especiarias. Para a amostra COI foram atribuídas as características mais fortes e amargor mais acentuado. A cerveja HMN recebeu elogios como notas florais, cítricas além de refrescante. Por outro lado, a cerveja HMI foi atribuída como levemente mais amarga. A cerveja NUN apresentou um amargor mais elevado, com notas herbáceas e com uma alta refrescância, o que corrobora com as características dessa variedade de lúpulo encontrada no comércio. Porém, a cerveja NUI demonstrou ser mais aromática.

De uma maneira geral, as cervejas nacionais apresentaram um amargor menos acentuado do que as internacionais, como pode ser visto através da análise de amargor (Tabela 3). Esta diferença pode ter afetado sensorialmente o sabor, especialmente sobre o amargor das cervejas analisadas. O alto amargor das cervejas com lúpulos internacionais pode ter conduzindo os provadores optar pelas cervejas nacionais por possuírem um amargor menos acentuado.

#### 4.2.4 Conclusão

As cervejas com adição de lúpulos nacionais e internacionais apresentam valores que se enquadram com a legislação brasileira.

Os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais demonstram que as cervejas elaboradas com os lúpulos brasileiros são capazes de apresentar teores significativos desses compostos. E os flavonoides contribuem para a elevada capacidade antioxidante.

As cervejas produzidas com lúpulos nacionais são bem aceitas destacando-se o Nugget seguido do Cascade e Columbus. Portanto, os lúpulos brasileiros podem produzir cervejas de ótima qualidade, sendo assim as escolhidas pelos provadores.

A elaboração de cervejas com adição dos lúpulos brasileiros constitui uma nova proposta para a indústria cervejeira e mostra-se de qualidade.

#### 4.2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, F. Análise físico-química de cervejas tipo pilsen comercializadas em Campina Grande na Paraíba. **Universidade Estadual Da Paraíba Campus I Centro De Ciências E Tecnologias Departamento De Química Curso De Química Industrial** 2014.

AOAC, Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 18 th ed., supplement 1998. Washington: AOAC, 1018p. 2005

CERVBRASIL. Associação Brasileira da Indústria da Cerveja. **Anuário 2019**. Disponível em: [http://www.cervbrasil.org.br/novo\\_site/wp-content/uploads/2020/03/anuario-cerveja-WEB.pdf](http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/wp-content/uploads/2020/03/anuario-cerveja-WEB.pdf). Acesso em 10 fev. 2020.

DE CLERK, J. Analysis of beer. In: BRODERICK, H. M. (Ed.). **A textbook of brewing**. London: Chapman & Hall, 1958. Cap. 11, p. 426-514.

EBC, European Brewery Convention. **Analytica EBC**. 4th ed. Zürich: Bräueri-und Getränke-rundschau, 498p, 1987.

ESTEVINHO, L.M., **Leveduras e fermentações: O caso da cerveja**. Bragança: Livro de Atas. 2015. Disponível em: <https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/11625/3/LivroDeActas.pdf>. Acesso em: 29/07/2019.

FERREIRA, V. L. P. et al. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas: SBCTA, 2000. 127p. (Manual – Série Qualidade).

GRASSI, S.; AMIGO, J.M.; LYNDGAARD, C.B.; FOSCHINO, R.; CASIRAGHI, E. Beer fermentation: Monitoring of process parameters by FT-NIR and multivariate data analysis. **Food Chemistry**, v.55, p. 279-286, 2014.

IAL – INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos**. 4. ed. São Paulo: IAL, 1020p.. Versão eletrônica, 2008.

MOURA-NUNES, N.; BRITO, T. C.; FONSECA, N. D. DA; et al. Phenolic compounds of Brazilian beers from different types and styles and application of chemometrics for modeling antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 199, p. 105–113, 2016.

OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R.L. Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. **J. Agric. Food Chem.** 2001, 49, 4619-4626.

PIRES, E.J.; TEIXEIRA, J.A.; BRÁYIK, T.; VICENTE, A.A. Yeast: the soul of beer's aroma—a review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast. **Appl Microbiol Biotechnol**, v 98, p. 1937–1949, 2014.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

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.

TELES, J. A. Faculdade de Engenharia de Alimentos ESTUDO DA PRODUÇÃO DE MOSTO



CONCENTRADO LUPULADO A PARTIR DE EXTRATO DE MALTE. , 2007.

VANDERHAEGEN, B., NEVEN, H., VERACHTERT, H. E DERDELINCKX, G. (2006). A química do envelhecimento da cerveja - Uma revisão crítica. **Food Chemistry**, 95, 357-381.

VENTURINI FILHO, W. G; CEREDA, M. P. Hidrolisado de fécula de mandioca como adjunto de malte na fabricação de cerveja: avaliação química e sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 2, p. 156-161, 1998.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555-559, 1999.

## 5. DISCUSSÃO GERAL

Nesta pesquisa, inicialmente estudou-se, a composição físico-química de variedades distintas de lúpulos adaptados ao solo brasileiro. Adicionalmente foram analisados os lúpulos internacionais paletizados das mesmas variedades. Posteriormente tanto os lúpulos nacionais quanto os internacionais foram aplicados na elaboração de cervejas tanto na lupulagem de amargor quanto na lupulagem de aroma. As análises físico-químicas realizadas nos lúpulos foram umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e amargor. Foram elaborados extratos hidroalcoólicos e neles foi analisado teor de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e capacidade antioxidante. Por último, foi realizada uma análise sensorial afim de caracterizar os lúpulos brasileiros.

Os extratos hidroalcoólicos elaborados com os lúpulos nacionais apresentaram teores relevantes de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, assim como alta capacidade antioxidante. Estes foram capazes de contribuir significativamente para a composição fenólica e capacidade antioxidante das cervejas. Através da análise sensorial, foi possível caracterizar os lúpulos identificando características próprias de aroma (Artigo 1).

Em um segundo momento, estudou-se as cervejas produzidas com estes lúpulos através das análises de extrato real, extrato primitivo, drenagem de espuma, teor alcoólico, pH, acidez total, sólidos solúveis totais, cor e amargor. Para avaliar características fitoquímicas foi analisado o teor de polifenóis totais, flavonoides totais e capacidade antioxidante. Por último, foi realizada uma análise sensorial afim de determinar entre as oito formulações de cervejas tanto nacionais quanto internacionais em relação à preferência pelos consumidores. Todas as cervejas enquadraram-se dentro da legislação e apresentaram teores relevantes de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, assim como alta capacidade antioxidante. Já através da análise sensorial foi possível concluir que as cervejas elaboradas com os lúpulos nacionais foram preferidas quando comparadas com as suas correspondentes internacionais, com exceção da variedade Hallertau Mittelfhur.

Comparando os resultados dos teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais, dos lúpulos, (Artigo 1 – Tabela 4), com os resultados das cervejas (Artigo 2 – Tabela 4) constata-se que tanto o lúpulo da variedade Columbus nacional quanto a cerveja com este mesmo lúpulo em flor apresentaram teores de compostos fenólicos mais elevados que o restante das amostras. Este comportamento está relacionado com a capacidade antioxidante pelo método ORAC que também se destacou. Está elevada capacidade antioxidante nos lúpulos foi

observada tanto na safra de 2018 quanto na safra 2019 e conseqüentemente a cerveja CON foi a que apresentou a maior capacidade antioxidante. Desta forma, pode-se inferir que esta cultivar destaca-se na contribuição de fitoquímicos para cerveja.

Comparando os resultados do amargor dos lúpulos nacionais (Artigo 1 – Tabela 3), com os resultados das cervejas (Artigo 2 – Tabela 3) é possível constatar que o lúpulo e a cerveja seguem um comportamento semelhante, sendo diretamente proporcional quanto ao amargo no lúpulo e na cerveja.

Na análise sensorial, os julgadores foram capazes de diferenciar e caracterizar as amostras de lúpulo, quanto ao seu aroma através do teste CATA (Artigo 1 – Figura 1) bem como escolher a cerveja preferida entre as diferentes formulações de cerveja nacionais e internacionais através do teste de comparação pareada (Artigo 2 – Figura 3).

No teste CATA (Artigo 1 – Figura 1) foi possível caracterizar os lúpulos nacionais. Ao lúpulo Cascade foi atribuído notas herbáceas, amadeiradas e de especiarias. Já a variedade Columbus notas de especiarias, amadeirado, chá e herbáceo. O lúpulo Hallertau Mittelfruh apresentou aromas amadeirado, herbáceo, cítrico, floral, chá e tabaco. Por fim, a variedade Nugget atribuiu-se notas herbáceas, amadeiradas e picante. Estas características foram parcialmente transmitidas à cerveja, já que comentários dos provadores na avaliação sensorial (Artigo 2) julgaram a cerveja CAN como possuidora de notas cítricas, herbáceas e refrescantes.

Já o lúpulo Columbus nacional foi caracterizado sensorialmente com notas de especiarias, amadeirado, chá e herbáceo (Artigo 1). Estas notas também foram expressas na cerveja CON (Artigo 2) que foi relatada como a mais agradável ao paladar, mais leve e possuidora de notas amadeiradas e de especiarias. Esta mesma cerveja que apresentou a maior persistência na espuma (Artigo 2 – Tabela 2), sendo observado pelos provadores em seus comentários. Já para a cerveja COI, foi atribuída a característica mais forte e de amargor mais acentuado (Artigo 2).

Através do teste CATA foi possível caracterizar o lúpulo Hallertau Mittelfruh com atributos de aromas amadeirado, herbáceo, cítrico, floral, chá e tabaco (Artigo 1 – Figura 1). Estas características corroboram com os comentários nas fichas de avaliação sensorial (Artigo 2) nas quais indicam que os provadores julgaram a cerveja HMN como possuidora de notas florais e cítricas. Já a cerveja HMI foi atribuída como levemente mais amarga.

Ao lúpulo Nugget nacional foi atribuído notas herbáceas, amadeiradas e picantes (Artigo 1 – Figura 1). Tais características foram também observadas na cerveja NUN, que foi descrita como detentora de notas herbáceas e alta refrescância. Já para a amostra de cerveja NUI foi atribuída a característica mais aromática e menos amarga do que NUN (Artigo 2).

Na análise sensorial de preferência por comparação pareada presente no Artigo 2 (Figura 3), as cervejas CAN, CON e NUN foram as preferidas quando comparadas as suas correspondentes internacionais, com exceção das cervejas elaboradas com o lúpulo Hallertau Mittelfruh nacional, pois para esta variedade a preferida foi a HMI.

De uma maneira geral, as cervejas nacionais apresentaram um amargor menos acentuado do que as internacionais, como pode ser visto através da análise de amargor (Artigo 2 – Tabela 3). Esta diferença do amargor pode ter afetado sensorialmente a preferência dos provadores. Desse modo, os provadores optaram pelas cervejas nacionais devido ao fato de possuírem um amargor menos acentuado que as internacionais. Possivelmente, os consumidores brasileiros preferem cervejas leves, refrescantes e menos amargas. Sendo necessário mais estudos para elucidar tais preferências.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os diferentes tipos de lúpulos analisados a partir da elaboração de extratos hidroalcoólicos demonstram ser importante fonte de compostos fenólicos totais e flavonoides totais. Portanto, possuem elevada capacidade antioxidante, sendo capazes de contribuir significativamente para a composição fenólica e capacidade antioxidante das cervejas. A produção nas condições edafoclimáticas do sul do Brasil interferem na composição fitoquímica e são dependentes da insolação e precipitação.

A cinética fermentativa das cervejas não é alterada pela presença de lúpulos nacionais. Porém, os lúpulos nacionais podem alterar o extrato real sendo elevado na presença dos lúpulos Nugget e Hallertau Mittelfhur, assim como o extrato primitivo é mais elevado na presença do lúpulo Hallertau Mittelfhur. A acidez é maior na presença dos lúpulos Cascade e Columbus. Todos os lúpulos nacionais conferem uma cor mais clara, menor amargor e maior estabilidade de espuma.

Há diferença sensorial característica entre os lúpulos nacionais, todos apresentando notas mais herbáceas do que amadeiradas. Notas cítricas no lúpulo Hallertau Mittelfhur e especiarias no lúpulo Columbus. As cervejas com lúpulos nacionais são preferidas quando comparadas às cervejas com os lúpulos internacionais.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abram, V. et al. (2015). **A comparison of antioxidant and antimicrobial activity between hopleaves and hop cones.** *Industrial Crops and Products*, vol. 64, p. 124 – 134.

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.

AQUARONE, et al. **Biotecnologia Industrial** – São Paulo. Editora Bucher, 2001, volume 4.

ARON, P, M. SHELLHAMMER, T, H. A Discussion of Polyphenols in Beer Physical and Flavour Stability. **Journal Institute of Brewing**, 116, 369 – 380, 2010.

BRASIL. Decreto n. 6.871 de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, 4 jun. 2009.

Bamforth, W. C.; *Beer is Proof God Loves Us*, 1sted., FT Press: UpperSaddle River, 2010.

Palmer, J.; *How to brew: everything you need to know to brew great beer every time*, 4th ed., Brewers Publications, 2017

Baxter, E. D.; Hughes, P. S.; *Beer: quality, safety and nutritional aspects*, 1sted., RSC Paperbacks: Cambridge, 2001.

BERNOTIENĖ, Genovaitė.; NIVINSKIENĖ, Ona.; BUTKIENĖ, Rita; MOCKUTĖ, Danutė. **Chemical composition of essential oils of hops ( *Humulus lupulus* L .)** growing wild in Aukštaitija. *Chemija*, Vilnius, n.2, p. 31-36, 2004.

BREWHOUSE. **Brewhouse, insumos cervejeiros, 2017** Disponível em:<https://www.brewhouseinsumos.com.br/lúpulos>. Acesso em: 04/10/2018.

BRIGGS, D.E; BOULTON, C.A; BROOKES, P.A; STEVENS, R. **Brewing: science and practice. England: CRC Press**, 2004.

BOULTON, C.; QUAIN, D. *Brewing yeast and fermentation*. vol.1. EUA: **Wiley Blackwell**, p.19- 60, 2008

Bocquet L.; Sahpaz, S.; Hilbert, J. L.; Rambaud C.; Riviere, C.; *Phytochem. Rev.* 2018, 17, 1047

BRUNELLI, L. T. **Produção de cerveja com mel: características físico-químicas, energética e sensorial**. 2012. Dissertação (Mestrado em Agronomia)– Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Botucatu, 2012.

CANBAŞ, A; ERTEN, H.; ÖZŞAHİN, F. **The effects of storage temperature on the chemical composition of hop pellets**. *Process Biochemistry*, Adana, v. 36, n. 11, p. 1053–1058, 2001

CERVBRASIL. **Associação Brasileira da Indústria de Cerveja**. 2017. Disponível em: [http://cervbrasil.org.br/arquivos/informes/161212-InformeCervBrasil\\_Dezembro\\_WEB.pdf](http://cervbrasil.org.br/arquivos/informes/161212-InformeCervBrasil_Dezembro_WEB.pdf) > Acesso em: 27 agosto. 2018.

SINDICERV. **O setor cervejeiro em números**. 2019. Disponível em: <https://www.sindicerv.com.br/o-setor-em-numeros/>. Acesso em: 28 junho. 2020.

CERVBRASIL. Associação Brasileira da Indústria da Cerveja. **Anuário 2014**. Disponível em: <<http://cervbrasil.org.br/arquivos/anuariofinal2019.pdf.%20Acesso%20em%2019-12-2019>>. Acesso em 18 mar. 2019.

CONDADO DA CERVEJA. **Lúpulo o Tempero da Cerveja**. 2014. Disponível em: Acesso em: 02 junho. 2018.

Duke, J. A. (1983). *Humulus lupulus L. Handbook of energy crop ECONOMIC COMMISSION SUMMARY REPORTS. International hop growers convention*. Paris: IHGC, 2016.

DURELLO, R. S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ, S. **Quim. Nova.**, v. 42, n. 8, p. 900–919, 2019.

Disponível em : <http://www.scielo.br/pdf/qn/v42n8/0100-4042-qn-42-08-0900.pdf> .Acesso em: 23/03/2020.

ECONOMIC COMMISSION SUMMARY REPORTS. **International hop growers convention. Paris: IHGC, 2016.**

ESTRUCH, R. et al. Bases científicas de los efectos beneficiosos del consumo moderado de cerveza em el sistema cardiovascular. **Cerveza y Salud**, n. 22, p. 1-64, 2015.

EVANGELISTA, R. R. Análise do processo de fabricação industrial de cerveja. São Paulo, Título de graduação, **Fatec Araçatuba**, 2012, 50 p. Acesso em: 23/03/2020.

FAO (2015). FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Itália.** Disponível em: [http:// faostat3.fao.org](http://faostat3.fao.org). Acesso em:01/10/2018.

FARAG, Mohamed. A.; WESSJOHANN, Ludger. A. **Cytotoxic effect of commercial Humulus lupulus L. (hop) preparations – In comparison to its metabolomic fingerprint.** Journal of Advanced Research, Cairo, v. 4, n. 4, p. 417–421, 2012.

FREITAS, G. L. et al. Avaliação da atividade antioxidante de diferentes cervejas aplicando os métodos ABTS e DPPH\*. **Alimentos e Nutrição**, v.17, n.3, p.303 307, jul./set. 2006.

FOX GP et al. (2002) disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/j.2050-0416.2002.tb00534.x> . Acesso em: 23/03/2020.

GAMA, Erasto Viana Silva. Biomassa, Óleo Essencial e Nutrição de Lippia alba (Mill) N.E.Br. em Função da Adubação com Compostos Orgânicos Inoculados e sem Inoculação de Actinomicetos. 2011. 92 f. **Dissertação - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas**, 2011.

GARCÍA, A. A., GRANDE, B. C., GÁNDARA, J. S. Development of a rapid method based on solid-phase extraction and liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection for the determination of polyphenols in alcohol-free beers. **Journal of Chromatography A**, v.1054, p.175-180, 2004.



GRANATO, D.; NUNES, S.D. **Análises Químicas, Propriedades Funcionais e Controle de Qualidade de Alimentos e Bebidas**: 1 ed. Editora:Elsevier,2016.

GERHÄUSER, C. (2005). Beer constituents as potential cancer chemopreventive agents. **European Journal of Cancer**, 41(13), 1941-1954.

GRUPTAMETAL (2010) Disponível em:  
<http://arrow.dit.ie/cgi/viewcontent.cgi?article=1036&context=schfsehart>.

HEALE J. B., LEGG T., BRAR J., FABB A., BAINBRIDGE B.(1989) Application of plant tissue culture and molecular biology techniques to “progressive” wilt of hops caused by *Verticillium albo-atrum*. **Eur. Brew. Conv. Monogr., XV, Symposium on Plant Biotechnology, Helsinki**, 70:83.

HEGGART, H. et al. Measurement of brewing yeast viability and vitality: a review of methods. **Technical Quarterly – Master Brewers Association of America**, vol 37, p. 409–430, 2000.

JANDERA, P. Methods for HPLC analysis of phenolics compounds and flavonoids in beer. In: Preddy, V. R. (org.) **Beer in Health and Disease Prevention**. : Elsevier, 1003-1014, 2009.

KEUKELEIRE, D. D. Fundamentals of beer and hop chemistry. *Química Nova*. v. 23, n.1, p.108-112, 2000.

KRALJ, D.; ZUPANEC, J; VASILJ, D.; KRALJ, S.; PŠENIČNIK, J.Variability of Essential Oils of Hops, *Humulus lupulus L.***Journal of the Institute of Brewing, Zalec** v. 97, p. 197–206, 1991.

KROFTA, K.; MIKYŠKA, A.; HAŠKOVÁ, D.; BREW, J. I. Antioxidant Characteristics of Hops and Hop Products. , v. 114, n. 2, p. 160–166.

KRPAN, V. Z.; KOSIR, I. J.; CERENAK, A. Importance of Medical Effects of Xanthohumol , Hop ( *Humulus lupulus L.* ) Bioflavonoid in Restructuring of World Hop Industry. , , n. January, 2012.

Kroft a K., Nesvadba V., Patzak J. (1998). Utilization of wild hops for extention of genetic sources for breeding. *Rostlinna Vyroba* 44: 313-320.

KUNZE.W. TECNOLOGIA PARA CERVEJEIROS E MALTEIROS, 2006.

LOPES, M. B.; SILVA, T. M. B. Teste de sensibilidade in vitro aos antibióticos do processo de fermentação de uma usina sucroalcooleira no interior do Paraná. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente, Maringá**, v.4, n.3, p. 445-465, set/dez. 2011.

MORAIS.J.S.Jornadas de lúpulo e cerveja- Novas oportunidades de negocio.O Lúpulo: Cultivares e Extrato, Unidade de Química Analítica – **Instituto Politécnico de Bragança** Julho, 2015.

NATIONAL HOP ASSOCIATION OF ENGLAND (2001 a). **What is a Hop**. www.hops.co.uk/sectionone/what is a hop.htm.

NEVE, R. A.; HOPS, 1st ed., Springer: London, 2001.

OETTERER, M. et al. Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos, ed. 1, São Paulo: Manole, p.1-94, 2006.

OLIVEIRA, N. A. M. Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja. Minas Gerais, Programa de pós-graduação, UFMG, 2011. 44 p.

PELTONEN J ET AL. (1994)disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-5223.1994.00231.x>. Acesso em: 23/03/2020.

RODRIGUES, M.A.; MORAIS, J. S.; CASTRO, J. P. M. Jornada de lúpulo e cerveja: novas oportunidades de negócios. **Bragança: Livro de Atas**. 2015.

SARNIGHAUSEN.P.; SARNIGHAUSEN V. C. R.; ALEXANDRE D. P.O lúpulo e a oportunidade do agronegócio no brasil, 2017.

SILVA, P. H. A.; FARIA, F. C. Avaliação da intensidade de amargor e do seu princípio ativo

em cervejas de diferentes características e marcas comerciais. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Campinas**, v. 28, n. 4, p. 902-906, out.-dez. 2008.

SILVA, D. P. Produção e avaliação sensorial de cerveja obtida a partir de mostos com elevadas concentrações de açúcares. São Paulo, FAENQUIL, 2005. **Tese de doutorado**, 175 p. Acesso em: 23/03/2020.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R., Farmacognosia: da Planta ao medicamento, PortoAlegre/Florianópolis **Editora da UFRGS/Editora da UFSC**, 2000.

T.L. A cultura do lúpulo. Universidade de São Paulo - USP Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, 2019. Disponível em: [file:///C:/Users/tatia/Downloads/SPR68%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/tatia/Downloads/SPR68%20(1).pdf).

SPOSITO, Marcel Bellato; ISMAEL, Rodrigo Veraldi; BARBOSA, Caio Morais de Alcântara; TAGLIAFERRO, André Luiz. A cultura do lúpulo. [S.l: s.n.], 2019.

VENTURINI FILHO, W. G., coordenador. Bebidas **alcoólicas**: Ciência e tecnologia – 2 ed. – São Paulo. Editora Blucher, 2018, volume 1.

YCHHOPS. Fornecedor de lúpulo e seus produtos,2017. Disponível em: <<https://ychhops.com/>> Acesso em: 04/10/2018.

**ANEXOS****ANEXO I (Artigo 1)****ANEXO I – FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL UTILIZADA PARA O TESTE CATA.****TESTE SENSORIAL**

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Código \_\_\_\_\_ Por favor, avalie a amostra codificada e dentre as características sensoriais citadas abaixo, assinale aquela(s) que melhor descreve(m) esse produto em sua opinião. Marque quantas opções julgar necessárias

AMADEIRADO

OXIDADO/RANCIDEZ

PICANTE

CITRICO

HERBÀCEO

MENTOL

FRUTADO

ESPECIARIAS

SULFUROSO

FLORAL

FRUTAS VERMELHAS

FRUTAS DOCES

CHÁ

TABACO

CARAMELO

VERDE

OUTROS

Se a sua resposta for OUTROS ou se você identificou algum outro aroma descreva nos comentários.

Comentários: \_\_\_\_\_

**ANEXO I (Artigo 2)****ANEXO I – FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL UTILIZADA PARA O TESTE AFETIVO DE PREFERÊNCIA POR COMPARAÇÃO PAREADA.**

## Ficha de Avaliação

Nome(opcional): \_\_\_\_\_

Data: \_\_/\_\_/\_\_

Gênero: ( ) F ( ) M

Idade: \_\_ anos

Por favor, prove as amostras de cerveja da esquerda para a direita, circule o código da amostra de sua preferência. Entre a avaliação das amostras enxágue a boca com água e espere 30 segundos.

125

164

Comentários: \_\_\_\_\_