

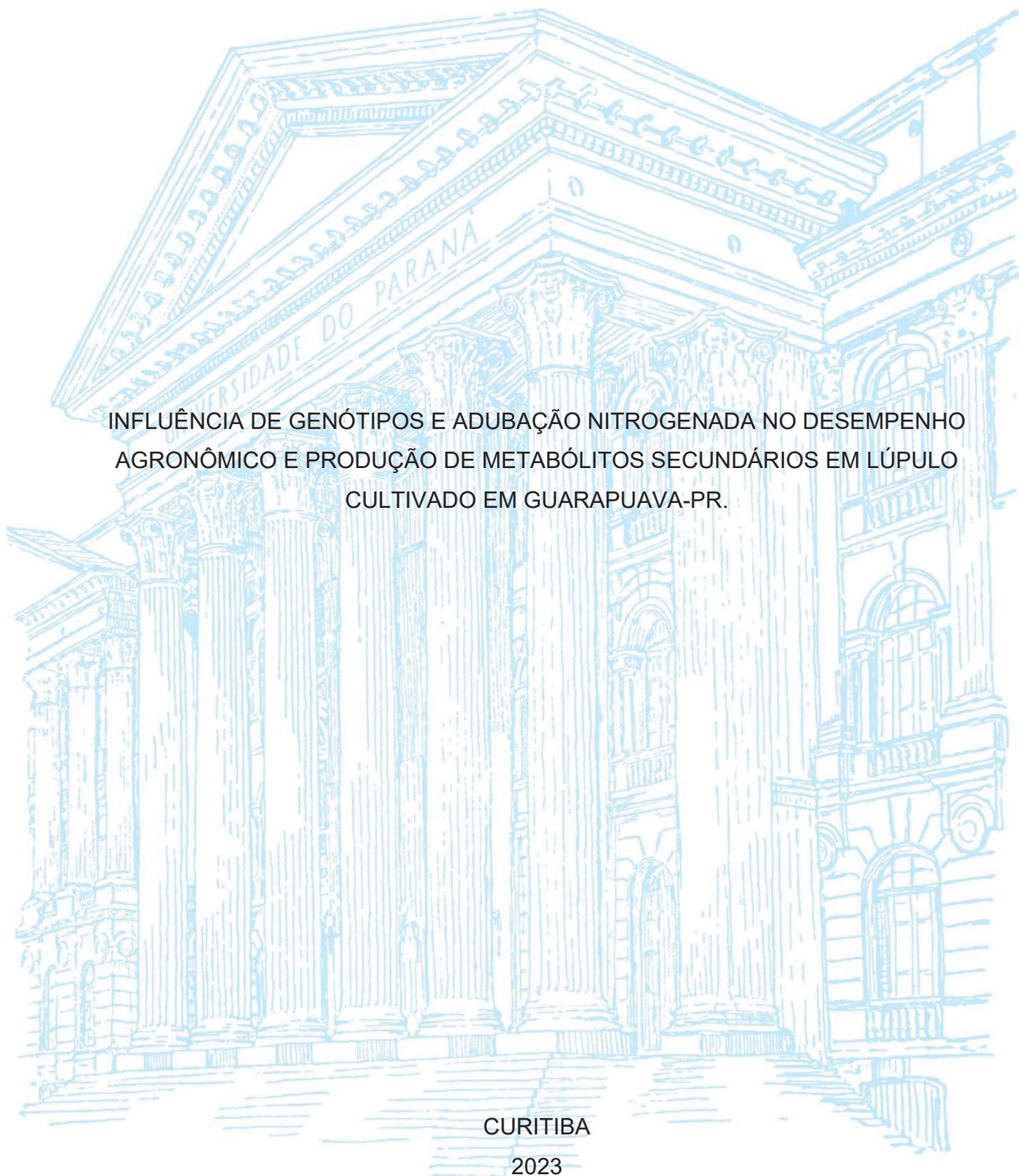
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

FRANK SILVANO LAGOS

INFLUÊNCIA DE GENÓTIPOS E ADUBAÇÃO NITROGENADA NO DESEMPENHO  
AGRONÔMICO E PRODUÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS EM LÚPULO  
CULTIVADO EM GUARAPUAVA-PR.

CURITIBA

2023



FRANK SILVANO LAGOS

INFLUÊNCIA DE GENÓTIPOS E ADUBAÇÃO NITROGENADA NO DESEMPENHO  
AGRONÔMICO E PRODUÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS EM LÚPULO  
CULTIVADO EM GUARAPUAVA-PR.

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Cícero Deschamps  
Coorientadora: Prof.(a). Dra. Katia Christina Zuffellato-Ribas

CURITIBA-PR

2023

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Lagos, Frank Silvano

Influência de genótipos e adubação nitrogenada no desempenho agrônomo e produção de metabólitos secundários em lúpulo cultivado em Guarapuava - PR / Frank Silvano Lagos. – Curitiba, 2023.

1 recurso online: PDF.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal).

Orientador: Prof. Dr. Cícero Deschamps

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Katia Christina Zuffellato-Ribas

1. Essências e óleos essenciais. 2. Humus. 3. Adubação. 4. Cerveja. 5. Flavonoides. I. Deschamps, Cícero. II. Zuffellato-Ribas, Katia Chistina. III. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal). IV. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AGRONOMIA  
(PRODUÇÃO VEGETAL) - 40001016031P6

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **FRANK SILVANO LAGOS** intitulada: **INFLUÊNCIA DE GENÓTIPOS E ADUBAÇÃO NITROGENADA NO DESEMPENHO AGRÔNOMICO E PRODUÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS EM LÚPULO CULTIVADO EM GUARAPUAVA-PR**, sob orientação do Prof. Dr. CICERO DESCHAMPS, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 31 de Julho de 2023.

Assinatura Eletrônica  
01/08/2023 10:40:42.0  
CICERO DESCHAMPS

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica  
02/08/2023 10:22:45.0  
VOLNEI PAULETTI

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica  
01/08/2023 10:02:13.0  
LUIZ ANTONIO BIASI

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica  
03/08/2023 07:03:41.0  
LETRÍCIA BARBOSA PEREIRA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA)

Rua dos Funcionários, 1540 - CURITIBA - Paraná - Brasil  
CEP 80035-050 - Tel: (41) 3350-5601 - E-mail: [pgapv@ufpr.br](mailto:pgapv@ufpr.br)

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.  
Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 302170

**Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://siga.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaocassinaturas.jsp> e insira o código 302170**

Aos meus tesouros:

Marcia, Gabriela e Victor.

## **AGRADECIMENTOS**

A minha esposa Marcia, cujo apoio e suporte foi condição sine qua non para que fosse possível concluir essa jornada.

Aos meus filhos, Victor e Gabriela que compreenderam os momentos de ausência e saudades.

Aos meus pais, irmãos e demais familiares que acreditaram em mim e me incentivaram ao longo de minha vida.

A todos os amigos que sempre estiveram ao meu lado, pela amizade e momentos de desconcentração e irmandade.

Aos amigos e colegas de IFPR, em especial Jessé, Silvia e Mariana pela contribuição e apoio na execução das atividades de pesquisa.

Ao professor Cícero, por ter exercido a função de orientador com maestria, dedicação e amizade.

A professora Kátia que me adotou como coorientadora, seu suporte e amizade foi fundamental para o processo.

A professora Letricia da USC, que me acolheu realizando a orientação das atividades durante minha estadia acadêmica na Universidade de Santiago de Compostela no Programa de Doutorado em Inovação em Segurança e Tecnologias Alimentares.

Ao técnico de laboratório Roger, pelo apoio nas atividades e análises realizadas no Laboratório de Ecofisiologia da UFPR.

Aos membros da banca que com sabedoria e senso de contribuição, enriqueceram muito este trabalho.

A equipe da FAPA – Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, pelo apoio nos experimentos de campo.

Aos professores do PGAPV, pelos ensinamentos que muito contribuíram para minha formação ao longo do curso.

Aos colegas de curso, pela troca de experiências que me permitiram crescer como pessoa e como acadêmico.

A todos os professores que tive ao longo da vida em todas as instituições que estudei: Grupo Escolar Duque de Caxias, Escola Estadual Irmão Isidoro Dumont, Colégio Agrícola Estadual Assis Brasil, Universidade Federal do Paraná e Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

A todos aqueles que acreditam que a ciência é caminho fundamental para evolução da humanidade.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,  
mas pensar o que ninguém ainda pensou,  
sobre aquilo que todo mundo vê.”  
(ARTHUR SCHOPENHAUER)

## RESUMO

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.), é uma das matérias-primas básicas para produção de cervejas. O Brasil importa cerca de 98% do lúpulo utilizado pela indústria cervejeira, que vivencia uma expansão, com o advento das cervejarias artesanais. O crescente interesse pela medicina natural está ampliando as perspectivas do lúpulo, pelo seu potencial medicinal, em função dos polifenóis como xanthohumol e prenilnaringenina. O nitrogênio é nutriente indispensável para o desenvolvimento e produção do lúpulo e a dose a ser aplicada nas condições ambientais brasileiras ainda não foi estudada. Apesar da importância da cultura, poucas pesquisas avaliaram o desempenho agrônomico das cultivares implantadas em condições edafoclimáticas do Brasil, especialmente em relação à nutrição e desempenho de genótipos. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar o desempenho agrônomico e produção de metabólitos secundários em lúpulo cultivado a campo. Foram instalados experimentos visando avaliar o desempenho de diferentes genótipos cultivados a campo em duas safras e avaliar o desempenho da cultivar Chinook, sob o efeito de doses de N, em três safras, em Guarapuava-PR. Folhas, ramos e cones foram coletados para determinação da massa seca e cones para análise do teor e composição de óleo e de teor de ácidos e chalconas. Amostras de óleo essencial foram obtidas por hidrodestilação e sua composição química analisada por CG/MS. Teores de  $\alpha$  e  $\beta$ -ácidos, xanthohumol, isoxanthohumol, 6-,8-prenilnaringenina, foram determinados por (HPLC/DAD). A quantidade de cones por planta e a produção de MS de cones, ramos e folhas, e a produção total de óleo essencial por planta aumentaram linearmente com as doses de N e houve diferença entre as safras em função das condições climáticas. Doses crescentes de N e as condições de cada safra alteram os teores de N nas folhas, a produção geral da cultura e de óleos em função da maior massa seca de cones, porém não alteram os teores de óleo essencial na massa seca dos cones. Foram identificados 16 compostos no óleo essencial de lúpulo, sendo dominantes os terpenos. Os majoritários foram mirceno, (E)- $\beta$ -farneseno,  $\delta$ -selineno,  $\beta$ -selineno e (E)-cariofileno. Houve variação no perfil da composição do óleo essencial entre as três safras de cultivo. As doses de N aplicadas, promoveram alteração nos teores das cetonas, 2-decanone e 2-undecanone,  $\alpha$ -ácidos,  $\beta$ -ácidos, xanthohumol, isoxanthohumol e 6-prenilnaringenina. No experimento que avaliou os genótipos, o teor de óleos essenciais, ácidos amargos e xanthohumol foi inferior aos de áreas produtivas tradicionais, porém para isoxanthohumol foi semelhante. No óleo essencial, predominaram sesquiterpenos e monoterpenos, sendo identificados 32 compostos. O genótipo com maior potencial para a indústria cervejeira é o CAA, pelos teores de linalol e  $\alpha$ -ácidos. Em relação ao potencial medicinal os genótipos com maior potencial são SAV, em função dos teores de xanthohumol e isoxanthohumol e CAA, devido às prenilnaringeninas. Doses acima de 250 kg N ha<sup>-1</sup> maximizam a produção de cones, cetonas,  $\alpha$ -ácidos e xanthohumol e diminuem a síntese de  $\beta$ -ácidos e 6-prenilnaringeninas. Foram identificados genótipos com potencial para a indústria cervejeira e para a indústria farmacêutica.

Palavras-chave: *Humulus lupulus*; óleo essencial; ácidos amargos; chalconas.

## ABSTRACT

Hops (*Humulus lupulus* L.), is one of the basic raw materials for beer production. Brazil imports around 98% of the hops used by the brewing industry, which is expanding with the advent of craft breweries. The growing interest in natural medicine is increasing the perspectives of hops, due to their medicinal potential, due to polyphenols such as xanthohumol and prenilnaringenin. Nitrogen is an indispensable nutrient for the development and production of hops and the dose to be applied in Brazilian environmental conditions has not yet been studied. Despite the importance of the crop, few studies have evaluated the agronomic performance of cultivars implanted in edaphoclimatic conditions in Brazil, especially in relation to nutrition and genotype performance. The objective of this research was to evaluate the agronomic performance and production of secondary metabolites in field-grown hops. Experiments were installed to evaluate the performance of different genotypes grown in the field in two harvests and to evaluate the performance of the cultivar Chinook, under the effect of N levels, in three crops, in Guarapuava-PR. Leaves, branches and cones were collected for determination of dry mass and cones for analysis of oil content and composition and content of acids and chalcones. Essential oil samples were obtained by hydrodistillation and their chemical composition analyzed by GC/MS. Contents of  $\alpha$  and  $\beta$ -acids, xanthohumol, isoxanthohumol, 6-,8-prenylnaringenin, were determined by (HPLC/DAD). The amount of cones per plant and the production of DM of cones, branches and leaves, and the total production of essential oil per plant increased linearly with the doses of N and there was a difference between the harvests as a function of the climatic conditions. Increasing doses of N and the conditions of each crop affect the N contents in the leaves, the general production of the crop and oils as a function of the greater dry mass of cones, but do not alter the essential oil contents in the dry mass of the cones. A total of 16 compounds were identified in hop essential oil, with terpenes being dominant. The majority were myrcene, (E)- $\beta$ -farnesene,  $\delta$ -selinene,  $\beta$ -selinene and (E)-caryophyllene. There was variation in the profile of the essential oil composition among the three crop crops. The N doses applied promoted changes in the contents of ketones, 2-decanone and 2-undecanone,  $\alpha$ -acids,  $\beta$ -acids, xanthohumol, isoxanthohumol and 6-prenylnaringenin. In the experiment that evaluated the genotypes, the content of essential oils, bitter acids and xanthohumol was lower than those of traditional productive areas, but for isoxanthohumol it was similar. In the essential oil, sesquiterpenes and monoterpenes predominated, and 32 compounds were identified. The genotype with the greatest potential for the brewing industry is CAA, due to its linalool and  $\alpha$ -acid contents. Regarding the medicinal potential, the genotypes with the highest potential are SAV, due to the levels of xanthohumol and isoxanthohumol and CAA, due to prenilnaringenins. Doses above 250 kg N ha<sup>-1</sup> maximize the production of cones, ketones,  $\alpha$ -acids and xanthohumol and decrease the synthesis of  $\beta$ -acids and 6-prenylnaringenins. Genotypes with potential for the brewing industry and the pharmaceutical industry were identified.

Keywords: *Humulus lupulus*; essential oil; bitter acids; chalcones.

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| FIGURA 1 – VISÃO GERAL DA PARTE AÉREA DA PLANTA DE LÚPULO.....  | 20 |
| FIGURA 2 – SISTEMA RADICULAR DO LÚPULO: SEÇÃO TRANVERSAL (A) E VISÃO AÉREA (B). .....   | 21 |
| FIGURA 3 – ESTRUTURA DE CONES DE LÚPULO: A) VISTA FRONTAL; B) CORTE LONGITUDINAL, MOSTRANDO BRÁCTEAS, BRACTÉOLAS E LUPULINA; C) VISTA APROXIMADA DAS GLÂNDULAS DE LUPULINA; D) IMAGEM DE LUPA DE UMA GLÂNDULA DE LUPULINA.....  | 23 |
| FIGURA 4 - ESCALA FENOLÓGICA <i>Humulus lupulus</i> L.....  | 25 |
| FIGURA 5 – ESTRUTURA QUÍMICA DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS DO ÓLEO ESSENCIAL DO LÚPULO .....   | 33 |
| FIGURA 6 – VIAS METABÓLICAS DA SÍNTESE DE TERPENOS .....  | 34 |
| FIGURA 7 – ESTRUTURA QUÍMICA DOS PRINCIPAIS ÁCIDOS AMARGOS.....   | 36 |
| FIGURA 8 – VIAS DE BIOSÍNTESE DE ALFA E BETA ÁCIDOS EM LÚPULO. ....   | 38 |
| FIGURA 9 – ESTRUTURA GERAL DAS CHALCONAS E FLAVONOIDES.....   | 42 |
| FIGURA 10 – VIAS DE BIOSÍNTESE DE POLIFENÓIS DO LÚPULO .....  | 43 |
| FIGURA 11 – ESTRUTURAS DE SUPORTE (A), PREPARAÇÃO DE ESTACAS CAULINARES DE LÚPULO (B) E SISTEMA DE FERTIRRIGAÇÃO (C). .....   | 45 |
| FIGURA 12 – SINTOMA DE EXCESSO DE NITROGÊNIO EM CONES DE LÚPULO. ....   | 50 |
| FIGURA 13 – CONCENTRAÇÃO DE CERVEJARIAS NO BRASIL.....  | 55 |
| FIGURA 14- MÉDIAS MENSIS DE TEMPERATURA (A), UMIDADE RELATIVA DO AR (B), TOTAL DE PRECIPITAÇÃO (C), RADIAÇÃO SOLAR (D) E DÉFICIT HÍDRICO POR DECÊNDIOS (E), DURANTE OS MESES DE AGOSTO A MARÇO DAS SAFRAS 2018/2019, 2019/2020 E 2020/2021, NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DA FAPA, EM GUARAPUAVA-PR. .... | 89 |
| FIGURA 15 - COMPONENTES DE RENDIMENTO DE <i>H. lupulus</i> L. CV. CHINOOK CULTIVADO EM GUARAPUAVA-PR SOB DIFERENTES DOSES DE N. ANÁLISE CONJUNTA DAS SAFRAS 2018/2019, 2019/2020 E 2020/2021. *(p≤0,05). ....   | 97 |

|  |     |
|--|-----|
| FIGURA 16 – TEORES DAS CETONAS 2-DECANONE E 2-UNDECANONE NAS DIFERENTES SAFRAS DE PRODUÇÃO: 2018/2019 (A, B, C); 2019/2020 (D, E, F). SAFRA 2021/2022 SEM DIFERENÇA ESTATÍSTICA ( $p \leq 0,05$ )..... | 115 |
| FIGURA 17 – TEORES DE ÁCIDOS AMARGOS EM CONES SECOS DE LÚPULO CULTIVADO SOB O EFEITO DE 5 DOSES DE N + TESTEMUNHA, SAFRA 2020/2021. ....   | 117 |
| FIGURA 18 – TEORES DE POLIFENÓIS EM CONES SECOS DE LÚPULO CULTIVADO SOB O EFEITO DE 5 DOSES DE N + TESTEMUNHA, SAFRA 2020/2021. ....   | 118 |
| FIGURA 19 – ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA), DE COMPOSTOS (A-B) E CLASSES DE COMPOSTOS DE ÓLEO ESSENCIAL (C-D) DE GENÓTIPOS DE LÚPULO, SAFRA 2020/2021.....                                    | 148 |
| FIGURA 20 - ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA), DE COMPOSTOS (A-B) E CLASSES DE COMPOSTOS DE ÓLEO ESSENCIAL (C-D) DE GENÓTIPOS DE LÚPULO, SAFRA 2021/2022.....                                    | 149 |
| FIGURA 21 – ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA), DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE GENÓTIPOS DE LÚPULO CULTIVADOS EM DUAS SAFRAS: 2020/2021 (A-B) E 2021/2022 (C-D).....                                   | 150 |

## LISTA DE TABELAS

|  |     |
|--|-----|
| TABELA 1 – CONSTITUINTES DE CONES SECOS DE LÚPULO. ....  | 28  |
| TABELA 2 – PRINCIPAIS COMPOSTOS IDENTIFICADOS EM ÓLEO ESSENCIAL DE LÚPULO.....   | 29  |
| TABELA 3 – COMPOSTOS FENÓLICOS ENCONTRADOS EM <i>H. lupulus</i> L.....   | 40  |
| TABELA 4 – CULTIVARES UTILIZADAS PELOS PAÍSES MEMBROS DO IHGC 2021/2022. ....  | 52  |
| TABELA 5 – CARACTERÍSTICAS DAS PRINCIPAIS CULTIVARES DE <i>H. lupulus</i> L. ....  | 54  |
| TABELA 6 – PRINCIPAIS PAÍSES PRODUTORES DE LÚPULO, POR ÁREA (ha) E PRODUÇÃO DE CONES (t), NO ANO DE 2022. ....   | 57  |
| TABELA 7 - INDICADORES PRODUTIVOS DE <i>H. lupulus</i> L. CV. CHINOOK EM 3 SAFRAS SOB 5 DOSES DE N E TESTEMUNHA (SEM N) EM GUARAPUAVA-PR. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NA HORIZONTAL, NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE SCOTT KNOTT ( $P \leq 0,05$ ). .... | 93  |
| TABELA 8 - TEORES DE NITROGÊNIO NA PARTE AÉREA DE PLANTAS DE <i>H. lupulus</i> L. SOB 5 DOSES DE N E TESTEMUNHA (SEM N) EM GUARAPUAVA-PR. SAFRA 2020/2021, $*P \leq 0,05$ .....  | 99  |
| TABELA 9 – COMPOSIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE LÚPULO (%) CULTIVADO EM GUARAPUAVA-PR SOB 5 DOSES DE N ( $\text{Kg ha}^{-1}$ ) E TESTEMUNHA, EM TRÊS SAFRAS DE CULTIVO.....   | 113 |
| TABELA 10 – CLASSES DOS COMPOSTOS (%) EM AMOSTRAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE LÚPULO (%) CULTIVADO SOB DOSES DE N EM GUARAPUAVA-PR SOB 5 DOSES DE N DURANTE 3 SAFRAS...   | 114 |
| TABELA 11 – COMPOSIÇÃO E RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DE 5 GENÓTIPOS DE LÚPULO CULTIVADOS EM GUARAPUAVA NA SAFRA 2020/2021. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NA LINHA, NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE SCOTT-KNOTT ( $p \leq 0,05$ ).....                     | 137 |
| TABELA 12 - COMPOSIÇÃO E RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DE 9 GENÓTIPOS DE LÚPULO CULTIVADOS EM GUARAPUAVA NA SAFRA 2021/2022. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NA  |     |

LINHA, NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE SCOTT-KNOTT  
( $p \leq 0,05$ )..... 141

TABELA 13 – TEORES DE ÁCIDOS E POLIFENÓIS DE 5 GENÓTIPOS DE LÚPULO  
CULTIVADOS EM GUARAPUAVA-PR NA SAFRA 2020/2021.  
MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NA LINHA, NÃO  
DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE SCOTT-KNOTT ( $P \leq 0,05$ ). 143

TABELA 14 - TEORES DE ÁCIDOS E POLIFENÓIS DE 10 GENÓTIPOS DE LÚPULO  
CULTIVADOS EM GUARAPUAVA-PR NA SAFRA 2021/2022.  
MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NA LINHA, NÃO  
DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE SCOTT-KNOTT ( $p \leq 0,05$ ). .145

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

|            |   |
|------------|---|
| AA         | Ácido amargo  |
| APROLUPULO | Associação Brasileira de Produtores de Lúpulo                     |
| BBCH       | Biologische Bundesantalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie |
| BCAA       | Aminoácidos hidrofóbicos de cadeia ramificada                     |
| BCAT1      | Aminotransferase 1 de cadeia ramificada                           |
| BCAT2      | Aminotransferase 2 de cadeia ramificada                           |
| BCKDH      | Cetoácido desidrogenase de cadeia ramificada                      |
| CoA        | Coenzima A  |
| CS         | Chalcona sintase  |
| CV         | Coeficiente de variação   |
| DAD        | Detector de arranjo de diodos                                     |
| DIC        | Detector de ionização de chamas                                   |
| DMAPP      | Dimetilalil pirofosfato   |
| FAPA       | Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária                         |
| FPP        | Farnesil pirofosfato  |
| FPPS       | Farnesil pirofosfato sintase                                      |
| F3H        | Flavanona-3-hidroxilase   |
| GAP        | Gliceraldeído-3- fosfato  |
| GC/MS      | Cromatógrafo gasoso acoplado em espectrômetro de massas           |
| GPP        | Geranil pirofosfato   |
| GPPS       | Geranil pirofosfato sintase                                       |
| ha         | Hectare   |
| HTE4       | Ácido graxo de cadeia ramificada por tioesterase                  |
| HPLC       | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência                          |
| ICE-4      | International calibration extract 4                               |
| IHGC       | International Hop Growers Convention                              |
| IPP        | Isopentenil pirofosfato   |
| IRC        | Índice de retenção calculado                                      |
| IRL        | Índice de retenção da literatura                                  |
| LoD        | Limite Inferior de Detecção                                       |

|       |   |
|-------|---|
| LoQ   | Limite de Quantificação                             |
| MAPA  | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento |
| MEP   | Metileritrol fosfato                                |
| MS    | Massa seca  |
| MVA   | Ácido mevalônico                                    |
| NADPH | Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato          |
| OE    | Óleo Essencial                                      |
| OEL   | Óleo Essencial de Lúpulo                            |
| PCA   | Análise de Componentes Principais                   |
| PIBP  | Florisobutirofenona                                 |
| PIVP  | Florisovalerofenona                                 |
| PMBP  | Fflor-2-metilbutirofenona                           |
| PP    | Pirofosfato   |
| PTFE  | Politetrafluoroetileno                              |
| RSD   | Desvio padrão relativo                              |
| TPS   | Terpeno sintase                                     |
| TR    | Tempo de retenção                                   |
| UFPR  | Universidade Federal do Paraná                      |
| URA   | Umidade relativa do ar                              |
| UV    | Ultravioleta  |

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....  | <b>16</b> |
| <b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....   | <b>19</b> |
| 2.1 BOTÂNICA .....   | 19        |
| 2.2 EXIGÊNCIAS CLIMÁTICAS E AMBIENTAIS .....   | 26        |
| 2.3 ECOFISIOLOGIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA .....   | 27        |
| 2.3.1 Óleos Essenciais .....   | 28        |
| 2.3.2 Ácidos .....   | 35        |
| 2.3.3 Compostos fenólicos .....  | 39        |
| 2.4 MANEJO DA CULTURA .....  | 44        |
| 2.5 LÚPULO E NITROGÊNIO .....  | 46        |
| 2.6 CULTIVARES .....   | 51        |
| 2.7 ASPECTOS ECONÔMICOS DA CULTURA .....   | 54        |
| 2.8 USOS DA CULTURA .....  | 58        |
| 2.8.1 Indústria Cervejeira .....   | 58        |
| 2.8.2 Indústria Farmacêutica .....   | 62        |
| 2.8.3 Outros usos .....  | 65        |
| 2.9 – REFERÊNCIAS .....  | 67        |
| <b>3 PRODUÇÃO DE BIOMASSA E ÓLEO ESSENCIAL DE LÚPULO EM RESPOSTA<br/>À ADUBAÇÃO NITROGENADA.</b> ..... | <b>85</b> |
| RESUMO .....   | 85        |
| ABSTRACT .....   | 86        |
| 3.1 INTRODUÇÃO .....   | 87        |
| 3.2 MATERIAL E MÉTODOS .....   | 88        |
| 3.2.1 Experimento de campo .....   | 90        |
| 3.2.2 Determinação da produção de massa seca .....   | 90        |
| 3.2.3 Determinação do teor de óleos essenciais .....   | 91        |
| 3.2.4 Determinação de N na parte aérea da planta .....   | 91        |
| 3.2.5 Análise estatística .....  | 91        |
| 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....   | 92        |
| 3.4 CONCLUSÕES .....   | 99        |
| 3.5 REFERÊNCIAS .....  | 100       |

|   |            |
|---|------------|
| <b>4 BIOSINTESE DE COMPOSTOS SECUNDÁRIOS EM LÚPULO EM RESPOSTA À ADUBAÇÃO NITROGENADA .....</b>             | <b>103</b> |
| RESUMO.....   | 103        |
| ABSTRACT .....  | 104        |
| 4.1 INTRODUÇÃO .....  | 105        |
| 4.2 MATERIAL E MÉTODOS .....  | 107        |
| 4.2.1 Experimento de campo.....   | 107        |
| 4.2.2 Extração e análise dos óleos essenciais .....   | 108        |
| 4.2.3 Determinação de compostos fenólicos.....  | 108        |
| 4.2.4 Análise estatística .....   | 110        |
| 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....   | 110        |
| 4.4 CONCLUSÕES .....  | 119        |
| 4.5 REFERÊNCIAS.....  | 120        |
| <b>5 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE GENÓTIPOS DE LÚPULO CULTIVADOS EM REGIÃO SUBTROPICAL DO BRASIL .....</b> | <b>127</b> |
| RESUMO.....   | 127        |
| ABSTRACT .....  | 128        |
| 5.1 INTRODUÇÃO .....  | 129        |
| 5.2 MATERIAL E MÉTODOS .....  | 131        |
| 5.2.1 Experimento de campo.....   | 131        |
| 5.2.2 Extração e análise dos óleos essenciais .....   | 132        |
| 5.2.3 Compostos fenólicos .....   | 133        |
| 5.2.4 Análise estatística .....   | 134        |
| 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....   | 134        |
| 5.4 CONCLUSÕES .....  | 151        |
| 5.5 REFERÊNCIAS.....  | 152        |
| <b>6 CONCLUSÕES GERAIS .....</b>  | <b>156</b> |
| <b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>   | <b>157</b> |
| <b>REFERÊNCIAS GERAIS .....</b>   | <b>158</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.), planta dioica da família Cannabaceae, é uma das matérias-primas básicas utilizadas no processo de produção de cervejas e secundariamente em cosméticos e medicamentos (BIENDL et al., 2014); (SOLARSKA; SOSNOWSKA, 2015). No ano de 2022, os maiores produtores mundiais de lúpulo foram Estados Unidos da América e Alemanha (IHGC, 2022a).

Atualmente e em todo o mundo, há um interesse renovado em cervejas artesanais com tendência para cervejas lupuladas (BOCQUET et al., 2018a). Embora seja o terceiro maior produtor e consumidor de cerveja do mundo (CERVIERI JUNIOR, 2017) o Brasil não figura entre os grandes produtores mundiais de lúpulo (IHGC, 2022a).

O Brasil atualmente importa 4.000 toneladas de lúpulo por ano, com um custo superior a 200 milhões de reais (SOARES; FIRMO, 2018) em um cenário crescente da indústria cervejeira nacional, a qual vivencia um momento de expansão, principalmente com o advento das cervejarias artesanais, situação demonstrada pela informação que nos últimos anos o número de cervejarias do Brasil saltou de 332 em 2015 para 1.383 em 2020 (MAPA, 2021).

O recente sucesso do setor de cervejas artesanais em todo o mundo, fez com que o lúpulo cultivado saísse de suas áreas tradicionais de cultivo (ROSSINI et al., 2021), pois o cervejeiros optam por utilizar ingredientes locais com vistas a produzir cervejas com identidade local (FORTESCHI et al., 2019).

Diferentes cultivares de lúpulo têm sido cultivados no Brasil e utilizados para produção cervejeira, por pequenas cervejarias e por cervejeiros caseiros. Nesse cenário, o cultivo em escala comercial do lúpulo está em processo de implantação no Brasil (DURELLO; SILVA; BOGUSZ JR., 2019).

Hoje, a indústria cervejeira usa 98% do lúpulo produzido no mundo, devido a ser ingrediente chave na produção de cervejas. No entanto, existem muitos outros usos, alguns deles conhecidos desde os tempos pré-históricos (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021).

O crescente interesse pela medicina natural está ampliando novas perspectivas interessantes para esta cultura (ROSSINI et al., 2021), em função do lúpulo produzir os flavonoides prenilados xanthohumol, isoxanthohumol, 6-

prenilnaringenina e 8-prenilnaringenina (BOCQUET et al., 2018a; ERIKSEN et al., 2021; FORTESCHI et al., 2019).

Pode-se exemplificar, alternativas potenciais em tratamentos antimicrobianos, câncer, síndrome metabólica e terapia de reposição hormonal, possibilidades nas aplicações de saúde bucal, como substituto para suplementos alimentares antibióticos na pecuária, e como bioinseticida. Além disso, os componentes do lúpulo também podem ser adicionados a perfumes e são úteis em função de suas propriedades conservantes (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021).

Embora, *H. lupulus* seja uma planta importante, que contém metabólitos usados nos campos cervejeiro e farmacêutico, poucas são as pesquisas que avaliam o desempenho agrônômico das cultivares implantadas em condições edafoclimáticas do Brasil. Por se tratar de um ambiente recente de cultivo os produtores, extensionistas e pesquisadores carecem de conhecimentos e experiências geradas em ambiente autóctone para o correto manejo de práticas de cultivo do lúpulo.

O nitrogênio (N) é nutriente chave para um vigoroso crescimento vegetativo da cultura (DODDS, 2017). É essencial durante o período de crescimento vertical e lateral da planta. O crescimento inicial do lúpulo se dá a partir da energia armazenada nas raízes na forma de açúcares e carboidratos. Quando essa energia se esgota, o novo sistema radicular formado mais próximo a superfície do solo começa a absorver novos nutrientes, para impulsionar o crescimento do lúpulo. Esse processo inicia quando a planta já tem de 1,8 a 2,4 m de altura. Se faltar N nessa fase a planta não cresce o suficiente, podendo ficar com altura inferior a 3,6 m (KEMME, 2016).

A recomendação de N é variável em diversos países. Todavia, os manuais de adubação brasileiros não dispõem de informações acerca da adubação nitrogenada para a cultura do lúpulo. Os efeitos de aplicações de diferentes quantidades e fontes desse nutriente na produção de cones, resinas e óleos essenciais carecem de estudos para as condições edafoclimáticas brasileiras.

Apesar da implantação da cultura do lúpulo no Brasil em escala comercial demandar respostas à vários questionamentos relacionados a sua adaptabilidade às condições edafoclimáticas em um país continental como o Brasil, as pesquisas relacionadas ao cultivo do lúpulo ainda são incipientes no país.

Ao se comparar a produção científica nacional à estrangeira, percebe-se o quanto a tradição do cultivo de lúpulo em escala comercial na Europa fomentou o estudo nesse continente e mesmo nos países de tradição menos antiga, como

Estados Unidos da América (EUA) e Austrália, grandes exportadores de lúpulo (SOARES; FIRMO, 2018).

Compreender as características e comportamento da cultura, inclusive em relação a síntese de produtos do metabolismo secundário nas condições do Brasil, é fundamental tanto para o desenvolvimento de cervejas com identidade regional como gerar subsídios para a expansão da utilização do lúpulo para atender demandas de outras áreas, como a indústria farmacêutica.

Considerando o cenário acima exposto, foram implantadas duas pesquisas de campo visando testar as seguintes hipóteses:

I) Lúpulo da cultivar Chinook implantada na região de Guarapuava-PR responderá a aplicações crescentes de N, considerando as variáveis resposta produção de cones, ramos e folhas; teores e composição de óleos essenciais,  $\alpha$ -ácidos e  $\beta$ -ácidos e flavonoides;

II) Os genótipos avaliados terão comportamento diferente em cultivo a campo em Guarapuava - PR, considerando as variáveis resposta composição de óleos essenciais,  $\alpha$ -ácidos e  $\beta$ -ácidos e flavonoides.

Desta forma, o objetivo geral deste trabalho é avaliar o desempenho agrônômico e produção de metabólitos secundários em lúpulo cultivado em Guarapuava-PR, subtropical do Brasil.

Os objetivos específicos são:

- avaliar o desempenho produtivo e metabólitos secundários da cultivar Chinook, de lúpulo cultivado a campo, em Guarapuava-PR sob o efeito de diferentes doses de adubação nitrogenada;
- avaliar a produção de metabólitos secundários de genótipos de lúpulo cultivados a campo em Guarapuava-PR.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 BOTÂNICA

O gênero *Humulus*, da família Cannabaceae, ordem Rosales cresce de forma espontânea em diversas regiões de clima temperado, especialmente em latitudes entre 35° e 55°N (KONDIĆ et al., 2021).

Consiste em três espécies, *H. lupulus*, *H. japonicus* e *H. yunnanensis*, todas presentes na China, a qual foi acordada como sendo o centro de origem deste gênero (ALONSO-ESTEBAN et al., 2019).

Formas selvagens de *H. lupulus* são amplamente distribuídas por todo o Hemisfério Norte, Europa, Ásia e América do Norte (NEVE, 1991). (SMALL, 2019), classificou *H. lupulus* em variedades taxonômicas: var. *lupulus* para o lúpulo selvagem europeu e cultivares, var. *cordifolius* para o lúpulo selvagem japonês e var. *neomexicanus*, *pubescens* e *lupuloides*, para o Lúpulo Norte americano.

As cultivares comerciais pertencem a espécie *H. lupulus*, hoje estão distribuídas em diversas regiões temperadas do mundo (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021) e diferem em função de características morfológicas, como número de lóbulos na folha e distribuição de tricomas em hastes e pecíolos (MURAKAMI et al., 2006).

Trata-se de uma planta herbácea, perene de hábito trepador (ALONSO-ESTEBAN et al., 2019). A parte aérea entra em dormência no início do outono e novos ramos emergem das raízes no início da primavera de cada ano (BIENDL et al., 2014).

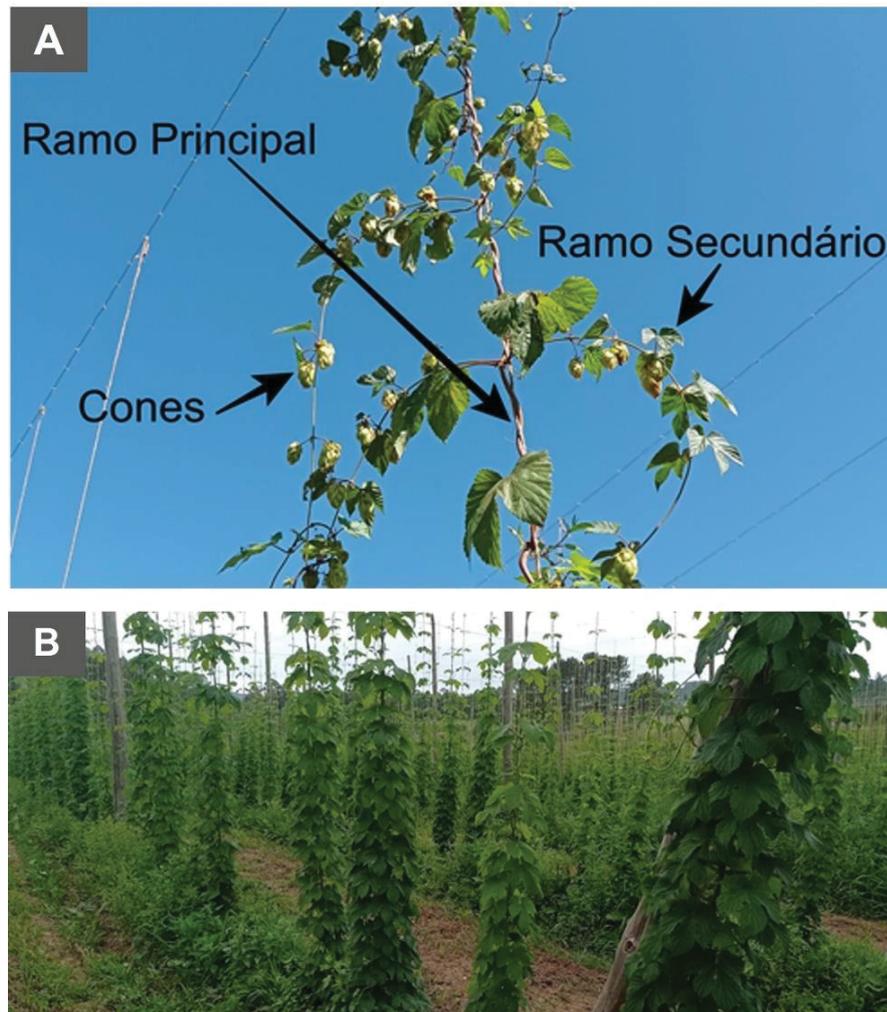
A planta sobe no sentido horário em torno de qualquer suporte disponível (FIGURA 1B) com a ajuda de seus tricomas voltados para baixo, podendo alcançar uma altura superior a 10 metros (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021).

Três diferentes zonas radiculares compõe o sistema radicular do lúpulo (FIGURA 2): raízes cilíndricas e ramificadas, de crescimento horizontal lateral, em volta da coroa, presentes em profundidade abaixo de 40 cm; raízes cuboides de crescimento vertical, alcançando mais de 2 metros de profundidade e raízes adventícias e fibrosas presentes em elevada quantidade (GRAF et al., 2014).

O sistema radicular é grande e robusto. Suas raízes horizontais tendem a formar um grande número de raízes finas (AMORIELLO et al., 2020). Uma planta totalmente desenvolvida é caracterizada por um sistema radicular que apresenta entre

8 e 10 raízes principais (SAWICKA et al., 2021) e mesmo que a maioria das raízes coletoras de nutrientes se desenvolva nos 30 cm superiores dos solos, o sistema radicular vai aumentando ao longo dos anos, podendo alcançar 2,25 metros de profundidade, indicando a necessidade de cultivo em ambientes de solos profundos (BRANT et al., 2020).

FIGURA 1 – VISÃO GERAL DA PARTE AÉREA DA PLANTA DE LÚPULO

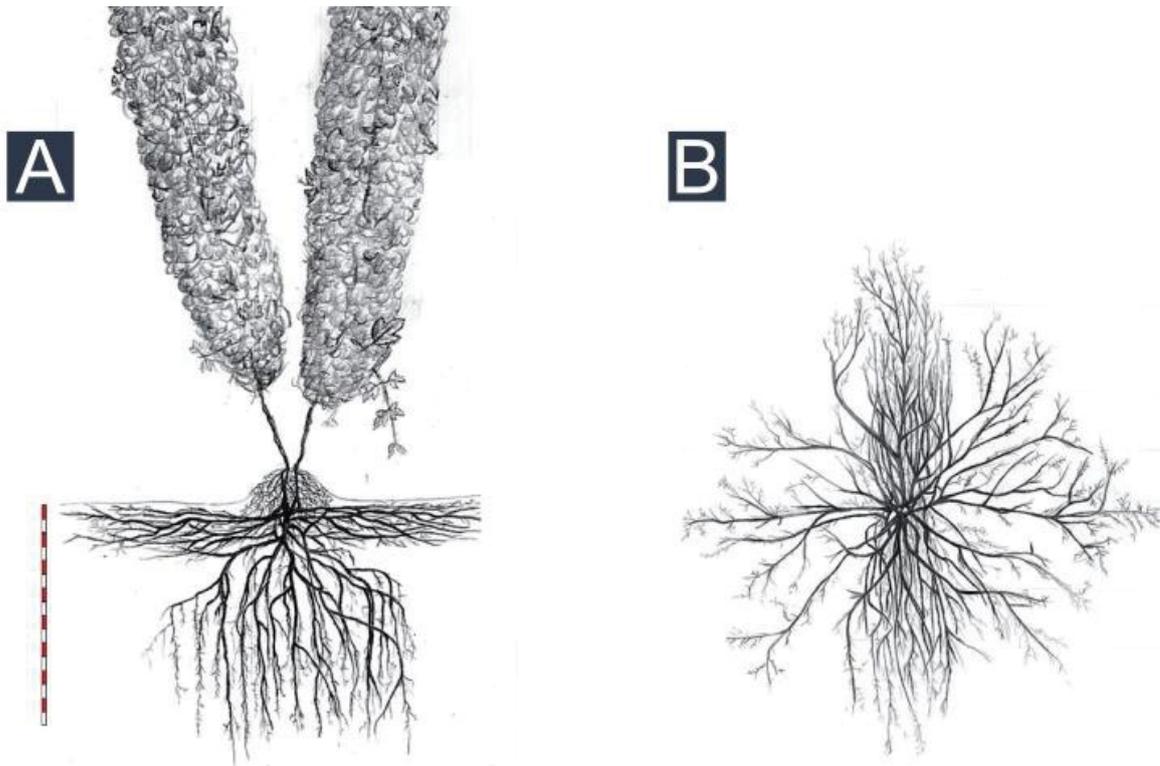


FONTE: O autor (2022).

Próximo à superfície do solo, junto à coroa (conjunto de raízes verdadeiras e rizomas), na base da planta, estão situados os rizomas: caules subterrâneos suculentos, com gemas (SPÓSITO et al., 2019).

São estruturas perenes que acumulam substâncias de reserva, importantes no período de dormência da planta, garantindo a sobrevivência para a próxima temporada (DODDS, 2017).

FIGURA 2 – SISTEMA RADICULAR DO LÚPULO: SEÇÃO TRANVERSAL (A) E VISÃO AÉREA (B).



FONTE: Adaptado de (GRAF et al., 2014).  
 NOTA: Cada barra da escala representa 10 cm.

A parte aérea da planta é formada por ramos principais, ramos secundários, folhas e inflorescências (masculinas ou femininas) (FIGURA 1A).

Os ramos principais (ou primários) crescem verticalmente, a partir de gemas presentes na coroa da planta. Conforme cresce, é segmentado por nós e entrenós.

Possuem tricomas aderentes, que permitem escalar estruturas de sustentação, podendo atingir altura superior a 8 metros. Ao longo do crescimento, esses ramos vão lignificando a partir da base. Quando lignificada, essa estrutura pode ser chamada de caule. Em cada nó, ocorre a formação das folhas e na axila destas folhas, uma gema dá origem aos ramos laterais (ou secundários). Também em cada nó dos ramos laterais, brotam folhas e inflorescências (SPÓSITO et al., 2019).

As folhas estão localizadas nos nós localizados no caule principal ou nos ramos laterais, e normalmente são dispostas em pares ou às vezes trincas, em posição decussada (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021). São cordiformes, recortadas em 3, 5 ou 7 lóbulos quando maduras e apresentam margens dentadas ou serradas (NEVE, 1991).

Ácidos amargos e chalconas são encontrados nas folhas de lúpulo, porém em níveis mais baixos do que nos cones (KEUKELEIRE et al., 2003). As folhas também contêm compostos voláteis, em quantidades muito menores do que nos cones (< 0,05%) (ZANOLI; ZAVATTI, 2008).

*H. lupulus* é uma planta dioica, assim, flores femininas e masculinas são encontradas em plantas distintas. As plantas masculinas e femininas são morfologicamente idênticas e distinguem-se apenas na fase de floração (SAWICKA et al., 2021).

As flores das plantas femininas têm entre 2,5 e 5,0 cm de comprimento e são polinizadas pelo vento (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021). São reunidas em inflorescências compostas por 20 a 60 flores, dispostas aos pares. As inflorescências femininas se desenvolvem assumindo um formato de espigas, chamadas de cones (estróbilos) e esse processo ocorre independentemente da flor ter sido polinizada ou não (SAWICKA et al., 2021).

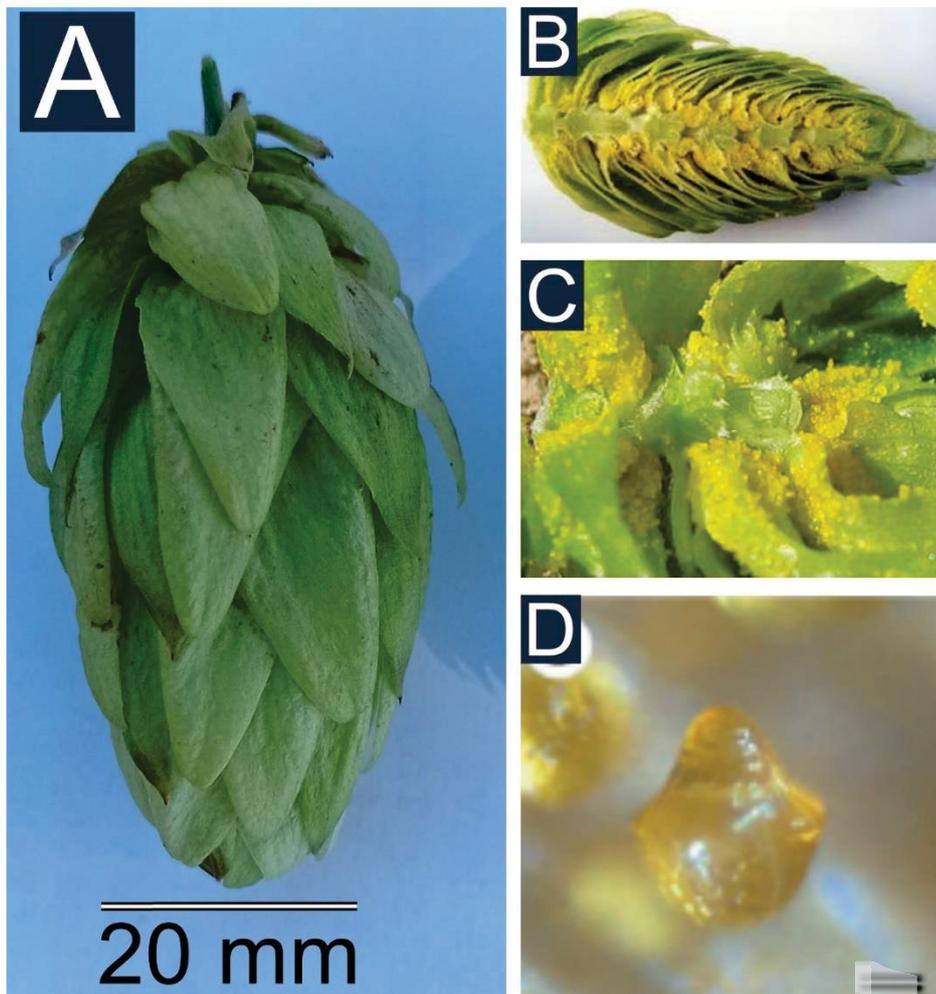
Os cones são formados por brácteas e bractéolas imbricadas, de coloração amarela esverdeada, unidas por um raquis central estreita e flexível (FIGURA 3). Quando maduros são frondosos, podendo ter 3 a 4 cm de comprimento e 3 cm de largura (KORIEM, 2022).

Por outro lado, as flores masculinas têm 5 a 6 mm de diâmetro e estão dispostas em inflorescências paniculadas altamente ramificadas. Apresentam um perianto quádruplo e cinco estames (SAWICKA et al., 2021).

As substâncias ativas do lúpulo são encontradas em células epidérmicas especiais, os tricomas glandulares, chamados de glândulas de lupulina (JELIAZKOVA et al., 2018), que se desenvolvem na base das brácteas dos cones, conforme a planta amadurece (BIENDL et al., 2014; RODRIGUES; MORAIS; CASTRO, 2015) e são visíveis como pequenas estruturas amarelas (FIGURA 3) (NAGEL et al., 2008).

Dois tipos principais de tricomas glandulares são observados nos cones de lúpulo: peltado e bulboso, ambos constituídos por um pedúnculo e uma cabeça secretora multicelular (SANTAGOSTINI et al., 2020).

FIGURA 3 – ESTRUTURA DE CONES DE LÚPULO: A) VISTA FRONTAL; B) CORTE LONGITUDINAL, MOSTRANDO BRÁCTEAS, BRACTÉOLAS E LUPULINA; C) VISTA APROXIMADA DAS GLÂNDULAS DE LUPULINA; D) IMAGEM DE LUPA DE UMA GLÂNDULA DE LUPULINA.



FONTES: A) O autor (2021); B) Protosbiotec.com (2023); C) Fizzlab.pt (2023); D) (SUGIYAMA; ODA; KUROSAKI, 2006).

Essas glândulas são compostas por um disco de células secretoras biossintéticas e uma cavidade subcuticular na qual as substâncias são armazenadas (OLIVEIRA; PAIS, 1990). Inicialmente esses tricomas são côncavos, formato de taça, e vão desenvolvendo aparência pontiaguda conforme a cavidade subcuticular vai sendo preenchida durante o processo de amadurecimento (NAGEL et al., 2008).

Cada bráctea ou bractéola possui entre 115 a 713 glândulas de lupulina (PATZAK et al., 2015) as quais fazem a biossíntese e de alguns metabólitos secundários, incluindo óleos essenciais, resinas e compostos fenólicos (FARAG; WESSJOHANN, 2013; BOCQUET et al., 2018).

A lupulina é uma estrutura minúscula, levemente pegajosa, de formato granular e de coloração amarela ou marrom-amarelada que armazena substâncias

ativas do lúpulo (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021). Estes compostos também estão presentes nas flores masculinas, porém em quantidades muito menores que nas flores femininas (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021)

Os óleos essenciais são compostos químicos responsáveis pelo aroma das cervejas e seus teores podem variar de 0,2 a 3% na massa seca de cones (CANBAS; ERTEN; OVZAHIN, 2001; BIENDL et al., 2014; RODRIGUES; MORAIS; CASTRO, 2015).

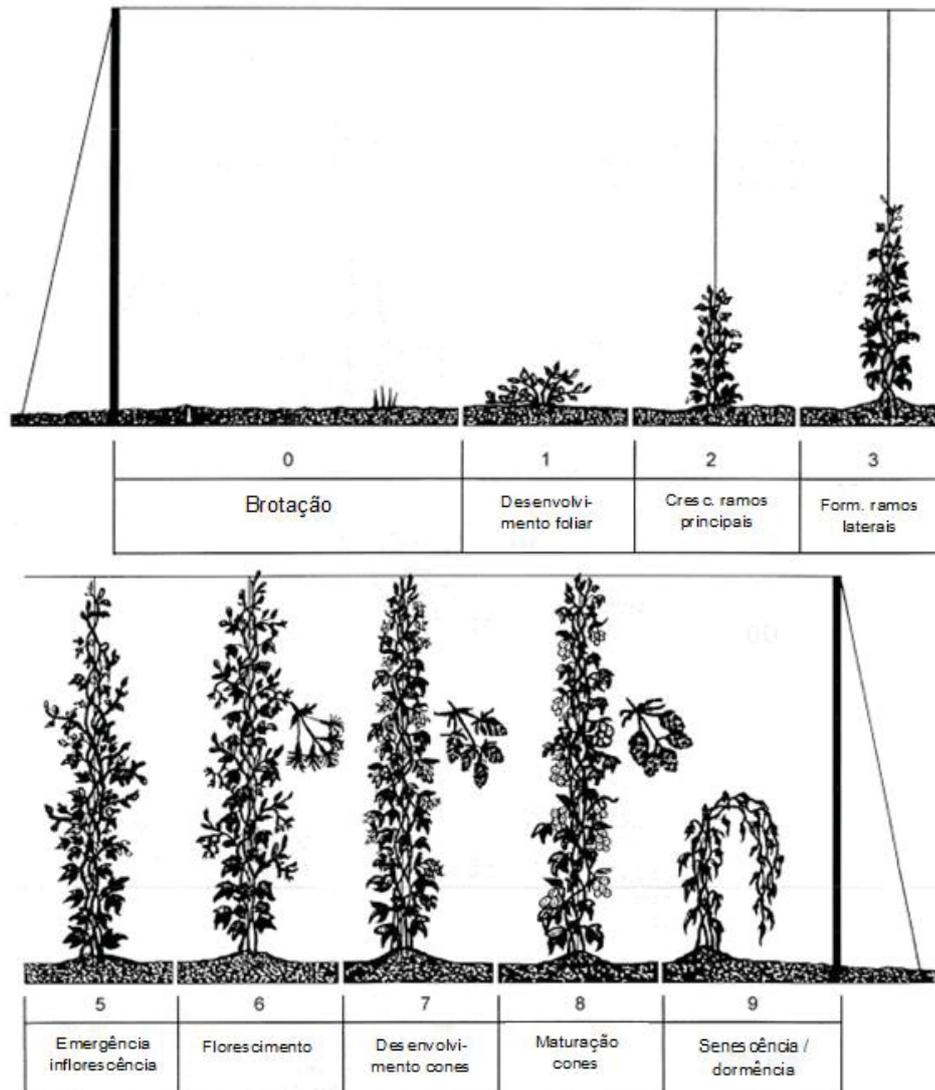
Os  $\alpha$ -ácidos e  $\beta$ -ácidos, substâncias responsáveis pelo amargor da cerveja, estão presentes nas resinas, seus teores na massa seca de cones, podem variar de 5 a 13% e 3 a 8% respectivamente, (BIENDL et al., 2014). Conteúdos de ácidos  $\alpha$  e  $\beta$  são as principais características químicas e econômicas relacionadas a produção de lúpulo (PATZAK et al., 2015).

Acredita-se que as sementes, quando presentes no processo de fabricação, afetem o sabor da cerveja (LIBERATORE et al., 2018). Assim, os cones sem sementes são considerados melhor matéria-prima para a indústria cervejeira, por terem uma estrutura mais compacta, possuírem folhas aderentes e maior teor de metabólitos secundários. Por esta razão, apenas o lúpulo feminino é cultivado nas plantações de produção (SAWICKA et al., 2021).

Fenologicamente o desenvolvimento do lúpulo é dividido em nove estádios principais de crescimento (FIGURA 4): (0) brotação; (1) desenvolvimento foliar; (2) crescimento dos ramos principais; (3) formação dos ramos laterais; (5) emergência da inflorescência; (6) floração; (7) desenvolvimento de cones; (8) maturação dos cones; (9) senescência e entrada em dormência (ROSSBAUER et al., 1995).

É considerada uma planta sensível ao fotoperíodo e de dias curtos. A transição entre a fase de crescimento vegetativo e a de desenvolvimento reprodutivo ocorre quando a duração do dia cai abaixo do limite crítico de 13-15 h de fotoperíodo (KREBS, 2019).

Além disso, requer um número mínimo de nós ao longo de seu caule principal para que ocorra a floração (THOMAS; SCHWABE, 1969), requerendo entre 20 a 25 nós (NEVE, 1991; BRIGGS et al., 2004; VILLACORTA et al., 2008; PAVLOVIČ et al., 2010;).

FIGURA 4 - ESCALA FENOLÓGICA *Humulus lupulus* L.

FONTE: Adaptado de (ROSSBAUER et al., 1995).

O rendimento de cones e peso seco da planta é negativamente correlacionado com o acúmulo de calor (graus dia de crescimento - GDC) até o estágio de início da floração (ROSSINI et al., 2016). Por outro lado, o rendimento de cones secos é positivamente correlacionado com o acúmulo de GDC desde o início da floração até o amadurecimento total (MARCEDDU; CARRUBBA; SARNO, 2020).

O momento da floração pode afetar significativamente o rendimento do cone, porque um crescimento vegetativo completo (cerca de 5-6 m de altura) antes da diferenciação das flores é fundamental para obter altos rendimentos (ROSSINI et al., 2021).

## 2.2 EXIGÊNCIAS CLIMÁTICAS E AMBIENTAIS

Variações climáticas são umas das principais causas de instabilidade na produtividade (KUCERA; KROFTA, 2009; VAN HOLLE et al., 2017) e qualidade do lúpulo (ALMEIDA et al., 2020; HONG et al., 2022), ao lado das particularidades da cultivar (fatores genéticos), estágio de amadurecimento, características edáficas, condições de armazenamento (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021) e processo de extração (JELIAZKOVA et al., 2018).

Lotes de lúpulo da mesma cultivar, produzidos em diferentes regiões geográficas podem apresentar diferenças bioquímicas significativas, resultando em diferente composição de sabor e aroma da cerveja (VAN HOLLE et al., 2019)

Neve (1991), afirma que a área de cultivo de lúpulo é limitada principalmente pelas necessidades de fotoperíodo. A produção do lúpulo é limitada a regiões situadas entre as latitudes 35° e 55°, de ambos os hemisférios (BIENDL et al., 2014; RUGGERI et al., 2017), por conta da necessidade de frio e dias longos para condições ótimas de crescimento e florescimento (TURNER et al., 2011).

A luz solar direta e a longa duração do dia (15 horas ou mais) são necessárias (PAVLOVIČ et al., 2010). Quanto a intensidade luminosa, a irradiância de saturação varia de 447 a 499  $\mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  ou 221 a 247  $\text{W m}^{-2}$  (HNILIČKOVÁ; HNILIČKA; KROFTA, 2007).

Assim, na Europa, seu cultivo se desenvolveu ao longo dos anos, em regiões de clima temperado, tanto continentais quanto oceânicas (ROSSINI et al., 2021), climas Dfb e Cfb conforme classificação de Köppen–Geiger (BECK et al., 2018).

O rendimento do lúpulo e o teor de ácido amargo diminuem com o aumento das temperaturas e o estresse hídrico (ERIKSEN et al., 2021). Altas temperaturas e baixo estresse hídrico durante as fases de crescimento demonstraram diminuir o rendimento do cone de lúpulo e o teor de ácido amargo dos cones (NAKAWUKA et al., 2017).

A temperatura base inferior ( $T_b$ ) do lúpulo é de 6,5°C de acordo com Johnson (1991), de 6°C (SPÓSITO et al., 2019) e de 5°C (ROSSINI et al., 2016; SREČEC et al., 2008). Trata-se de uma cultura classificada como de metabolismo C3 (OCVIRK; OGRINC; KOSIR, 2018).

O estresse hídrico é um dos fatores de maior impacto na fisiologia da planta, levando finalmente ao declínio da produtividade da cultura (BODNER; NAKHFOROOSH; KAUL, 2015). A maior demanda por água ocorre desde o período

de início do crescimento de ramos laterais e folhas até a formação das inflorescências (NEVE, 1991).

Deficiência hídrica nesses estágios pode causar decréscimo no rendimento de cones e dos níveis de produção de alfa-ácidos (SREČEC et al., 2008). Nesse período a planta demanda precipitação de 480 a 600 mm de água, para ter as necessidades atendidas (RYBÁČEK, 1991; PAVLOVIC et al., 2012).

O lúpulo apresenta os seguintes valores de coeficiente basal da cultura –  $K_{cb}$ : estágio inicial (0,15), intermediário (1,00) e final (0,80). Cada estágio tem as respectivas durações em dias: estágio inicial (25), crescimento (40), intermediário (80) e final (10) (CARVALHO, 2018).

Srečec et al. (2008) ao estudarem a influência de condições climáticas em lúpulo da cultivar Aurora verificaram produção de alfa e beta ácidos na ordem de 8,3 a 10% dentro de condições de 380 a 440 mm de chuva, 1700 a 2000 °C de temperatura acumulada e 1.100 a 1.300 horas efetivas de radiação solar. O lúpulo requer durante toda a temporada uma quantidade de 1.700 °C de temperatura efetiva (PAVLOVIČ et al., 2010).

Kucera & Krofta (2009) indicam, considerando o período de florescimento, necessidade de 300 mm de chuva e 16 a 17°C como temperatura ótima para maior produção de alfa-ácidos.

Srečec et al. (2008) encontraram uma diminuição significativa do acúmulo de beta-ácidos se a evapotranspiração média diária das culturas for maior ou igual a 4,5 mm.dia<sup>-1</sup> no período do florescimento. Jelínek et al. (2012) identificaram que áreas de cultivo em climas secos e quentes produzem lúpulo com maior conteúdo de metabólitos secundários, como alfa e beta ácidos, óleos essenciais e polifenóis.

### 2.3 ECOFISIOLOGIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Compostos oriundos de processos primários como glicólise, fotossíntese e ciclo de Krebs, conforme as condições endógenas e/ou exógenas podem ser empregados para a produção de intermediários da biossíntese de outros compostos, em vez de serem usados no processo de produção de energia (STATTI, 2016).

O lúpulo é uma cultura rica em produtos do metabolismo secundário, os quais derivam das vias do acetato, chiquimato e mevalonato (STATTI, 2016).

Conforme Nagel et al. (2008), as três principais vias biossintéticas ativas nas glândulas de lupulina são:

- via terpenoide: inclui a via MEP para a síntese de IPP e DMAPP, a qual fornece os principais terpenóides do lúpulo (mirceno e humuleno) e a via do mevalonato, a qual é menos ativa;

- via do ácido amargo: envolve a biossíntese de humulona e lupulona;

- via do xanthohumol.

Os principais constituintes característicos do lúpulo são os óleos essenciais, os ácidos amargos (ácidos) e os compostos fenólicos (BOCQUET et al., 2018a; KARABÍN et al., 2016; MCCALLUM et al., 2019; TURSUN; LI; AISA, 2021). Estão presentes também proteínas, monossacarídeos, polifenóis, pectinas, aminoácidos, ceras, esteroides, cinzas, água e celulose / lignina (TABELA 1) (DURELLO; SILVA; BOGUSZ JR., 2019).

TABELA 1 – CONSTITUINTES DE CONES SECOS DE LÚPULO.

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

FONTE: (ALMAGUER et al., 2014; DURELLO; SILVA; BOGUSZ JR., 2019).

### 2.3.1 Óleos Essenciais

Conforme a Organização Internacional de Padronização, pela norma ISO-9235, óleo essencial (OE) é o produto obtido a partir de uma matéria-prima natural de origem vegetal, por destilação a vapor, por processos mecânicos do epicarpo de citrinos, ou por destilação seca, após separação da fase aquosa — se existir — por processos físicos (ISO, 2022).

São compostos hidrofóbicos, solúveis em álcool (entre outros), pouco solúveis em água, comumente encontrados na forma líquida e têm, com exceções, uma densidade menor que a da água (ALONSO-GATO et al., 2021).

Tratam-se de misturas complexas de compostos voláteis, polares e apolares, derivados do metabolismo secundário de plantas aromáticas (AKDAĞ; ÖZTÜRK,

2019). A quantidade de compostos presentes no OE das plantas é numerosa e variável, sendo no caso do lúpulo, na casa das centenas (ALMAGUER et al., 2014; BAKKALI et al., 2008).

Os óleos essenciais do lúpulo (OEL), que contribuem para os perfis de aroma da cerveja, são metabólitos secundários de *H. lupulus* secretados nas glândulas de lupulinas (HONG et al., 2021) e representam 0,1 a 4,0 % v/p de cones secos de lúpulo (ABERL; COELHAN, 2012; BOCQUET et al., 2018a; DIETZ et al., 2020; FORTESCHI et al., 2019; IGLESIAS et al., 2020; JELIAZKOVA et al., 2018; KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021; KOŠIR; OCVIRK, 2020; KOVAČEVIČ; KAČ, 2002; PATZAK et al., 2015; RAUT et al., 2020; SALANŤÁ et al., 2016; SAWICKA et al., 2021; WANG et al., 2008).

Mais de 1.000 compostos já foram identificados no OEL (EYRES; DUFOUR, 2009; JELIAZKOVA et al., 2018), o qual é considerado um dos óleos mais complexos dentre os encontrados em plantas (DIETZ et al., 2020). As constantes físico-químicas desse OE são: gravidade específica 0,841; rotação óptica  $-0^{\circ} 52'$  e índice refrativo 1,4725, a  $20^{\circ}\text{C}$  (MALIZIA et al., 1999).

Os óleos essenciais são secretados das inflorescências das plantas de lúpulo feminino e caracterizados por uma ampla gama de substâncias de aroma, incluindo três frações, descritas em ordem decrescente de participação nos teores totais do OEL: hidrocarbonetos, compostos oxigenados e compostos contendo enxofre (ALMAGUER et al., 2014; GUTIÉRREZ-DEL-RÍO; FERNÁNDEZ; LOMBÓ, 2018; RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021; SU et al., 2022).

Os principais compostos encontrados no OEL estão listados na TABELA 2.

TABELA 2 – PRINCIPAIS COMPOSTOS IDENTIFICADOS EM ÓLEO ESSENCIAL DE LÚPULO

| CLASSIFICAÇÃO   | SUBCLASSIFICAÇÃO | PRINCIPAIS COMPOSTOS   | (continua) |
|-----------------|------------------|--|------------|
| Hidrocarbonetos | Alifáticos       | Pentano, octano, 2-penteno, isopreno, undecano, dodecano, tridecano, tetradecano, pentadecano, hexadecano, heptadecano.  |            |
|                 | Monoterpenos     | $\beta$ -mirceno, limoneno, $p$ -cimeno, $\alpha$ -felandreno, $\beta$ -felandreno, $\alpha$ -pineno, $\beta$ -pineno.   |            |
|                 | Sesquiterpenos   | $\alpha$ e $\beta$ -farneseno, germacreno B e D, humuleno, $\beta$ -cariofileno, $\beta$ -selineno, $\gamma$ e $\delta$ -cadineno, para e meta canforeno, $\beta$ -bosaboleno, $\alpha$ e $\gamma$ -muuroleno, $\alpha$ -cubebeno, calameneno, $\alpha$ e $\gamma$ -calacoreno, $\beta$ -elemeno, cadaleno e $\alpha$ -corocaleno. |            |

| CLASSIFICAÇÃO         | SUBCLASSIFICAÇÃO                 | PRINCIPAIS COMPOSTOS   | (continuação) |
|-----------------------|----------------------------------|--|---------------|
| Compostos oxigenados  | Álcoois monoterpênicos           | Linalol, geraniol, nerol, $\alpha$ -terpineol, terpinen-4-ol, álcool perrilil, mirtenol, 1-metil-4-isopropenil-1-ciclohexeno-5-ol mircenol.  |               |
|                       | Álcoois sesquiterpênicos         | Álcool cariofileno, Nerolidol, triciclohumuladiol, humulenol-I e II, humulol, epi-cubenol, 1-cariolanol, $\alpha$ e $\gamma$ -eudesmol, T-muurolol, $\alpha$ , T e $\delta$ cadinol, junenol e $\beta$ -fecnhil álcool.  |               |
|                       | Álcoois alifáticos               | Metanol, 2-propanol, 1-butanol, 1 e 2-pentanol, 1-hexanol, 1-heptanol, 1-octanol, 1 e 2 nonanol, 1-decanol, 1-undecanol, 1-dodecanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol, 4-metil-1-pentanol, 3-metil-1-butanol, 2-metil-3-buten-2-ol, 3-metil-2-buten-1-ol, trans-3-hexen-1-ol, trans-2-hexen-1-ol, 1-octen-3-ol, álcool benzil, 10-metil-5,9-undecadien-1-ol.   |               |
|                       | Aldeídos                         | Hexanal, heptanal, octanal, nonanal, decanal, undecanal, dodecanal, tetradecanal, 2-hexenal, 2-heptenal, 2,4-hexadienal, 2,4-heptadienal, 2-octenal, 2-nonenal, 2-decenal, 2,4-nonadienal, geranial, neral, furfural, 3-metil-2-butenal, 3-etilbutanal, benzaldeído, 2-fenilacetaldeído.   |               |
|                       | Ácidos                           | 3-metilbutanoico, 2-metilpropanoico, 4-metil-3-pentenoico, 4-hidroxi-4-metil-2-pentenoico  |               |
|                       | Cetonas                          | Acetona, 2-heptanona, 2-octanona, 2-nonanona, 2-decanona, 2-undecanona, 2-dodecanona, 2-tridecanona, 2-tetradecanona, 2-pentadecanona, 2-hexadecanona, carvona, pentadecen-2-ona,  |               |
|                       | Epóxidos                         | Óxido de cariofileno, humuleno epóxido I e II e humuleno diepóxido.  |               |
| Compostos com enxofre | Ésteres                          | Hexanoato, heptanoato, ocatanoato, nonanoato, decanoato, undecanoato, dodecanoato, 4-decenoato, 4,8-decadienoato, 4-hepetnoato, 8-dodecanoato, 2-metilpropanoato, 3-metilbutanoato, 4-metilpentanoato, 4-metil-3-pentanoato, 5-metilhexanoato, 4-metil-2-hexenoato, 2,5-dimetilhexanoato, 6-metilheptanoato, 7-metilocatanoato, 8-metilnonoato, 9-metildecanoato, 4-etil-2-pentenoato, geranato, 2-metilnonanoato, propanoatos e acetatos, formato de geranil, acetato de octil, geranil, neril e linalil, propanoato de geranil, neril, linalil, hexil, heptil, octil, 2-metilbutil e 2-metilpropil, hexanoato de 2-metilbutil e heptanoato de etil, metilbutil e 2-metilbutil. |               |
|                       | Tioésteres                       | S-metil 2-metil propanoato, S-metil 2-metil butanoato, S-metil 3-metil butanoato, S-metil 4-metil pentanoato, S-metil pentanoato, S-metil hexanoato e S-metil heptanoato.  |               |
|                       | Sulfetos de cadeia linear        | Sulfeto de hidrogênio, dimetil sulfeto, dimetil dissulfeto, dimetil trissulfeto, dimetil tetrassulfeto, dietil sulfeto.  |               |
|                       | Sulfetos cíclicos de terpenóides | 3-metiltiofeno, sulfeto e dissulfeto de mirceno, 4,5-epitiofeno, 1,2-epitiohumuleno e 4,5-epitiohumuleno.  |               |
|                       | Outros                           | Metanotiol, metional e metil ditioacetato.   |               |

FONTE: Adaptado de (ALMAGUER et al., 2014).

Os monoterpenos (C<sub>10</sub>) podem ser acíclicos, monocíclicos e bicíclicos (ALMAGUER et al., 2014), são muito voláteis e oxidam e polimerizam facilmente (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

Os sesquiterpenos (C<sub>15</sub>) são encontrados nas formas acíclica, monocíclica, bicíclica e tricíclica no lúpulo. Comparados aos monoterpenos, eles são menos voláteis e um pouco menos propensos à oxidação (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

Mirceno, linalol, e geraniol são os compostos de aroma mais importantes do óleo, com o mirceno sendo o mais abundante (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021).

Os principais hidrocarbonetos terpênicos encontrados no OEL são o monoterpeno mirceno e os sesquiterpenos,  $\beta$ -cariofileno e  $\alpha$ -humuleno (FIGURA 5) (DUARTE et al., 2020; EYRES; DUFOUR, 2009; HEŘMÁNEK; RYBKA; HONZÍK, 2018; KAŠKONAS et al., 2016; MOZZON; FOLIGNI; MANNOZZI, 2020; PISTELLI et al., 2018; SALANŤÁ et al., 2016; STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015; VÁZQUEZ-ARAÚJO et al., 2013).

Esses três compostos juntos, podem representar até 80% do total de voláteis do lúpulo (DUARTE et al., 2020) e o mirceno, monoterpeno mais comum, pode representar até 72% do perfil do OEL ( ABERL; COELHAN, 2012; BOCQUET et al., 2018a). Porém, na cultivar Saaz são encontradas grandes quantidades de  $\beta$ -farneseno (FIGURA 5) (VÁZQUEZ-ARAÚJO et al., 2013).

Outros hidrocarbonetos comumente encontrados no OEL, são os monoterpenos  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno e limoneno (FIGURA 5), bem como sesquiterpenos  $\beta$ -farneseno (não em todas as cultivares de lúpulo),  $\alpha$  e  $\beta$ -selineno, e  $\gamma$ -muuroleno (HRNČIČ et al., 2019). Os monoterpenos  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, mirceno e limoneno e os sesquiterpenos humuleno, farneseno, cariofileno, muuroleno e selineno (FIGURA 5) representam até 80% do óleo total (KARABÍN et al., 2016).

Os sesquiterpenos mais abundantes no OEL são  $\alpha$ -humuleno (15-42% do óleo essencial de lúpulo) e  $\beta$ -cariofileno (2,8-18,2% do óleo essencial de lúpulo) (ABERL; COELHAN, 2012), sendo esperada uma proporção de 3:1 ( $\alpha$ -humuleno:  $\beta$ -cariofileno) (ALMAGUER et al., 2014).

A auto-oxidação do mirceno leva a reações cíclicas formando vários produtos, como  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno, canfeno e terpenóides, que incluem linalol e geraniol (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018).

Alfa-humuleno e beta-cariofileno são caracterizados por estruturas de anéis raramente encontradas na natureza. As propriedades estruturais incomuns desses componentes levam a padrões imprevisíveis e muito específicos de reatividade (STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015).

Na segunda fração estão os compostos oxigenados, constituindo aproximadamente 30% do OE total e representados pelos terpenos oxigenados: álcoois monoterpênicos e sesquiterpenos (HRNČIČ et al., 2019), aldeídos, ácidos, cetonas, epóxidos e ésteres (DIETZ et al., 2020; KARABÍN et al., 2016).

No OEL o linalol e 2-metilbutanol são os principais constituintes da fração alcoólica, seguidos por geraniol, nerol e  $\alpha$ -terpineol (FIGURA 5). O linalol é um dos compostos mais aromáticos encontrados no óleo de lúpulo e é considerado um indicador de qualidade do lúpulo (ALMAGUER et al., 2014).

Entre as cetonas (FIGURA 5), a 2-undecanona é a mais abundante (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

Os ésteres são a fração oxigenada mais numerosa no óleo de lúpulo, sendo mais importantes os ésteres de geranil: acetato de geranil, propionato de geranil e isobutirato de geranil (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

Os aldeídos (FIGURA 5) geralmente estão presentes em baixas concentrações (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

E por fim a fração dos compostos que contém enxofre estão presentes em traços ou níveis indetectáveis (DIETZ et al., 2020). Tioésteres, tiofenos, metilsulfetos, polissulfetos e epissulfetos são os principais compostos de enxofre encontrados em lúpulo (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

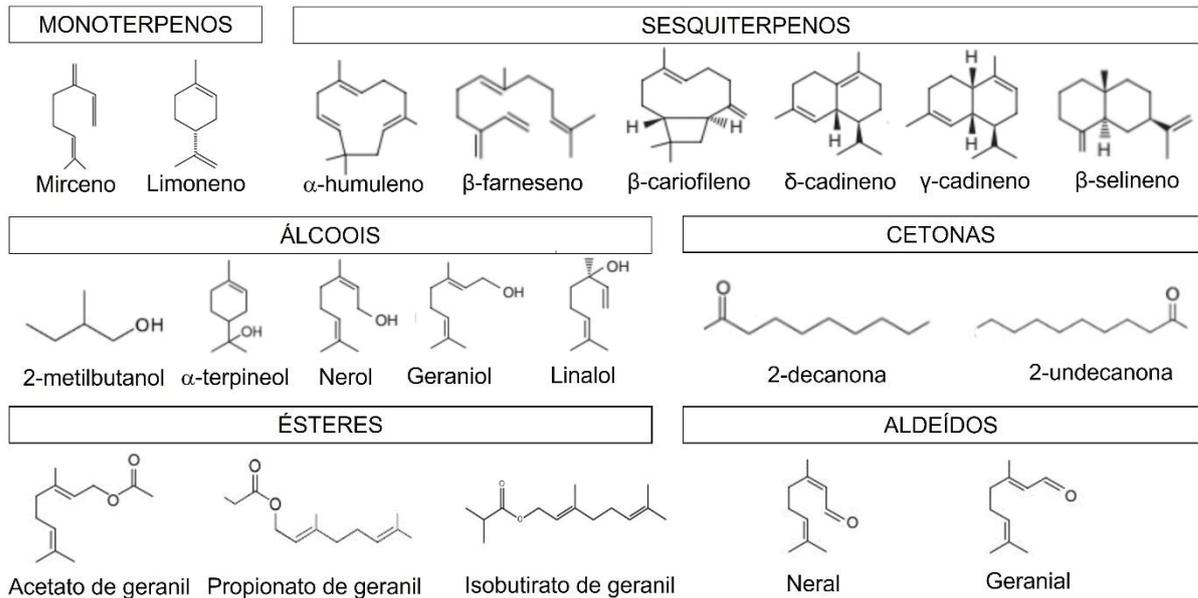
A biossíntese de óleos essenciais é mais lenta que a síntese de resinas, isso faz que os OE's sejam sintetizados completamente apenas quando os cones de lúpulo estiverem totalmente maduros. Neste processo os componentes do óleo essencial são formados nessa ordem: compostos oxigenados, seguidos pelos sesquiterpenos e depois os monoterpênicos (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

Assim, conforme o cone de lúpulo vai se desenvolvendo o óleo essencial vai sendo sintetizado, aumentando seu volume e alterando gradativamente a sua composição (WANG et al., 2008).

Carboidratos, ácidos graxos e aminoácidos representam fontes naturais de carbono para a síntese de metabólitos voláteis (PERESTRELO et al., 2016). A biossíntese dos terpenos é baseada principalmente em acetilcoenzima-A,

nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) e adenosina trifosfato (ATP) (HAZRATI; KHURIZADEH; SADEGHI, 2022).

FIGURA 5 – ESTRUTURA QUÍMICA DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS DO ÓLEO ESSENCIAL DO LÚPULO



FONTE: O autor (2023).

Como os terpenos são compostos por unidades de isopreno, sua biossíntese ocorre pela via metileritritol fosfato (MEP), operando no cloroplasto e outros plastídios, e pela via do ácido mevalônico (MVA), operando no citosol ou peroxissomos (

FIGURA 6) (PRADO-AUDELO et al., 2021; SAPIR-MIR et al., 2008; TETALI, 2019).

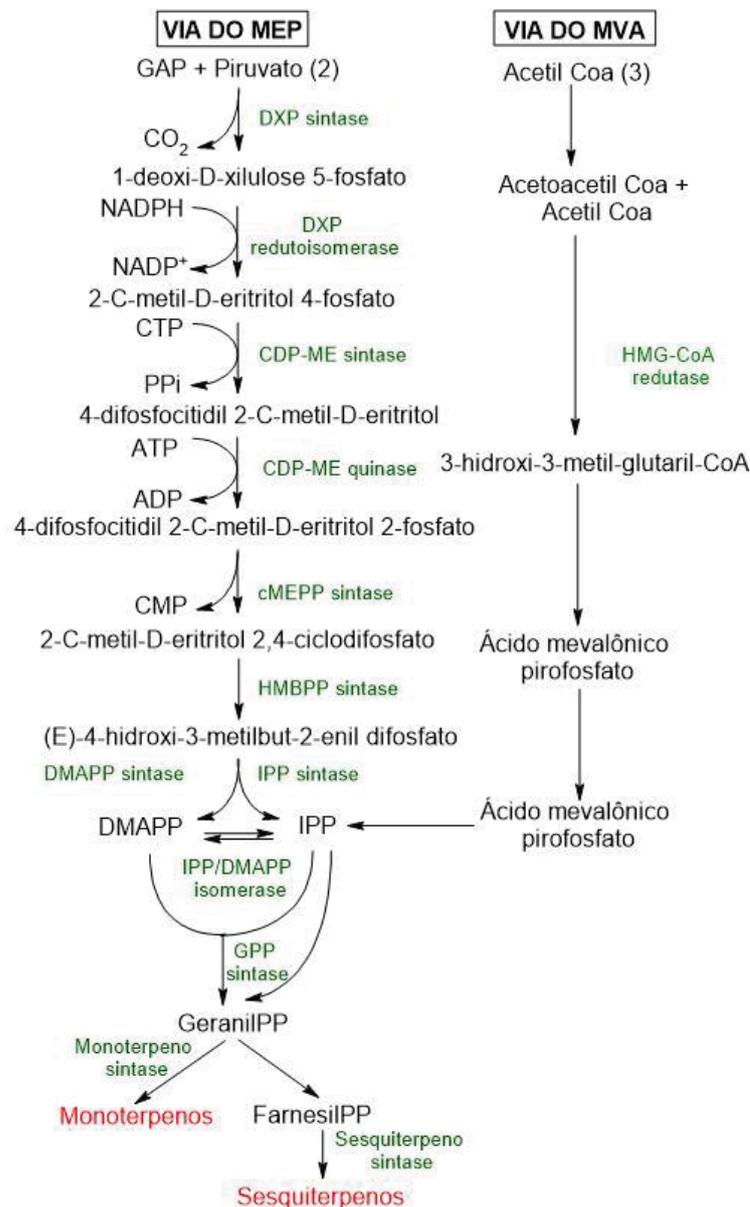
Para a síntese dos compostos encontrados nos OE's, são produzidos os precursores gerais do difosfato isoprenóide de 5 carbonos de todos os terpenos: o isopentenil pirofosfato (IPP) e seu isômero, dimetilalil pirofosfato (DMAPP) (BOCQUET et al., 2018a; FELIPE; BICAS, 2017; RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021; TETALI, 2019). Assim, os terpenos são derivados de pirofosfatos aliados de cadeia mais longa, formados a partir de DMAPP/IPP (WANG et al., 2008).

O acoplamento (ligação cabeça-cauda) dessas duas unidades de 5 carbonos dá origem ao precursor dos monoterpênicos, o geranil pirofosfato ou difosfato de geranil (GPP) no plastídio, e na sequência ao farnesil pirofosfato, no citosol, precursor dos sesquiterpenos (DEWICK, 2009; HONG et al., 2021; STATTI, 2016).

Na sequência a enzima mirceno sintase remove o pirofosfato do GPP para formar o monoterpeno mirceno (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

Os álcoois monoterpenos como o geraniol e linalol são produtos biossintéticos que estão relacionados com a síntese do mirceno, (EYRES; DUFOUR, 2009). A partir do mirceno, na presença da enzima linalol sintase, ocorre a formação do linalol (PICHESKY; LEWINSOHN; CROTEAU, 1995; RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021) e na presença da enzima sesquiterpenos sintase, o mirceno é convertido para cariofileno e humuleno (ERIKSEN et al., 2021, 2022).

FIGURA 6 – VIAS METABÓLICAS DA SÍNTESE DE TERPENOS



FONTE: Adaptado de (FELIPE; BICAS, 2017; HONG et al., 2021; NAGEL et al., 2008; WANG et al., 2008).

### 2.3.2 Ácidos

As substâncias amargas encontradas nas resinas, os acilfloroglucínóis (NEVE, 1991), devido ao seu sabor tiveram o termo ácido amargo (AA) adotado pela literatura (HRNČIČ et al., 2019). Os AA tratam-se do mais abundante derivado de floroglucinol sintetizado no lúpulo (BOCQUET et al., 2018a).

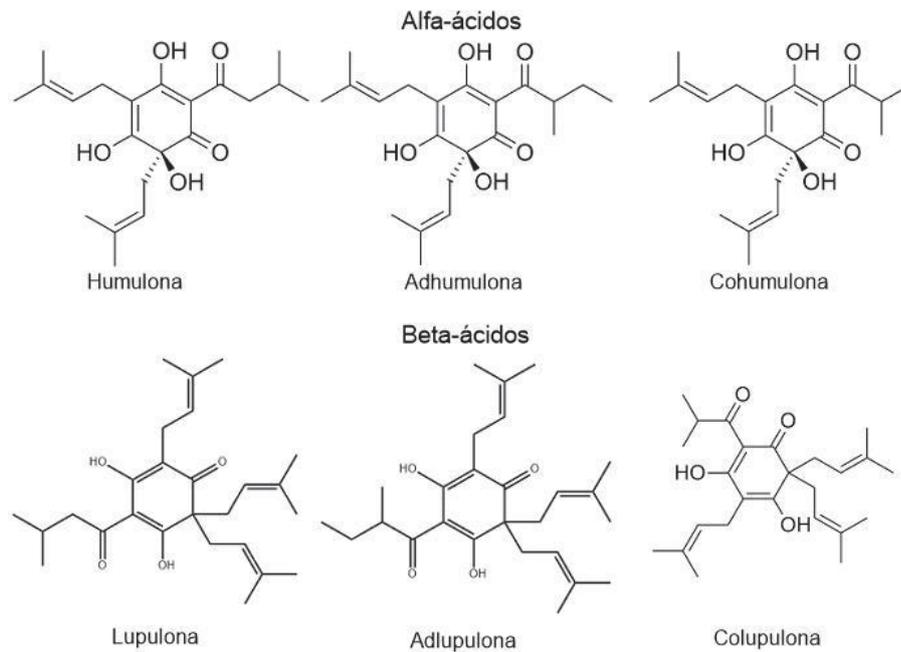
O valor cervejeiro do lúpulo é atribuído principalmente aos precursores dos compostos ativos que conferem sabor amargo à bebida, os quais são encontrados nas resinas (ácidos alfa e beta) secretados pelas glândulas de lupulina. Essa situação, indica que os alfa-ácidos são os principais constituintes das resinas do lúpulo, em função de serem isomerizados em iso-alfa-ácidos durante a fervura do mosto, conferindo sabor margo e estabilidade microbiológica à cerveja (FORTESCHI et al., 2019).

Como a maioria do lúpulo é cultivada para a indústria cervejeira, sua qualidade é medida principalmente pelo conteúdo de alfa-ácidos nos cones. Assim, seu preço de venda é proporcional ao teor deste composto (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021; STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015).

Os ácidos amargos (FIGURA 7), são os principais constituintes dos cones secos de lúpulo, representando 3-20% (KROFTA, 2003), 10-20% (BOCQUET et al., 2018a; WANG et al., 2008), 15-25% (KORIEM, 2022) ou até 30% do peso do lúpulo seco (CLEEMPUT et al., 2009).

As resinas podem ser macias ou duras (insolúvel em óleo-éter). As macias, são derivadas de policetídeos prenilados (WANG et al., 2008). Os AA consistem em duas séries relacionadas de homólogos, os alfa ácidos ou humulonas e beta ácidos ou lupulonas (CESLOVÁ et al., 2009; LAMY et al., 2007; PISTELLI et al., 2018; SAWICKA et al., 2021; STEVENS et al., 1997), e seus derivados (FIGURA 7).

FIGURA 7 – ESTRUTURA QUÍMICA DOS PRINCIPAIS ÁCIDOS AMARGOS



FONTE: O autor (2023).

A classificação dos AA é feita de acordo com as cadeias laterais alcanólicas (HONG et al., 2021). Os derivados de humulona e lupulona são distinguidos pelo comprimento de sua cadeia lateral de carbono (CLARK et al., 2013). AA possuem pelo menos uma cadeia carboxila e 2 cadeias preniladas, sendo que os beta-ácidos, derivados da lupulona possuem uma cadeia prenilada adicional em comparação com os alfa-ácidos (BOCQUET et al., 2018a).

Os alfa-ácidos, precursores diretos dos principais princípios amargos da cerveja, os iso-alfa-ácidos consistem em derivados de floroglucinol diprenilado com cadeias laterais acilas variáveis (STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015).

As quantidades de ambos os tipos de ácidos e seus homólogos podem sofrer variações, dependendo da cultivar de lúpulo, clima e condições de cultivo (HRNČIČ et al., 2019), estágio de desenvolvimento da planta e grau de maturação dos cones (KUCERA; KROFTA, 2009).

Por outro lado as proporções de conteúdo de cohumulona : humulona + adhumulona e colupulona : lupulona + adlupulona são menos afetadas por condições climáticas, sendo mais relacionadas com a genética da planta (PATZAK et al., 2015).

A síntese dos ácidos amargos vai aumentando conforme evolui o estágio de desenvolvimento dos cones de lúpulo (KAVALIER et al., 2011). O desenvolvimento de

alfa-ácidos em cones de lúpulo ocorre desde o início da formação dos cones (MACKINNON et al., 2020), porém 90% dos alfa-ácidos são formados nas duas últimas semanas que antecedem a colheita (KONDIĆ et al., 2021).

Os teores de ácidos amargos e polifenóis no cone de lúpulo dependem do número e tamanho das glândulas de lupulina na superfície do cone de lúpulo. Durante a maturação do cone de lúpulo, as glândulas de lupulina e os cones de lúpulo aumentam o tamanho e aumentam o conteúdo de metabólitos secundários, conforme o grau de maturação e as condições ambientais e climáticas (PATZAK et al., 2015).

Embora, o momento ideal de colheita para os teores máximos de alfa-ácidos depende da cultivar, a proporção de cohumulonas nas amostras permanece inalterada (SHARP et al., 2014).

O teor de alfa-ácidos vem diminuindo em algumas áreas de cultivo, por exemplo, na República Tcheca, devido à mudança das condições climáticas, especialmente devido à baixa precipitação ou temperaturas adversas (DONNER et al., 2020).

Os alfa-ácidos são a maior porção de resinas macias (LAMY et al., 2007) e representam 2-10%, enquanto os beta-ácidos 2,0-6,0% da massa seca de cones (JELIAZKOVA et al., 2018); 2,2-14,6% e 2,4-8,5% (PATZAK et al., 2015); 2,2-5,0% e 6,7-7,6% respectivamente (SANTAGOSTINI et al., 2020); 9,0-10,0% de alfa-ácidos (STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015) ou 6,0 a 11,8% (SAWICKA et al., 2021).

Porém as chamadas cultivares super alfa tem em torno de até 19,0-20,0% de alfa-ácidos (KAVALIER et al., 2011; STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015).

Os alfa-ácidos são compostos por humulona (35-70% do total de ácidos alfa), cohumulona (20-65% do total de ácidos alfa) e adhumulona (10-15% do total de ácidos alfa), além de posthumulona, prehumulona e adprehumulona. Os beta-ácidos são constituídos por lupulona (30-55% do total dos beta-ácidos), colupulona, adlupulona e em quantidades menores, postlupulona e prelupulona (BINDER; KNILL; SCHUSTER, 2007; PATZAK et al., 2015; ZANOLI; ZAVATTI, 2008).

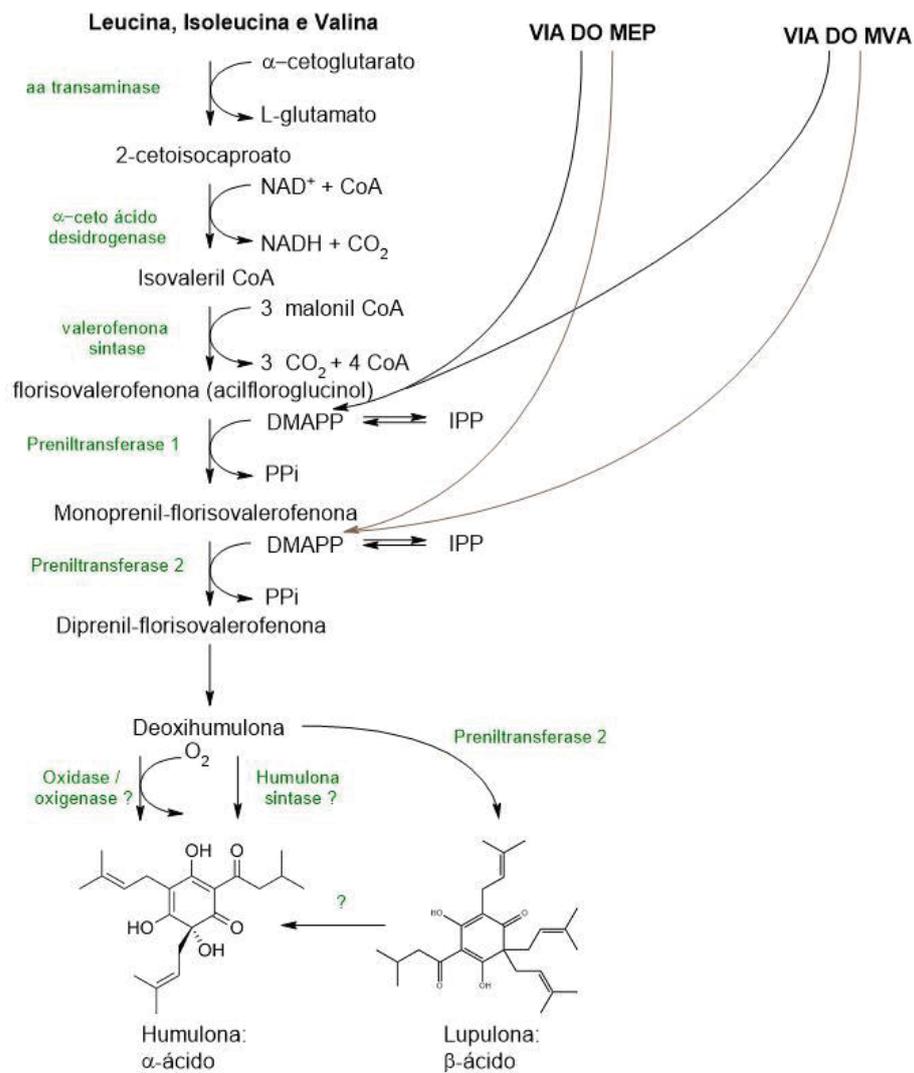
AA são derivados de precursores de piruvato que são formados em aminoácidos hidrofóbicos de cadeia ramificada (BCAA) leucina, isoleucina e valina,

através da via de biossíntese de BCAA no cloroplasto (BINDER; KNILL; SCHUSTER, 2007; CLARK et al., 2013).

Por essa via ocorre a síntese do acilfloroglucinol, florisovalerofenona, que em ação com o DMAPP oriundo das vias do MEP e do MVA, resulta em desoxihumulona, precursor final da humulona e lupulona (

FIGURA 8) (ERIKSEN et al., 2021, 2022; HONG et al., 2021; KAVALIER et al., 2014; NAGEL et al., 2008; PATZAK et al., 2001; WANG et al., 2008).

FIGURA 8 – VIAS DE BIOSÍNTESE DE ALFA E BETA ÁCIDOS EM LÚPULO.



FONTE: Adaptado de ((HONG et al., 2021; NAGEL et al., 2008; PATZAK, 2001; WANG et al., 2008).

### 2.3.3 Compostos fenólicos

Cones de lúpulo são ricos em compostos fenólicos como os flavonoides e os acilfloroglucinois prenilados, humulonas (alfa-ácidos) e lupulonas (beta-ácidos) (ALMEIDA et al., 2020; STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015).

Os compostos fenólicos do lúpulo são divididos em 4 grupos: ácidos fenólicos, flavonóis, flavanóis, e outros compostos fenólicos (ALMAGUER et al., 2014; PISTELLI et al., 2018). Como as humulonas e lupulonas, foram abordadas anteriormente, neste item serão abordados os demais grupos.

Compostos fenólicos são produzidos em tricomas glandulares de cones de lúpulo e são encontrados no tecido da bráctea fotossintética da inflorescência do lúpulo (SUGIYAMA; ODA; KUROSAKI, 2006). Apesar de encontrados principalmente em cones de lúpulo, esses compostos também estão presentes nas folhas, porém em teor 10 vezes menor (ABRAM et al., 2015).

Os flavonoides ocorrem amplamente em plantas e são um grupo biologicamente importante e quimicamente diverso de metabólitos secundários, com diferentes funções metabólicas (FERREYRA; RIUS; CASATI, 2012; TREUTTER, 2006).

As maiores quantidades de flavonoides são detectadas em sementes e brácteas de inflorescências femininas de lúpulo (BOCQUET et al., 2018a).

Dependendo de seus estados oxidativos e substituintes, os flavonoides são categorizados nos seguintes grupos: chalconas, flavonas, flavanas, flavanonas, isoflavonas, dihidroflavonoides, neoflavonoides flavonóis, isoflavonoides, auronas, antocianidinas (KAVALIER et al., 2011), dihidrochalconas (TREUTTER, 2006), flavan-3-ols e taninos (BOCQUET et al., 2018a).

São numerosos os compostos pertencentes a essas categorias e encontrados em *H. lupulus* (TABELA 3).

TABELA 3 – COMPOSTOS FENÓLICOS ENCONTRADOS EM *H. lupulus* L.

| COMPOSTO                   | REFERÊNCIAS  |
|----------------------------|--|
| 4-deoxycoumestrol          | (FARAG et al., 2012)   |
| <b>6-prenilnaringenina</b> | (HRNČIČ et al., 2019; ZANOLI; ZAVATTI, 2008)   |
| <b>8-prenilnaringenina</b> | (ASTRAY et al., 2020; HRNČIČ et al., 2019)   |
| Ácido 4-aminobenzóico      | (ALMEIDA et al., 2020; JELÍNEK et al., 2010)   |
| Ácido cafeíco              | (JELÍNEK et al., 2010)   |
| Ácido caóricico            | (ALMEIDA et al., 2021)   |
| Ácido cinâmico             | (JELÍNEK et al., 2010)   |
| Ácido clorogênico          | (ALMEIDA et al., 2020; JELÍNEK et al., 2010)   |
| Ácido elágico              | (ALMEIDA et al., 2021)   |
| Ácido ferúlico             | (ALMAGUER et al., 2014; ALMEIDA et al., 2021; JELÍNEK et al., 2010, 2014)                    |
| Ácido gálico               | (JELÍNEK et al., 2010)   |
| Ácido gentísico            | (ALMEIDA et al., 2021)   |
| Ácido mandélico            | (ALMEIDA et al., 2020; JELÍNEK et al., 2010)   |
| Ácido protocatecuico       | (ALMEIDA et al., 2021; JELÍNEK et al., 2010)   |
| Ácido q-anísico            | (ALMEIDA et al., 2020; JELÍNEK et al., 2010)   |
| Ácido q-cumárico           | (JELÍNEK et al., 2010)   |
| Ácido salicílico           | (ALMEIDA et al., 2020; JELÍNEK et al., 2010)   |
| Ácido siringico            | (JELÍNEK et al., 2010)   |
| Ácido vanílico             | (JELÍNEK et al., 2010)   |
| Aromadendrina              | (ALMEIDA et al., 2020; JELÍNEK et al., 2010)   |
| Astragalina                | (ALMAGUER et al., 2014; FARAG et al., 2012; KORIEEM, 2022)                                   |
| Catequina                  | (ALMAGUER et al., 2014; ARON; TING; SHELLHAMMER, 2012; JELÍNEK et al., 2010, 2014)           |
| Cumarina                   | (ALMEIDA et al., 2021)   |
| Desmetilxanthohumol        | (ASTRAY et al., 2020; FARAG et al., 2012; XU et al., 2013)                                   |
| Epicatequina               | (ALMAGUER et al., 2014; BOCQUET et al., 2018a; JELÍNEK et al., 2014)                         |
| Galocatequina              | (ASTRAY et al., 2020)  |
| Hiperina                   | (KORIEEM, 2022)  |
| Isoquercitrina             | (ALMEIDA et al., 2020; FARAG et al., 2012)   |
| <b>Isoxanthohumol</b>      | (ASTRAY et al., 2020; FORTESCHI et al., 2019; HRNČIČ et al., 2019)                           |
| Kaempferol                 | (ALMAGUER et al., 2014; ARON; TING; SHELLHAMMER, 2012; KAVALIER et al., 2014; KORIEEM, 2022) |
| Malonato de astragalina    | (FARAG et al., 2012)   |
| Malonato de Isoquercitrina | (FARAG et al., 2012)   |
| Mangaslin                  | (KORIEEM, 2022)  |
| Morina                     | (ALMEIDA et al., 2021)   |
| Naringenina                | (ALMEIDA et al., 2021)   |
| Nicotiflorina              | (KORIEEM, 2022)  |
| Procianidinas              | (KAVALIER et al., 2011)  |
| Quercetina                 | (ALMAGUER et al., 2014; ALMEIDA et al., 2020; ASTRAY et al., 2020; KAVALIER et al., 2011)    |
| Reveratrol                 | (ALMAGUER et al., 2014)  |
| Robinina                   | (KORIEEM, 2022)  |
| Rutina                     | (ALMAGUER et al., 2014; FARAG et al., 2012; KORIEEM, 2022)                                   |
| Taninos                    | (ALMAGUER et al., 2014; KORIEEM, 2022)   |
| Taxifolina                 | (ALMEIDA et al., 2020; JELÍNEK et al., 2010)   |
| Vanilina                   | (ALMEIDA et al., 2020; JELÍNEK et al., 2010)   |
| <b>Xanthohumol</b>         | (ASTRAY et al., 2020; FARAG et al., 2012; KORIEEM, 2022)                                     |

FONTE: O autor (2022).

NOTA: Compostos trabalhados neste projeto de pesquisa, destacados em negrito.

Os polifenóis mais comuns encontrados no lúpulo são os ácidos fenólicos, catequinas e glicosídeos de flavonóis. Como os glicosídeos de quercetina e

kaempferol, e procianidinas, sendo que os glicosídeos de flavonol compõem a maior parte dos polifenóis do lúpulo (KAVALIER et al., 2011). Por outro lado, de acordo com Almeida et al. (2020), os principais compostos fenólicos presentes nos extratos são os flavonoides isoquercitrina e quercetina.

Os prenilflavonoides mais importantes encontrados no lúpulo, são potentes fitoestrogênios, como 6-prenilnaringenina, 8-prenilnaringenina, xanthohumol e seu isômero isoxanthohumol (FORTESCHI et al., 2019; HRNČIČ et al., 2019) e desmetilxanthohumol (HONG et al., 2021).

O xanthohumol é o principal destes, podendo representar entre 0,1 e 1,1% do peso seco dos cones (CHADWICK; PAULI; FARNSWORTH, 2006; KEUKELEIRE et al., 2003; NAGEL et al., 2008; PATZAK et al., 2015; STEVENS; PAGE, 2004).

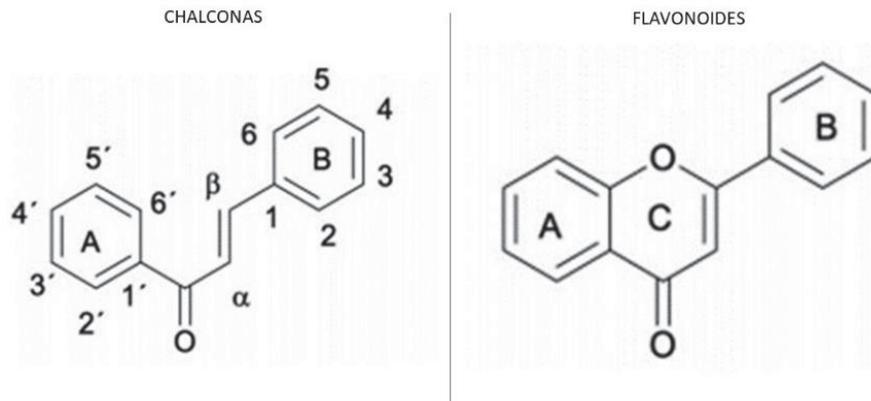
O desmetilxanthohumol, precursor do xanthohumol, é o segundo maior grupo de chalconas preniladas presentes na massa seca de cones de lúpulo, com 0,1 a 0,5% (BOCQUET et al., 2018a), enquanto a flavanona isoxanthohumol, constitui aproximadamente 0,008% e a 8-prenilnaringenina 0,002% (STEVENS; PAGE, 2004).

Ressalta-se que o xanthohumol pode ser convertido em isoxanthohumol e desmetilxanthohumol em prenilnaringeninas (6 ou 8), nos processos pós colheita e de fabricação de cerveja (STEVENS et al., 1999).

As chalconas de ocorrência natural estão presentes em plantas da família Cannabaceae. São 1,3-diaril-2-propen-1-onas e sua estrutura carrega até três porções C5-, C10- e C15-prenil (ZHOU; YANG; LI, 2021).

São cetonas aromáticas de ocorrência natural, caracterizadas por um sistema carbonílico  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturado, de 3 carbonos, que une dois anéis aromáticos C6 (BANDEIRA; MENEZES; HÉLCIO, 2018; BOCQUET et al., 2018a) (FIGURA 9), podendo se apresentar nas formas isoméricas cis e trans (ZHOU; YANG; LI, 2021) e a maioria das chalconas identificadas no lúpulo são preniladas (BOCQUET et al., 2018a).

FIGURA 9 – ESTRUTURA GERAL DAS CHALCONAS E FLAVONOIDES.



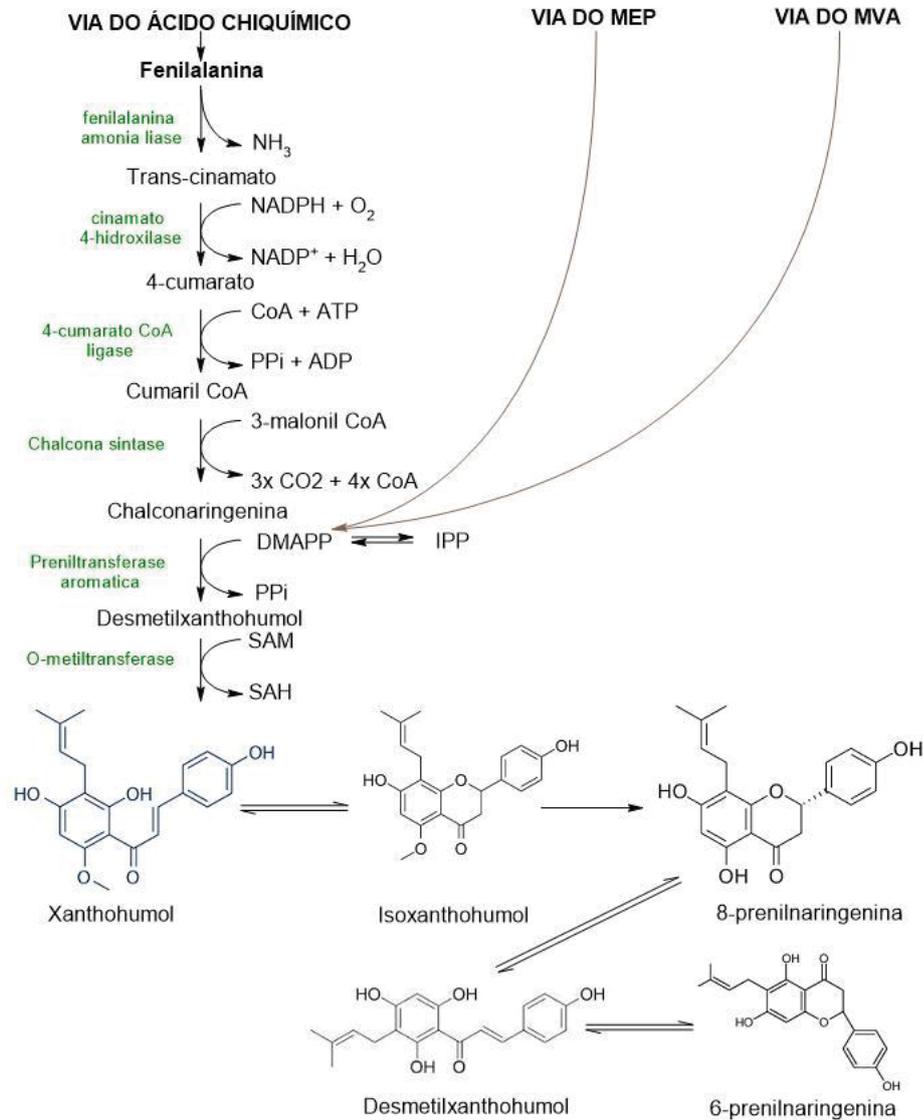
FONTE: Adaptado de (ZHOU; YANG; LI, 2021).

A maioria dos flavonoides compartilha um esqueleto com um quadro base composto por três unidades organizadas em C6-C3-C6 (FERREYRA; RIUS; CASATI, 2012), consistindo em dois anéis aromáticos A e B e um anel (dihidro) benzopirano C adjacente ao anel A (FIGURA 9) e são derivados de três malonil-CoA e um cinamoil-CoA ou p-cumaroil-CoA (ZHOU; YANG; LI, 2021).

O xanthohumol e outros terpenofenólicos são sintetizados predominantemente em tricomas peltados chamados glândulas de lupulina, sendo detectados também em outros tecidos de lúpulo, porém em teores muito mais baixos (XU et al., 2013).

Os flavonoides, como o xanthohumol, são biossintetizados através das vias do ácido chiquímico, dos complexos do ácido cinâmico e do ácido mevalônico (FIGURA 10) (LI et al., 2017).

FIGURA 10 – VIAS DE BIOSÍNTESE DE POLIFENÓIS DO LÚPULO



FONTE: Adaptado de (LI et al., 2017; NAGEL et al., 2008; WANG et al., 2008).

Os ácidos fenólicos, produtos da fenilalanina, são os precursores dos flavonoides e prenilflavonoides (KAVALIER et al., 2011, 2014). E a fenilalanina, por sua vez é produto biossintético da rota do ácido chiquímico (PERESTRELO et al., 2016).

Assim como os ácidos amargos, os prenilflavonoides são formados pela transferência de unidades de DMAPP, agrupado a uma molécula aceitadora de policetídeos, desta forma os flavonoides são sintetizados pela combinação das vias fenilpropanoides e policetídeos (WANG et al., 2008).

No processo, o aminoácido fenilalanina vai formar o precursor comum das chalconas do lúpulo, o desmetilxanthohumol, em reação com o sistema DMAPP/IPP,

oriundo das vias do MEP e MVA (FIGURA 10) (ERIKSEN et al., 2022; FERREYRA; RIUS; CASATI, 2012; KAVALIER et al., 2014; NAGEL et al., 2008; XIN et al., 2017).

O desmetilxanthohumol é precursor da maioria dos flavonoides em lúpulo, inclusive 8-prenilnaringenina e xanthohumol (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021). A partir desse quadro todos os grupos de flavonoides são formados (FERREYRA; RIUS; CASATI, 2012).

A naringenina pode ser hidroxilada para produzir polifenóis diversos como catequinas, procianidinas e flavonóis, incluindo kaempferol, quercetina e seus glicosídeos (KAVALIER et al., 2014) e a metilação do desmetilxanthohumol forma o xanthohumol (NAGEL et al., 2008).

Os teores de compostos fenólicos são sensíveis a fatores bióticos e abióticos, que também podem influenciar a época de colheita (KAVALIER et al., 2011), uma vez que seu conteúdo é dependente do número e tamanho de glândulas de lupulina nos cones, os quais são influenciados pela maturação do cone e condições climáticas (PATZAK et al., 2015).

Assim como os ácidos amargos, o conteúdo de desmetilxanthohumol e xanthohumol se acumulam em níveis baixos no início da floração e vão sendo acrescidos conforme o cone vai se desenvolvendo e amadurecendo (KAVALIER et al., 2011; KEUKELEIRE et al., 2003; NAGEL et al., 2008). O acúmulo dessas substâncias ocorre conforme os tricomas glandulares bulbosos e peltados vão se desenvolvendo em paralelo ao crescimento dos cones (KAVALIER et al., 2011).

## 2.4 MANEJO DA CULTURA

Como o lúpulo é uma planta trepadeira, para a produção comercial é necessário um suporte para apoio das plantas, exigindo uma estrutura permanente de treliças compostas por postes e arames (FIGURA 11A), para condução vertical (MARCEDDU; CARRUBBA; SARNO, 2020). Os postes deverão ter alturas de 5,0 a 8,0m. e para cada planta serão tutorados 2 a 6 caules principais por planta (BIENDL et al., 2014; ROSSINI et al., 2021).

A arquitetura da planta e esse sistema de condução conferem ao lúpulo um baixo índice de área foliar: 1,9 (KROFTA; KUERA; URBAN, 2013).

Rizomas coletados do solo, estacas caulinares (FIGURA 11B) e micropropagação de meristemas são os materiais comumente usados para

propagação (LAGOS; ZUFFELLATO-RIBAS; DESCHAMPS, 2022) visando a produção de mudas para cultivos comerciais.

Estacas de rizomas, tanto podem ser utilizadas para fazer mudas, como plantadas diretamente ao solo, estacas caulinares permitem produção de grande quantidade de mudas (ROSSINI et al., 2021), já a micropropagação tem as vantagens de produção de mudas livres de vírus e criopreservação (LAGOS; ZUFFELLATO-RIBAS; DESCHAMPS, 2022).

FIGURA 11 – ESTRUTURAS DE SUPORTE (A), PREPARAÇÃO DE ESTACAS CAULINARES DE LÚPULO (B) E SISTEMA DE FERTIRRIGAÇÃO (C).



FONTE: O autor (2019;2020;2022).

O espaçamento entre plantas é variável de acordo com a cultivar, sistema de treliça e maquinário disponível. Podendo variar de 0,6 a 1,7 metros entre plantas na linha e entre 2,5 e 4 metros entre linhas, gerando uma população de 1.700 a 4.000 plantas  $ha^{-1}$  (KOŘEN, 2007; RYBÁČEK, 1991).

Na primavera após a brotação dos rizomas, deve ser realizada uma poda, para retirar as primeiras brotações, cortando-as na base da coroa, com o objetivo de promover uma rebrota mais uniforme e eliminar eventuais inóculos de míldio - *Pseudoperonospora humuli*. Quando esses os brotos que emergirem após essa poda, atingirem 50 cm, dois a seis deles são escolhidos e tutorados em cordas, geralmente de sisal (ROSSINI et al., 2021).

Folhas inferiores podem ser removidas ao longo do ciclo para aumentar a circulação de ar na base da planta e dificultar a propagação do míldio (NEVE, 1991).

Recomenda-se a implantação de um sistema de irrigação, preferencialmente por gotejamento, pois é mais eficiente, por fornecer água diretamente onde está localizado o sistema radicular, além de permitir a aplicação de nutrientes via fertirrigação (FIGURA 11C) e evitar condições de umidade na folha que proporciona condições adequadas ao míldio (DODDS, 2017).

A maior necessidade hídrica acontece ao fim do estágio de crescimento vegetativo e início do florescimento. Frequência, tempo e intensidade da irrigação dependem do estágio da cultura, tipo de solo e condições climáticas, recomendando-se monitorar a umidade do solo a uma profundidade de ao menos 60 cm (MAPA, 2022).

## 2.5 LÚPULO E NITROGÊNIO

A fertilização é um dos fatores mais consideráveis para maximizar eficiência da colheita das plantas cultivadas (PASANDI POUR; FARAHBAKHS; TOHIDINEJAD, 2021), inclusive *H. lupulus*. Aplicações de macronutrientes afetam quantidade e composição do óleo essencial, dependendo da disponibilidade dos nutrientes no solo (SILVA et al., 2021).

O cultivo de lúpulo requer uma quantidade abundante de nutrientes para alcançar maior produtividade e qualidade de cone, pois seu cultivo é intensivo e as plantas apresentam um rápido crescimento (RODOLFI et al., 2021).

No entanto, as diretrizes de aplicação de nutrientes ainda precisam ser desenvolvidas para a produção de lúpulo em novas zonas de cultivo (ROSSINI et al., 2021). Deste modo, as indicações publicadas em outros países são atualmente as referências para cultivos nessas regiões, inclusive no Brasil.

O nitrogênio (N) é um dos macronutrientes mais importantes para o crescimento irrestrito das plantas de lúpulo (RODOLFI et al., 2021). Participa de todos os processos bioquímicos do metabolismo vegetal, faz parte de componentes energizantes e mecanismos de transferência energética (AMINI; KAFI; PARSA, 2019). É quarto elemento mais requerido pelas plantas, ficando atrás apenas do carbono, hidrogênio e oxigênio (TAIZ et al., 2017).

Tem papel na estrutura molecular de aminoácidos, proteínas, enzimas, coenzimas, ácidos nucleicos, citocromos, ATP, NADH, NADPH, além de ser elemento

chave da molécula de clorofila (MARSCHNER, 2012) e atua na formação de protoplasma (MEKONNEN; GAREDEW, 2019).

Os níveis de N afetam o crescimento das plantas e o teor de clorofila (CHRYSARGYRIS et al., 2017). A capacidade fotossintética das folhas é influenciada positivamente pelo teor de N, dada a relação desse nutriente com enzimas chave do ciclo de Calvin e os tilacóides representam a maioria do N foliar (PASANDI POUR; FARAHBAKHS; TOHIDINEJAD, 2021).

Aplicações de N promovem aumento na altura das plantas, diâmetro, número e rendimento de flores (GANDOMI et al., 2021). Ao contribuir para a rápida conversão de carboidratos sintetizados em proteínas, aumenta o número de células em crescimento (MARSCHNER, 2012) e aumenta o tamanho e número de células meristemáticas, levando à formação de novas brotações e também à expansão foliar, repercutindo em um aumento geral das plantas (LAWLOR, 2002).

Este nutriente exerce papel importante na produção de metabólitos primários, essenciais para a produção de metabólitos secundários. Pois, ao aumentar a taxa de fotossíntese fornece o C necessário para a biossíntese dos compostos terpenóides (GANDOMI et al., 2021).

Plantas de lúpulo retiram do solo uma quantidade de N de aproximadamente 3% de sua massa seca, sendo importante no crescimento vertical (ramos principais) e lateral (ramos secundários) da planta (DODDS, 2017).

Embora o N não faça parte da estrutura molecular dos óleos essenciais, a aplicação desse nutriente tem potencial de contribuir para o aumento da produção de óleo essencial por plantas, dado o seu efeito de aumentar o crescimento das plantas e por consequência a massa seca (CHRYSARGYRIS et al., 2017; HAZRATI; KHURIZADEH; SADEGHI, 2022; KRÓL et al., 2020). Como o aumento da clorofila ocasiona aumento na capacidade fotossintética da planta, amplia a assimilação de CO<sub>2</sub>, convertendo em produção de biomassa vegetal (TAIZ et al., 2017).

É essencial para a atividade da enzima terpeno sintase (BUSTAMANTE et al., 2020) que converte compostos intermediários em terpenos e é parte componente dos aminoácidos, que dentre outras funções, desempenham um importante papel na biossíntese de compostos, que são constituintes dos óleos essenciais (OMER et al., 2014).

Além disso o N exerce papel na síntese das enzimas PEPCase e Rubisco, fundamentais na fixação do carbono atmosférico no processo da fotossíntese (MARSCHNER, 2012).

Por outro lado, o N quando disponibilizado em taxas elevadas, causa uma diminuição na atividade da enzima PEP (fosfoenolpiruvato) e RuBisCo (ribulose-1,5-bifosfato carboxilase) (GREEF, 1994) resultando em menor taxa de fotossíntese.

A eficiência do uso de N depende tanto da sua disponibilidade no solo, como também da disponibilidade de água (LIAN et al., 2020). Caso o solo seja rico em N orgânico e biomassa microbiana, o alto rendimento poderá ser atingido com pouca quantidade ou sem aplicação (HAZRATI; KHURIZADEH; SADEGHI, 2022).

As respostas à adubação nitrogenada nas plantas também sofrem influência da capacidade de cada espécie vegetal em assimilar N como amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), ureia e aminoácidos, além do N atmosférico via associações simbióticas (HAN et al., 2015).

O N pode ser absorvido na forma de amônio ou nitrato (MARSCHNER, 2012). Quando absorvido na forma de nitrato, é reduzido a nitrito no citosol pela ação da enzima nitrato da redutase. O nitrito por sua vez, no plastídio (raiz) ou no cloroplasto (folha) é reduzido a amônio pela ação da redutase do nitrito, tendo a ferredoxina como fonte de redutor (BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2000).

O amônio (reduzido a partir do nitrato ou diretamente absorvido dessa forma) juntamente com ATP e glutamato é convertido a glutamina, e na sequência por ação da enzima GOGAT (ferredoxina como redutor), passa a formar duas moléculas de glutamato, que podem ser utilizadas para a síntese da glutamina, retornando ao ciclo (MASCLAUX-DAUBRESSE et al., 2010).

O glutamato também faz parte das reações de transaminação, participando assim da síntese dos aminoácidos que uma vez formados darão origem as proteínas, coenzimas e demais compostos nitrogenados fundamentais para o desenvolvimento vegetativo (MASCLAUX-DAUBRESSE et al., 2010).

A glutamina também está envolvida na biossíntese de clorofila, em sua primeira etapa, quando esse aminoácido é convertido em ácido 5-aminolevulínico (ALA), a qual duas moléculas dão origem ao ácido porfobilinogênio (PBG), que forma os anéis pirólicos da clorofila (TAIZ et al., 2017). Assim o N, tem papel direto na síntese de clorofila.

Os principais transportadores de N nas plantas são o glutamato, a glutamina, o aspartato e a asparagina, que também atuam como as principais fontes de N acumulado nas folhas e outros tecidos vegetais (HILDEBRANDT et al., 2015).

Transaminases, catalisam o processo de transferência de amina do glutamato para 2-oxo, precursor de vários aminoácidos, dentre estes valina e fenilalanina (WALKER; VAN DER DONK, 2016), que sua vez são precursoras da síntese de fenilpropanoides, chalconas e flavanonas (LI et al., 2017).

A ureia é uma das principais formas de disponibilização de N para as plantas (LIMA et al., 2020). Ao ser aplicado ao solo na forma de ureia, o N após a ação de micro-organismos, é absorvido pela planta tanto na forma de amônio, como na forma de nitrato (WITTE, 2011).

A forma de absorção do N (nitrato ou amônio), é modulada pela presença de carregadores específicos, pela afinidade destes carregadores em relação ao nitrato ou amônio e pela quantidade de N presente no solo (BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2000). O amônio é a forma preferida de absorção pela planta, por já estar biodisponível, não demandando conversão enzimática, como o nitrato (JACQUOT et al., 2017).

A absorção de N é mediada por carregadores de baixa afinidade (LATS) e por carregadores de alta afinidade (HATS). Quando a oferta de N é alta, a absorção ocorre pela ação dos LATS, já os HATS entram em ação quando há baixa concentração externa de N. No caso do nitrato quando a concentração disponível está abaixo de  $100 \mu\text{mol l}^{-1}$  o transporte ocorre via HATS. Já no caso do amônio, a absorção é mediada pelo HATS, quando a concentração é inferior a  $1.000 \mu\text{mol l}^{-1}$  (BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2000).

Quando o nitrato é abundante, o NRT1.1 (codificador de um transportador de nitrato radicular de dupla afinidade) é desfosforilado e atua como transportador de baixa afinidade. Quando a concentração de nitrato cai, o NRT1.1 torna-se fosforilado, o que desacopla o dímero NRT1.1. Como resultado, o transportador ganha maior flexibilidade estrutural e atividade de absorção, funcionando como um transportador de alta afinidade (JACQUOT et al., 2017).

Como em solo cultivados o N é mais abundante na forma de nitrato, embora há menor gasto energético quando o N é absorvido na forma de amônio, por conta da afinidade dos carregadores a forma primordial de absorção de N do solo é na forma de nitrato (LIU et al., 2019).

Esse nutriente normalmente é fornecido na primavera, em quantidades variando entre 150 e 225 kg N ha<sup>-1</sup>, dependendo do teor de matéria orgânica do solo (RODOLFI et al., 2021), em cultivos realizados em regiões de clima temperado.

Diretrizes para aplicação de nutrientes, dentre estes o N, ainda precisam ser desenvolvidas para a produção de lúpulo em novas zonas de cultivo (ROSSINI et al., 2021).

N em quantidades adequadas, é essencial no período de crescimento vertical e lateral da planta de lúpulo, sendo indesejável durante a maturação dos cones e período pré-dormência (KEMME, 2016).

Assim, aplicações de N devem ser evitadas após a fase de florescimento, pois pode resultar em crescimento vegetativo indesejado no momento de formação dos cones e acúmulo de nitrato nessa estrutura (DODDS, 2017).

Havendo carência de N, a planta de lúpulo reage com queda acentuada no rendimento de cones (BIENDL et. al., 2014). Os sintomas de deficiência de N no lúpulo são expressos por folhas pálidas e/ou amareladas e reduzida taxa de crescimento da cultura (DODDS, 2017).

Por outro lado, o excesso de N pode ser prejudicial para o lúpulo. Ocasiona grande crescimento foliar, aumentando a susceptibilidade às pragas e doenças, como a murcha por *Verticillium sp.* Além de reduzir a qualidade final do lúpulo, devido a elevados teores de nitrato nos cones (BIENDL et al., 2014) e pela indução do crescimento de estruturas foliares no cone, ocasionando um sintoma característico, chamado asas de anjo (FIGURA 12), o qual diminui a qualidade dos cones (SENSKE, 2020).

FIGURA 12 – SINTOMA DE EXCESSO DE NITROGÊNIO EM CONES DE LÚPULO.



FONTE: O Autor (2021).

## 2.6 CULTIVARES

As cultivares comerciais inicialmente foram desenvolvidas a partir da seleção de plantas de populações selvagens naturais, com crescimento mais rápido, mais resistentes e com bom rendimento de cones (SAWICKA et al., 2021) e a maioria das cultivares de lúpulo de mercado são de origem híbrida (KROFTA, 2003).

As características exigidas de uma boa cultivar são resistência a doenças fúngicas, boa produtividade e conteúdo de  $\alpha$ -ácidos, além de boa capacidade de armazenamento, com resistência à perda de compostos voláteis (NESVADBA et al., 2020).

Outras características desejadas são que o genótipo tenha estágio vegetativo mais curto e estágio reprodutivo mais longo, visando a maior produção de cones ricos em metabólitos secundários (MARCEDDU; CARRUBBA; SARNO, 2020) e que ocorra brotação mais precoce (RUGGERI; LORETI; ROSSINI, 2018). Espera-se também que um bom genótipo proporcione plantas com crescimento mais rápido e com bom rendimento de cones (SAWICKA et al., 2021).

De acordo com a Convenção Internacional de Produtores de Lúpulo (IHGC, 2022b), foram produzidas na safra 2021/2022, 309 diferentes cultivares, considerando os 23 países membros dessa organização, sendo: 70 apresentados como lúpulo amargo e 239 como lúpulo de aroma (TABELA 4).

As cultivares de lúpulo são classificadas em categoria, conforme seus teores de ácidos amargos, porém há divergência entre os autores acerca da forma e nomenclatura da classificação.

Apesar de alguns autores, como Sawicka et al. (2021), indicarem que as cultivares de lúpulo são classificadas em três categorias com base em seu uso na fabricação de cerveja: aromáticas, amargas e de duplo propósito, a IHGC em seu relatório anual classifica as cultivares apenas como aromáticas ou amargas (TABELA 4).

Por outro lado, os fabricantes de cervejas classificam as cultivares de lúpulo com base nos teores de  $\alpha$ -ácido em amargo ( $>7\%$ ) e aromáticos ( $<7\%$ ) (KAO; WU, 2013). De acordo com Shellie et al. (2009) as cultivares, são tradicionalmente classificadas como de aroma,  $\alpha$ -ácido intermediário e  $\alpha$ -ácido elevado.

De acordo com Krofta (2003) o teor de  $\alpha$ -ácidos na cultivares consideradas amargas, também chamadas de dupla finalidade, estão na faixa de 7 a 10% m/m e

superior a 10% m/m em lúpulos de  $\alpha$ -ácido elevado. As cultivares também podem ser classificadas como lúpulo aromático, lúpulo amargo e outras cultivares, conforme a quantidade de ácidos amargos e quantidade e composição química do óleo essencial (FORTESCHI et al., 2019).

As cultivares de aroma podem ser divididas em dois subgrupos, aroma (clássico) e aroma fino (LEONARDI et al., 2013).

Os principais países de origem das cultivares mais difundidas entre os principais países produtores de lúpulo que compõem a IHGC, são Estados Unidos, Alemanha e Inglaterra.

As cultivares de aroma produzidas no maior número de países são Cascade, Chinook e Perle, enquanto as de amargor são Hallertauer Magnum, Nugget e Columbus, com predominância às cultivares de aroma (TABELA 4).

TABELA 4 – CULTIVARES UTILIZADAS PELOS PAÍSES MEMBROS DO IHGC 2021/2022.

| CULTIVAR                 | ORIGEM          | APTIDÃO | PAÍSES |
|--------------------------|-----------------|---------|--------|
| Cascade                  | Estados Unidos  | Aroma   | 18     |
| Hallertauer Magnum       | Alemanha        | Amargor | 11     |
| Chinook                  | Estados Unidos  | Aroma   | 10     |
| Perle                    | Alemanha        | Aroma   | 10     |
| Nugget                   | Estados Unidos  | Amargor | 10     |
| Hallertauer Tradition    | Alemanha        | Aroma   | 09     |
| Brewer's Gold            | Inglaterra      | Aroma   | 7      |
| Fuggle                   | Inglaterra      | Aroma   | 7      |
| Saaz                     | Republica Checa | Aroma   | 7      |
| Northern Brewer          | Inglaterra      | Aroma   | 6      |
| Sorachi Ace              | Japão           | Aroma   | 6      |
| Tettnanger               | Alemanha        | Aroma   | 6      |
| Willamette               | Estados Unidos  | Aroma   | 6      |
| Columbus                 | Estados Unidos  | Amargor | 6      |
| Centennial               | Estados Unidos  | Aroma   | 5      |
| Comet                    | Estados Unidos  | Aroma   | 5      |
| Golding                  | Inglaterra      | Aroma   | 5      |
| Hallertauer Mittelfrüher | Alemanha        | Aroma   | 5      |
| Savinjski Golding        | Eslovênia       | Aroma   | 5      |
| Spalter Select           | Alemanha        | Aroma   | 5      |
| CTZ                      | Estados Unidos  | Amargor | 5      |

FONTE: O autor (2022)

Por outro lado, de acordo com Rossini et al. (2021), as variedades de aroma mais cultivadas são Citra, Mosaic, Perle, Hallertauer Tradition e Saaz, enquanto as de amargor são Hercules, Hallertauer Magnum, Pahto e CTZ.

Diferenças na composição química do lúpulo em diferentes cultivares conferem características distintas de sabor e aroma à cerveja (SARTORI et al., 2022), no entanto a maioria das cultivares europeias são semelhantes entre si, geneticamente, morfológicamente e ecologicamente. Por exemplo Fuggle,

Hallertauer, Saaz, Spalter e Tettninger, possuem perfil genético muito similar (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021).

A diferença entre os perfis de aroma dos diferentes cultivares são devidas às variações na composição dos óleos essenciais (PISTELLI et al., 2018).

A quantidade de óleo essencial e as proporções das frações individuais diferem conforme a cultivar de lúpulo. Por exemplo, a quantidade e composição de óxidos, epóxidos e álcoois na fração sesquiterpenos variam entre as cultivares de lúpulo (SAWICKA et al., 2021). Inclusive perfis dos componentes do OEL podem ser empregados para identificar cultivares (PATZAK et al., 2010; SALANȚĂ et al., 2016).

A composição do óleo essencial é característica do genótipo de lúpulo e, juntamente com a composição de ácidos amargos e flavonoides, tem sido usada para distinguir diferentes cultivares de lúpulo (WANG et al., 2008).

Dentre as cultivares mais difundidas entre os principais países produtores de lúpulo, as de maior potencial produtivo são a CTZ, seguida por Chinook, Nugget, Brewer's Gold, Columbus e Comet. As de menor potencial são a cultivar checa Saaz e a cultivar japonesa Sorachi Ace.

Os maiores teores de  $\alpha$ -ácidos são encontrados nas cultivares amargas Columbus e CTZ e os menores nas cultivares de aroma Saaz, Golding e Hallertauer Mittelfrüher, enquanto os maiores valores de  $\beta$ -ácidos estão nas cultivares Cascade e Sorachi Ace e os menores nas cultivares Fuggle, Tettninger e Golding.

As cultivares Sorachi Ace, Columbus, Comet e CTZ possuem maior potencial de produção de OE, enquanto o menor potencial foi observado nas cultivares Perle, Fuggle, Tettninger, Golding, Savinjski Golding e Spalter Select (TABELA 5).

TABELA 5 – CARACTERÍSTICAS DAS PRINCIPAIS CULTIVARES DE *H. lupulus* L.

| CULTIVAR                 | RENDIMENTO<br>Kg ha <sup>-1</sup> | α-ÁCIDOS<br>% m m <sup>-1</sup> | B-ÁCIDOS<br>% m m <sup>-1</sup> | ÓLEO ESSENCIAL<br>% m m <sup>-1</sup> |
|--------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|
| Cascade                  | 1.800-2.250                       | 5,6-8,8                         | 6,4-7,3                         | 0,6-1,9                               |
| Hallertauer Magnum       | 2.000                             | 11,0-16,0                       | 5,0-7,0                         | 1,6-2,6                               |
| Chinook                  | 2.100-2.400                       | 12,2-15,3                       | 3,4-3,7                         | 1,0-2,5                               |
| Perle                    | 1.300-1.700                       | 5,9-8,0                         | 3,1-3,6                         | 0,7-0,9                               |
| Nugget                   | 2.100-2.400                       | 13,5-15,5                       | 4,4-4,8                         | 1,4-3,0                               |
| Hallertauer Tradition    | 1.850                             | 4,6-7,0                         | 4,0-5,0                         | 0,9-1,9                               |
| Brewer's Gold            | 1.760-2.400                       | 4,5-6,5                         | 2,5-3,5                         | 0,8-1,8                               |
| Fuggle                   | 1.200-1.500                       | 3,6-5,6                         | 1,7-2,9                         | 0,7-1,2                               |
| Saaz                     | 1.000                             | 2,5-4,5                         | 4,0-6,0                         | 0,4-0,8                               |
| Northern Brewer          | 1.800-2.000                       | 7,4-9,9                         | 4,6-5,6                         | 1,1-2,0                               |
| Sorachi Ace              | 1.150-1.600                       | 11,7-15,0                       | 6,4-7,3                         | 2,0-2,7                               |
| Tettnanger               | 1.000-1.500                       | 3,9-6,3                         | 2,0-3,6                         | 0,4-0,8                               |
| Willamette               | 1.600-1.800                       | 4,6-6,0                         | 3,6-4,2                         | 0,6-1,6                               |
| Columbus                 | 2.000-2.500                       | 14,5-16,5                       | 4,0-5,0                         | 2,0-3,0                               |
| Centennial               | 1.700-2.000                       | 8,2-10,9                        | 3,5-4,4                         | 1,0-2,0                               |
| Comet                    | 2.000-2.400                       | 9,0-11,0                        | 4,0-6,1                         | 1,4-3,3                               |
| Golding                  | 1.100-1.600                       | 3,2-5,2                         | 1,4-2,5                         | 0,4-1,0                               |
| Hallertauer Mittelfrüher | 1.250                             | 3,5-4,5                         | 3,5-4,5                         | 0,6-1,2                               |
| Savinjski Golding        | 1.150-1.500                       | 4,5-6,0                         | 2,5-3,5                         | 0,5-1,0                               |
| Spalter Select           | 1.750-2.000                       | 2,5-5,5                         | 3,0-5,0                         | 0,5-0,9                               |
| CTZ                      | 2.800-3.249                       | 14,5-16,5                       | 4,0-5,0                         | 2,0-3,0                               |

FONTE: Adaptada de BSG (2022), HOPLIST (2022), USA HOPS (2016); YAKIMA CHIEF (2013, 2022).

O lúpulo Cascade cultivado no Brasil parece ser uma matéria-prima de alta qualidade com potencial significativo para futuras aplicações industriais (ALMEIDA et al., 2020).

As cultivares Cascade e Chinook, são consideradas de boa resiliência e adaptabilidade (SIEGLE; SCOGGINS, 2019).

Historicamente, o processo de melhoramento genético do lúpulo foi baseado em cultivares europeias (Fuggle, Golding, Saaz, Tettnanger e Hallertauer Mittelfrüher) por estas fornecerem as qualidades de sabor preferidas pelos cervejeiros (PATZAK et al., 2010).

A melhoria dos cultivares concentrou-se em características agrônômicas desejáveis, como maior resistência a pragas e doenças e a modificação de constituintes químicos de interesse para a fabricação de cerveja (TOWNSEND; HENNING, 2009).

## 2.7 ASPECTOS ECONÔMICOS DA CULTURA

O lúpulo é usado principalmente para a produção de cerveja, bebida amplamente consumida em todo o mundo, portanto, a produção de lúpulo atende principalmente às exigências da indústria cervejeira (SAWICKA et al., 2021).

No Brasil a receita global no segmento cervejeiro foi de US\$ 26,62 bilhões em 2022, com perspectiva de crescimento de 13,36% até 2025, sendo o terceiro maior mercado mundial do setor, estando abaixo apenas da China e dos EUA (STATISTA, 2022).

A maior parte das cervejarias brasileiras é altamente concentrada nas regiões Sul e Sudeste (FIGURA 13): com 85,8% do total. Em 2021, o número de fábricas de cerveja registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA atingiu 1.549, representando um aumento de 12,0% em relação ao ano anterior, quando havia 1.383 cervejarias registradas. Sendo que 10 anos atrás existiam apenas 129.

O Estado do Paraná é o quinto em número de cervejarias, com 158 registradas, com um aumento médio anual de 24,8% desde 2017 e 56 municípios deste Estado, possuem pelo menos uma cervejaria. A cidade de Curitiba-PR é a terceira cidade do Brasil com mais cervejarias, com 25 (MAPA, 2021).

FIGURA 13 – CONCENTRAÇÃO DE CERVEJARIAS NO BRASIL.



FONTE: Modificada de (MAPA, 2021)

Água, malte, lúpulo e levedura são os quatro principais ingredientes utilizados na produção desta bebida fermentada (GASIŃSKI et al., 2022). O lúpulo é um componente utilizado em pequena quantidade na cerveja, porém é de extrema importância, pois suas resinas conferem amargor, seu óleo essencial o aroma sofisticado que complementa o sabor final (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021), seus taninos clarificam e aumentam a durabilidade da espuma da cerveja (SAWICKA et al., 2021) e exerce efeito conservante (PATZAK et al., 2010).

O lúpulo é valorizado por seus metabólitos secundários, incluindo ácidos amargos, flavonoides, óleos e polifenóis, que conferem aroma e sabor à cerveja (ERIKSEN et al., 2021), sendo utilizado há séculos como ingrediente ativo dessa bebida (FORTESCHI et al., 2019).

Além disso, possui atividades biológicas notáveis, como antibacteriana, antioxidante e antitumoral, sendo assim também utilizado em finalidades medicinais (LIN et al., 2019) com uma ampla gama de efeitos para a saúde, como efeitos anticancerígenos, analgésicos, sedativos e anti-inflamatórios (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

O comércio global de lúpulo no ano de 2020, alcançou aproximadamente US\$ 1.140 milhões, com produção em escala comercial abrangendo a América do Norte, Europa, Leste da Ásia e Austrália/Nova Zelândia (FAOSTAT, 2020).

A área mundial de cultivo de lúpulo no ano de 2022 alcançou 61.575 ha, proporcionando uma produção total de 113.400 toneladas de cones secos (IHGC, 2022a).

Os principais países produtores são Estados Unidos e Alemanha com produção anual total bem acima dos demais países. Na sequência estão República Checa, China, Polônia e Eslovênia (TABELA 6). A Argentina, com produção anual de 325 toneladas de lúpulo, é o único país sul-americano que aparece na lista da Convenção Internacional de Produtores de Lúpulo, que organiza anualmente um quadro estatístico com a produção mundial (IHGC, 2022a).

A produção majoritária de lúpulo dos Estados Unidos é focada em cultivares aromáticos, ao passo que seu principal concorrente a Alemanha, prioriza lúpulos amargos, assim como a China (TABELA 6).

TABELA 6 – PRINCIPAIS PAÍSES PRODUTORES DE LÚPULO, POR ÁREA (ha) E PRODUÇÃO DE CONES (t), NO ANO DE 2022.

| PAÍS           | ÁREA DE PRODUÇÃO (ha) |        |        | PRODUÇÃO (t.) |        |        |
|----------------|-----------------------|--------|--------|---------------|--------|--------|
|                | AROMA                 | AMARGO | TOTAL  | AROMA         | AMARGO | TOTAL  |
| Estados Unidos | 19.951                | 4.288  | 24.239 | 38.862        | 10.976 | 49.838 |
| Alemanha       | 10.551                | 9.557  | 20.109 | 16.130        | 19.720 | 35.850 |
| China          | 467                   | 2.067  | 2.480  | 900           | 5.800  | 6.700  |
| R. Checa       | 4.651                 | 56     | 4.707  | 5.880         | 120    | 6.000  |
| Polônia        | 551                   | 1.175  | 1.726  | 855           | 2.350  | 3.205  |
| Eslovênia      | 1.455                 | 25     | 1.480  | 2.400         | 100    | 2.500  |
| Austrália      | 678                   | 109    | 787    | 1.659         | 165    | 1.824  |
| N. Zelândia    | 598                   | 145    | 743    | 1.000         | 250    | 1.250  |
| França         | 451                   | 53     | 504    | 722           | 82     | 804    |
| Grã-Bretanha   | 507                   | 139    | 646    | 608           | 180    | 788    |

FONTE: Adaptado de IHGC (2022a)

As áreas cultivadas lúpulo devem aumentar, associadas a uma priorização de cultivares aromáticas ricas em óleos essenciais no lugar de cultivares de amargor (BOCQUET et al., 2018a).

Uma característica do cultivo dessa espécie, em alguns países, é a concentração de áreas de produção em regiões específicas, como o lúpulo cultivado na Bavária (Alemanha) ou nos vales dos rios dos Estados Unidos (SAWICKA et al., 2021).

Nos anos 1860, no Rio Grande do Sul, o Barão Von Steinberg, introduziu no país cerca de 150 plantas e posteriormente, em 1871, outras mudas foram enviadas e distribuídas na região de Nova Friburgo e Minas Gerais.

Hoje a cultura está espalhada em 11 Estados brasileiros, principalmente em Santa Catarina, Rio Grande do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Paraná (MAPA, 2022). Segundo a APROLUPULO (Associação Brasileira de Produtores de Lúpulo), em levantamento realizado no ano de 2021, há no Brasil 107 produtores de lúpulo, distribuídos nesses 11 Estados. A área total cultivada é de cerca de 40 ha e 80% dos produtores planejam aumentar a área de cultivo (APROLÚPULO, 2022).

Atualmente o Brasil conta com 17 viveiros cadastrados no MAPA, para produzir e comercializar mudas, sendo 4 no Rio Grande do Sul, 4 em São Paulo, 3 no Rio de Janeiro, 2 em Santa Catarina e 1 no Paraná, Minas Gerais, Bahia e Rio Grande do Norte (MAPA, 2022).

## 2.8 USOS DA CULTURA

Embora o lúpulo continue sendo o principal ingrediente para fornecer o sabor, estabilidade e proteção antimicrobiana da cerveja, eles também encontraram aplicações nas indústrias farmacêutica e de outros alimentos (HRNČIČ et al., 2019).

### 2.8.1 Indústria Cervejeira

Faz mais de 1 milênio que o lúpulo é utilizado como ingrediente da cerveja (KOPP, 2014), sendo essa sua finalidade mais difundida. Atualmente de 98% do lúpulo cultivado é utilizado pela indústria cervejeira (ALMAGUER et al., 2014; KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021), sendo considerada a matéria-prima mais complexa e cara utilizada nesse processo (DUARTE et al., 2020).

A contribuição do lúpulo para a característica final da cerveja está relacionada com a composição química da resina e dos óleos essenciais inerentes à cada cultivar e ao efeito das condições ambientais do local de cultivo (FORTESCHI et al., 2019). Quanto ao teor de lúpulo na bebida, este varia dependendo do tipo de cerveja (nível de amargo) e do lúpulo utilizado (SAWICKA et al., 2021).

A lupulina encontrada nos cones é fonte de metabólitos secundários utilizados no processo de produção de cerveja: resinas, óleos essenciais e polifenóis, em especial taninos (ERIKSEN et al., 2021; SAWICKA et al., 2021; STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015). Embora o lúpulo seja utilizado como componente menor na receita das cervejas em termos de quantidade, seu impacto na qualidade e propriedades organolépticas da bebida é grande (BOCQUET et al., 2018a; NAGYBÁKAY et al., 2021).

A maioria dos compostos do lúpulo, principalmente os presentes no OEL, não estão presentes na cerveja, devido ao processo de fabricação, que expõem esses componentes as reações de oxidação, hidrólise, transesterificação e redução, durante a fervura e fermentação. Assim, o aroma do lúpulo na cerveja é diferente do aroma do lúpulo fresco (PERPÈTE et al., 1998).

O valor cervejeiro do lúpulo é afetado principalmente pelo conteúdo e composição  $\alpha$ -ácidos e óleos essenciais (MOZZON; FOLIGNI; MANNOZZI, 2020). Estes compostos conferem plenitude, sabor, amargor, aroma (INUI et al., 2013; KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021) e adstringência (COLLIN et al., 2013) à cerveja.

Também contribuem para a estabilidade da bebida (MARCEDDU; CARRUBBA; SARNO, 2020), em especial da espuma (BOCQUET et al., 2018a), reduzem os efeitos da oxidação na bebida (KAVALIER et al., 2011) e atuam na clarificação da bebida (MOZZON; FOLIGNI; MANNOZZI, 2020) atuando com agente redutor da turbidez na produção e armazenamento da cerveja (KAVALIER et al., 2011), além de exercer papel conservante conferindo estabilidade microbiológica (ALMAGUER et al., 2014; MORCOL; MATTHEWS; KENNELLY, 2021).

Porém como o moderno processo industrial de fabricação de cervejas requer pasteurização, essa função conservante, outrora importante, tornou-se irrelevante (ROSSINI et al., 2021). Essa função é exercida apenas no caso de eventual contaminação após o processamento da cerveja feita em escala artesanal, especialmente por *Staphylococcus aureus* (HRNČIČ et al., 2019).

O lúpulo normalmente é adicionado ao mosto durante a fervura, para extrair seu amargor e permitir a isomerização química dos  $\alpha$ -ácidos em iso-alfa-ácidos, que são mais amargos (EYRES; DUFOUR, 2009).

As resinas conferem amargor e o óleo essencial o aroma (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021; TYŚKIEWICZ et al., 2018), variáveis conforme as características de cada cultivar de lúpulo, as quais tem relevante papel na definição da característica específica de cada tipo de cerveja (MONGELLI et al., 2015).

As resinas do lúpulo podem ser divididas em resinas moles e duras. As moles são mais importantes que as duras no processo de fabricação de cerveja e consistem nos  $\alpha$  e  $\beta$ -ácidos, pois o amargor da cerveja é conferido pelos  $\alpha$ -ácidos e pelos iso-alfa-ácidos, que também possuem propriedades bacteriostáticas importantes durante o processo de fervura do mosto (MORCOL et al., 2020; ROSSINI et al., 2021).

Os  $\alpha$ -ácidos ao serem isomerizados em iso-alfa-ácidos durante o processo de fervura, são mais solúveis em água e transferem o amargor ao mosto (DIETZ et al., 2020). Ressaltando-se que o efeito de produzir amargor na cerveja é o principal objetivo da adição do lúpulo no processo de fabricação da cerveja (LAFONTAINE et al., 2019).

Deste modo, para a indústria cervejeira os componentes do lúpulo mais importantes são os  $\alpha$ -ácidos, considerando que os  $\beta$ -ácidos são insolúveis, mesmo no processo de fervura (MCCALLUM et al., 2019), não passam por isomerização e são destruídos no processo de fabricação da cerveja (KORPELAINEN; PIETILÄINEN,

2021). Além disso, as resinas duras não possuem valor significativo nesse processo (SAWICKA et al., 2021).

Por muito tempo, a principal característica do lúpulo procurada pelos cervejeiros é o seu amargor, porém, nos últimos anos tem aumentado a demanda por cervejas com aroma e sabor mais marcantes. Por outro lado, as cultivares de aroma apresentam menor rendimento e elevada susceptibilidade a patógenos (ROSSINI et al., 2021). Essa característica é conferida à bebida pelo perfil de óleos essenciais presentes no lúpulo (SAWICKA et al., 2021).

Os taninos são os responsáveis por clarificar e aumentar a durabilidade da espuma (ASTRAY et al., 2020).

Para os cervejeiros os indicadores de qualidade mais importantes da cerveja, são: relação humuleno e cariofileno (H:C), presentes nos OEL, a relação  $\alpha$  e  $\beta$  ácidos e o teor de cohumulona (KILLEEN et al., 2016), fração do  $\alpha$ -ácido responsável pelo amargor na cerveja (FORTESCHI et al., 2019).

Embora o mirceno constituam parcela significativa do OEL, e seja importante para conferir odor ao lúpulo fresco (EYRES; DUFOUR, 2009; KOŠIR; OCVIRK, 2020) este composto pouco contribui diretamente para o sabor e aroma da cerveja (LAFONTAINE et al., 2019) devido as perdas por evaporação no processo de fervura do mosto (ABERL; COELHAN, 2012), a qual ocorre devido a este composto ser altamente volátil (FORSTER; GAHR, 2013).

Assim, o mirceno tem potencialidade de conferir aroma, apenas a partir da técnica de dry-hopping<sup>1</sup> (MONGELLI et al., 2015). No entanto o mirceno é relatado como o precursor de outras substâncias que tem grande impacto no aroma da cerveja, como o linalol, geranil e p-cimeno, a partir de reações oxidativas e poliméricas (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018).

Os monoterpenos são pouco solúveis em água, deste modo, sua contribuição para o aroma da cerveja é baixa (BARTH, 2013). O sesquiterpeno cariofileno, também pouco contribui por ter baixa solubilidade, ao passo que o humuleno possui maior importância, por conferir aroma picante ao lúpulo (VAN OPSTAELE et al., 2012) e

---

<sup>1</sup> Dry-hopping é uma técnica de produção de cerveja onde cones de lúpulo inteiros, moídos ou em forma de pellets são adicionados ao mosto fervido, após seu resfriamento, com o objetivo de transferir à cerveja componentes de aroma e sabor do lúpulo, com níveis mais baixos de perdas, devido a não haver evaporação e transformações químicas reduzidas, por não ocorrer carga térmica e menor influência do fermento (FORSTER; GAHR, 2013).

devido a sua oxidação durante a fervura do mosto gerar epóxidos que atuam na formação do aroma da cerveja (PRAET et al., 2016).

Por vezes os teores de humuleno e cariofileno encontrados na cerveja, estão abaixo do limiar gustativo (VAN OPSTAELE et al., 2012). O sabor atribuído aos sesquiterpenos em geral é picante, amadeirado ou herbal (DIETZ et al., 2020).

Dentre os compostos de OEL, a maior contribuição para o aroma da cerveja é oriunda dos álcoois monoterpenos e produtos de oxidação de mono e sesquiterpenos (STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015), pois de um modo geral, a fração de oxigênio é mais solúvel em água que os hidrocarbonetos; portanto, o impacto dos compostos oxigenados no aroma da cerveja é maior (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

Assim, o linalol e o geraniol são considerados compostos chave no processo de contribuir com o sabor lupulado e aroma da cerveja, atribuindo notas florais e cítricas (ALMAGUER et al., 2014; RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018; VAN OPSTAELE et al., 2012).

O linalol está presente em praticamente todos os cultivares e é um dos principais componentes para o aroma do lúpulo (RAUT et al., 2020), sendo considerado o composto mais aromático no OEL (LIU; WANG; LIU, 2018). Por outro lado, o geraniol tem presença facultativa conforme o cultivar (TAKOI et al., 2010) e também pode ser produto da oxidação do mirceno durante o armazenamento (RAUT et al., 2020).

Outro álcool monoterpeneo que atua na composição do aroma da cerveja é o citrionelol, porém com importância menor que linalol e geraniol (HASLBECK et al., 2018).

Embora os compostos de enxofre sejam encontrados apenas em pequenas quantidades no óleo de lúpulo, seu impacto no aroma do lúpulo e da cerveja é considerável. Estes compostos quando presentes acima de determinados limites são indesejáveis, por terem efeito prejudicial no aroma da cerveja (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

Por exemplo, o tiol volátil, 4-mercapto-4-metilpentan-2-ona, é responsável por sabores que lembram frutas tropicais, groselha ou maracujá na cerveja (ERIKSEN et al., 2021) e quando excede o limiar confere à cerveja odor de urina de gato (DIETZ et al., 2020; RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021), mofo ou cebola (ALMAGUER et al., 2014), comprometendo a qualidade do produto.

Aldeídos como o hexanal, são responsáveis pelo aroma verde da cerveja (DIETZ et al., 2020; KISHIMOTO et al., 2006).

Cones não fertilizados, são preferidos na fabricação de cerveja porque os ácidos graxos das sementes podem conferir sabores indesejados às cervejas (KAVALIER et al., 2011; KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021).

## 2.8.2 Indústria Farmacêutica

Propriedades do lúpulo, benéficas à saúde humana, são conhecidas da humanidade há muito tempo. Os primeiros relatos de uso do lúpulo para fins medicinais remontam ao século IX (STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015).

O lúpulo contém centenas de compostos fitoquímicos oriundos de seu metabolismo secundário com valor farmacológico e com potencial medicinal relatados. Essa moléculas biologicamente ativas estão principalmente localizadas nas inflorescências femininas e em menor grau nas folhas, caules e rizomas (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021).

Os metabólitos de lúpulo com potencial medicinal incluem terpenos e sesquiterpenos presentes no OEL, os acilfloroglucínóis que compõem os ácidos amargos, em especial as humulonas ( $\alpha$ -ácidos), e as chalconas (BOCQUET et al., 2018a).

O OEL tem sido usado na medicina tradicional há séculos (BIENDL; KOETTER, 2010), face aos efeitos curativos de terpenos presentes (NUUTINEN, 2018). São relatados efeito sedativo, antiespasmódico, estomacal, hipnótico, tônico, diurético, antiviral, antioxidante, bactericida e estrogênico (LI et al., 2017), anticancerígeno, analgésico e anti-inflamatório (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021), apoiados em numerosos ensaios in vitro, animais e clínicos (NUUTINEN, 2018).

O efeito sedativo do lúpulo é conhecido desde os primórdios do cultivo, quando percebeu-se que as pessoas que trabalhavam com essa cultura ficavam sonolentas durante o trabalho (CLEEMPUT et al., 2009) e sua ação indutora do sono continua sendo o efeito medicinal mais conhecido até o momento (HRNČIČ et al., 2019).

Inclusive disponível no mercado com essa finalidade há vários anos (BIENDL et al., 2014). Esse efeito é atribuído ao álcool, 2-metil-3-buten-2-ol (BOCQUET et al.,

2018a; KORIEEM, 2022), o qual além de ser encontrado no OEL, também é um produto da degradação de  $\alpha$ -ácidos.

Outras substâncias associadas ao efeito sedativo são o linalol, que também possui relação com atividade ansiolítica (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021) e o mirceno (BOCQUET et al., 2018a).

Estudos in vitro e in vivo tem demonstrado efeitos inibidores de extrato de lúpulo em diversos tipos de câncer, como de cólon, pele, ossos, mamas, próstata e leucemia (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021). Há relato sobre atividade antitumoral do linalol (MIYASHITA; SADZUKA, 2013).

Dentre os sesquiterpenos presentes no OEL, o cariofileno é o mais importante em relação aos seus efeitos biológicos (HRNČIČ et al., 2019). Possui potencial anticâncer, atuando na supressão do crescimento e proliferação de células cancerígenas (FIDYT et al., 2016), indução da apoptose e inibição da angiogênese em câncer colorretal (DAHAM et al., 2021).

Esse composto também apresenta efeito analgésico (WHITESIDE; LEE; VALENZANO, 2007), anestésico (TAKEMOTO et al., 2021), anti-inflamatório (FERNANDES et al., 2007), neuro protetor (WANG; MA; DU, 2018) e potencial efeito contraceptivo masculino (HIFNAWY et al., 2021). O cariofileno diminuiu o conteúdo de espermatozoides em ratos (AL-ALAMI; SHRAIDEH; TAHA, 2015).

O limoneno tem capacidade de induzir apoptose em células cancerígenas, além de efeito quimiopreventivo e antiproliferativo (MUKHTAR et al., 2018) e ação anti-inflamatória (CHAUDHARY et al., 2012).

Outros componentes do OEL de lúpulo que apresentaram efeito anticâncer são o pineno (SALEHI et al., 2019), mirceno (LEE et al., 2015), geraniol (CHO et al., 2016). Mirceno também exerce efeito analgésico (RAO; MENEZES; VIANA, 1990), promissor contra dor neuropática (PAULA-FREIRE et al., 2016) e anti-inflamatório (RUFINO et al., 2015).

O pineno apresenta efeito atenuante contra a dor oriunda de cortes, queimaduras e escoriações (GUIMARÃES; SERAFINI; QUINTANS-JUNIOR, 2014). Humuleno apresentou efeito anti-inflamatório (FERNANDES et al., 2007) e geraniol apresentou eficácia contra a inflamação da pele (NUUTINEN, 2018).

Os ácidos amargos, em especial as lupulonas ( $\beta$ -ácidos) possuem potencial antibacterianos contra bactérias Gram-positivas (CLEEMPUT et al., 2009). Por outro lado, os  $\alpha$ -ácidos são relacionados a atividades anti-inflamatórias (BOCQUET et al.,

2018a). Podem ser utilizados como um fitoquímica eficaz para tratar formas brandas de acne (WEBER et al., 2019).

Tanto humulonas como lupulonas tem capacidade de inibir a reabsorção óssea e assim prevenir a osteoporose (BOLTON et al., 2019). Também apresentaram atividade inibitória frente ao protozoário causador da malária (*Plasmodium falciparum*), assim como a chalcona xanthohumol, essa última com efeito mais potente (ČERMÁK et al., 2015). Ácidos amargos também são relacionados com a indução à apoptoses e quimioprevenção de câncer (CHEN; LIN, 2004).

O iso-alfa-ácido tem sido indicado para aliviar ou prevenir diferentes doenças, como esteatose hepática, inflamação e fibrose, bem como distúrbios metabólicos, como obesidade e diabetes (PONTICELLI et al., 2021; ROSSINI et al., 2021).

Dentre os polifenóis presentes nos cones de lúpulo, estão os prenilflavonoides, que têm mostrado resultados em função de suas propriedades antioxidantes e estrogênicas com destaque ao xanthohumol, ao isoxanthohumol e a 8-prenilnaringenina (KAVALIER et al., 2011; RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021) e 6-prenilnaringenina (KORIEEM, 2022). Os dois primeiros compostos apresentam significativa atividade antiproliferativa contra o câncer de mama e outros tipos de câncer e atenuam outros sintomas da menopausa (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021).

O xanthohumol tem potencial de inibir a reabsorção óssea in vitro que afeta mulheres na pós-menopausa (TRONINA; POPŁONSKI; BARTMANSKA, 2020), apresenta atividade anti-inflamatória (BOCQUET et al., 2018a), previne trombose arterial e venosa inibindo a ativação plaquetária (XIN et al., 2017), atenua disfunção cardíaca, hipertrofia e fibrose, tendo portanto, efeito protetor cardiovascular (SUN et al., 2021). Também pode ser usado para tratar diabetes, autismo, doenças de pele e doenças relacionadas com lipídios (AGGARWAL et al., 2021).

A grande potencialidade de uso do xanthohumol com finalidades medicinais, é a sua resorção mínima no intestino, o que permite a administração de doses elevadas do produto, sem efeitos colaterais ou mínimos (SLEHA et al., 2021).

A 8-prenilnaringenina pela sua atividade estrogênica, alivia sintomas das mulheres na menopausa e fortalece os mecanismos de proteção óssea no organismo feminino (BOLTON et al., 2019).

Essa chalcona também está relacionada como um possível inibidor de lipase para tratamento de neuro inflamações e doença de Alzheimer (TUNG et al., 2021). É considerada o mais potente fitoestrogênio conhecido (KEILER et al., 2017) e exerce efeito no alívio de sintomas da menopausa feminina e previne a formação de tumores (ŠTULÍKOVÁ et al., 2018).

A 6-prenilnaringenina, isômero da 8-prenilnaringenina, juntamente com a humulona, é o composto neuroativo de maior efeito, dentre os presentes no lúpulo (KORIEM, 2022). A 6-prenilnaringenina também tem efeito fitoestrogênico (TRONINA; POPŁONSKI; BARTMANSKA, 2020), porém tem menor biodisponibilidade que a 8-prenilnaringenina (CALVO-CASTRO et al., 2018).

O desmetilxanthohumul, é encontrado em quantidades inferiores ao xanthohumul, porém esse composto é de interesse farmacêutico, por ter capacidade de isomerizar em 6 e 8-prenilnaringenina (NIKOLIĆ; BREEMEN, 2013) e ter capacidade de desencadear processos de morte celular (BIENDL et al., 2014).

Embora o isoxanthohumul seja menos potente que o xanthohumul em relação às propriedades anticarcinogênicas, essa substância é antimutagênica, exibe atividade estrogênica, porém limitada. Além de poder ser metabolizada no fígado e formar 8-prenilnaringenina (HRNČIČ et al., 2019).

Dentre os flavonóis presentes no lúpulo estão as catequinas e epicatequinas, que apresentam efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios (FRESCO et al., 2006) e atuando em conjunto com outros polifenóis diminuem a proliferação de células cancerígenas (KAMPA et al., 2007). As catequinas e epicatequinas, podem ser encontrados nas sementes de lúpulo (ALONSO-ESTEBAN et al., 2019).

Outros compostos com propriedades medicinais relatados como presentes em cones de lúpulo são o ácido ferílico (efeito antioxidante, contra o câncer de mama e diabetes) e o resveratrol (anti-inflamatório, anticancerígeno) (HRNČIČ et al., 2019).

### 2.8.3 Outros usos

O OEL é tóxico ou repelente para algumas espécies, mesmo em baixas dosagens, essas propriedades o apresentam como um possível pesticida natural para matar, repelir ou controlar pragas, mostrando-se um promissor insumo alternativo para uso agrícola (IGLESIAS et al., 2020; RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021), com destaque à atividade contra fungos, insetos e ácaros prejudiciais às plantas cultivadas (PAVENTI et al., 2020).

A maior parte das pesquisas nessa área, está centrada na atividade repelente do xanthohumol, dos  $\beta$ -ácidos e do OEL. Dentre os compostos do OEL, os que apresentam maior efeito como repelente de insetos são mirceno, cariofileno, e limoneno (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

Extrato de lúpulo quando testado como repelente para o manejo de *Drosophila suzukii*, uma praga de frutas de polpa casca mole, apresentou redução no nível de infestação (REHER et al., 2019).

Solução etanólica com OEL mostrou forte atividade repelente contra as pragas de armazém *Rhyzopertha dominica* (BEDINI et al., 2015) e *Sitophilus granarius* (PAVENTI et al., 2020).

O OEL também apresenta potencial antifúngico (BOCQUET et al., 2018b). O lúpulo nativo norte americano tem efeito repelente de pragas como o afídeo *Phorodon humuli* (Schrank), o ácaro (*Tetranychus urticae* (C.L. Koch), e patógenos causadores de oídio, como *Sphaerotheca humuli* (DC.) (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021).

O lúpulo tem potencialidade como substituto de antibiótico na alimentação de bovinos (CORNELISON et al., 2006) e mostrou-se eficaz contra o ácaro ectoparasita *Varroa destructor*, importante praga de colmeias de *Apis mellifera* (IGLESIAS et al., 2020). Foi testado com sucesso como repelente do caracol invasivo *Physella acuta* e do mosquito *Aedes albopictus*, agente transmissor de doenças como a dengue em regiões asiáticas (BEDINI et al., 2016).

Cones de lúpulo também são uma fonte natural de aromatizante de alimentos para cereais, especiarias, molhos, tabaco e outras bebidas alcoólicas além da cerveja (LOUREIRO et al., 2019).

Compostos químicos encontrados no lúpulo são produtos amplamente utilizados na indústria cosmética (JELÍNEK et al., 2012). O lúpulo também é usado em perfumes, especialmente os tipos picantes e orientais, além de cremes e loções para a pele (LOUREIRO et al., 2019).

O mirceno pode ser usado em produtos de consumo, como cosméticos, sabonetes e detergentes, como agente aromatizante (SURENDRAN et al., 2021).

O linalol é uma substância natural com aroma floral agradável, amplamente utilizado em cosméticos, especialmente fragrâncias e perfumaria (LAPCZYNSKI; LETIZIA; API, 2008).

## 2.9 – REFERÊNCIAS

ABERL, A.; COELHAN, M. Determination of Volatile compounds in different hop varieties by headspace-trap gc/ms - in comparison with conventional hop essential oil analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2012. v. 60, p. 2785–2792.

ABRAM, V. et al. A comparison of antioxidant and antimicrobial activity between hop leaves and hop cones. **Industrial Crops and Products**, 2015. v. 64, p. 124–134.

AGGARWAL, D. et al. Recent patents on therapeutic activities of xanthohumol: A prenylated chalconoid from hops (*Humulus lupulus* L.). **Pharmaceutical Patent Analyst**, 2021. v. 10, n. 1, p. 37–49.

AKDAĞ, A.; ÖZTÜRK, E. Distillation methods of essential oils. **Nisan**, 2019. v. 45, n. 1, p. 22–31.

AL-ALAMI, Z. M.; SHRAIDEH, Z. A.; TAHA, M. O.  $\beta$ -Caryophyllene as putative male contraceptive: Enhances spermatogenesis but not spermiogenesis in albino rats. **Medicinal Chemistry Research**, 2015. v. 24, n. 11, p. 3876–3884.

ALMAGUER, C. et al. *Humulus lupulus* – a story that begs to be told . A review. **Institute of Brewing & Distilling Published**, 2014. n. June, p. 1–26.

ALMEIDA, A. R. et al. Bioactive compounds and antioxidant activities of Brazilian hop (*Humulus lupulus* L.) extracts. **International Journal of Food Science and Technology**, 2020. v. 55, n. 1, p. 340–347.

ALMEIDA, A. R. et al. Brazilian Grown Cascade Hop (*Humulus lupulus* L.): LC-ESI-MS-MS and GC-MS Analysis of chemical composition and antioxidant activity of extracts and essential oils. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 2021. v. 79, n. 2, p. 156–166. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1795586>>.

ALONSO-ESTEBAN, J. I. et al. Phenolic composition and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of hop (*Humulus lupulus* L.) Seeds. **Industrial Crops and Products**, 2019. v. 134, n. February, p. 154–159.

ALONSO-GATO, M. et al. Essential oils as antimicrobials in crop protection. **Antibiotics**, 2021. v. 10, n. 1, p. 1–12.

AMINI, M.; KAFI, M.; PARSA, M. Effects of macronutrient supplementation on physiological, qualitative and quantitative traits of salvia leriifolia benth. **Pakistan Journal of Botany**, 2019. v. 51, n. 6, p. 2053–2058.

AMORIELLO, T. et al. Evaluation of spent grain biochar impact on hop (*Humulus lupulus* L.) growth by multivariate image analysis. **Applied Sciences (Switzerland)**, 2020. v. 10, n. 2, p. 1–11.

APROLÚPULO. Levantamento estatístico a prolúpulo 2021. [S.l.], 2022. Disponível em: <<https://www.aprolupulo.com.br/blog/levantamento-estatistico-aprolupulo-2021>>. Acesso em: 16 dez. 2022.

ARON, P. M.; TING, P. L.; SHELLHAMMER, T. H. HPLC-ESI-MS identification of hop-derived polyphenols that contribute antioxidant capacity and flavor potential to beer. In: QIAN, M. C.; SHELLHAMMER, T. H. (Org.). **Flavor Chemistry of Wine and**

**Other Alcoholic Beverages**. 1. ed. Oregon, USA: ACS Publications, 2012, V. 1104, p. 217–234.

ASTRAY, G. et al. *Humulus lupulus* L. as a natural source of functional biomolecules. **Applied Sciences (Switzerland)**, 2020. v. 10, n. 15.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, 2008. v. 46, n. 2, p. 446–475.

BANDEIRA, P. N.; MENEZES, E. S. A. De; HÉLCIO, S. Potencial Farmacológico de Chalconas : Uma Breve Revisão. **Revista Virtual de Química**, 2018. v. 10, n. 5, p. 1455–1473.

BARTH, R. **The Chemistry of Beer : The Science in the Suds**. 1. ed. New Jersey, USA: Wiley, 2013.

BECK, H. E. et al. Present and future köppen-geiger climate classification maps at 1-km resolution. **Scientific Data**, 2018. v. 5, p. 1–12.

BEDINI, S. et al. Not just for beer: evaluation of spent hops (*Humulus lupulus* L.) as a source of eco-friendly repellents for insect pests of stored foods. **Journal of Pest Science**, 2015. v. 88, n. 3, p. 583–592. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10340-015-0647-1>>.

BEDINI, S. et al. Cannabis sativa and *Humulus lupulus* essential oils as novel control tools against the invasive mosquito *Aedes albopictus* and fresh water snail *Physella acuta*. **Industrial Crops and Products**, 2016. v. 85, p. 318–323. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.03.008>>.

BIENDL, M. et al. **Hops: Their Cultivation, Composition and Usage**. 1. ed. Nuremberg, Germany: [s.n.], 2014.

BIENDL, M.; KOETTER, P. U. Hops (*Humulus lupulus*): A review of its historical and medicinal uses. **HerbalGram**, 2010. n. 87, p. 44–57. Disponível em: <<https://www.herbalgram.org/resources/herbalgram/issues/87/table-of-contents/article3559/>>.

BINDER, S.; KNILL, T.; SCHUSTER, J. Branched-chain amino acid metabolism in higher plants. **Physiologia Plantarum**, 2007. v. 129, n. 1, p. 68–78.

BOCQUET, L. et al. *Humulus lupulus* L., a very popular beer ingredient and medicinal plant: overview of its phytochemistry, its bioactivity, and its biotechnology. **Phytochemistry Reviews**, 2018. v. 17, n. 5, p. 1047–1090.

BOCQUET, Laetitia et al. Antifungal activity of hop extracts and compounds against the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici*. **Industrial Crops and Products**, 2018. v. 122, n. May, p. 290–297. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.061>>.

BODNER, G.; NAKHFOROOSH, A.; KAUL, H. P. Management of crop water under drought: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, 2015. v. 35, n. 2, p. 401–442.

BOLTON, J. L. et al. The multiple biological targets of hops and bioactive compounds. **Chemical Research in Toxicology**, 2019. v. 32, p. 222–233.

BRANT, V. et al. Distribution of root system of hop plants in hop gardens with

regular rows cultivation. **Plant, Soil and Environment**, 2020. v. 66, n. 7, p. 317–326.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, 2000. v. 30, n. 2, p. 365–372.

BRIGGS, D. E. et al. **Brewing: Science and Practice**. 1. ed. Abingdon, England: Woodhead Publishing Limited, 2004.

BSG. German Hallertauer Magnum. **Hops**, [S.I.], 2022. Disponível em: <<https://bsgcraftbrewing.com/german-hallertauer-magnum/>>. Acesso em: 10 nov. 2022.

BUSTAMANTE, M. Á. et al. Effects of soil fertilization on terpenoids and other carbon-based secondary metabolites in *rosmarinus officinalis* plants: A comparative study. **Plants**, 2020. v. 9, n. 7, p. 1–19.

CALVO-CASTRO, L. A. et al. The oral bioavailability of 8-prenylnaringenin from hops (*Humulus lupulus* L.) in healthy women and men is significantly higher than that of its positional isomer 6-prenylnaringenin in a randomized crossover trial. **Molecular Nutrition & Food Research**, 2018. v. 62, n. 7, p. 1–27.

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

CARVALHO, V. P. DE. **Zoneamento agroclimático da cultura de lúpulo para o Estado do Rio de Janeiro: uma aplicação da lógica Fuzzy**. Dissertação de Mestrado: UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE, 2018.

ČERMÁK, P. et al. Inhibitory effects of fresh hops on *Helicobacter pylori* Strains. **Czech Journal of Food Sciences**, 2015. v. 33, n. 4, p. 302–307.

CERVIERI JUNIOR, O. **Panoramas setoriais 2030: Bebidas**. (BNDES, Org.). Brasília-DF: [s.n.], 2017. Disponível em: <[https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/14256/2/Panoramas Setoriais 2030 - Bebidas\\_P.pdf](https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/14256/2/Panoramas_Setoriais_2030_-_Bebidas_P.pdf)>.

CESLOVÁ, L. et al. Characterization of prenylflavonoids and hop bitter acids in various classes of Czech beers and hop extracts using high-performance liquid chromatography – mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 2009. v. 1216, p. 7249–7257.

CHADWICK, L. R.; PAULI, G. F.; FARNSWORTH, N. R. The pharmacognosy of *Humulus lupulus* L. (hops) with an emphasis on estrogenic properties. **Phytomedicine**, 2006. v. 13, n. 1–2, p. 119–131.

CHAUDHARY, S. C. et al. D -Limonene modulates inflammation, oxidative stress and Ras-ERK pathway to inhibit murine skin tumorigenesis. **Human & Experimental Toxicology**, 2012. v. 31, n. 8, p. 798–811.

CHEN, W.-J.; LIN, J.-K. Mechanisms of cancer chemoprevention by hop bitter acids (beer aroma) through induction of apoptosis mediated by fas and caspase cascades. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2004. v. 52, p. 55–64.

CHO, M. et al. The antitumor effects of geraniol: Modulation of cancer hallmark pathways (Review). **International Journal Of Oncology**, 2016. v. 48, p. 1772–1782.

CHRYSARGYRIS, A. et al. Vegetative, physiological, nutritional and antioxidant behavior of spearmint (*Mentha spicata* L.) in response to different nitrogen supply in hydroponics. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, 2017. v. 6, p. 52–61. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jarmap.2017.01.006>>.

CLARK, S. M. et al. Transcriptome analysis of bitter acid biosynthesis and precursor pathways in hop (*Humulus lupulus*). **BMC Plant Biology**, 2013. v. 13, n. 12, p. 01–14.

CLEEMPUT, M. Van et al. Hop (*Humulus lupulus*)-Derived Bitter Acids as Multipotent Bioactive Compounds. **Journal of Natural Products**, 2009. v. 72, p. 1220–1230.

COLLIN, S. et al. Polyphenols and beer quality. In: RAMAWAT, K.; MÉRILLON, J. M. (Org.). **Natural Products**. Berlin, Germany: Springs, 2013, p. 2333–2359.

CORNELISON, J. M. et al. Evaluation of hops (*Humulus lupulus*) as an antimicrobial in broiler diets. **International Journal of Poultry Science**, 2006. v. 5, n. 2, p. 134–136.

DAHAM, S. S. et al.  $\beta$ -Caryophyllene induces apoptosis and inhibits angiogenesis in colorectal cancer models. **International Journal of Molecular Sciences**, 2021. v. 22, n. 19, p. 1–20.

DEWICK, P. . **Medicinal Natural Products Medicinal**. 3. ed. Nottingham, UK: A John Wiley and Sons, Ltd., 2009. V. 1.

DIETZ, C. et al. The multisensory perception of hop essential oil: a review. **Journal of the Institute of Brewing**, 2020. v. 126, n. 4, p. 320–342.

DODDS, K. **Hops a guide for new growers**. 1. ed. [S.l.]: Department of Primary Industries, Australian Government, 2017.

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

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

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

ERIKSEN, R. L. et al. Gene expression for secondary metabolite biosynthesis in hop (*Humulus lupulus* L.) leaf lupulin glands exposed to heat and low-water stress. **Scientific Reports**, 2021. v. 11, n. 1, p. 1–18. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-021-84691-y>>.

ERIKSEN, R. L. et al. Gene Expression of Agronomically Important Secondary Metabolites in cv. 'USDA Cascade' Hop (*Humulus lupulus* L.) Cones during Critical Developmental Stages. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 2022. v. 80, n. 4, p. 356–369. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/03610470.2021.1973328>>.

EYRES, G.; DUFOUR, J.-P. Hop Essential Oil: Analysis, Chemical Composition and Odor Characteristics. **Beer in Health and Disease Prevention**. Dunedin, New Zealand: [s.n.], 2009, p. 239–254.

FAOSTAT. **Value of Agricultural Production: Hop Cones**. Roma, Itália: [s.n.], 2020. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#home>>.

FARAG, M. A. et al. Metabolite profiling and fingerprinting of commercial cultivars of *Humulus lupulus* L. (hop): A comparison of MS and NMR methods in metabolomics. **Metabolomics**, 2012. v. 8, n. 3, p. 492–507.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos , aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova**, 2017. v. 39, n. Figura 2, p. 120–130.

FERNANDES, E. S. et al. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and ( - ) - trans -caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **European Journal of Pharmacology**, 2007. v. 569, p. 228–236.

FERREYRA, M. L. F.; RIUS, S. P.; CASATI, P. Flavonoids : biosynthesis , biological functions , and biotechnological applications. **Frontiers in Plant Science**, 2012. v. 3, n. 222, p. 1–15.

FIDYT, K. et al.  $\beta$ - caryophyllene and  $\beta$ - caryophyllene oxide—natural compounds of anticancer and analgesic properties. **Cancer Medicine**, 2016. v. 5, n. 10, p. 3007–3017.

FORSTER, A; GAHR, A. On the Fate of Certain Hop Substances during Dry Hopping. **BrewingScience**, 2013. v. 66, n. 7, p. 93–103.

FORTESCHI, M. et al. Quality assessment of Cascade Hop (*Humulus lupulus* L.) grown in Sardinia. **European Food Research and Technology**, 2019. v. 245, n. 4, p. 863–871. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-018-3215-0>>.

FRESCO, P. et al. New insights on the anticancer properties of dietary polyphenols. **Medicinal Research Reviews**, 2006. v. 26, n. 6, p. 747–766.

GANDOMI, A. et al. The response of different fertilizer applications on chamomile production and their quality characteristics. **Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus**, 2021. v. 20, n. 2, p. 107–119.

GASIŃSKI, A. et al. Second life of hops: Analysis of beer hopped with hop pellets previously used to dry-hop a beer. **LWT - Food Science and Technology**, 2022. v. 159, p. 1–7.

GRAF, T. et al. *Humulus lupulus* – The hidden half. **BrewingScience**, 2014. v. 67, p. 161–166.

GREEF, J. M. Productivity of maize (*Zea mays* L.) in Relation to morphological and physiological characteristics under varying amounts of nitrogen supply. **Journal of Agronomy and Crop Science**, 1994. v. 172, n. 5, p. 317–326.

GUIMARÃES, A. G.; SERAFINI, M. R.; QUINTANS-JUNIOR, L. J. Terpenes and derivatives as a new perspective for pain treatment : a patent review. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, 2014. v. 24, n. 3, p. 243–265.

GUTIÉRREZ-DEL-RÍO, I.; FERNÁNDEZ, J.; LOMBÓ, F. Plant nutraceuticals as antimicrobial agents in food preservation: terpenoids, polyphenols and thiols.

**International Journal of Antimicrobial Agents**, 2018. v. 52, n. 3, p. 309–315.

HAN, M. et al. The Genetics of Nitrogen Use Efficiency in Crop Plants. **Annual Review of Genetics**, 2015. v. 49, n. September, p. 269–289.

HASLBECK, K. et al. The influence of brewing yeast strains on monoterpene alcohols and esters contributing to the citrus flavour of beer. **Journal of the Institute of Brewing**, 2018. v. 124, n. 4, p. 403–415.

HAZRATI, S.; KHURIZADEH, S.; SADEGHI, A. R. Application of zeolite improves water and nitrogen use efficiency while increasing essential oil yield and quality of *Salvia officinalis* under water-deficit stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 2022. v. 29, n. 3, p. 1707–1716. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.10.059>>.

HEŘMÁNEK, P.; RYBKA, A.; HONZÍK, I. Determination of moisture ratio in parts of the hop cone during the drying process in belt dryer. **Agronomy Research**, 2018. v. 16, n. 3, p. 723–727.

HIFNAWY, M. S. et al. Nature-inspired male contraceptive and spermicidal products. **Phytochemistry Reviews**, 2021. v. 20, p. 797–843.

HILDEBRANDT, T. M. et al. Amino Acid catabolism in plants. **Molecular Plant**, 2015. v. 8, n. 11, p. 1563–1579.

HNILIČKOVÁ, H.; HNILIČKA, F.; KROFTA, Karel. Determining the saturation irradiance and photosynthetic capacity for new perspective varieties of hop (*Humulus lupulus* L.). **Cereal Research Communications**, 2007. v. 35, n. 2 PART I, p. 461–464.

HONG, K. et al. Key enzymes involved in the synthesis of hops phytochemical compounds: from structure, functions to applications. **International Journal of Food Science and Technology**, 2021. v. 22, n. 17, p. 9373–9393.

HONG, K. et al. Varietal differences in the phytochemical components' accumulation and aroma profile of three *Humulus lupulus* cultivars. **Food Control**, 2022. v. 132, n. August 2021, p. 108499. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108499>>.

HOPLIST. Hop Varieties. [S.l.], 2022. Disponível em: <<https://www.hoplist.com/>>. Acesso em: 11 nov. 2022.

HRNČIČ, M. K. et al. Hop compounds: Extraction techniques, chemical analyses, antioxidative, antimicrobial, and anticarcinogenic effects. **Nutrients**, 2019. v. 11, n. 2, p. 1–37.

IGLESIAS, A. et al. Essential oils from *Humulus lupulus* as novel control agents against *Varroa destructor*. **Industrial Crops and Products**, 2020. v. 158, n. October, p. 113043. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113043>>.

IHGC. **Summary Reports. International Hop Grower's Convention - Economic Commission, Summary Reports**. Praga, CZ: [s.n.], 2022a. Disponível em: <[http://www.hmelj-giz.si/ihgcdoc/2022\\_JUL\\_IHGC\\_ECREport\\_p.pdf](http://www.hmelj-giz.si/ihgcdoc/2022_JUL_IHGC_ECREport_p.pdf)>.

IHGC.. **Commercial hop varieties list (2022)**. Celje, Slovenia: [s.n.], 2022b. Disponível em: <<http://www.hmelj->

[giz.si/ihgcdoc/2022\\_NOV\\_IHGC\\_HopVarietyList.pdf](https://giz.si/ihgcdoc/2022_NOV_IHGC_HopVarietyList.pdf)>.

INUI, T. et al. Different beers with different hops. Relevant compounds for their aroma characteristics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2013. v. 61, n. 20, p. 4758–4764.

ISO. ISO 9235\_2013(en), Aromatic natural raw materials — Vocabulary. **International Organization for Standardization**, [S.l.], 2022. Disponível em: <<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9235:ed-2:v1:en>>. Acesso em: 17 out. 2022.

JACQUOT, A. et al. Post-translational regulation of nitrogen transporters in plants and microorganisms. **Journal of Experimental Botany**, 2017. v. 68, n. 10, p. 2567–2580.

JELIAZKOVA, E. et al. Sequential elution of essential oil constituents during steam distillation of hops (*Humulus lupulus* L.) and influence on oil yield and antimicrobial activity. **Journal of Oleo Science**, 2018. v. 67, n. 7, p. 871–883.

JELÍNEK, L. et al. Comparison of czech hop cultivars based on their contents of secondary metabolites. **Czech Journal of Food Sciences**, 2010. v. 28, n. 4, p. 309–316.

JELÍNEK, L. et al. Influence of growing area, plant age, and virus infection on the contents of hop secondary metabolites. **Czech J. Food Sci.**, 2012. v. 30, n. 6, p. 541–547.

JELÍNEK, L. et al. Application of a hop by-product in brewing: Reduction in the level of haze-active prolamines and improved antioxidant properties of the beer. **Journal of the Institute of Brewing**, 2014. v. 120, n. 2, p. 99–104.

JOHNSON, D. A. Two degree-day models for predicting initial emergence of hops shoots systemically infected with *Pseudoperonospora humuli*. **Plant Disease**, 1991. v. 75, n. 3, p. 285–287.

KAMPA, M. et al. Polyphenols and cancer cell growth. **Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology**, 2007. v. 159, n. June, p. 79–113.

KAO, T. H.; WU, G. Y. Simultaneous determination of prenylflavonoid and hop bitter acid in beer lee by HPLC-DAD-MS. **Food Chemistry**, 2013. v. 141, n. 2, p. 1218–1226.

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

KAŠKONAS, P. et al. Clustering analysis of different hop varieties according to their essential oil composition measured by GC/MS. **Chemical Papers**, 2016. v. 70, n. 12, p. 1568–1577.

KAVALIER, A. R. et al. Phytochemical and morphological characterization of hop (*Humulus lupulus* L.) cones over five developmental stages using high performance liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry, ultrahigh performance liquid chromatography photodiode array detection, and light microscopy techniques. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2011. v. 59, n. 9, p. 4783–4793.

KAVALIER, A. R. et al. Targeted analysis of polyphenol metabolism during development of hop (*Humulus lupulus* L.) cones following treatment with prohexadione-calcium. **Food Chemistry**, 2014. v. 145, p. 254–263. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.023>>.

KEILER, A. M. et al. Evaluation of estrogenic potency of a standardized hops extract on mammary gland biology and on MNU-induced mammary tumor growth in rats. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, 2017. v. 174, n. July, p. 234–241. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.09.020>>.

KEMME, L. **Grower Notes: Spring 2016**. Zeeland, MI: [s.n.], 2016.

KEUKELEIRE, J. De et al. Formation and accumulation of  $\alpha$ -acids,  $\beta$ -acids, desmethylxanthohumol, and xanthohumol during flowering of hops (*Humulus lupulus* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2003. v. 51, n. 15, p. 4436–4441.

KILLEEN, D. P. et al. Fast sampling, analyses and chemometrics for plant breeding: bitter acids, xanthohumol and terpenes in lupulin glands of hops (*Humulus lupulus*). **Phytochemical Analysis**, 2016. v. 28, n. 1, p. 50–57.

KISHIMOTO, T. et al. Comparison of the odor-active compounds in unhopped beer and beers hopped with different hop varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2006. v. 54, p. 8855–8861.

KONDIĆ, D. et al. Morphological and biochemical characterization of wild hop (*Humulus lupulus* L.) populations from banja luka area (bosnia and herzegovina). **Agronomy**, 2021. v. 11, n. 2.

KOPP, P. A. The global hop: An agricultural overview of the brewer's gold. In: PATTERSON, M.; HOALST-PULLEN, N. (Org.). **The Geography of Beer**. 1. ed. Dordrecht, Netherlands: Springer, 2014, p. 77–88.

KOŘEN, J. Influence of plantation row spacing on quality and yield of hops. **Plant, Soil and Environment**, 2007. v. 53, n. 6, p. 276–282.

KORIEM, K. M. M. An overview on chemical constituents, medicinal applications, pharmacological activity, toxicology, metabolism and pharmacokinetics of strobilus lupuli. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, 2022. v. 12, n. 4, p. 4613–4625.

KORPELAINEN, H.; PIETILÄINEN, M. Hop (*Humulus lupulus* L.): traditional and present use, and future potential. **Economic Botany**, 2021. v. 75, p. 302–322.

KOŠIR, I. J.; OCVIRK, M. Evolution of beer aroma. In: BORDIGA, M.; NOLLET, L. M. L. (Org.). **Food Aroma Evolution**. 1. ed. New York, USA: CRC Press, 2020, p. 353–364.

KOVAČEVIČ, M.; KAČ, M. Determination and verification of hop varieties by analysis of essential oils. **Food Chemistry**, 2002. v. 77, n. 4, p. 489–494.

KREBS, C. Hops: A viable alternative crop for the Central/Southern plains? **Crops & Soils Magazine**, 2019. v. 52, n. July-August, p. 4–6.

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

KROFTA, K.; KUERA, J.; URBAN, J. Transpiration-An important contribution to

overall water balance of the hop plantation. **Acta Horticulturae**, 2013. v. 1010, p. 183–190.

KRÓL, B. et al. Biomass production, active substance content, and bioaccessibility of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) letswaart) following the application of nitrogen. **Industrial Crops and Products**, 2020. v. 148, n. February, p. 1–11.

KUCERA, J.; KROFTA, K. Mathematical model for prediction of alpha acid contents from meteorological data for 'saaz' aroma variety. **Acta Horticulturae**, 2009. v. 848, n. ISHS 2009, p. 131–140.

LAFONTAINE, S. et al. Impact of harvest maturity on the aroma characteristics and chemistry of Cascade hops used for dry-hopping. **Food Chemistry**, 2019. v. 278, p. 228–239. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.148>>.

LAGOS, F. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; DESCHAMPS, C. Vegetative propagation of hops (*Humulus lupulus* L.): Historical approach and perspectives. **Semina: Ciências Agrárias**, 2022. v. 43, n. 3, p. 1373–1394.

LAMY, V. et al. Chemopreventive effects of lupulone, a hop  $\beta$ -acid, on human colon cancer-derived metastatic SW620 cells and in a rat model of colon carcinogenesis. **Carcinogenesis**, 2007. v. 28, n. 7, p. 1575–1581.

LAPCZYNSKI, A.; LETIZIA, C. S.; API, A. M. Fragrance material review on d -linalool. **Food and Chemical Toxicology**, 2008. v. 46, n. 11, p. S193–S194. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2008.06.044>>.

LAWLOR, D. W. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: Mechanisms are the key to understanding production systems. **Journal of Experimental Botany**, 2002. v. 53, n. 370, p. 773–787.

LEE, J. et al. Anti-invasive effect of  $\beta$ -myrcene, a component of the essential oil from *Pinus koraiensis* cones, in metastatic MDA-MB-231 human breast cancer cells. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, 2015. v. 58, n. 4, p. 563–569.

LEONARDI, M. et al. Characterisation of four popular Polish hop cultivars. **International Journal of Food Science and Technology**, 2013. v. 48, p. 1770–1774.

LI, Jiayuan et al. Characteristic  $\alpha$ -Acid Derivatives from *Humulus lupulus* with Antineuroinflammatory Activities. **Journal of Natural Products**, 2017. v. 80, n. 12, p. 3081–3092.

LIAN, H. et al. A synergistic increase in water and nitrogen use efficiencies in winter wheat cultivars released between the 1940s and the 2010s for cultivation in the drylands of the shaanxi Province in China. **Agricultural Water Management**, 2020. v. 240, n. May, p. 106308. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106308>>.

LIBERATORE, C. M. et al. Chemical and physical pre-treatments to improve in vitro seed germination of *Humulus lupulus* L., cv. Columbus. **Scientia Horticulturae**, 2018. v. 235, n. December 2017, p. 86–94.

LIMA, M. C. et al. Effect of shading and nitrogen fertilization on nitrogen metabolism, essential oil content and antimicrobial activity of *Achillea millefolium*. **Acta**

**Scientiarum - Biological Sciences**, 2020. v. 42, p. 1–12.

LIN, M. et al. Role of Characteristic Components of *Humulus lupulus* in Promoting Human Health. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2019. v. 67, n. 30, p. 8291–8302.

LIU, S. et al. Importance of matching soil N transformations, crop N form preference, and climate to enhance crop yield and reducing N loss. **Science of the Total Environment**, 2019. v. 657, p. 1265–1273. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.100>>.

LIU, Z.; WANG, Liping; LIU, Y. Rapid differentiation of chinese hops varieties (*Humulus lupulus*) using volatile fingerprinting by HS-SPME-GC-MS combined with multivariate statistical analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2018. v. 98, n. 10, p. 3758–3766.

LOUREIRO, P. V. et al. Determination of xanthohumol in hops, food supplements and beers by HPLC. **Foods**, 2019. v. 8, n. 435, p. 1–16.

MACKINNON, D. et al. The impact of weather conditions on alpha-acid content in hop (*Humulus lupulus* L.) cv. aurora. **Plant, Soil and Environment**, 2020. v. 66, n. 10, p. 519–525.

MALIZIA, R. A. et al. Essential oil of hop cones (*Humulus lupulus* L.). **Journal of Essential Oil Research**, 1999. v. 11, n. 1, p. 13–15.

MAPA. **Anuário da cerveja 2020 - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)**. [S.l.]: [s.n.], 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/com-crescimento-de-14-4-em-2020-numero-de-cervejarias-registradas-no-brasil-passa-de-1-3-mil/anuariocerveja2.pdf>>.

MAPA. **Lúpulo no Brasil: perspectivas e realidades**. 1. ed. Brasília-DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2022.

MARCEDDU, R.; CARRUBBA, A.; SARNO, M. Cultivation trials of hop (*Humulus lupulus* L.) in semi-arid environments. **Heliyon**, 2020. v. 6, n. 10, p. e05114. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05114>>.

MARSCHNER, P. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3. ed. Adelaide, Australia: Elsevier, 2012.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C. et al. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: Challenges for sustainable and productive agriculture. **Annals of Botany**, 2010. v. 105, n. 7, p. 1141–1157.

MCCALLUM, J. L. et al. Phytochemical characterization of wild hops (*Humulus lupulus* ssp. *lupuloides*) germplasm resources from the maritimes region of Canada. **Frontiers in Plant Science**, 2019. v. 10, n. 1438, p. 1–15.

MEKONNEN, B.; GAREDEW, W. Growth, yield, and quality responses of turmeric (*Curcuma longa* L.) to nitrogen fertilizer rate and timing of its application. **Acta Agrobotanica**, 2019. v. 72, n. 3, p. 1–11.

MIYASHITA, M.; SADZUKA, Y. Effect of linalool as a component of *Humulus lupulus* on doxorubicin-induced antitumor activity. **Food and Chemical Toxicology**,

2013. v. 53, p. 174–179. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.11.035>>.

MONGELLI, A. et al. Italian hop germplasm: Characterization of wild *Humulus lupulus* L. genotypes from Northern Italy by means of phytochemical, morphological traits and multivariate data analysis. **Industrial Crops and Products**, 2015. v. 70, p. 16–27. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.036>>.

MORCOL, T. B. et al. Hop (*Humulus lupulus* L.) terroir has large effect on a glycosylated green leaf volatile but not on other aroma glycosides. **Food Chemistry**, 2020. v. 321, n. October 2019, p. 126644. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126644>>.

MORCOL, T. B.; MATTHEWS, P. D.; KENNELLY, E. J. Differences in leaf chemistry and glandular trichome density between wild southwestern american hop (*Humulus neomexicanus*) and Commercial Hop Cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2021. v. 69, n. 27, p. 7798–7814.

MOZZON, M.; FOLIGNI, R.; MANNOZZI, C. Brewing quality of hop varieties cultivated in central Italy based on multivolatile fingerprinting and bitter acid content. **Foods**, 2020. v. 9, n. 5, p. 541–555.

MUKHTAR, Y. M. et al. Biochemical significance of limonene and its metabolites : future prospects for designing and developing highly potent anticancer drugs. **Bioscience Reports (2018)**, 2018. v. 38, p. 1–12.

MURAKAMI, A. et al. Molecular phylogeny of wild Hops, *Humulus lupulus* L. **Heredity**, 2006. v. 97, n. 1, p. 66–74.

NAGEL, J. et al. EST analysis of hop glandular trichomes identifies an O-methyltransferase that catalyzes the biosynthesis of xanthohumol. **Plant Cell**, 2008. v. 20, n. 1, p. 186–200.

NAGYBÁKAY, N. E. et al. Optimized supercritical CO<sub>2</sub> extraction enhances the recovery of valuable lipophilic antioxidants and other constituents from dual-purpose hop (*Humulus lupulus* L.) variety Ella. **Antioxidants**, 2021. v. 10, n. 918, p. 1–21.

NAKAWUKA, P. et al. Effect of deficit irrigation on yield quantity and quality , water productivity and economic returns of four cultivars of hops in the Yakima Valley , Washington State. **Industrial Crops & Products**, 2017. v. 98, p. 82–92. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.01.037>>.

NESVADBA, V. et al. Evaluation of Czech hop cultivars since 2010 till 2019. **Plant, Soil and Environment**, 2020. v. 66, n. 12, p. 658–663.

NEVE, R. A. **Hops**. 1. ed. London: Chapman and Hall, 1991.

NIKOLIĆ, D.; BREEMEN, R. B. Van. Analytical methods for quantitation of prenylated flavonoids from hops. **Current Analytical Chemistry**, 2013. v. 9, n. 1, p. 71–85.

NUUTINEN, T. Medicinal properties of terpenes found in *Cannabis sativa* and *Humulus lupulus*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2018. v. 157, p. 198–228. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.07.076>>.

OCVIRK, Miha; OGRINC, N.; KOSIR, Iztok Joze. Determination of the geographical origin of hops (*Humulus lupulus* L.) using stable isotopes of C , N and S.

**Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2018. v. 66, n. 8, p. 1–24.

OLIVEIRA, M. M.; PAIS, M. S. Glandular trichomes of *Humulus lupulus* var . Brewer ' s gold ( hops ): ultrastructural aspects of peltate trichomes. **Journal of submicroscopic cytology and pathology**, 1990. v. 22, n. 2, p. 241–248. Disponível em: <<https://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=19532250>>.

OMER, E. A. et al. Effect of nitrogen and potassium fertilizers on growth, yield, essential oil and artemisinin of *Artemisia Annu*a L Plant. **International Research Journal of Horticulture**, 2014. v. 2, n. 2, p. 11.

PASANDI POUR, A.; FARAHBAKHS, H.; TOHIDINEJAD, E. Nitrogen, phosphorous and potassium levels affected growth indices, leaf gas exchange parameters and biomass production of henna (*Lawsonia inermis* L.) ecotypes. **Industrial Crops and Products**, 2021. v. 163, n. January, p. 113297. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113297>>.

PATZAK, J. et al. Hop latent viroid (HLVd) - caused pathogenesis: effects of HLVd infection on lupulin composition of meristem culture-derived *Humulus lupulus*. **Biologia Plantarum**, 2001. v. 44, p. 579–585.

PATZAK, J. Comparison of RAPD, STS, ISSR and AFLP molecular methods used for assessment of genetic diversity in hop (*Humulus lupulus* L.). **Euphytica**, 2001. v. 121, n. 1, p. 9–18.

PATZAK, J. et al. Assessment of the genetic diversity of wild hops (*Humulus lupulus* L.) in Europe using chemical and molecular analyses. **Biochemical Systematics and Ecology**, 2010. v. 38, n. 2, p. 136–145.

PATZAK, J. et al. Number and size of lupulin glands, glandular trichomes of hop (*Humulus lupulus* L.), play a key role in contents of bitter acids and polyphenols in hop cone. **International Journal of Food Science and Technology**, 2015. v. 50, n. 8, p. 1864–1872.

PAULA-FREIRE, L. I. G. et al. *Ocimum gratissimum* essential oil and its isolated compounds (Eugenol and Myrcene) reduce neuropathic pain in mice. **Planta Medica**, 2016. v. 82, n. 03, p. 211–216.

PAVENTI, G. et al. Biological activity of *Humulus lupulus* (L.) essential oil and its main components against *Sitophilus granarius* (L.). **Biomolecules**, 2020. v. 10, n. 8, p. 1–17.

PAVLOVIC, V. et al. Environment and weather influence on quality and market value of hops. **Plant, Soil and Environment**, 2012. v. 58, n. 4, p. 155–160.

PAVLOVIČ, V. et al. Modelling of Quality Prediction for Hops (*Humulus lupulus* L.) in Relation to Meteorological Variables. **Balwois**, 2010. v. 25, n. May, p. 1–5. Disponível em: <[http://www.balwois.com/balwois/administration/full\\_paper/ffp-1920.pdf](http://www.balwois.com/balwois/administration/full_paper/ffp-1920.pdf)>.

PERESTRELO, R. et al. A powerful approach to explore the potential of medicinal plants as a natural source of odor and antioxidant compounds. **Journal Food Science and Technology**, 2016. v. 53, n. 1, p. 132–144.

PERPÈTE, P. et al. Varietal Discrimination of Hop Pellets by Essential Oil

Analysis I . Comparison of Fresh Samples. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 1998. v. 56, n. 3, p. 104–108.

PICHERSKY, E.; LEWINSOHN, E.; CROTEAU, R. Purification and characterization of S-linalool synthase, an enzyme involved in the production of floral scent in *Clarkia breweri*. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 1995. v. 316, n. 2, p. 803–807.

PISTELLI, L. et al. Aroma profile and bitter acid characterization of hop cones (*Humulus lupulus* L.) of five healthy and infected Polish cultivars. **Industrial Crops and Products**, 2018. v. 124, n. August, p. 653–662. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.009>>.

PONTICELLI, M. et al. The promising ability of *Humulus lupulus* L. Iso -  $\alpha$  -acids vs . diabetes, inflammation, and metabolic syndrome: a systematic review. **Molecules**, 2021. v. 26, n. 954, p. 1–32.

PRADO-AUDELO, M. L. Del et al. Therapeutic applications of terpenes on Inflammatory Diseases. **Frontiers in Pharmacology**, 2021. v. 12, n. August, p. 1–7.

PRAET, T. et al. Flavor activity of sesquiterpene oxidation products, formed upon lab-scale boiling of a hop essential oil – derived sesquiterpene hydrocarbon fraction ( cv . Saaz ). **Journal of Agronomy and Crop Science**, 2016. v. 74, n. 1, p. 65–76.

RAO, V. S.; MENEZES, A. M.; VIANA, G. S. Effect of myrcene on nociception in mice. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 1990. v. 42, n. 12, p. 877–878.

RAUT, S. et al. Influence of pre-drying storage time on essential oil components in dried hops (*Humulus lupulus* L.). **Science of Food and Agriculture**, 2020. v. 101, n. 6, p. 2247–2255.

REHER, T. et al. Evaluation of hop (*Humulus lupulus*) as a repellent for the management of *Drosophila suzukii*. **Crop Protection**, 2019. v. 124, n. March.

RETTBERG, N.; BIENDL, M.; GARBE, L. A. Hop aroma and hoppy beer flavor: chemical backgrounds and analytical tools—A review. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 2018. v. 76, n. 1, p. 1–20. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/03610470.2017.1402574>>.

ROSSBAUER, V. G. et al. Phanologische Entwicklungsstadien von Kultur-Hopfen (*Humulus lupulus* L.). **Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.**, 1995. v. 47, n. 10, p. 249–253.

RODOLFI, M. et al. The effect of different organic foliar fertilization on physiological and chemical characters in hop (*Humulus lupulus* L., cv Cascade) leaves and cones. **Applied Sciences (Switzerland)**, 2021. v. 11, n. 15.

RODRIGUES, M. A.; MORAIS, J. S.; CASTRO, J. P. M. De. **Jornadas de lúpulo e cerveja: novas oportunidades de negócio. Livro de atas**. Bragança, Portugal: Instituto Politécnico de Bragança, 2015.

ROSSINI, F. et al. Agronomic performance and beer quality assessment of twenty hop cultivars grown in Central Italy. **Italian Journal of Agronomy**, 2016. v. 11, n. 746, p. 180–187.

ROSSINI, F. et al. Hops (*Humulus lupulus* L.) as a novel multipurpose crop for the mediterranean region of europe: challenges and opportunities of their cultivation. **Agriculture (Switzerland)**, 2021. v. 11, n. 6.

RUFINO, A. T. et al. Evaluation of the anti-inflammatory, anti-catabolic and pro-anabolic effects of E-caryophyllene, myrcene and limonene in a cell model of osteoarthritis. **European Journal of Pharmacology**, 2015. v. 750, p. 141–150.

RUGGERI, R.; LORETI, P.; ROSSINI, F. Exploring the potential of hop as a dual purpose crop in the Mediterranean environment: shoot and cone yield from nine commercial cultivars. **European Journal of Agronomy**, 2018. v. 93, n. November 2017, p. 11–17. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.eja.2017.10.011>>.

RUTNIK, K.; HRNČIČ, M. K.; KOŠIR, Iztok Jože. Hop essential oil: chemical composition, extraction, analysis, and applications. **Food Reviews International**, 2021. v. 00, n. 00, p. 1–23. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1874413>>.

RYBÁČEK, V. Biological Basis of Hop Production. **Developments in Crop Science**. [S.l.]: [s.n.], 1991, V. 16, p. 25–120.

SALANȚĂ, L. C. et al. Determination of volatiles in hops from romania by solid phase fiber microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Analytical Letters**, 2016. v. 49, n. 4, p. 477–487.

SALEHI, B. et al. Therapeutic Potential of  $\alpha$ - and  $\beta$ -pinene: a miracle gift of nature. **Biomolecules**, 2019. v. 9, n. 738, p. 1–34.

SANTAGOSTINI, L. et al. *Humulus lupulus* L. cv. Cascade grown in northern Italy: morphological and phytochemical characterization. **Plant Biosystems**, 2020. v. 154, n. 3, p. 316–325. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/11263504.2019.1610111>>.

SAPIR-MIR, M. et al. Peroxisomal localization of arabidopsis isopentenyl diphosphate isomerases suggests that part of the plant isoprenoid mevalonic acid pathway is compartmentalized to peroxisomes. **Plant Physiology**, 2008. v. 148, n. 3, p. 1219–1228.

SARTORI, L. O. et al. An efficient, fast, and green procedure to quantify  $\alpha$ - and  $\beta$ -acids and xanthohumol in hops and their derived products. **Food Chemistry**, 2022. v. 373, n. September 2021, p. 1–9.

SAWICKA, B. et al. Assessment of the suitability of aromatic and high-bitter hop varieties (*Humulus lupulus* L.) for beer production in the conditions of the małopolska vistula gorge region. **Fermentation**, 2021. v. 7, n. 3.

SENSKE, A. M. **Optimization of N fertilization for hops (*Humulus lupulus*) in iowa soils**. [S.l.]: Iowa State University, 2020. Disponível em: <<https://lib.dr.iastate.edu/etd/17896>>.

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

SHELLIE, R. A. et al. Varietal characterization of hop (*Humulus lupulus* L.) by GC-MS analysis of hop cone extracts. **Journal of Separation Science**, 2009. v. 32,

n. 21, p. 3720–3725.

SIEGLE, L.; SCOGGINS, H. 2018 Virginia hop grower survey : results. **Virginia Cooperative Extension**, 2019. p. 1–12. Disponível em: <[https://www.pubs.ext.vt.edu/content/dam/pubs\\_ext\\_vt\\_edu/spes/spes-131/SPES-131NP.pdf](https://www.pubs.ext.vt.edu/content/dam/pubs_ext_vt_edu/spes/spes-131/SPES-131NP.pdf)>.

SILVA, T. C. et al. Macroelement omission in hydroponic systems changes plant growth and chemical composition of *Melissa officinalis* L. essential oil. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, 2021. v. 24, n. January.

SLEHA, R. et al. Strong antimicrobial effects of xanthohumol and beta-acids from hops against clostridioides difficile infection in vivo. **Antibiotics**, 2021. v. 10, n. 4.

SMALL, E. A Numerical and nomenclatural analysis of morpho-geographic taxa of *Humulus*. **American Society of Plant Taxonomists**, 2019. v. 3, n. 1, p. 37–76. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/2418532>>.

SOARES, L. B.; FIRMO, H. T. O cultivo do lúpulo em terras brasileiras : como este ingrediente pode fomentar a pesquisa acadêmica e as economias locais. Alagoinhas-BA: [XV Encontro Nacional de Engenharia e Desenvolvimento Social, 2018. p. 1–16.

SOLARSKA, E.; SOSNOWSKA, B. The impact of plant protection and fertilization on content of bioactive substances in organic hops. **Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus**, 2015. v. 14, n. 3, p. 93–101.

SPÓSITO, M. B. et al. A cultura do Lúpulo. **Série Produtor Rural**, 2019. p. 81.

SREČEC, S. et al. Influence of climatic conditions on accumulation of  $\alpha$ -acids in hop cones. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, 2008. v. 73, n. 3, p. 161–166.

STATISTA. Beer - Brazil. **Alcoholic drinks: beer - brazil**, [S.l.], 2022. Disponível em: <<https://www.statista.com/outlook/cmo/alcoholic-drinks/beer/brazil>>. Acesso em: 16 dez. 2022.

STATTI, G. Phytochemical components of aromatic plants and factors influencing their variability. In: BAGETTA, G.; COSENTINO, M.; SAKURADA, T. (Org.). **Aromatherapy basic mechanisms and evidence-based clinical use**. 1. ed. New York, USA: CRC Press, 2016, p. 59–84.

STEENACKERS, B.; COOMAN, L. DE; VOS, D. DE. Chemical transformations of characteristic hop secondary metabolites in relation to beer properties and the brewing process: A review. **Food Chemistry**, 2015. v. 172, p. 742–756. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.139>>.

STEVENS, J. F. et al. Prenylflavonoids from *Humulus lupulus*. **Phytochemistry**, 1997. v. 44, n. 8, p. 1575–1585.

STEVENS, J. F. et al. Fate of xanthohumol and related prenylflavonoids from hops to beer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1999. v. 47, n. 6, p. 2421–2428.

STEVENS, J. F.; PAGE, J. E. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: To your good health! **Phytochemistry**, 2004. v. 65, n. 10, p. 1317–1330.

ŠTULÍKOVÁ, K. et al. Therapeutic perspectives of 8-prenylnaringenin, a potent phytoestrogen from hops. **Molecules**, 2018. v. 23, n. 3, p. 1–13.

SU, X. et al. Performance of alternative drying techniques on hop (*Humulus lupulus* L.) aroma quality: An HS-SPME-GC-MS-O and chemometrics combined approach. **Food Chemistry**, 2022. v. 381, n. January, p. 132289. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132289>>.

SUGIYAMA, R.; ODA, H.; KUROSAKI, F. Two distinct phases of glandular trichome development in hop (*Humulus lupulus* L.). **Plant Biotechnology**, 2006. v. 23, n. 5, p. 493–496.

SUN, T. L. et al. Xanthohumol attenuates isoprenaline-induced cardiac hypertrophy and fibrosis through regulating PTEN/AKT/mTOR pathway. **European Journal of Pharmacology**, 2021. v. 891, p. 173690. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173690>>.

SURENDRAN, S. et al. Myrcene—What are the potential health benefits of this flavouring and aroma agent? **Frontiers in Nutrition**, 2021. v. 8, n. July, p. 1–14.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2017.

TAKEMOTO, Y. et al. Distribution of inhaled volatile  $\beta$ -caryophyllene and dynamic changes of liver metabolites in mice. **Scientific Reports**, 2021. v. 11, p. 1–10.

TAKOI, K. et al. The Contribution of geraniol metabolism to the citrus flavour of beer: synergy of geraniol and  $\beta$ -citronellol under coexistence with excess linalool. **Journal of the Institute of Brewing**, 2010. v. 116, n. 3, p. 251–260.

TETALI, S. D. Terpenes and isoprenoids: a wealth of compounds for global use. **Planta**, 2019. v. 249, n. 1, p. 1–8. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00425-018-3056-x>>.

THOMAS, G. G.; SCHWABE, W. W. Factors controlling flowering in the hop (*Humulus lupulus* L.). **Annals of Botany**, 1969. v. 33, n. 4, p. 781–793.

TOWNSEND, M. S.; HENNING, J. A. AFLP discrimination of native North American and cultivated hop. **Crop Science**, 2009. v. 49, n. 2, p. 600–607.

TREUTTER, D. Significance of flavonoids in plant resistance: A review. **Environmental Chemistry Letters**, 2006. v. 4, n. 3, p. 147–157.

TRONINA, T.; POPŁONSKI, J.; BARTMANSKA, A. Flavonoids as Phytoestrogenic Components of Hops. **Molecules**, 2020. v. 25, n. 4201, p. 1–21.

TUNG, M.-C. et al. Discovery of 8-prenylnaringenin from hop (*Humulus lupulus* L.) as a potent monoacylglycerol lipase inhibitor for treatments of neuroinflammation and Alzheimer's disease. **RSC Advances**, 2021. v. 11, p. 31062–31072.

TURNER, S. F. et al. Challenges and opportunities for organic hop production in the United States. **Agronomy Journal**, 2011. v. 103, n. 6, p. 1645–1654.

TURSUN, E.; LI, Zuopeng; AISA, H. A. Isolation and identification of soft resins from *Humulus lupulus* L. **Industrial Crops and Products**, 2021. v. 172, n. August, p. 114014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114014>>.

TYŚKIEWICZ, K. et al. Essential oils from *Humulus lupulus* scCO<sub>2</sub> extract by hydrodistillation and microwave-assisted hydrodistillation. **Molecules**, 2018. v. 23, n. 11.

USA HOPS. **Variety Manual - USA HOPS 2016**. USA HOPS. Disponível em: <[https://www.usahops.org/cabinet/data/2016\\_VarietyManual %281%29.pdf](https://www.usahops.org/cabinet/data/2016_VarietyManual%281%29.pdf)>.

VAN HOLLE, A. et al. The brewing value of Amarillo hops (*Humulus lupulus* L.) grown in northwestern USA: A preliminary study of terroir significance. **Journal of the Institute of Brewing**, 2017. v. 123, n. 3, p. 312–318.

VAN HOLLE, A. et al. Single nucleotide polymorphisms and biochemical markers as complementary tools to characterize hops (*Humulus lupulus* L.) in brewing practice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2019. v. 67, n. 13, p. 3761–3771.

VAN OPSTAELE, F. et al. Characterization of novel varietal floral hop aromas by headspace solid phase microextraction and gas chromatography – mass spectrometry/olfactometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2012. v. 60, p. 12270–12281.

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

VILLACORTA, N. F. et al. Endogenous hormonal profiles in hop development. **Journal of Plant Growth Regulation**, 2008. v. 27, n. 1, p. 93–98.

WALKER, M. C.; DONK, W. A. VAN DER. The many roles of glutamate in metabolism. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, 2016. v. 43, n. 2–3, p. 419–430.

WANG, Guifang; MA, W.; DU, J.  $\beta$ -Caryophyllene (BCP) ameliorates MPP<sup>+</sup> induced cytotoxicity. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, 2018. v. 103, n. 67, p. 1086–1091. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.168>>.

WANG, Guodong et al. Terpene biosynthesis in glandular trichomes of hop. **Plant Physiology**, 2008. v. 104, n. 3, p. 1254–1266.

WEBER, N. et al. Hop Extract Acts as an antioxidant with antimicrobial effects against propionibacterium acnes and *Staphylococcus Aureus*. **Molecules**, 2019. v. 24, n. 223, p. 1–13.

WHITESIDE, G. T.; LEE, G. P.; VALENZANO, K. J. The role of the cannabinoid CB<sub>2</sub> receptor in pain transmission and therapeutic potential of small molecule CB<sub>2</sub> receptor agonists. **Current Medicinal Chemistry**, 2007. v. 14, p. 917–936.

WITTE, C. P. Urea metabolism in plants. **Plant Science**, 2011. v. 180, n. 3, p. 431–438. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.11.010>>.

XIN, G. et al. Xanthohumol isolated from *Humulus lupulus* prevents thrombosis without increased bleeding risk by inhibiting platelet activation and mtDNA release. **Free Radical Biology and Medicine**, 2017. v. 108, p. 247–257.

XU, H. et al. Characterization of the formation of branched short-chain fatty acid:coas for bitter acid biosynthesis in hop glandular trichomes. **Molecular Plant**,

2013. v. 6, n. 4, p. 1301–1317.

YAKIMA CHIEF. **Hop Varietal Guide**. Disponível em: <[www.yakimachief.com](http://www.yakimachief.com)>.

YAKIMA CHIEF. **Table of Contents**. Yakima Chief Hops. Disponível em: <[https://www.yakimachief.com/media/wysiwyg/Yakima\\_Chief\\_Hops\\_Varieties.pdf](https://www.yakimachief.com/media/wysiwyg/Yakima_Chief_Hops_Varieties.pdf)>.

ZANOLI, P.; ZAVATTI, M. Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. **Journal of Ethnopharmacology**, 2008. v. 116, n. 3, p. 383–396.

ZHOU, K.; YANG, S.; LI, S. M. Naturally occurring prenylated chalcones from plants: Structural diversity, distribution, activities and biosynthesis. **Natural Product Reports**, 2021. v. 38, n. 12, p. 2236–2260.

### 3 PRODUÇÃO DE BIOMASSA E ÓLEO ESSENCIAL DE LÚPULO EM RESPOSTA À ADUBAÇÃO NITROGENADA.<sup>2</sup>

#### RESUMO

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é uma das matérias-primas básicas utilizadas na produção de cerveja. O Brasil, terceiro maior produtor e consumidor de cerveja do mundo, importa quase todo o lúpulo. Logo, técnicas agronômicas para as condições ambientais locais precisam ser desenvolvidas, inclusive em relação à sua nutrição. O N é um elemento indispensável para o desenvolvimento da cultura e o efeito da sua aplicação nos cultivos de lúpulo é desconhecido nas condições ambientais brasileiras. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de massa seca e de óleos essenciais da cultivar de lúpulo Chinook cultivado com cinco doses de N em três safras. Amostras de folhas, ramos e cones foram coletados para determinação da produção de massa seca, sendo os cones utilizados para análise do teor do óleo essencial. Amostras de óleo essencial foram obtidas por hidrodestilação. O número de cones por planta e a produção total de massa seca da parte aérea (cones, ramos e folhas) e de óleo essencial aumentaram linearmente com as doses de N e houve diferença na produção entre as safras em função das condições climáticas. Conclui-se, portanto, que doses crescentes de N, até 250 kg ha<sup>-1</sup> e as condições climáticas de cada safra alteram a produção geral da cultura.

Palavras-chave: *Humulus lupulus* L.; Chinook; nitrogênio; nutrição de plantas.

---

<sup>2</sup> Artigo aceito para publicação na Revista Ceres (ISSN 2177-3491), agendado para ser publicado no Vol. 70; Nº 06 (nov-dez/2023).

## ABSTRACT

Hops (*Humulus lupulus* L.) is one of the basic raw materials used in beer production. Brazil, the third largest producer and consumer of beer in the world, imports almost all hops. Therefore, agronomic techniques for local environmental conditions need to be developed, including in relation to their nutrition. N is an indispensable element for the development of the crop and the effect of its application on hop crops is unknown in Brazilian environmental conditions. Our goal was to evaluate the production of dry matter and essential oils of the cultivar of Chinook hops cultivated with five doses of N in three crops. Samples of leaves, branches and cones were collected to determine the dry mass production, and the cones were used to analyze the essential oil content. Essential oil samples were obtained by hydrodistillation. The number of cones per plant and the total production of shoot dry mass (cones, branches and leaves) and essential oil increased linearly with N doses and there was a difference in production between harvests as a function of climatic conditions. It is concluded, therefore, that increasing doses of N, up to 250 kg ha<sup>-1</sup> and the climatic conditions of each season alter the general production of the crop.

Keywords: *Humulus lupulus* L., Chinook, nitrogen.

### 3.1 INTRODUÇÃO

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.), espécie dioica da família Cannabaceae, é uma das matérias-primas utilizadas no processo de produção de cervejas, cosméticos e medicamentos (BIENDL et al., 2014; SOLARSKA; SOSNOWSKA, 2015).

Embora o Brasil seja o terceiro maior produtor e consumidor de cerveja do mundo, os principais produtores mundiais de lúpulo são Estados Unidos, Alemanha, República Checa e China (CERVIERI JUNIOR, 2017; IHGC, 2019). O Brasil importa aproximadamente 4.000 toneladas de lúpulo por ano, com um custo superior a 200 milhões de reais (SOARES; FIRMO, 2018).

Atualmente, a indústria cervejeira brasileira apresenta um momento de expansão, principalmente com o surgimento das cervejarias artesanais, sendo que em 2014 totalizavam 257 e em 2020 passou para 1.383 (MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2020).

As propriedades medicinais do lúpulo podem estar relacionadas à indução do sono, atividade estrogênica (CHADWICK; PAULI; FARNSWORTH, 2006), tratamento de dispepsia e falta de apetite (BIENDL et al., 2014), além de potencial uso como anti-inflamatório (BOCQUET; SAHPAZ; RIVIÈRE, 2018) e em tratamentos contra câncer (CÖMERT ÖNDER et al., 2016; HO et al., 2020), tuberculose e diabetes (BOCQUET et al., 2018a).

Os compostos ativos importantes para as indústrias cervejeira e medicinal incluem as resinas,  $\alpha$ -ácidos e  $\beta$ -ácidos (humulona, lupulona e seus derivados 2-metil-3-butenol), taninos, flavonoides, polifenóis (8-prenilnaringenina, xanthohumol, isoxanthohumol) e óleos essenciais (mirceno, alfa-humuleno, beta-cariofileno e farneseno) (BIENDL et al., 2014; NOWAK et al., 2020).

Estas substâncias estão localizadas nas glândulas de lupulina presentes em espigas curtas, denominadas cones, que são as flores de plantas femininas (BIENDL et al., 2014). Essas glândulas armazenam resinas e óleos essenciais (FARAG; WESSJOHANN, 2013).

As resinas possuem  $\alpha$ -ácidos e  $\beta$ -ácidos que conferem o amargor da cerveja e cujos teores na massa seca dos cones podem variar de 5 a 13% e 3 a 8%, respectivamente. Por outro lado, os óleos essenciais são compostos responsáveis pelo aroma e os teores podem variar de 0,2 a 3% na massa seca de cones (BIENDL et al., 2014). Tanto as composições de ácidos como de óleos essenciais podem ser

alteradas conforme as condições ambientais, a cultivar ou o estado nutricional do lúpulo, além de fatores relacionados às condições pós-colheita (DURELLO; SILVA; BOGUSZ JR., 2019).

Para a obtenção de boa produção de massa seca de cones, contendo níveis satisfatórios de resinas e óleos, o fornecimento adequado de nutrientes minerais é necessário. O nitrogênio (N) é um dos macronutrientes importantes para um vigoroso crescimento vegetativo da cultura, sendo essencial durante o período de crescimento vertical e lateral da planta que ocorre durante a primavera (DODDS, 2017; NEVE, 1991).

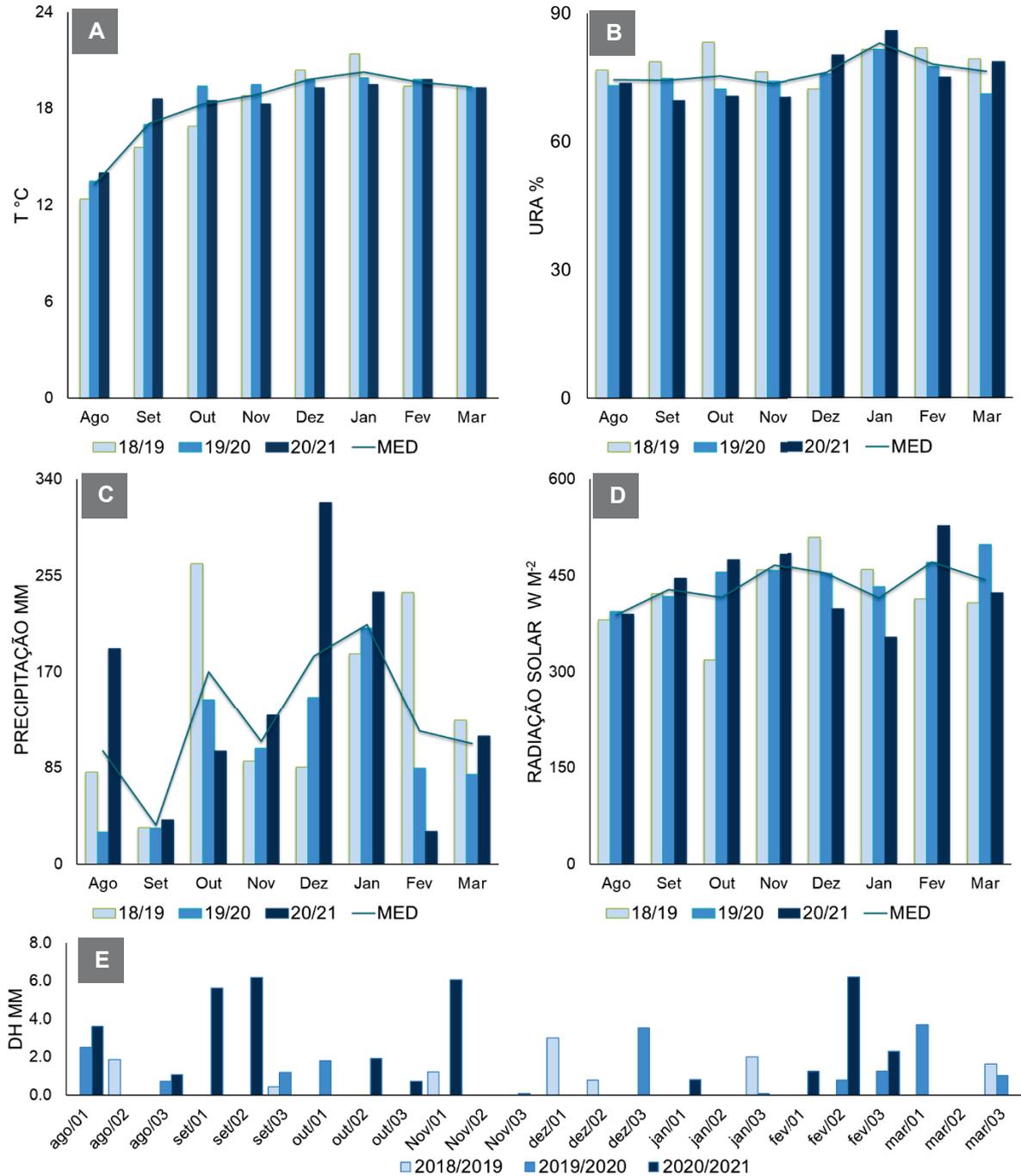
A recomendação de N para o lúpulo é variável em diversos países (BAVEC; ČEH BREŽNIK; BREŽNIK, 2003), todavia, os manuais de recomendação de adubação brasileiros não dispõem de informações sobre a adubação nitrogenada para a cultura. Também não há trabalhos na literatura relacionando a produtividade de cones e de óleos essenciais com diferentes quantidades desse nutriente em lúpulo cultivado em condições de campo nas condições edafoclimáticas brasileiras.

Diante do exposto, esse trabalho teve por objetivo avaliar a produção de biomassa e de óleos essenciais de lúpulo sob diferentes doses de adubação nitrogenada nas condições edafoclimáticas de Guarapuava, PR.

### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado na FAPA (Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária) da Cooperativa Agrária de Entre Rios localizada em Guarapuava, PR, microrregião Centro-Sul do Estado do Paraná, Região Sul do Brasil (25°33'S; 51°29'W e 1.095 m de altitude). O clima local é do tipo Cfb, segundo a classificação de Köppen-Geiger, com verões frescos e sem estação seca definida (ALVARES et al., 2013). Dados climáticos do período foram coletados pela estação meteorológica instalada na estação experimental (FIGURA 14). O balanço hídrico sequencial foi calculado a partir de séries decendiais de precipitação e temperatura (THORNTHWAITE; MATHER, 1955).

FIGURA 14- MÉDIAS MENSAIS DE TEMPERATURA (A), UMIDADE RELATIVA DO AR (B), TOTAL DE PRECIPITAÇÃO (C), RADIAÇÃO SOLAR (D) E DÉFICIT HÍDRICO POR DECÊNDIOS (E), DURANTE OS MESES DE AGOSTO A MARÇO DAS SAFRAS 2018/2019, 2019/2020 E 2020/2021, NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DA FAPA, EM GUARAPUAVA-PR.



FORNTE: O autor (2022).

LEGNDA: MED - Média das 3 safras.

O solo da área possui textura muito argilosa ( $650 \text{ g kg}^{-1}$  de argila,  $175 \text{ g kg}^{-1}$  de areia e  $175 \text{ g kg}^{-1}$  de silte em 0-40 cm) e é classificado Latossolo Bruno Alumínico. Os resultados dos teores na análise química foram os seguintes: pH  $\text{CaCl}_2$  - 5,50;  $\text{Al}^{+3}$

- 0,00;  $H^+ + Al^{+3}$  - 5,50  $cmol_c dm^{-3}$ ;  $Ca^{+2}$  - 7,60  $cmol_c dm^{-3}$ ;  $Mg^{+2}$  - 2,80  $cmol_c dm^{-3}$ ;  $K^+$  - 0,52  $cmol_c dm^{-3}$ ; P - 16,70  $mg dm^3$ ; C - 51,8  $g dm^3$ ; e CTC - 16,42  $cmol_c dm^{-3}$ .

### 3.2.1 Experimento de campo

Os experimentos foram conduzidos em condições de campo nas safras 2018/2019, 2019/2020 e 2020/2021, sendo utilizada a cultivar Chinook como material vegetal. A cultura foi implantada na área em agosto de 2017. Diferentes doses de N (0; 50; 100; 150, 200, 250  $kg de N ha^{-1}$ ) foram aplicados na forma de ureia (46% de N).

A aplicação foi realizada a lanço em 1 m de largura na linha de plantio e em 3 aplicações: 30  $kg de N ha^{-1}$  na formação das primeiras folhas (BBCH 1) e o restante de cada dose em duas aplicações iguais na formação de ramos laterais (BBCH 2) e de alongamento dos ramos principais (BBCH 3), conforme classificação fenológica de Roßbauer et al. (1995).

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com quatro repetições de 8 plantas com espaçamento de 1 m na linha e 3 m entre linhas. Em cada extremidade das parcelas, uma planta foi utilizada como bordadura. Após a brotação foram selecionados seis ramos principais que foram conduzidos por duas cordas de sisal fixadas em arame a 5 m de altura.

### 3.2.2 Determinação da produção de massa seca

O ponto de colheita dos cones foi determinado quando estes estavam amarelando, as pétalas caindo ao toque e a lupulina com coloração amarela escura (BIENDL et al., 2014). As colheitas foram realizadas em média aos 120 dias do início da condução sendo avaliadas a produção de cones e massa seca de ramos (principais e secundários) e folhas.

A massa seca de ramos e folhas foi obtida utilizando-se secador com circulação forçada de ar a 60°C até atingir massa constante. Os cones de lúpulo, por sua vez, foram secos utilizando-se o mesmo secador, porém, em temperatura de 35°C até massa constante, conforme Falkenberg et al. (2007). Para todas as variáveis foram avaliadas seis plantas por parcela. O índice de colheita (IC) foi calculado pela relação entre a massa seca dos cones e a massa seca aérea total da planta (somatório da massa seca das folhas, ramos e cones).

### 3.2.3 Determinação do teor de óleos essenciais

A extração do óleo foi realizada no Laboratório de Ecofisiologia Vegetal da UFPR, por hidrodestilação em aparelho graduado Clevenger por 3 horas contendo 1.000 ml de água destilada. Para cada tratamento foram utilizadas 4 repetições de 50 gramas de cones secos. O teor de óleo essencial foi determinado em base de massa seca e expresso em porcentagem (% m m<sup>-1</sup>). A produção foi determinada pela quantidade produzida por cada planta (mg planta<sup>-1</sup>).

### 3.2.4 Determinação de N na parte aérea da planta

A determinação do N nos tecidos vegetais foi realizada no Laboratório de Solos do IFPR – Campus Palmas, por digestão sulfúrica seguida por destilação via método Kjeldahl (CARMO et al., 2000). Assim, 100 mg de amostras secas de folhas, ramos e cones foram colocadas em tubos digestores com 1 g de mistura dos sais K<sub>2</sub>S<sub>4</sub> e CuSO<sub>4</sub> na proporção 10:1 e 3 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 98%.

Os tubos foram então aquecidos lentamente em bloco digestor (350°C) até adquirir coloração azul esverdeada. Após esfriar, o volume foi completado com H<sub>2</sub>O até 50 ml. A esse extrato digerido foram adicionados 10 ml de NaOH (40%) sendo o tubo acoplado ao destilador Kjeldahl.

O conteúdo da destilação foi transferido para béquer contendo 25 ml de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (2%) mais indicadores (verde bromocresol 0,1% e vermelho metila 0,04% m/v). A coloração da solução foi corrigida para coloração vinho com solução de HCl 1 mol L<sup>-1</sup>.

Após completar 45 ml de solução destilada, o produto de coloração verde foi levado para titulação em HCl 0,01 mol L<sup>-1</sup> até atingir a coloração vinho. O volume necessário para alterar a coloração foi utilizado para calcular a quantidade de N na respectiva amostra.

### 3.2.5 Análise estatística

A análise estatística foi realizada considerando o experimento em arranjo experimental de parcelas subdivididas no tempo, sendo as 6 doses de N o fator principal e as 3 safras, os subfatores.

Após a análise de variância foi realizada a análise de regressão para as doses de N e teste de Scott Knott para comparar as médias do subfator safra ( $p \leq 0,05$ ). Para

as doses de N na planta foi aplicada análise de variância, seguida de análise de regressão. As condicionantes para a análise de variância foram verificadas a partir dos testes de homoscedasticidade (Bartlett, Hartley e Levene) e normalidade (Jarque-Berra).

Os dados foram analisados pelos softwares Sisvar (FERREIRA, 2019) e Speed Stat (CARVALHO et al., 2020).

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se maiores médias de temperatura nos meses de dezembro e janeiro na safra 2018/2019 (20,4 e 21,4°C, respectivamente). A umidade relativa do ar (URA %) por sua vez, foi mais elevada no mês de janeiro das três safras, especialmente em janeiro de 2021 que atingiu 83%.

Quanto à radiação, observou-se índices abaixo da média em outubro de 2018, dezembro de 2020 e janeiro de 2021. As médias de precipitação foram insuficientes, resultando em déficit hídrico do solo em todas as safras, em especial na terceira (FIGURA 14).

Nas três safras avaliadas, foram observadas diferenças em relação as doses de N, para o número de cones por planta, massa seca de ramos (principais e secundários e totais), folhas, cones e parte aérea total, além da produção de óleo essencial por planta.

Comparando as safras, observaram-se diferenças em relação a todas as variáveis e foi observada interação entre safra e doses de N somente na produção de óleo essencial por planta (Tabela 1).

A produção de cones foi menor na safra 2020/2021 (TABELA 7), tanto em número como em massa por planta, com reduções de 62% e 68%, respectivamente, em relação à média das safras anteriores.

A disponibilidade de radiação em dezembro de 2020 e janeiro de 2021, período de formação de ramos secundários e de inflorescências, foi inferior às safras anteriores (FIGURA 14).

Como o lúpulo, é uma planta C3 (OCVIRK; OGRINC; KOSIR, 2018), e apresenta ponto de saturação luminosa entre 890 e 990 W m<sup>-2</sup> (KENNY, 2005), pode-se inferir que a diminuição da produção na safra 2020/2021 ocorreu em função da menor radiação incidente, principalmente em dezembro e janeiro, quando a planta encontrava-se finalizando o estágio 3 (alongamento dos ramos principais) em estágio

4 (emergência de inflorescência) e iniciando o estágio 5 (floração), conforme escala fenológica (ROSSBAUER et al., 1995).

TABELA 7 - INDICADORES PRODUTIVOS DE *H. lupulus* L. CV. CHINOOK EM 3 SAFRAS SOB 5 DOSES DE N E TESTEMUNHA (SEM N) EM GUARAPUAVA-PR. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NA HORIZONTAL, NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE SCOTT KNOTT ( $P \leq 0,05$ ).

| VARIÁVEL   | Safrá     |           |           |
|--|-----------|-----------|-----------|
|  | 2018/2019 | 2019/2020 | 2020/2021 |
| Número cones por planta                          | 1.348,67a | 1.274,23a | 502,94b   |
| Cones (mg cone <sup>-1</sup> )                   | 96,96a    | 94,29a    | 78,83b    |
| Ramos princ. (g planta <sup>-1</sup> )           | 121,23a   | 130,17a   | 91,75b    |
| Ramos sec. (g planta <sup>-1</sup> )             | 144,37a   | 129,44a   | 25,19b    |
| Ramos (g planta <sup>-1</sup> )                  | 265,60a   | 259,61a   | 116,94b   |
| Folhas (g planta <sup>-1</sup> )                 | 330,48a   | 256,84b   | 162,69c   |
| Folhas + ramos (g planta <sup>-1</sup> )         | 596,08a   | 516,45a   | 279,63b   |
| Cones (g planta <sup>-1</sup> )                  | 126,17a   | 120,09a   | 39,48b    |
| Folhas + ramos + cones (g planta <sup>-1</sup> ) | 722,25a   | 636,54a   | 319,11b   |
| Índice de colheita                               | 0,18a     | 0,19a     | 0,12b     |
| Óleo (% m.m <sup>-1</sup> )                      | 0,31a     | 0,13c     | 0,19b     |
| Óleo (mg planta <sup>-1</sup> )                  | 392,95a   | 156,79b   | 77,81c    |

FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: \*N – Doses de N; Inter. – Interação; Ramos princ. – Ramos principais; Ramos sec. – Ramos secundários.

A excessiva URA média ocorrida entre dezembro de 2020 e janeiro de 2021 (80,2 e 86%, respectivamente) resultou na maior incidência *Pseudoperonospora humuli* L. (GENT; OCAMB; FARNSWORTH, 2010) agente causal do míldio, considerada uma das doenças mais agressivas do lúpulo (PURAYANNUR et al., 2021).

De acordo com Gent e Ocamb (2009) as infecções mais severas ocorrem quando há a combinação de alta umidade do ar e das folhas, causadas por chuvas frequentes e, noites relativamente quentes, situação ocorrida no experimento, especialmente na terceira safra.

Na terceira safra (2020/2021), a temperatura média mensal foi menor que nas safras anteriores, especialmente nos meses de novembro, dezembro e janeiro (FIGURA 14), resultando assim em menor atividade metabólica e, conseqüentemente, em menor produção, conforme apontado por Eriksen et al. (2020). Da mesma forma nesta safra houve menor precipitação em setembro e outubro que nas anteriores,

período em que surgem as primeiras brotações (estádio 0), - desenvolvimento das folhas (estádio 2) e - formação de ramos laterais (estádio 3), situação que também contribuiu para a menor produção por planta na terceira safra.

Assim, a soma destes fatores (menor radiação incidente, alta URA, mildio, menor temperatura média e chuvas mal distribuídas) contribuíram para a menor produção na última safra do experimento.

A produção de MS de cones obtida nesse trabalho, cujo fotoperíodo máximo foi de 13,8 horas, oscilou entre 245,8 e 386,7 kg ha<sup>-1</sup>, valores inferiores comparados à média dos grandes produtores mundiais que é de 1.971 kg ha<sup>-1</sup> (IHGC, 2019).

O cultivo da espécie em áreas com latitudes entre 35° e 50°, principalmente do hemisfério norte (RUGGERI; LORETI; ROSSINI, 2018), as quais proporcionam fotoperíodos superiores a 15 horas, é considerada ideal para o aumento das taxas fotossintéticas, resultando na maior formação das folhas e ramos e, conseqüentemente, no maior número de inflorescências.

O rendimento de óleos essenciais, por MS de cone e por planta, também sofreu variações em relação às safras de cultivo. Os maiores rendimentos foram na primeira safra (TABELA 7), quando foram observadas as maiores temperaturas médias e maiores índices de radiação solar nos meses de dezembro e janeiro (FIGURA 14), períodos de floração e formação dos cones. Na primeira safra, também foram observadas menores índices de precipitação e URA nesse período, especialmente em relação à safra 3, na qual foi observado o menor rendimento de óleo por planta.

Precipitação intensa é um dos fatores mais relevantes em relação ao rendimento dos óleos essenciais (MORAIS, 2009), principalmente no período de síntese e armazenamento, pois podem ocasionar a perda de substâncias hidrossolúveis nos cones. Outras condições meteorológicas, como a temperatura também afetam o rendimento de óleo essencial (CHRYSARGYRIS et al., 2017). Assim, a ação combinada dessas diferenças meteorológicas pode ser responsável pela diferença no rendimento de óleos nas três safras.

Outros fatores que podem ter contribuído para a baixa produção por planta nas três safras de cultivo, foram o baixo índice e a má distribuição das chuvas, o que resultou em 13 decêndios de situação de déficit hídrico no solo, entre os meses de setembro a dezembro das três safras (FIGURA 14). Períodos em que a planta se encontra nos estádios 1 a 4 que compreendem desenvolvimento das folhas, formação de ramos laterais, alongamentos de ramos principais e emergência da inflorescência.

Considerando as três safras, o acréscimo de doses de N proporcionou efeito linear e positivo na maioria das variáveis (FIGURA 15). Como não houve aumento na massa média de cones, conclui-se que o aumento da produção de massa seca de cones ocorreu pelo efeito do N no aumento do número de cones por planta e não no aumento da massa e tamanho destes.

A adubação nitrogenada resultou maior desenvolvimento dos ramos primários e secundários, e por consequência, maior produção de folhas. Como as inflorescências são produzidas nos ramos secundários (distribuídos aos pares ao longo do ramo principal) a partir de gemas localizadas na intersecção das folhas (terço superior da planta) com os ramos secundários, é possível afirmar que quanto maior o número de folhas maior o número de inflorescências.

Condição confirmada com índice de correlação positiva de 0,90, entre massa de folhas e número de cones, e 0,87 entre massa de folhas e massa de cones.

O N contribuiu para a maior produção de ramos secundários provavelmente também pelo aumento da síntese de citocininas, as quais aumentam a divisão celular e atuam no desenvolvimento de gemas laterais e axilares quando em correto balanço com as auxinas, também dependentes do N (KIEBER & SCHALLER, 2014).

O aumento no número de cones, em função das doses crescentes de N, também contribuiu para o aumento na produção total de óleo essencial por planta, visto que as aplicações de N não proporcionaram aumento no teor de óleo por cone, o qual oscilou entre 0,17 e 0,26 % (FIGURA 15). Ao comparar com Kenny (1990), essa produção foi baixa, uma vez que o óleo essencial de amostras comerciais de lúpulo cv. Chinook, cultivados em diferentes regiões dos Estados Unidos, deve variar entre 0,94 e 1,73 %.

A produção de óleo essencial por planta aumentou linearmente com o acréscimo das doses de N nas safras de 2018/2019 ( $Y = 238,495 + 1,236X - R^2 83,32\% - p < 0,01$ ) e 2019/2020 ( $Y = 94,406 + 0,499X - R^2 43,41\% - p = 0,03$ ), enquanto na safra 2020/2021 não foi alterada.

Iskra et al. (2019) concluíram que a adubação nitrogenada pode influenciar a qualidade dos cones, alterando a coloração, porcentagem de ácidos e de óleo essencial. Neste trabalho verificou-se aumento linear na produção de óleo essencial por planta, com doses crescentes de N até 250 kg ha<sup>1</sup>.

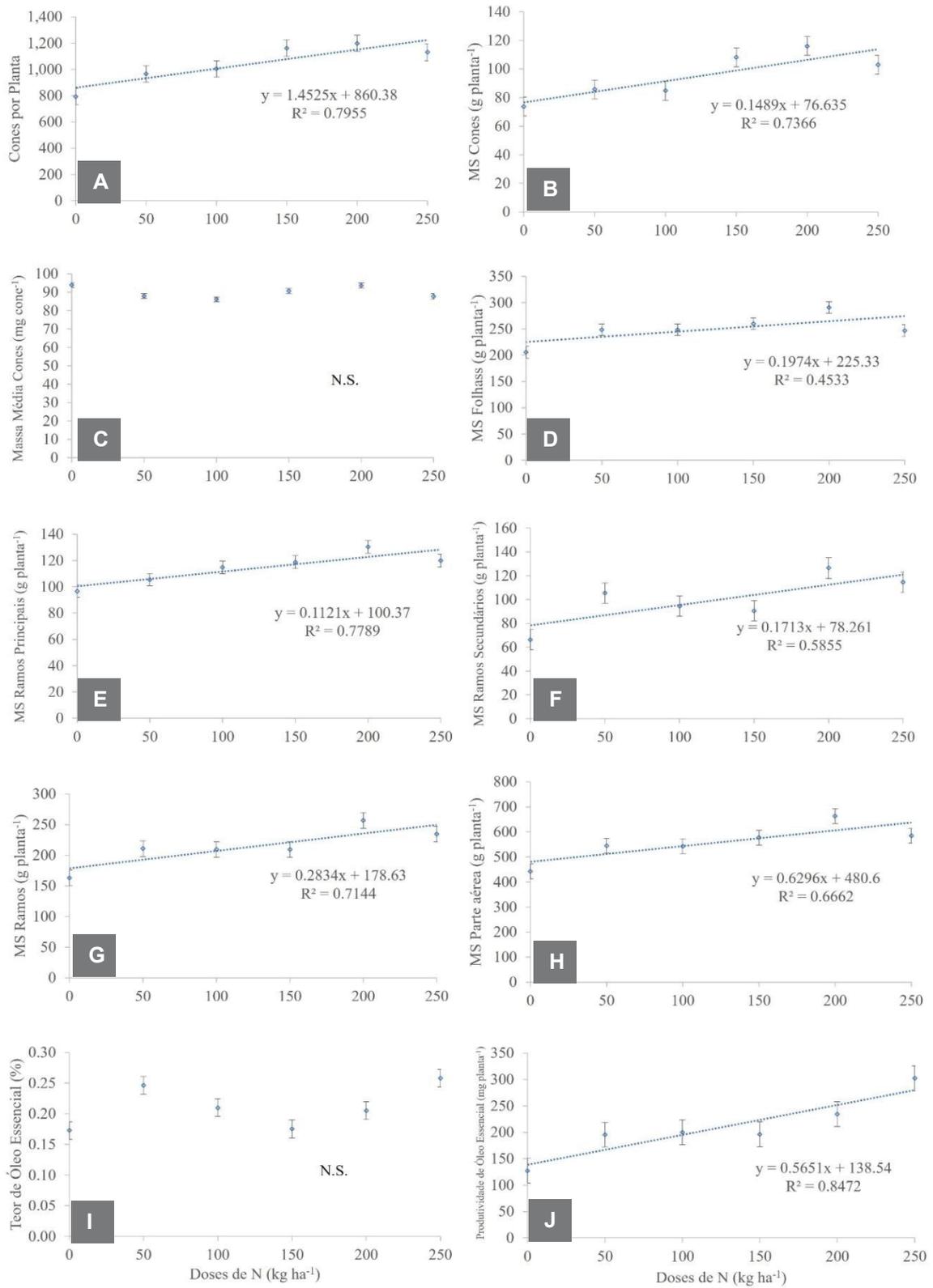
No entanto, o aumento da produção de óleo por planta foi ocasionado pela maior produção de cones, pois o N não aumentou o rendimento de óleos por cone,

visto que os óleos essenciais do lúpulo são produtos do metabolismo secundário cuja biossíntese não é induzida pelas diferentes doses de N.

Os resultados desse trabalho demonstram que entre as variáveis avaliadas, a dose ótima para produção de cones (produto comercial do lúpulo) é de no mínimo 250 kg N ha<sup>-1</sup>.

Por outro lado, as recomendações de aplicação de N variam consideravelmente entre os principais países produtores. No Reino Unido, variam entre 180 a 220 kg ha<sup>-1</sup> conforme a textura do solo (DEFRA, 2010), na Austrália, entre 120 a 230 kg ha<sup>-1</sup> (DODDS, 2017), nos EUA recomenda-se, entre 120 a 170 kg ha<sup>-1</sup> em solos com moderados teores de matéria orgânica, podendo chegar a 230 kg ha<sup>-1</sup> para baixos teores de matéria orgânica, na Eslovênia, 250 kg ha<sup>-1</sup> e na Alemanha, 270 kg ha<sup>-1</sup> (BAVEC; ČEH BREŽNIK; BREŽNIK, 2003).

FIGURA 15 - COMPONENTES DE RENDIMENTO DE *H. lupulus* L. CV. CHINOOK CULTIVADO EM GUARAPUAVA-PR SOB DIFERENTES DOSES DE N. ANÁLISE CONJUNTA DAS SAFRAS 2018/2019, 2019/2020 E 2020/2021. \*(p≤0,05).



FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: NS: Não significativo (P≤0,05).

Embora o solo do experimento tenha altos teores de argila e elevados níveis de matéria orgânica, houve demanda das plantas por N ( $\geq 250 \text{ kg ha}^{-1}$ ), superior aos valores recomendados na maioria dos principais países produtores em regiões de elevadas latitudes.

Essa situação pode ter ocorrido pela baixa umidade do solo nos períodos de aplicação que aconteceram na última semana de setembro, outubro e novembro. Condições de menor umidade podem aumentar as perdas do N, visto que foi identificada volatilização da amônia em experimentos realizados no mesmo solo desse estudo: 12,5 a 25,4% do N aplicado na forma de ureia (FONTOURA; BAYER, 2010; VIERO et al., 2014).

Aditivamente, Kolenc et al. (2016) relatam redução da atividade das enzimas glutamina sintetase e alanina transferase em lúpulo cultivado sob condições de déficit hídrico, diminuindo dessa forma a assimilação do N.

Não foram observados sintomas de deficiência de N nas parcelas sem aplicação de N. Por outro lado, no tratamento com maior dose ( $250 \text{ kg N ha}^{-1}$ ) observou-se o sintoma “asa de anjo”, o qual é relacionado ao excesso de N (SENSKE, 2020).

Observaram-se efeito quadrático das doses de N no teor deste nutriente nas folhas ( $Y = -0,00016x^2 + 0,0538x + 30,69$ ), folhas e ramos ( $Y = -0,00014x^2 + 0,0442x + 26,72$ ) e parte aérea total - folhas, ramos principais, ramos secundários e cones ( $Y = -0,00012x^2 + 0,0381x + 26,58$ ), não sendo observadas diferenças para ramos principais, ramos secundários, ramos totais e cones (Tabela 2).

A máxima eficiência de acumulação de N foi na dose de 165,6 para folhas, 160,4 para folhas e ramos e 164,9 kg de N  $\text{ha}^{-1}$  para massa seca total da parte aérea. Os menores teores médios de N, foram observados nos ramos principais com  $12,00 \text{ mg g}^{-1}$ , ao passo que a maior concentração foi nas folhas, com  $33,69 \text{ mg g}^{-1}$ .

TABELA 8 - TEORES DE NITROGÊNIO NA PARTE AÉREA DE PLANTAS DE *H. lupulus* L. SOB 5 DOSES DE N E TESTEMUNHA (SEM N) EM GUARAPUAVA-PR. SAFRA 2020/2021, \*P≤0,05.

| DOSES DE N          | FOLHAS | RAMOS SECUNDÁRIOS    | RAMOS PRINCIPAIS   | RAMOS (PRINC.+SEC.) | FOLHAS+RAMOS | CONES              | TOTAL |
|---------------------|--------|----------------------|--------------------|---------------------|--------------|--------------------|-------|
| Kg ha <sup>-1</sup> |        | N mg g <sup>-1</sup> |                    |                     |              |                    |       |
| 0                   | 29.70  | 12.56                | 12.28              | 12.32               | 25.97        | 25.63              | 25.92 |
| 50                  | 34.70  | 13.69                | 11.98              | 12.27               | 29.88        | 25.93              | 29.32 |
| 100                 | 34.63  | 14.07                | 12.60              | 12.84               | 29.95        | 26.16              | 29.42 |
| 150                 | 34.02  | 14.09                | 12.48              | 12.75               | 29.45        | 26.47              | 29.03 |
| 200                 | 34.54  | 12.75                | 11.63              | 11,81               | 29.66        | 26.32              | 29.19 |
| 250                 | 34.53  | 14.40                | 11.09              | 11.64               | 29.61        | 27.43              | 29.30 |
| MÉDIA               | 33.69  | 13.59                | 12.00              | 12.27               | 29.09        | 26.32              | 28.70 |
| P-VALOR             | 0.02*  | 0.39 <sup>NS</sup>   | 0.29 <sup>NS</sup> | 0.31 <sup>NS</sup>  | 0.02*        | 0.71 <sup>NS</sup> | 0.02* |
| CV %                | 5.99   | 10.6                 | 8.13               | 6.88                | 5.60         | 6.12               | 4.93  |
| P-VALOR RQ          | 0.03*  | -                    | -                  | -                   | <0.02*       | -                  | 0.02* |
| R <sup>2</sup> RQ   | 0.71   | -                    | -                  | -                   | 0.72         | -                  | 0.73  |

FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: NS: Não significativo P≤0,05; RQ: Regressão Quadrática.

Nos cones os teores médios de N foram de 26,32 mg g<sup>-1</sup>, o que demonstra que na fase de colheita o N fica mais concentrado nas folhas e cones. Com a diminuição do comprimento do dia no período de outono, inicia-se o processo de senescência gradual das folhas e parte do N absorvido pela planta começa a ser deslocado para as raízes, com o intuito de formar reservas para a rebrota da planta na próxima estação quente (NEVE, 1991).

### 3.4 CONCLUSÕES

Doses crescentes de N aumentam de forma linear o número de cones por planta, a produção de massa seca de cones, folhas e ramos e a produção de óleo essencial em *H. lupulus* L. cv. Chinook cultivado em Guarapuava-PR. Assim, nas condições deste experimento a dosagem recomendada é de 250 kg N ha<sup>-1</sup>.

As condições climáticas (precipitações, umidade relativa do ar, radiação e temperatura) de cada safra promovem alteração nos componentes produtivos da cultura.

Os teores de N nas folhas de *H. lupulus* L. cv. Chinook sofrem alteração em função da aplicação de doses de N.

## 3.5 REFERÊNCIAS

- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, 2013. v. 22, n. 6, p. 711–728.
- BAVEC, F.; ČEH BREŽNIK, B.; BREŽNIK, M. Hop yield evaluation depending on experimental plot area under different nitrogen management. **Plant, Soil and Environment**, 2003. v. 49, n. 4, p. 163–167.
- BIENDL, M. et al. **Hops: Their Cultivation, Composition and Usage**. 1. ed. Nuremberg, Germany: [s.n.], 2014.
- BOCQUET, L. et al. *Humulus lupulus* L., a very popular beer ingredient and medicinal plant: overview of its phytochemistry, its bioactivity, and its biotechnology. **Phytochemistry Reviews**, 2018. v. 17, n. 5, p. 1047–1090.
- BOCQUET, Laetitia; SAHPAZ, Sevser; RIVIÈRE, Céline. An overview of the antimicrobial properties of hop. *In*: MÉRILLON, J.-M.; RIVIERE, C. (Org.). **Natural Antimicrobial Agents. Sustainable Development and Biodiversity**, vol 19. Rajasthan, India: Springer, 2018, p. 31–54.
- CARMO, C. A. F. S. et al. **Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados na embrapa solos**. Circular T ed. Rio de Janeiro, RJ, Brasil: EMBRAPA, 2000.
- CARVALHO, A. M. X. et al. SPEED stat: A free, intuitive, and minimalist spreadsheet program for statistical analyses of experiments. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 2020. v. 20, n. 3, p. 1–6.
- CERVIERI JUNIOR, O. **Panoramas setoriais 2030: Bebidas**. (BNDES, Org.). Brasília-DF: [s.n.], 2017. Disponível em: <[https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/14256/2/Panoramas Setoriais 2030 - Bebidas\\_P.pdf](https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/14256/2/Panoramas_Setoriais_2030_-_Bebidas_P.pdf)>.
- CHADWICK, L. R.; PAULI, G. F.; FARNSWORTH, N. R. The pharmacognosy of *Humulus lupulus* L. (hops) with an emphasis on estrogenic properties. **Phytomedicine**, 2006. v. 13, n. 1–2, p. 119–131.
- CHRYSARGYRIS, A. et al. Vegetative, physiological, nutritional and antioxidant behavior of spearmint (*Mentha spicata* L.) in response to different nitrogen supply in hydroponics. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, 2017. v. 6, p. 52–61. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jarmap.2017.01.006>>.
- CÖMERT ÖNDER, F. et al. Antiproliferative activity of *Humulus lupulus* extracts on human hepatoma (Hep3B), colon (HT-29) cancer cells and proteases, tyrosinase,  $\beta$ -lactamase enzyme inhibition studies. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, 2016. v. 31, n. 1, p. 90–98.
- DEFRA. **Fertiliser Manual**. 8. ed. Norwich, England: TSO, 2010.
- DODDS, K. **Hops a guide for new growers**. 1. ed. [S.l.]: Department of Primary Industries, Australian Government, 2017.
- DURELLO, R. S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ JR., S. Química do lúpulo. **Química Nova**, 2019. v. 42, n. 8, p. 900–919.

ERIKSEN, R. L. et al. Photosynthetic activity of six hop (*Humulus lupulus* L.) cultivars under different temperature treatments. **HortScience**, 2020. v. 55, n. 4, p. 403–409.

FARAG, M. A.; WESSJOHANN, L. A. Cytotoxic effect of commercial *Humulus lupulus* L. (hop) preparations - In comparison to its metabolomic fingerprint. **Journal of Advanced Research**, 2013. v. 4, n. 4, p. 417–421. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jare.2012.07.006>>.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, 2019. v. 37, p. 529–535.

FONTOURA, S. M. V.; BAYER, C. Ammonia volatilization in no-till system in the south-central region of the state of Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, 2010. v. 34, n. 5, p. 1677–1684.

GENT, D. H.; OCAMB, C. M. Predicting infection risk of hop by pseudoperonospora humuli. **Phytopathology**, 2009. v. 99, n. 10, p. 1190–1198.

GENT, D. H.; OCAMB, C. M. FARNSWORTH, J. L. Forecasting and management of hop downy mildew. **Plant Disease**, 2010. v. 94, n. 4, p. 425–431.

HO, K. H. et al. Xanthohumol regulates miR-4749-5p-inhibited RFC2 signaling in enhancing temozolomide cytotoxicity to glioblastoma. **Life Sciences**, 2020. v. 254, n. May, p. 117807. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117807>>.

IHGC. Report - International Hop Growers Convention. 2019.

KENNY, S. T. Identification of U.S.-Grown Hop Cultivars by Hop Acid and Essential Oil Analyses, **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 48:1, 3-8,

KENNY, S. T. Photosynthetic Measurements in Hop ( *Humulus* ). **Acta Horticulturae**, 2005. v. 668, p. 241–248.

KOLENC, Z. et al. Hop (*Humulus lupulus* L.) response mechanisms in drought stress: Proteomic analysis with physiology. **Plant Physiology and Biochemistry**, 2016. v. 105, p. 67–78.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. E. A. Anuário da Cerveja. **MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2020. p. 16.

MORAIS, L.A.S., 2009. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**. 27, p. 4050–4063.

NEVE, R. A. **Hops**. 1. ed. London: Chapman and Hall, 1991.

NOWAK, B. et al. Pharmacokinetics of xanthohumol in rats of both sexes after oral and intravenous administration of pure xanthohumol and prenylflavonoid extract. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, 2020. v. 29, n. 9, p. 1101–1109.

OCVIRK, M.; OGRINC, N.; KOSIR, I. J. Determination of the geographical origin of hops (*Humulus lupulus* L.) using stable isotopes of C, N and S. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2018. v. 66, n. 8, p. 1–24.

PURAYANNUR, S. et al. The hop downy mildew pathogen *Pseudoperonospora humuli*. **Molecular Plant Pathology**, 2021. v. 22, n. 7, p. 755–768.

ROSSBAUER, V. G. et al. Phanologische Entwicklungsstadien von Kultur-Hopfen (

*Humulus lupulus* L.). **Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.**, 1995. v. 47, n. 10, p. 249–253.

RUGGERI, R.; LORETI, P.; ROSSINI, F. Exploring the potential of hop as a dual purpose crop in the Mediterranean environment: shoot and cone yield from nine commercial cultivars. **European Journal of Agronomy**, 2018. v. 93, n. November 2017, p. 11–17. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.eja.2017.10.011>>.

SENSKE, A. M. **Optimization of N fertilization for hops (*Humulus lupulus*) in Iowa soils.** [S.l.]: Iowa State University, 2020. Disponível em: <<https://lib.dr.iastate.edu/etd/17896>>.

SOARES, L. B.; FIRMO, H. T. O cultivo do lúpulo em terras brasileiras : como este ingrediente pode fomentar a pesquisa acadêmica e as economias locais . Alagoinhas-BA: [s.n.], 2018. p. 1–16.

SOLARSKA, E.; SOSNOWSKA, B. The impact of plant protection and fertilization on content of bioactive substances in organic hops. **Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus**, 2015. v. 14, n. 3, p. 93–101.

THORNTHWAITE, C. W.; MATHER, J. R. The water balance. **Publications in climatology**, 1955. v. 8, p. 5–86.

VIERO, F. et al. Ammonia volatilization from nitrogen fertilizers in no-till wheat and maize in southern Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 2014. v. 38, n. 5, p. 1515–1525.

## 4 BIOSÍNTESE DE COMPOSTOS SECUNDÁRIOS EM LÚPULO EM RESPOSTA À ADUBAÇÃO NITROGENADA

### RESUMO

O lúpulo é cultivado predominantemente para atender as demandas para a indústria cervejeira e seu uso vem crescendo em importância em função da expansão das cervejarias artesanais e às recentes pesquisas que tem evidenciado seu uso potencial na indústria de medicamentos. Assim é de grande importância o conhecimento do perfil dos óleos essenciais,  $\alpha$  e  $\beta$ -ácidos e das chalconas xanthohumol, isoxanthohumol e 6-,8-prenilnaringenina, sobretudo em novas regiões de cultivo, como o Brasil, particularmente em relação ao efeito de um importante nutriente, como o nitrogênio. O trabalho teve o objetivo de avaliar o perfil bioquímico de cones de lúpulo da cultivar Chinook, cultivado sob o efeito de diferentes doses de N em Guarapuava-PR. Lúpulo da cultivar Chinook, foi conduzido em 3 safras de cultivo em condições de campo. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilador Clevenger e seu perfil foi determinado por CG/MS. Teores de  $\alpha$  e  $\beta$ -ácidos e das chalconas xanthohumol, isoxanthohumol e 6-,8-prenilnaringenina foram determinados por HPLC/DAD. Foram identificados 16 compostos no óleo essencial de lúpulo, sendo dominantes os terpenos. Os majoritários foram mirceno, (E)- $\beta$ -farneseno,  $\delta$ -selineno,  $\beta$ -selineno e (E)-cariofileno. Houve variação no perfil da composição do óleo essencial entre as três safras de cultivo. Para cetonas,  $\alpha$ -ácidos e xanthohumol aplicações de doses crescente de N diminuem a síntese destes compostos em dosagens abaixo do intervalo entre 122,5 e 173 kg N ha<sup>-1</sup>. Acima destas doses, os teores destes compostos retornam a crescer, indicando aplicação de doses acima de 250 kg N ha<sup>-1</sup> para obter o máximo rendimento. Para maximizar a produção de 6-prenilnaringenina a dosagem não pode ultrapassar 125 kg N ha<sup>-1</sup>. Já em relação à 8-prenilnaringenina, o N não exerce efeito no rendimento. Para definição da dose de N, também é preciso levar em conta a influência desse nutriente na produção de cones.

Palavras-chave: *Humulus lupulus*; óleo essencial; ácidos amargos; xanthohumol; prenilnaringenina.

## ABSTRACT

Hops are predominantly cultivated to supply the demands of the brewing industry and their use has been growing in importance due to the expansion of craft breweries and recent research that has evidenced their potential use in the medicine industry. Thus, it is of great importance to know the profile of essential oils,  $\alpha$  and  $\beta$ -acids and chalcones xanthohumol, isoxanthohumol and 6-,8-prenilnaringenin, especially in new growing regions, such as Brazil, particularly in relation to the effect of an important nutrient, such as nitrogen. The objective of this survey was to evaluate the biochemical profile of hop cones of the cultivar Chinook, cultivated under the effect of different levels of N in Guarapuava-PR. Hops of the cultivar Chinook, was conducted in 3 crops of cultivation in field conditions. The essential oil was extracted by Clevenger hydrodistiller and its profile was determined by GC/MS. Contents of  $\alpha$  and  $\beta$ -acids and chalcones xanthohumol, isoxanthohumol and 6-,8-prenylnaringenin were determined by HPLC/DAD. A total of 16 compounds were identified in hop essential oil, with terpenes being dominant. The majority were myrcene, (E)- $\beta$ -farnesene,  $\delta$ -selinene,  $\beta$ -selinene and (E)-caryophyllene. There was variation in the profile of the essential oil composition among the three crops. For ketones,  $\alpha$ -acids and xanthohumol applications of increasing doses of N decrease the synthesis of these compounds at dosages below the range between 122.5 and 173 kg N ha<sup>-1</sup>. Above these doses, the contents of these compounds grow again, indicating application of doses above 250 kg N ha<sup>-1</sup> to obtain the maximum yield. To maximize the production of 6-prenylnaringenin the dosage can not exceed 125 kg N ha<sup>-1</sup>. In relation to 8-prenylnaringenin, N has no effect on yield. To define the dose of N, it is also necessary to take into account the influence of this nutrient on the production of cones.

Keywords: *Humulus lupulus*; essential oil; bitter acids; xanthohumol; prenilnaringenin.

## 4.1 INTRODUÇÃO

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.), é uma planta trepadeira herbácea, perene, pertencente à família Cannabaceae (PISTELLI et al., 2018), conhecida mundialmente como um dos ingredientes mais importantes para a indústria cervejeira, conferindo amargor e aroma (MORCOL; MATTHEWS; KENNELLY, 2021).

O lúpulo é cultivado predominantemente para atender as demandas para a indústria cervejeira (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021), que tem seu interesse ampliado, pelo recente sucesso das cervejarias locais e artesanais (ROSSINI et al., 2021), em virtude a uma tendência de consumo de cervejas lupuladas e com características sensoriais específicas (BOCQUET et al., 2018b).

Esse cenário, estimula o cultivo de lúpulo em novas regiões, próximas as microcervejarias que estão em expansão (SAWICKA et al., 2021) e optam por utilizar ingredientes locais para produção de cervejas com identidade local (FORTESCHI et al., 2019).

O lúpulo ganha mais importância, face o aumento no interesse pela medicina natural, que abre novas perspectivas para essa cultura (ROSSINI et al., 2021) face ao seu potencial medicinal e bioativo. Além dos produtos sedativos tradicionais como chás, extratos e tinturas (NAGYBÁKAY et al., 2021), também chamam a atenção outras atividades biológicas, por possuir compostos com ação estrogênica, antioxidante, anti-inflamatória e anticancerígena (TIAN et al., 2022; YU et al., 2014).

Os produtos do metabolismo secundário presentes nas glândulas de lupulina podem ser majoritariamente divididos em três grupos: os óleos essenciais, as resinas e os polifenóis (STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015; WANG et al., 2008).

Os óleos essenciais presentes nas glândulas de lupulina conferem aroma que complementa o sabor final característico da cerveja. Os terpenos são os seus componentes mais ativos (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

Os ácidos amargos, que compõem as resinas do lúpulo conferem amargor e plenitude ao sabor da cerveja (HONG et al., 2022; LOUREIRO et al., 2019). Dentre os polifenóis, destaca-se a chalcona prenilada xanthohumol, por ser uma das principais substâncias ativas do lúpulo, com efeito medicinal (YU et al., 2014) e a 8-prenilnaringenina, um dos mais potentes fitoestrogênios existentes e responsável pela atividade estrogênica do lúpulo (ZHOU; YANG; LI, 2021).

A composição química do lúpulo por ser influenciada por fatores ambientais, como as condições climáticas (KEUKELEIRE et al., 2007).

O cultivo de lúpulo requer uma quantidade abundante de macronutrientes, para obtenção de altas produtividade e qualidade de cone. Sendo que o Nitrogênio é um dos nutrientes mais importantes para o bom desenvolvimento dessa cultura (RODOLFI et al., 2021).

Alguns estudos demonstram que aplicação de diferentes doses de N, promovem alteração na composição de óleo essencial em plantas como *Salvia officinalis* L. (HAZRATI; KHURIZADEH; SADEGHI, 2022; KATAR; KATAR; CAN, 2022), *Organum vulgare* L. (KARAMANOS; SOTIROPOULOU, 2013), *Lippia gracilis* (ALMEIDA et al., 2018) e *Ocimum basilicum* L. (KORDI et al., 2020; NURZYŃSKA-WIERDAK et al., 2013).

Quantidades elevadas de N podem diminuir o rendimento do conteúdo de alfa ácidos (BAVEC; ČEH BREŽNIK; BREŽNIK, 2003; ISKRA et al., 2019) e beta ácidos de cones de lúpulo (ISKRA et al., 2019).

Em relação à síntese de flavonoides resultados contraditórios são relatados em resposta ao efeito da adubação nitrogenada: positivo em *Mentha spicata* L. (CHRYSARGYRIS et al., 2017) e negativo em *Organum vulgare* L. (KRÓL et al., 2020).

As diretrizes de aplicação de nutrientes, dentre estes o N, ainda precisam ser desenvolvidas para proporcionar a produção de lúpulo em novas áreas de cultivo, sobretudo em regiões subtropicais, que atualmente dependem de referências de publicações realizadas a partir de ensaios realizados em zonas temperadas do hemisfério Norte.

Aliado a isso, os estudos sobre o perfil bioquímico do lúpulo cultivado no Brasil e demais regiões com latitudes inferiores a 35° são poucos, em um momento que a cultura está em fase de implantação e/ou expansão nessas áreas.

A falta de conhecimentos específicos sobre o comportamento dessa cultura nas condições ambientais brasileiras, gera insegurança aos produtores, o que leva o Brasil, a importar cerca de 4.000 t de lúpulo todo ano para atender as demandas da indústria cervejeira nacional (ALMEIDA et al., 2020).

Deste modo, esse trabalho teve o objetivo de avaliar o perfil bioquímico de cones de lúpulo da cultivar Chinook, cultivado sob o efeito de diferentes doses de N em Guarapuava-PR.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1 Experimento de campo

O experimento foi instalado no município de Guarapuava-PR (25°33'S; 51°29'W), 1.095 m de altitude na estação experimental da FAPA. O clima local é do tipo Cfb, segundo a classificação de Köppen-Geiger, com verões frescos e sem estação seca definida (ALVARES et al., 2013). Dados climáticos foram coletados pela estação meteorológica instalada na estação experimental (FIGURA 14).

O ensaio em condições de campo foi repetido em três safras (2018/2019, 2019/2020 e 2020/2021), sendo avaliada a cultivar Chinook sob 6 doses de adubação nitrogenada (0; 50; 100; 150, 200 e 250 kg de N ha<sup>-1</sup>), utilizando ureia como fonte de N (46%).

A aplicação do N foi realizada a lanço na linha de plantio, distribuída em 1 m de largura, dividida em 3 parcelas: 30 kg de N ha<sup>-1</sup> na formação das primeiras folhas (BBCH 1) e o restante de cada dose aplicada em 2 parcelas iguais, no estágio de formação de ramos laterais (BBCH 2) e no alongamento dos ramos principais (BBCH 3), classificação fenológica conforme Rossbauer et al. (1995).

O experimento foi disposto num delineamento em blocos ao acaso com quatro repetições e cada unidade experimental composta por 8 plantas (2 plantas como bordadura), espaçadas em 1 metro na linha e 3 metros entre linhas. Após a brotação, foram selecionados seis ramos principais, conduzidos por duas cordas de sisal fixadas a um arame colocado a uma altura de 5 metros.

O ponto de colheita dos cones foi determinado quando estes estavam amarelando, as pétalas caindo ao toque e a lupulina com coloração amarela escura. Cones de lúpulo de 6 plantas por parcela foram secos em estufa com circulação forçada de ar a 35°C, até a estabilização da massa, adaptando-se o método descrito por Falkenberg et al. (2007).

#### 4.2.2 Extração e análise dos óleos essenciais

Os procedimentos foram realizados no Laboratório de Ecofisiologia Vegetal e no Laboratório de Produtos Naturais e Ecologia Química, ambos da UFPR, Curitiba-PR.

Para as análises de óleos foram coletadas amostras de cones secos da produção de três safras. Para cada tratamento foram separadas 4 repetições de 50 gramas de cones secos, para a extração do óleo por hidrodestilação em aparelho Clevenger por 3 horas em 1.000 ml de água destilada.

O teor de óleo essencial foi determinado em base de massa seca, expresso em porcentagem (% m m<sup>-1</sup>). Após a extração, o óleo foi armazenado em freezer a -20°C, até o processo de identificação e quantificação dos componentes dos óleos essenciais.

Para tal, as amostras foram diluídas a 1% de concentração, utilizando hexano e 1 µl desta solução foi injetada em cromatógrafo gasoso acoplado em espectrômetro de massas (GC/MS) Shimadzu (2010 Plus).

O injetor foi mantido a 250°C e a separação dos constituintes foi realizada por coluna capilar HP-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm) tendo gás hélio como carreador (1 ml min<sup>-1</sup>). A temperatura do forno foi programada de forma crescente (60 a 240°C / 3°C min<sup>-1</sup>).

Os constituintes químicos foram identificados pelos seus índices de retenção linear, calculados a partir da injeção de uma série homóloga de n-alcanos (VAN DEN DOOL; DEC. KRATZ, 1963) e pelos espectros de massas, ambos comparados com dados da literatura (ADAMS, 2017).

Os compostos foram quantificados utilizando um CG com detector de ionização de chamas (DIC) nas mesmas condições da GC/MS, porém utilizando hidrogênio (1,5 ml min<sup>-1</sup>) como gás carreador. Sua composição porcentual foi obtida via integração eletrônica do sinal do DIC pela divisão da área de cada componente pela área total (%).

#### 4.2.3 Determinação de compostos fenólicos

Para análise dos conteúdos de ácidos, xanthohumol, isoxanthohumol, 6-prenilnaringenina e 8-prenilnaringenina, foram utilizadas amostras colhidas na terceira safra do experimento e aplicado uma adaptação do método descrito por (LOUREIRO

et al., 2019). Os procedimentos foram realizados no Laboratório de Química Analítica, Nutrição e Bromatologia, da USC-Universidade de Santiago de Compostela, em Santiago de Compostela-Espanha.

Pesaram-se 100 mg de estróbilos triturados de lúpulo, e adicionaram-se 10 ml de etanol absoluto para extração. As amostras condicionadas em frascos de vidro, foram sonicadas em ultrassom Branson 5510 (Branson Ultrasonic Corp., Danbury, CT, EUA) por 30 minutos. Depois foram diluídas em água ultrapura: 500 µl de lúpulo triturado + etanol absoluto e 500 µL de água ultrapura.

As amostras finais foram transferidas para frascos de vidro âmbar de HPLC, por filtração com membranas de PTFE de tamanho de poro de 0,45 µm. Todos os ensaios de extração foram realizados em triplicata para todas as amostras.

As amostras foram medidas com o método HPLC-DAD otimizado em diferentes comprimentos de onda (225, 270, 310 e 326 nm). O equipamento utilizado foi o HPLC-DAD-UV Modelo 1200 Infinity Series da Agilent Technologies (Hewlett-Packard, Waldbronn, Alemanha), equipado com desgaseificador a vácuo, bomba quaternária, bandeja de amostras, sistema de coluna termostática e detector de rede (DAD). Todos controlados pelo software HP ChemStation (versão B.03.01-SR1 (317)).

A separação dos compostos foi realizada com uma coluna Phenomenex Luna C18 (2) (150 x 3 mm, tamanho de partícula de 5 µm, 100 Å) a 30°C.

Os solventes utilizados como fase móvel foram metanol (A) e água ultrapura (B), ambos acidificados a 0,5% com ácido acético. A separação dos compostos seguiu gradiente de eluição: 0 a 6 minutos (30 % A + 70% B); 6 a 10 minutos (70% A + 30% B); 10 a 26 minutos (80% A + 20% B); 26 a 28 minutos (90%A + 10%B) e 28 a 30 minutos (100% A). O volume de injeção foi de 10 µl, o fluxo foi de 0,8 ml min<sup>-1</sup> e as medições foram feitas no comprimento de onda de 326 nm.

Para determinação dos ácidos amargos foi utilizado padrão de referência ICE4 (composto por 42,58% de α-ácidos — 10,98% de cohumulona e 31,60% de adhumulona + humulona (ad + humulona) —, e 26,54% de β-ácidos — 13,02% de colupulona e 13,52% de adlupulona + lupulona (ad + lupulona) fornecido por Labor Veritas, Zurique, Suíça. Para determinação dos compostos xanthohumol, isoxanthohumol, 6-prenilnaringenina e 8-prenilnaringenina os respectivos padrões foram fornecidos pela Biosynth-Carbosynth, Berkshire, Reino Unido.

Os compostos foram identificados pela comparação dos tempos de retenção e espectros de UC com aqueles obtidos com padrões puros injetados sob as mesmas

condições cromatográficas e foram quantificados pelo método do padrão externo com curvas de calibração (coeficientes de correlação  $>0,999$  para todos os compostos).

A linearidade ( $R^2$ ) foi determinada usando linhas de calibração de 7 pontos no caso de ICE4 —com concentrações de 2 a 200 mg L<sup>-1</sup> e linhas de 8 pontos, com concentrações de 0,05 a 5 mg L<sup>-1</sup> para xanthohumol e isoxanthohumol, e 0,02 a 2 mg L<sup>-1</sup> para 6-prenilnaringenina e 0,05 a 2 mg L<sup>-1</sup> para 8-prenilnaringenina.

#### 4.2.4 Análise estatística

A análise estatística foi realizada considerando o experimento em arranjo experimental de parcelas subdivididas no tempo, sendo as 6 doses de N o fator principal e as 3 safras, os subfatores.

Fez-se análise de variância com posterior aplicação de análise de regressão para as doses de N e teste de Scott Knott para comparar as médias do subfator safra, considerando  $p \leq 0,05$  em todas as avaliações.

As condicionantes para a análise de variância foram verificadas a partir dos testes de homoscedasticidade (Bartlett, Hartley e Levene) e normalidade (Jarque-Berra). Os dados foram analisados pelos softwares Sisvar (FERREIRA, 2019) e Speed Stat (CARVALHO et al., 2020).

### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Mediante análise quantitativa e qualitativa dos componentes das amostras dos óleos essenciais do lúpulo, foi possível identificar 16 diferentes compostos, que correspondem à 93,33% da massa média total deste óleo essencial.

Os compostos encontrados em maiores quantidades foram: o monoterpeno mirceno (50,10%), além dos sesquiterpenos (E)- $\beta$ -farneseno (14,62%),  $\delta$ -selineno (9,07%),  $\beta$ -selineno (8,36%) e (E)-cariofileno (4,92%). Outros 10 compostos foram identificados, com teores menores que 1,5% cada, pertencentes aos grupos monoterpenos, sesquiterpenos, ésteres, aldeídos, cetonas e álcoois mono e sesquiterpenos (TABELA 9).

O mirceno também foi apontado por outros trabalhos como o componente mais abundante do óleo de lúpulo (LIGOR et al., 2015; RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018; SAWICKA et al., 2021; XU et al., 2013). Esses autores também destacam os sesquiterpenos cariofileno e humuleno entre os componentes dominantes deste óleo

e Su & Yin (2021), incluem o (E)- $\beta$ -farneseno nessa lista. Embora o cariofileno e o farneseno estejam presente em nossas amostras, o humuleno não foi identificado.

Como comparativo, mostra-se o trabalho de Kenny (1990), o qual apontou enquanto composição padrão para o óleo de lúpulo cv. Chinook, 0,57% de farneseno e 9,52%, de cariofileno. Conteúdos diferentes desses compostos foram visualizados no presente trabalho: 14,62% de farneseno e 4,92%, para cariofileno.

Os hidrocarbonetos (mono e sesquiterpenos), como o mirceno e o cariofileno, embora encontrados em maior quantidade no perfil de OEL, são muito voláteis e quase a totalidade é perdida por evaporação durante o processo de fervura do mosto no processo de fabricação da cerveja (HONG et al., 2022), principalmente os monoterpenos que tem ponto de ebulição menor que os sesquiterpenos (BIENDL et al., 2014).

Por outro lado, é importante destacar que foi encontrada presença do linalol (0,40%), o qual tem grande importância no sabor da cerveja, por contribuir para os aromas floral, cítrico e frutado dessa bebida (BIENDL et al., 2014; RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018).

Este composto é considerado um indicador de qualidade do lúpulo dado o seu papel junto ao produto final (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021). Porém, não foi detectado geraniol, composto oxigenado característico de ser encontrado na cv. Chinook (0,7-1,0%) e de interesse para a indústria cervejeira (DURELLO; SILVA; BOGUSZ JR., 2019).

Segundo Eyres & Dufour (2009) e Su & Yin (2021), a localização geográfica, clima e fatores agrônômicos diversos podem criar diferentes perfis da composição de óleos essenciais oriundos de mesmo material genético. Ainda segundo esses autores, variações também podem ocorrer entre os anos e locais de cultivo, devido a diferentes condições climáticas, como precipitação, temperatura e insolação. O que pode explicar a ausência do humuleno e do geraniol.

Da mesma forma, Almaguer et al. (2014) e (SU; YIN, 2021), apontaram que componentes dos óleos de lúpulo são afetados pelas condições ambientais de cultivo. Essa situação também foi observada neste trabalho, onde a produção de quase todos os compostos apresentou grande variação entre as safras de cultivo, exceção apenas para (E)-cariofileno e  $\gamma$ -cadineno.

Na última safra, o experimento foi acometido por uma forte infecção de *Pseudoperonospora humuli* L., patógeno causador do míldio, considerado uma das

doenças mais graves do lúpulo (PURAYANNUR et al., 2021), que pode atacar diversas partes da planta, inclusive os cones, em qualquer estágio de desenvolvimento (GENT et al., 2015).

Esse patógeno pode causar perdas significativas, principalmente em condições de chuvas frequentes e alta umidade relativa do ar (FEINER et al., 2020; HIGGINS; MILES; HAUSBECK, 2021).

A incidência de doenças pode alterar a composição e o rendimento de óleos essenciais, pois no processo de defesa vegetal determinadas substâncias secundárias são produzidas e armazenadas (TAIZ et al., 2017). Inclusive, Cerenak; Kralj & Javornik (2009) observaram que os níveis de selineno são alterados em função da incidência de oídio em lúpulo.

Os terpenos dominaram o perfil das amostras, representando, entre mono e sesquiterpenos, mais de 90% do perfil do OEL, enquanto os álcoois 1,75%, as cetonas 0,75%, os aldeídos 0,34% e o ésteres apenas 0,16% (TABELA 10). Su & Yin (2021) também observaram na cultivar Chinook dominância dos terpenos, em especial os monoterpenos.

Cetonas, aldeídos e ésteres, embora comumente encontrados em amostras de lúpulo, estão presentes em pequenas quantidades (BOCQUET et al., 2018a; GUTIÉRREZ-DEL-RÍO; FERNÁNDEZ; LOMBÓ, 2018) e aldeídos geralmente são perdidos no processo de secagem em estufas (EYRES; DUFOUR, 2009).

TABELA 9 – COMPOSIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE LÚPULO (%) CULTIVADO EM GUARAPUAVA-PR SOB 5 DOSES DE N (Kg ha<sup>-1</sup>) E TESTEMUNHA, EM TRÊS SAFRAS DE CULTIVO.

| COMPOSTO                    | TR    | IRL   | IRC  | DOSES N 3 SAFRAS |      |      |       |      |      |        |        |        |       |                    | MÉDIA SAFRAS       |                     |  | P-VALOR |  |  |
|-----------------------------|-------|-------|------|------------------|------|------|-------|------|------|--------|--------|--------|-------|--------------------|--------------------|---------------------|--|---------|--|--|
|                             |       |       |      | 0                | 50   | 100  | 150   | 200  | 250  | 2019   | 2020   | 2021   | M     | N                  | SAFRA              | I                   |  |         |  |  |
| Mirceno                     | 5,44  | 988   | 991  | 46,9             | 52,8 | 51,9 | 45,0  | 49,7 | 54,2 | 50,72b | 37,62c | 61,96a | 50,10 | 0,41 <sup>NS</sup> | <0,0001**          | 0,21 <sup>NS</sup>  |  |         |  |  |
| Heptenoato de metil         | 6,26  | 1.021 | 1022 | 0,17             | 0,16 | 0,14 | 0,15  | 0,17 | 0,17 | 0,13b  | 0,21a  | 0,13b  | 0,16  | 0,07 <sup>NS</sup> | <0,0001**          | 0,02*               |  |         |  |  |
| B-felandreno                | 6,38  | 1.025 | 1026 | 0,44             | 0,48 | 0,48 | 0,41  | 0,45 | 0,50 | 0,49a  | 0,36b  | 0,53a  | 0,46  | 0,34 <sup>NS</sup> | <0,0001**          | 0,23 <sup>NS</sup>  |  |         |  |  |
| Linalol                     | 8,55  | 1.095 | 1099 | 0,37             | 0,41 | 0,47 | 0,39  | 0,37 | 0,42 | 0,46a  | 0,39b  | 0,37b  | 0,40  | 0,52 <sup>NS</sup> | 0,03*              | 0,62 <sup>NS</sup>  |  |         |  |  |
| N-nonanal                   | 8,70  | 1.100 | 1103 | 0,37             | 0,32 | 0,32 | 0,30  | 0,40 | 0,35 | 0,31b  | 0,44a  | 0,27b  | 0,34  | 0,07 <sup>NS</sup> | 0,001**            | 0,13 <sup>NS</sup>  |  |         |  |  |
| 2-decanone                  | 11,90 | 1.190 | 1191 | 0,30             | 0,19 | 0,19 | 0,20  | 0,27 | 0,24 | 0,33a  | 0,24b  | 0,13c  | 0,23  | 0,0006**           | <0,0001**          | 0,001**             |  |         |  |  |
| 2-undecanone                | 15,82 | 1.293 | 1292 | 0,78             | 0,40 | 0,41 | 0,44  | 0,58 | 0,49 | 0,72a  | 0,63a  | 0,23b  | 0,51  | 0,001**            | 0,001**            | 0,012*              |  |         |  |  |
| (E)-cariofileno             | 20,52 | 1.417 | 1412 | 4,30             | 4,53 | 5,03 | 5,60  | 5,34 | 4,73 | 5,07a  | 5,17a  | 4,53a  | 4,92  | 0,28 <sup>NS</sup> | 0,26 <sup>NS</sup> | 0,24 <sup>NS</sup>  |  |         |  |  |
| α-trans-bergamoteno         | 21,26 | 1.432 | 1431 | 0,69             | 0,59 | 0,62 | 0,70  | 0,65 | 0,60 | 0,61b  | 0,85a  | 0,46c  | 0,64  | 0,35 <sup>NS</sup> | 0,001**            | 0,37 <sup>NS</sup>  |  |         |  |  |
| (E)-β-farneseno             | 22,23 | 1.454 | 1456 | 15,8             | 14,0 | 13,8 | 15,6  | 14,6 | 13,9 | 13,19b | 19,97a | 10,69c | 14,62 | 0,55 <sup>NS</sup> | 0,001**            | 0,45 <sup>NS</sup>  |  |         |  |  |
| 9-epi-(e)-cariofileno       | 22,44 | 1.464 | 1462 | 0,26             | 0,28 | 0,29 | 0,35  | 0,31 | 0,26 | 0,30b  | 0,39a  | 0,19c  | 0,29  | 0,17 <sup>NS</sup> | 0,001**            | 0,002**             |  |         |  |  |
| Trans-cadinina-1(6),4-dieno | 22,72 | 1.475 | 1469 | 1,48             | 1,30 | 1,37 | 1,59  | 1,41 | 1,30 | 1,39b  | 1,74a  | 1,09c  | 1,41  | 0,43 <sup>NS</sup> | 0,001**            | 0,065 <sup>NS</sup> |  |         |  |  |
| β-selineno                  | 23,09 | 1.489 | 1479 | 9,12             | 7,85 | 8,00 | 9,61  | 8,50 | 7,12 | 8,32b  | 11,02a | 5,76c  | 8,36  | 0,2 <sup>NS</sup>  | 0,001**            | 0,154 <sup>NS</sup> |  |         |  |  |
| δ-selineno                  | 23,45 | 1.492 | 1488 | 9,60             | 8,54 | 8,87 | 10,35 | 9,14 | 7,92 | 9,00b  | 11,46a | 6,75c  | 9,07  | 0,25 <sup>NS</sup> | 0,0001**           | 0,17 <sup>NS</sup>  |  |         |  |  |
| γ-cadineno                  | 24,15 | 1.513 | 1507 | 0,50             | 0,46 | 0,47 | 0,47  | 0,47 | 0,40 | 0,43a  | 0,46a  | 0,50a  | 0,46  | 0,67 <sup>NS</sup> | 0,19 <sup>NS</sup> | 0,13 <sup>NS</sup>  |  |         |  |  |
| α-cadinol                   | 29,18 | 1.652 | 1645 | 1,43             | 1,26 | 1,32 | 1,63  | 1,38 | 1,09 | 1,28b  | 1,70a  | 1,07c  | 1,35  | 0,18 <sup>NS</sup> | 0,0001**           | 0,0001**            |  |         |  |  |
| Total                       |       |       |      | 92,6             | 93,7 | 93,7 | 92,7  | 93,7 | 93,7 | 92,75  | 92,65  | 94,66  | 93,33 |                    |                    |                     |  |         |  |  |

FONTE: O AUTOR, 2022.

LEGENDA: (TR) Tempo de Retenção; (IRL) Índice de Retenção da Literatura; (IRC) Índice de Retenção Calculado; (M) Média; (N) Nitrogênio; (I) Interação; (\*) Significativo p≤0,05; (\*\*) Significativo p≤0,01.

NOTA: Médias seguidas da mesma letra na horizontal, comparando as safras, não diferem de si pelo teste de Scott-Knott, considerando p≤0,05.

A cetona mais abundante foi a 2-undecanone, assim como descrito por Stevens (1966).

TABELA 10 – CLASSES DOS COMPOSTOS (%) EM AMOSTRAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE LÚPULO (%) CULTIVADO SOB DOSES DE N EM GUARAPUAVA-PR SOB 5 DOSES DE N DURANTE 3 SAFRAS.

| CLAS-<br>SES | DOSES N 3 SAFRAS |      |      |      |      |      | MÉDIA SAFRAS |       |       | M    | P-VALOR             |                     |                     |
|--------------|------------------|------|------|------|------|------|--------------|-------|-------|------|---------------------|---------------------|---------------------|
|              | 0                | 50   | 100  | 150  | 200  | 250  | 2019         | 2020  | 2021  |      | N                   | A                   | I                   |
| MT           | 47,4             | 53,4 | 52,4 | 45,4 | 50,2 | 54,7 | 51,2b        | 38,0c | 62,5a | 50,6 | 0,41 <sup>NS</sup>  | <0,01 <sup>**</sup> | 0,21 <sup>NS</sup>  |
| ST           | 41,8             | 37,6 | 38,4 | 44,2 | 40,4 | 36,2 | 38,3b        | 51,1a | 36,2c | 39,8 | 0,45 <sup>NS</sup>  | <0,01 <sup>**</sup> | 0,22 <sup>NS</sup>  |
| AMT          | 0,37             | 0,41 | 0,47 | 0,39 | 0,37 | 0,42 | 0,46a        | 0,39b | 0,37b | 0,40 | 0,53 <sup>NS</sup>  | 0,03 <sup>*</sup>   | 0,62 <sup>NS</sup>  |
| AST          | 1,43             | 1,26 | 1,32 | 1,63 | 1,38 | 1,09 | 1,28b        | 1,70a | 1,07c | 1,35 | 0,18 <sup>NS</sup>  | 0,01 <sup>**</sup>  | <0,01 <sup>**</sup> |
| CT           | 1,08             | 0,59 | 0,59 | 0,64 | 0,85 | 0,73 | 1,05a        | 0,87b | 0,73b | 0,75 | <0,01 <sup>*</sup>  | 0,01 <sup>**</sup>  | 0,01 <sup>**</sup>  |
| AD           | 0,37             | 0,32 | 0,32 | 0,30 | 0,40 | 0,35 | 0,31b        | 0,44a | 0,27b | 0,34 | 0,07 <sup>NS</sup>  | <0,01 <sup>**</sup> | 0,14 <sup>NS</sup>  |
| ET           | 0,17             | 0,16 | 0,14 | 0,15 | 0,17 | 0,17 | 0,21a        | 0,13b | 0,13b | 0,16 | 0,051 <sup>NS</sup> | 0,01 <sup>**</sup>  | 0,02 <sup>*</sup>   |

FONTE: O AUTOR, 2022.

LEGENDA: (N) Nitrogênio; (A) Safras; (I) Interação; (MT) Monoterpeno; (ST) Sesquiterpeno (AMT) Álcool Monoterpeno; (AST) Álcool Sesquiterpeno; (CT) Cetona; (AD) Aldeído; (ET) Éster; (\*) Significativo  $p \leq 0,05$ ; (\*\*) Significativo  $p \leq 0,01$ .

NOTA: Médias seguidas da mesma letra na horizontal, comparando as safras, não diferem de si pelo teste de Scott-Knott, considerando  $p \leq 0,05$ .

As diferentes doses de N aplicadas não alteraram a composição dos óleos essenciais do lúpulo (TABELA 9), com exceção das cetonas, 2-decanone e 2-undecanone, para as quais inclusive houve interação entre as doses de N e as safras de cultivo 2019/2020 e 2020/2021 (FIGURA 16).

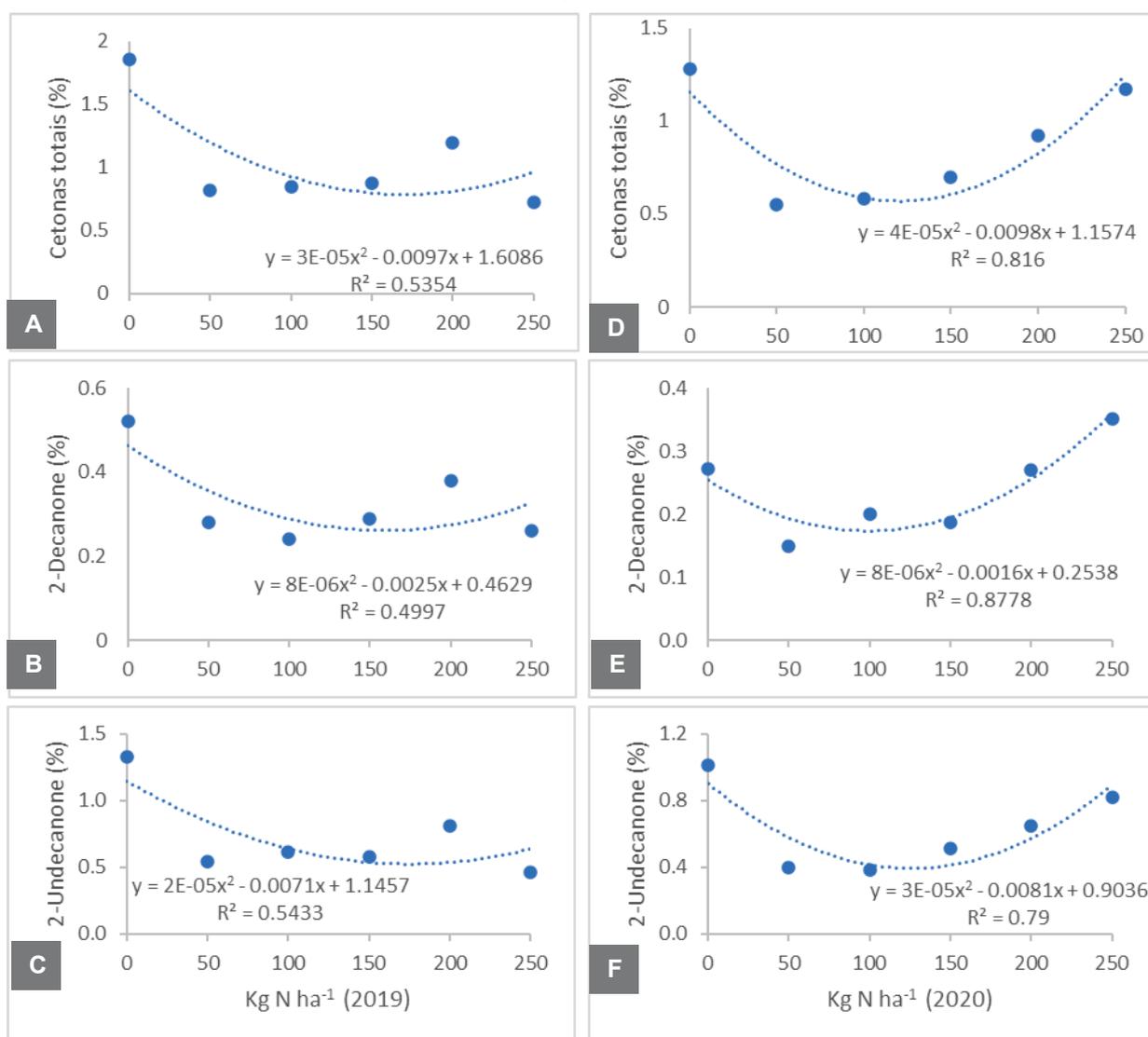
Em todas as situações houve diminuição nos teores de cetonas, na primeira dose de N em relação à testemunha e uma estabilidade próximo a dose de 150 kg N ha<sup>-1</sup>.

Na safra de 2020/2021 (quando houve o melhor ajuste da curva), a menor produção de cetonas se deu com 122,5 kg N ha<sup>-1</sup>, com a produção aumentando conforme se diminui ou aumenta a dose de N a partir desse ponto.

O N atua na produção de OE, pois compõe a estrutura de aminoácidos e enzimas catalizadoras, fundamentais para a síntese destes compostos (GENDY et al., 2015; OMER et al., 2014) e nesse experimento verificou-se que, no caso das cetonas, as dosagens maiores que 122,5 kg N ha<sup>-1</sup> resultam em maior teor deste composto em relação ao perfil do óleo essencial e maior produção total por planta, visto que dosagens de N promovem maior produção de óleo essencial por planta (FIGURA 15)

O que pode ser considerado positivo visto que as cetonas, podem conferir caracteres cítricos, frutados e florais na cerveja (DIETZ et al., 2020; KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021; VAN OPSTAELE et al., 2012).

FIGURA 16 – TEORES DAS CETONAS 2-DECANONE E 2-UNDECANONE NAS DIFERENTES SAFRAS DE PRODUÇÃO: 2018/2019 (A, B, C); 2019/2020 (D, E, F). SAFRA 2021/2022 SEM DIFERENÇA ESTATÍSTICA ( $p \leq 0,05$ ).



FONTE: O Autor, 2022.

A metodologia utilizada permitiu avaliar os teores de  $\alpha$  e  $\beta$ -ácidos totais e seus respectivos compostos cohumulona e adhumulona + humulona para  $\alpha$ -ácidos e colupulona e adlupulona + lupulona para  $\beta$ -ácidos.

As doses de N exerceram efeito geral quadrático negativo em relação aos  $\alpha$ -ácidos e os seus compostos identificados.

A menor produção de  $\alpha$ -ácidos (FIGURA 17E) acontece quando se aplica 160 kg N ha<sup>-1</sup>. Isso ocorre pois até essa dosagem o N aplicado é priorizado pela planta

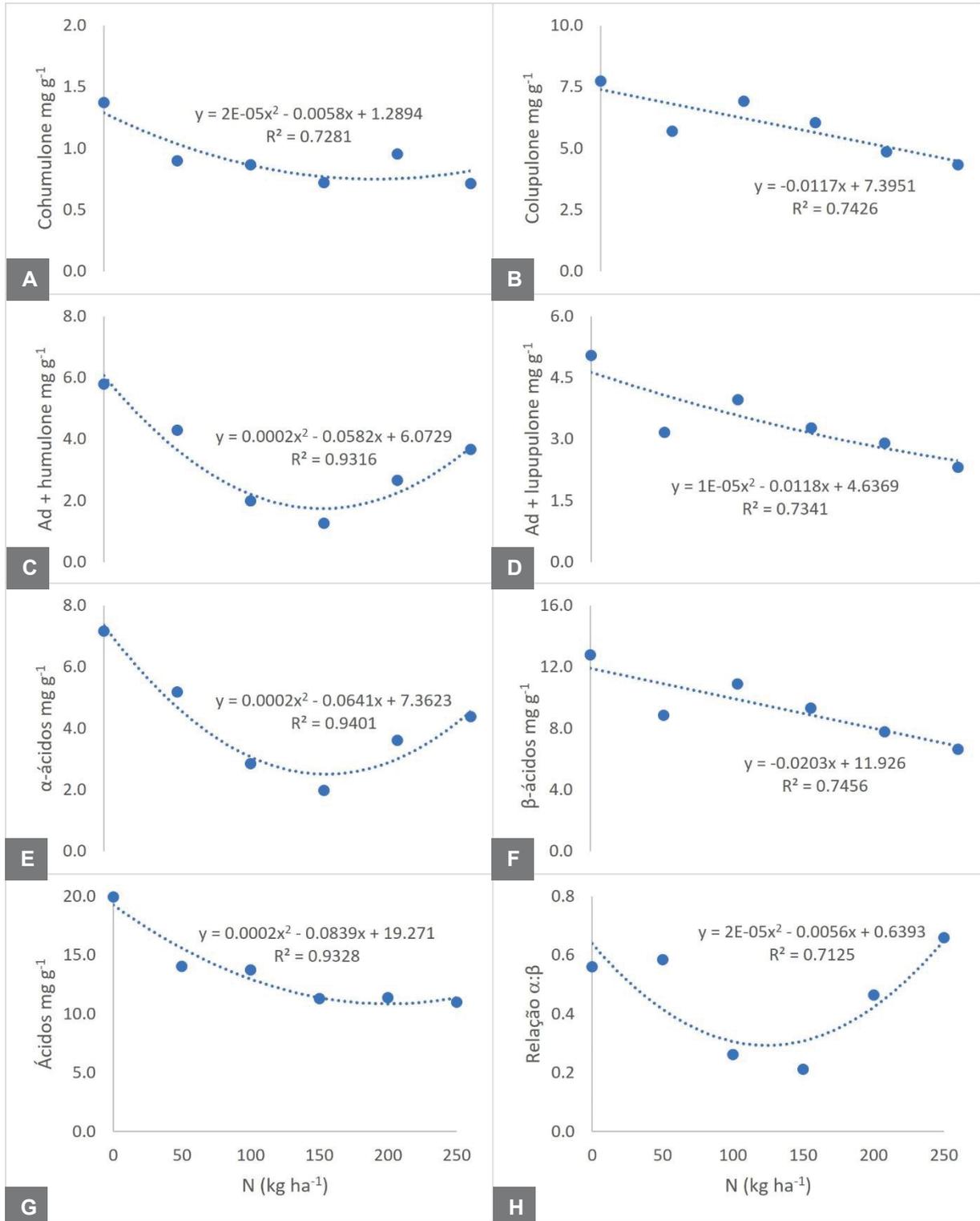
para consumo no metabolismo primário. Como a partir dessa dose, os teores de  $\alpha$ -ácidos voltam a subir, infere-se que o N excedente do uso pelo metabolismo primário seja destinado ao metabolismo secundário, em especial nesse caso, para a síntese de  $\alpha$ -ácidos. Já para os  $\beta$ -ácidos e seus compostos identificados, quanto maior a dose de N, até 250 kg N ha<sup>-1</sup>, menor a produção de  $\beta$ -ácidos.

Quanto à produção de ácidos totais ( $\alpha$  +  $\beta$ -ácidos) (FIGURA 17G), o efeito foi quadrático, porém com tendência de estabilização do teor dos ácidos em valores menores ao apresentado pela testemunha (sem N). O teor de ácidos para a testemunha foi de 20,0 mg g<sup>-1</sup>, ao passo que estes teores variaram entre 11 e 14 mg g<sup>-1</sup> nos demais tratamentos, onde foram aplicadas doses de N. De maneira similar, Iskra et al. (2019) relataram diminuição nos teores de  $\alpha$  e  $\beta$ -ácidos, conforme o aumento nas doses de N.

Ao se aumentar as doses de N, diminui-se a síntese de ácidos em favor do crescimento vegetativo da planta (RODOLFI et al., 2021). Segundo esses últimos autores, essa situação é contornada se o N for aplicado apenas nos primeiros estádios da cultura. Para a relação entre  $\alpha$  e  $\beta$ -ácidos, o menor valor indicado pela regressão é de 0,25, na dose de 140 kg N ha<sup>-1</sup> (FIGURA 17).

Considerando que a relação esperada para cultivares comerciais de lúpulo é de 0,4 a 0,61, com média de 0,5 (MCCALLUM et al., 2019), a dose indicada pela curva regressão, é maior que 250 kg N ha<sup>-1</sup>. Dosagens maiores que este valor, também indicam maior produção de  $\alpha$ -ácidos, mais importantes para a indústria cervejeira, por isomerizarem em iso-alfa-ácidos durante o processo de fervura e conferindo sabor amargo e estabilidade à bebida (FORTESCHI et al., 2019).

FIGURA 17 – TEORES DE ÁCIDOS AMARGOS EM CONES SECOS DE LÚPULO CULTIVADO SOB O EFEITO DE 5 DOSES DE N + TESTEMUNHA, SAFRA 2020/2021.



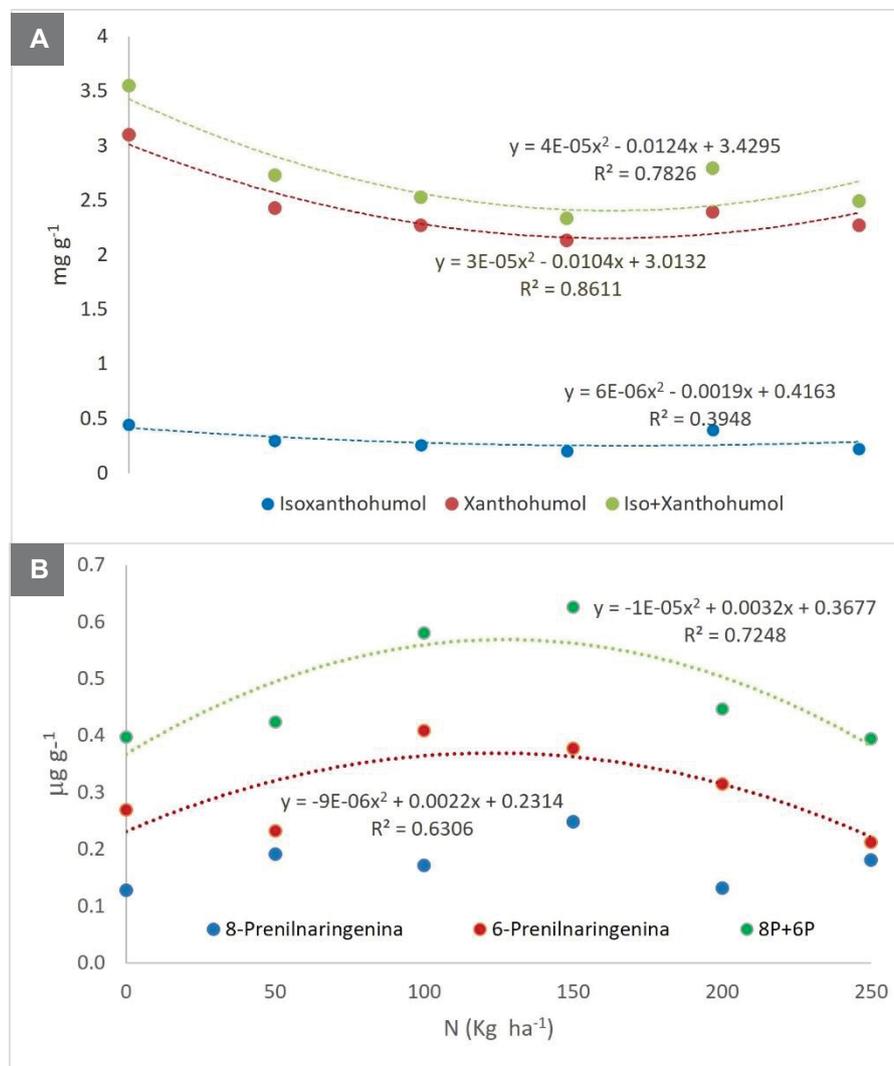
FONTE: O autor (2022).

A aplicação de doses de N proporcionou efeito na síntese das chalconas xanthohumol e isoxanthohumol. Para xanthohumol, observou-se que houve diminuição da síntese a partir da aplicação da primeira dose de N (50 kg ha<sup>-1</sup>), e

estabilização da produção a partir dessa dose, o que nos leva a indicar que a aplicação de Nitrogênio diminui sua síntese, visto que o tratamento testemunha obteve o maior teor de xanthohumol ( $3,1 \text{ mg g}^{-1}$ ) ao passo que os tratamentos com N oscilaram entre  $2,1$  e  $2,4 \text{ mg g}^{-1}$  (FIGURA 18), com ponto mínimo de produção em  $173 \text{ kg N ha}^{-1}$ .

Em relação ao isoxanthohumol, embora não seja possível afirmar com precisão face ao baixo ajuste da curva, os dados indicam uma tendência de estabilidade na síntese desse composto, independente da dose de N, visto que o baixo ajuste deve-se algum efeito não identificado ocorrido apenas na dose de  $200 \text{ N ha}^{-1}$  (FIGURA 18).

FIGURA 18 – TEORES DE POLIFENÓIS EM CONES SECOS DE LÚPULO CULTIVADO SOB O EFEITO DE 5 DOSES DE N + TESTEMUNHA, SAFRA 2020/2021.



FONTE: O Autor (2022).

A aplicação de doses de N, alterou os teores de 6-prenilnaringenina (FIGURA 18). Os maiores teores foram obtidos com a dosagem de  $125 \text{ kg N ha}^{-1}$ . Ao se

considerar a soma de 6 + 8-prenilnaringenina os maiores teores foram obtidos com a aplicação de 132 kg N ha<sup>-1</sup>.

Em outras espécies como *Mentha spicata*, *Cynara cardunculus var. scolymus* e *Origanum vulgare*, foram observados diferentes efeitos da adubação nitrogenada sobre a produção de flavonoides, tanto positivos como negativos (OLESIŃSKA; SUGIER; KACZMARSKI, 2021).

O efeito do N, na síntese das chalconas era esperado, pois tem o desmetilxanthohumol como precursor, o qual sua síntese é dependente de N, visto que é oriundo da via do ácido chiquímico e da fenilalanina (LI et al., 2017).

#### 4.4 CONCLUSÕES

Aplicações de doses de N alteram o perfil bioquímico de cones de lúpulo Chinook em Guarapuava-PR.

Para cetonas,  $\alpha$ -ácidos e xanthohumol aplicações de doses crescente de N (0 a 250 kg ha<sup>-1</sup>), diminuem a síntese destes compostos em dosagens dentro do intervalo 122,5 e 173 kg N ha<sup>-1</sup>. Abaixo ou acima destas doses, os teores destes compostos são aumentados, indicando aplicação de doses acima de 250 kg N ha<sup>-1</sup> para obter o máximo rendimento.

Se a intenção for o máximo de produção de 6-prenilnaringenina a dosagem não pode ultrapassar 125 kg N ha<sup>-1</sup>. Já em relação à 8-prenilnaringenina, o N não exerce efeito no rendimento.

Para definição da dose de N, também é preciso levar em conta a influência desse nutriente na produção de cones.

## 4.5 REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. 4. ed. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation, 2017. V. 24.
- ALMAGUER, C. et al. *Humulus lupulus* – a story that begs to be told . A review. **Institute of Brewing & Distilling Published**, 2014. n. June, p. 1–26.
- ALMEIDA, A. Da R. et al. Bioactive compounds and antioxidant activities of Brazilian hop (*Humulus lupulus* L.) extracts. **International Journal of Food Science and Technology**, 2020. v. 55, n. 1, p. 340–347.
- ALMEIDA, B. R. et al. Macronutrient omission changes lippia gracilis schauer, a threatened medicinal plant, growth and volatile chemical composition. **HortScience**, 2018. v. 53, n. 12, p. 1877–1882.
- ALVARES, C. A. et al. Köppen’s climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, 2013. v. 22, n. 6, p. 711–728.
- BAVEC, F.; ČEH BREŽNIK, B.; BREŽNIK, M. Hop yield evaluation depending on experimental plot area under different nitrogen management. **Plant, Soil and Environment**, 2003. v. 49, n. 4, p. 163–167.
- BIENDL, M. et al. **Hops: Their Cultivation, Composition and Usage**. 1. ed. Nuremberg, Germany: [s.n.], 2014.
- BOCQUET, L. et al. *Humulus lupulus* L., a very popular beer ingredient and medicinal plant: overview of its phytochemistry, its bioactivity, and its biotechnology. **Phytochemistry Reviews**, 2018. v. 17, n. 5, p. 1047–1090.
- BOCQUET, Laetitia et al. Antifungal activity of hop extracts and compounds against the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici*. **Industrial Crops and Products**, 2018. v. 122, n. May, p. 290–297. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.061>>.
- CARVALHO, A. M. X. et al. SPEED stat: A free, intuitive, and minimalist spreadsheet program for statistical analyses of experiments. **Crop Breeding and Applied**

**Biotechnology**, 2020. v. 20, n. 3, p. 1–6.

CERENAK, A.; KRALJ, D.; JAVORNIK, B. Compounds of essential oils as markers of hop resistance (*Humulus lupulus*) to powdery mildew (*Podosphaera macularis*). **Acta Agriculturae Slovenica**, 2009. v. 93, n. 3, p. 267–273.

CHRYSARGYRIS, A. et al. Vegetative, physiological, nutritional and antioxidant behavior of spearmint (*Mentha spicata* L.) in response to different nitrogen supply in hydroponics. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, 2017. v. 6, p. 52–61. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jarmap.2017.01.006>>.

DIETZ, C. et al. The multisensory perception of hop essential oil: a review. **Journal of the Institute of Brewing**, 2020. v. 126, n. 4, p. 320–342.

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

EYRES, G.; DUFOUR, J.-P. Hop Essential Oil: Analysis, Chemical Composition and Odor Characteristics. **Beer in Health and Disease Prevention**. Dunedin, New Zealand: [s.n.], 2009, p. 239–254.

FEINER, A. et al. Downy mildew resistance is genetically mediated by prophylactic production of phenylpropanoids in hop. **Plant, Cell & Environment**, 2020. v. 44, n. 1, p. 323–338.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, 2019. v. 37, p. 529–535.

FORTESCHI, M. et al. Quality assessment of Cascade Hop (*Humulus lupulus* L.) grown in Sardinia. **European Food Research and Technology**, 2019. v. 245, n. 4, p. 863–871. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-018-3215-0>>.

GENDY, A. G. et al. Effect of nitrogen and potassium fertilizer on herbage and oil yield of chervil plant (*Anthriscus cerefolium* L.). **Industrial Crops and Products**, jul. 2015. v. 69, p. 167–174. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.023>>.

GENT, D. H. et al. Pre- and Postinfection Activity of Fungicides in Control of Hop Downy Mildew. **Plant Disease**, 2015. v. 99, n. 6, p. 858–865.

GUTIÉRREZ-DEL-RÍO, I.; FERNÁNDEZ, J.; LOMBÓ, F. Plant nutraceuticals as antimicrobial agents in food preservation: terpenoids, polyphenols and thiols. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 2018. v. 52, n. 3, p. 309–315.

HAZRATI, S.; KHURIZADEH, S.; SADEGHI, A. R. Application of zeolite improves water and nitrogen use efficiency while increasing essential oil yield and quality of *Salvia officinalis* under water-deficit stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 2022. v. 29, n. 3, p. 1707–1716. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.10.059>>.

HIGGINS, D. S.; MILES, T. D.; HAUSBECK, M. K. Fungicide efficacy against *Pseudoperonospora humuli* and point mutations linked to carboxylic acid amide resistance in Michigan. **Plant Disease**, 2021. v. 105, n. 7, p. 1880–1889.

HONG, K. et al. Varietal differences in the phytochemical components' accumulation and aroma profile of three *Humulus lupulus* cultivars. **Food Control**, 2022. v. 132, n. August 2021, p. 108499. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108499>>.

ISKRA, A. E. et al. Influence of Nitrogen fertility practices on hop cone quality. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 2019. v. 77, n. 3, p. 199–209. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/03610470.2019.1616276>>.

KARAMANOS, A. J.; SOTIROPOULOU, D. E. K. Field studies of nitrogen application on Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) letsweet) essential oil during two cultivation seasons. **Industrial Crops and Products**, 2013. v. 46, p. 246–252. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.01.021>>.

KATAR, D.; KATAR, N.; CAN, M. Agricultural and quality characteristics of sage (*Salvia fruticosa* Mill.) depending on nitrogen applications. **Journal of Plant Nutrition**, 2022. v. 45, n. 10, p. 1441–1449.

KENNY, S. T. Identification of U.S.-grown hop cultivars by hop acid and essential oil analyses. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 1990. v. 48.

KEUKELEIRE, J. et al. Relevance of organic farming and effect of climatological conditions on the formation of  $\alpha$ -acids,  $\beta$ -acids, desmethylxanthohumol, and xanthohumol in hop (*Humulus lupulus* L.). **Journal of Agricultural and Food**

**Chemistry**, 2007. v. 55, n. 1, p. 61–66.

KORDI, S. et al. Intercropping system and N<sub>2</sub> fixing bacteria can increase land use efficiency and improve the essential oil quantity and quality of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). **Frontiers in Plant Science**, 2020. v. 11, p. 1–14.

KORPELAINEN, H.; PIETILÄINEN, M. Hop (*Humulus lupulus* L.): Traditional and present use, and future potential. **Economic Botany**, 2021. v. 75, p. 302–322.

KRÓL, B. et al. Biomass production, active substance content, and bioaccessibility of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Letswaart) following the application of nitrogen. **Industrial Crops and Products**, 2020. v. 148, n. February, p. 1–11.

LI, J. et al. Characteristic  $\alpha$ -acid derivatives from *Humulus lupulus* with antineuroinflammatory activities. **Journal of Natural Products**, 2017. v. 80, n. 12, p. 3081–3092.

LIGOR, M. et al. Evaluation of genetic variability of wild hops (*Humulus lupulus* L.) in Canada and the Caucasus region by chemical and molecular methods. **Industrial Crops and Products**, 2015. v. 124, n. 7, p. 658–663. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.139>>.

LOUREIRO, P. V. et al. Determination of xanthohumol in hops, food supplements and beers by HPLC. **Foods**, 2019. v. 8, n. 435, p. 1–16.

MCCALLUM, J. L. et al. Phytochemical characterization of wild hops (*Humulus lupulus* ssp. *lupuloides*) germplasm resources from the maritimes region of Canada. **Frontiers in Plant Science**, 2019. v. 10, n. 1438, p. 1–15.

MORCOL, T. B.; MATTHEWS, P. D.; KENNELLY, E. J. Differences in leaf chemistry and glandular trichome density between wild southwestern American hop (*Humulus neomexicanus*) and commercial hop cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2021. v. 69, n. 27, p. 7798–7814.

NAGYBÁKAY, N. E. et al. Optimized supercritical CO<sub>2</sub> extraction enhances the recovery of valuable lipophilic antioxidants and other constituents from dual-purpose

hop (*Humulus lupulus* L.) variety Ella. **Antioxidants**, 2021. v. 10, n. 918, p. 1–21.

NURZYŃSKA-WIERDAK, R. et al. Essential oil composition of sweet basil cultivars as affected by nitrogen and potassium fertilization. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, 2013. v. 37, n. 4, p. 427–436.

OLESIŃSKA, K.; SUGIER, D.; KACZMARSKI, Z. Yield and chemical composition of raw material from meadow arnica (*Arnica chamissonis* Less.) depending on soil conditions and nitrogen fertilization. **Agriculture (Switzerland)**, 2021. v. 11, n. 9, p. 1–17.

OMER, E. A. et al. effect of nitrogen and potassium fertilizers on growth, yield, essential oil and artemisinin of *Artemisia annua* L Plant. **International Research Journal of Horticulture**, 2014. v. 2, n. 2, p. 11.

PISTELLI, L. et al. Aroma profile and bitter acid characterization of hop cones (*Humulus lupulus* L.) of five healthy and infected Polish cultivars. **Industrial Crops and Products**, 2018. v. 124, n. August, p. 653–662. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.009>>.

PURAYANNUR, S. et al. The hop downy mildew pathogen *Pseudoperonospora humuli*. **Molecular Plant Pathology**, 2021. v. 22, n. 7, p. 755–768.

RETTBERG, N.; BIENDL, M.; GARBE, L. A. Hop aroma and hoppy beer flavor: Chemical backgrounds and analytical tools—A review. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 2018. v. 76, n. 1, p. 1–20. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/03610470.2017.1402574>>.

RODOLFI, M. et al. The effect of different organic foliar fertilization on physiological and chemical characters in hop (*Humulus lupulus* L., cv Cascade) leaves and cones. **Applied Sciences (Switzerland)**, 2021. v. 11, n. 15.

ROSSINI, F. et al. Hops (*Humulus lupulus* L.) as a novel multipurpose crop for the mediterranean region of Europe: Challenges and opportunities of their cultivation. **Agriculture (Switzerland)**, 2021. v. 11, n. 6.

RUTNIK, K.; HRNČIČ, M. K.; KOŠIR, I. J. Hop essential oil: chemical composition,

extraction, analysis, and applications. **Food Reviews International**, 2021. v. 00, n. 00, p. 1–23. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1874413>>.

SAWICKA, B. et al. Assessment of the suitability of aromatic and high-bitter hop varieties (*Humulus lupulus* L.) for beer production in the conditions of the małopolska vistula gorge region. **Fermentation**, 2021. v. 7, n. 3.

STEENACKERS, B.; COOMAN, L.; VOS, D. Chemical transformations of characteristic hop secondary metabolites in relation to beer properties and the brewing process: A review. **Food Chemistry**, 2015. v. 172, p. 742–756. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.139>>.

STEVENS, R. **The chemistry of hop constituents**. 1. ed. Nutfield. Surrey. England: Brewing Industry Research Foundation, 1966.

SU, X.; YIN, Y. Aroma characterization of regional Cascade and Chinook hops (*Humulus lupulus* L.). **Food Chemistry**, 2021. v. 364, n. March, p. 130410. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130410>>.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2017.

TIAN, B. et al. Multifunctional chitosan-based film loaded with hops  $\beta$ -acids: Preparation, characterization, controlled release and antibacterial mechanism. **Food Hydrocolloids**, 2022. v. 124, n. PB, p. 107337. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107337>>.

VAN DEN DOOL, H.; DEC. KRATZ, P. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, 1963. v. 11, p. 463–471. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002196730180947X>>.

VAN OPSTAELE, F. et al. Characterization of novel varietal floral hop aromas by headspace solid phase microextraction and gas chromatography – mass spectrometry/olfactometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2012. v. 60, p. 12270–12281.

WANG, G. et al. Terpene Biosynthesis in Glandular Trichomes of Hop. **Plant Physiology**, 2008. v. 104, n. 3, p. 1254–1266.

XU, H. et al. Characterization of the formation of branched short-chain fatty acid:coas for bitter acid biosynthesis in hop glandular trichomes. **Molecular Plant**, 2013. v. 6, n. 4, p. 1301–1317.

YU, L. et al. Novel prenylated bichalcone and chalcone from *Humulus lupulus* and their quinone reductase induction activities. **Fitoterapia**, 2014. v. 93, p. 115–120. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2013.12.019>>.

ZHOU, K.; YANG, S.; LI, S. M. Naturally occurring prenylated chalcones from plants: Structural diversity, distribution, activities and biosynthesis. **Natural Product Reports**, 2021. v. 38, n. 12, p. 2236–2260.

## 5 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE GENÓTIPOS DE LÚPULO CULTIVADOS EM REGIÃO SUBTROPICAL DO BRASIL

### RESUMO

O lúpulo, em função dos óleos essenciais e ácidos amargos, apresenta impacto significativo nas características organolépticas da cerveja e tem seu uso crescente na indústria farmacêutica, face a seus compostos bioativos como xanthohumol, isoxanthohumol e prenilnaringeninas. A presença destes compostos é variável em função do material genético e condições ambientais, conforme a região de cultivo. Os resultados de pesquisas locais são poucos e descontínuos, assim poucos dados estão disponíveis sobre o comportamento da cultura e o desempenho de cada cultivar em regiões em que o lúpulo ainda está em fase recente de implantação, como o Brasil. Este trabalho teve o objetivo de avaliar o comportamento de genótipos de lúpulo em Guarapuava-PR, em relação a produção dos metabólitos secundários óleos essenciais, ácidos amargos e flavonoides prenilados. Determinou-se o teor (%) e a composição de óleo essencial por GC/MS, e de ácidos amargos, xanthohumol, isoxanthohumol e prenilnaringeninas por HPLC/DAD, em cones de lúpulo cultivados a campo por duas safras. Quanto à composição do óleo essencial, foram identificados 32 compostos e predominaram sesquiterpenos e monoterpenos. Em relação ao teor de óleo essencial, os genótipos mais produtivos foram Paraná 2, Cascade, Savage e Cristal. Os maiores teores de mirceno foram encontrados no genótipo Cascade Australiano na primeira safra e em Paraná 2, Cascade e Savage na segunda safra. Os maiores teores de linalol foram encontrados em Cascade Australiano na primeira safra e no Inglês Sementes 1 na segunda safra. O genótipo que mais produziu polifenóis (tanto ácidos como xanthohumol) foi Paraná 2 na primeira safra e Cascade Australiano, Cascade e Savage para ácidos totais. Savage e Cristal para xanthohumol + isoxanthohumol na safra 2. Os genótipos que apresentaram maior produção de prenilnaringeninas foram: Cascade para 6-prenilnaringenina, Cascade Australiano para 8-prenilnaringenina e para a soma de 6 e 8-PN. O genótipo com maior potencial para a indústria cervejeira, é o Cascade Australiano, em função dos teores de linalol e de  $\alpha$ -ácidos. Verifica-se um bom potencial para uso medicinal, especialmente em relação às chalconas xanthohumol e isoxanthohumol, cujos teores assemelham-se aos das regiões tradicionais produtoras de lúpulo. Para estes compostos o genótipo de maior destaque foi o Savage. Quanto às prenilnaringeninas, o genótipo indicado para fins medicinais é Cascade Australiano.

Palavras-chave: *Humulus lupulus*; óleo essencial, ácidos amargos, xanthohumol, polifenóis.

## ABSTRACT

Hops, due to essential oils and bitter acids, have a significant impact on the organoleptic characteristics of beer and have their increasing use in the pharmaceutical industry, due to their bioactive compounds such as xanthohumol, isoxanthohumol and prenylnaringenins. The presence of these compounds is variable depending on the genetic material and environmental conditions, according to the region of cultivation. The results of local research are few and discontinuous, so few data are available on the behavior of the crop and the performance of each cultivar in regions where hops are still in the recent phase of implementation, such as Brazil. This study aimed to evaluate the behavior of hop genotypes in Guarapuava-PR, in relation to the production of secondary metabolites essential oils, bitter acids and prenylated flavonoids. The content (%) and composition of essential oil by GC/MS, and of bitter acids, xanthohumol, isoxanthohumol and prenylnaringenins by HPLC/DAD, were determined in hop cones cultivated in the field for two crops. Regarding the composition of the essential oil, 32 compounds were identified and sesquiterpenes and monoterpenes predominated. Regarding the essential oil content, the most productive genotypes were Paraná 2, Cascade, Savage and Cristal. The highest levels of myrcene were found in the genotype Cascade Australiano in the first harvest and in Paraná 2, Cascade and Savage in the second crop. The highest levels of linalool were found in Australian Cascade in the first crop and in Inglês Sementes 1 in the second crop. The genotype that produced the most polyphenols (both acids and xanthohumol) was Paraná 2 in the first harvest and Australian Cascade, Cascade and Savage for total acids. Savage and Crystal for xanthohumol + isoxanthohumol in crop 2. The genotypes that presented the highest production of prenylnaringenins were: Cascade for 6-prenylnaringenin, Cascade Australiano for 8-prenylnaringenin and for the sum of 6 and 8-PN. The genotype with the greatest potential for the brewing industry is the Cascade Australiano, due to the linalool and  $\alpha$ -acid contents. There is a good potential for medicinal use, especially in relation to the chalcones xanthohumol and isoxanthohumol, whose contents resemble those of traditional hop-producing regions. For these compounds, the most prominent genotype was Savage. As for prenylnaringenins, the genotype indicated for medicinal purposes is Cascade Australiano.

Keywords: *Humulus lupulus*; essential oil, bitter acids, xanthohumol, polyphenols.

## 5.1 INTRODUÇÃO

Embora o lúpulo (*Humulus lupulus* L.), planta da família Cannabaceae, esteja presente em pequenas quantidades na receita das cervejas, apresenta impacto significativo na qualidade e características organolépticas dessa bebida (BOCQUET et al., 2018a).

O valor cervejeiro do lúpulo é devido aos ácidos amargos e aos óleos essenciais, que conferem amargor, aroma e sabor (MOZZON; FOLIGNI; MANNOZZI, 2020; ROSSINI et al., 2021; SAWICKA et al., 2021).

Atualmente, o crescente interesse pela medicina natural, está ampliando as perspectivas de utilização dessa cultura, face a potencialidade de uso medicinal, que apontam o lúpulo como uma cultura rica em diversos compostos bioativos (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021; ROSSINI et al., 2021), que podem também ser utilizados na indústria cosmética (SAWICKA et al., 2021).

Dentre os efeitos medicinais do lúpulo destacam-se sua atividade ansiolítica, antioxidante, antidiabética, anti-inflamatória, antitumoral, anticancerígena e neuro protetora (NAGYBÁKAY et al., 2021).

O sabor e o odor característicos do lúpulo são atribuídos por produtos do metabolismo secundário, classificados em óleos essenciais, predominantemente terpenóides voláteis, em resinas ou ácidos amargos não voláteis e em compostos fenólicos produzidos e armazenados em tricomas glandulares denominados de lupulina (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018; SU et al., 2022).

Os compostos mais abundantes no óleo essencial são o mirceno,  $\alpha$ -humuleno e  $\beta$ -cariofileno. Os ácidos amargos são divididos em alfa e beta ácidos, derivados respectivamente da humulona e lupulona. O principal composto fenólico é o flavonoide prenilado xanthohumol (PATZAK et al., 2015), importante precursor de flavanonas preniladas (ZHOU; YANG; LI, 2021). Outras flavonas, a 6-prenilnaringenina e a 8-prenilnaringenina, também estão presentes em cones de lúpulo, porém em níveis mais baixos que xanthohumol e isoxanthohumol (BOCQUET et al., 2018a)

A composição do óleo essencial e os níveis de ácidos amargos e polifenóis presentes nos cones de lúpulo variam principalmente de acordo com cada cultivar (MOZZON; FOLIGNI; MANNOZZI, 2020; ROSSINI et al., 2016), devido ao seu perfil genético e recebem influência das condições de ambiente, clima, grau de maturação

do cone (BOCQUET et al., 2018a; PATZAK et al., 2015) e práticas agronômicas (MOZZON; FOLIGNI; MANNOZZI, 2020).

As cultivares de lúpulo podem ser diferenciadas de acordo com quantidade de ácidos amargos. As cultivares de lúpulo aromático produzem cerca de 3 a 4% de enquanto as cultivares de lúpulo amargo sintetizam de 8 a 15% alfa ácidos (BOCQUET et al., 2018a).

O xanthohumol é a principal chalcona do lúpulo, sendo representando entre 0,1 a 1,2% do peso seco dos cones (LOUREIRO et al., 2019), já seu isômero, a flavanona isoxanthohumol, representa cerca de 0,008% (BOCQUET et al., 2018a). A 8-prenilnaringenina, é o fitoestrogênio mais potente, já isolado, e está presente no lúpulo em até 0,002% da matéria seca (BOCQUET et al., 2018a).

O xanthohumol é encontrado exclusivamente em inflorescências do lúpulo (ASTRAY et al., 2020) e diversos cultivares de lúpulo foram relacionadas à atividades estrogênica e antioxidante (ALMEIDA; SILVA; MARQUES, 2019; MONGELLI et al., 2016) devido a sua presença de suas derivadas demetiladas, 6-prenilnaringenina e 8-prenilnaringenina (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021). Diferentes práticas agrícolas e condições climáticas resultam em alteração nos níveis de xanthohumol (KEUKELEIRE et al., 2007; KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021).

A crescente popularidade da cerveja artesanal produzidas em microcervejarias tem nos últimos anos favorecido o cultivo local de lúpulo, ultrapassando assim os limites típicos de cultivo e indo além das cultivares de lúpulo amplamente reconhecidas (SAWICKA et al., 2021).

Em ambientes novos de cultivo, os resultados de pesquisas locais são poucos e descontínuos (ROSSINI et al., 2021), assim poucos dados estão disponíveis sobre comportamento da cultura e o desempenho de cada cultivar para as condições de clima e solo das regiões em que o lúpulo ainda está em fase recente de implantação, como é o caso do Brasil.

Como a produção de cerveja ocorre no mundo todo, uma grande quantidade de cultivares de lúpulo foram desenvolvidas, as quais diferem em termos de rendimento de cones, adaptação climática, desempenho agrônomo e níveis de produção de metabólitos secundários, nas diferentes regiões de cultivo (MONGELLI et al., 2016).

Por exemplo, a presença de determinados produtos do metabolismo secundário, como compostos aromáticos, e suas respectivas concentrações são alteradas conforme a cultivar (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021).

O teste e desenvolvimento de cultivares adaptadas regionalmente, são fundamentais para o desenvolvimento da cultura em novas áreas de cultivo e proporcionar oportunidades relacionadas ao desenvolvimento do turismo gastronômico em torno das cervejarias, sobretudo as artesanais.

Este trabalho teve o objetivo de avaliar o comportamento de genótipos de lúpulo, em região produtora de malte cervejeiro no subtropical do Brasil, em relação a produção dos metabólitos secundários óleos essenciais, ácidos amargos e flavonoides prenilados.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.2.1 Experimento de campo

O experimento foi instalado no mês de setembro de 2020, no município de Guarapuava-PR (25°33'S; 51°29'W), 1.095 m de altitude na estação experimental da FAPA. O clima local é Cfb, segundo a classificação de Köppen-Geiger, com verões frescos e sem estação seca definida (ALVARES et al., 2013). Dados climáticos foram coletados pela estação meteorológica instalada na estação experimental (FIGURA 14).

O ensaio em condições de campo foi realizado em duas safras (2020/2021, e 2021/2022), sendo avaliados os seguintes materiais genéticos da coleção do Estação Experimental do Canguiri da UFPR: Columbus (COL), Cascade Australiano (CAA), Paraná 1 (PR1), Paraná 2 (PR2), Rio Grande do Sul (RS), Chinook (CHI), Inglês 1 (IS1), Cascade (CAS), Savage (SAV) e Cristal (CRI).

Na primeira safra do experimento apenas 5 genótipos produziram cones e na segunda foi possível avaliar os teores de ácidos e xanthohumol em 10 genótipos e em 9 para óleos. O genótipo RS não produziu cones em quantidade suficiente para a aplicar a metodologia de extração de óleos.

O experimento foi disposto em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições e cada unidade experimental composta por 4 plantas, espaçadas em 1 metro na linha e 3 metros entre linhas. Após a brotação, foram selecionados seis

ramos principais, conduzidos por duas cordas de sisal fixadas a um arame colocado a uma altura de 5 metros.

O ponto de colheita dos cones foi determinado quando estes estavam amarelando, as pétalas caindo ao toque e a lupulina com coloração amarela escura. Cones de lúpulo de 4 plantas por parcela foram secos em estufa com circulação forçada de ar a 35°C, até a estabilização da massa, adaptando-se o método descrito por Falkenberg et al. (2007).

### 5.2.2 Extração e análise dos óleos essenciais

Os procedimentos foram realizados no Laboratório de Ecofisiologia Vegetal e no Laboratório de Produtos Naturais e Ecologia Química, ambos da UFPR, Curitiba-PR.

Para as análises de óleos foram coletadas amostras de cones secos da produção cada safra. Para cada tratamento foram separadas 3 repetições de 50 gramas de cones secos, para a extração do óleo por hidrodestilação em aparelho Clevenger por 3 horas em 1.000 ml de água destilada. O teor de óleo essencial foi determinado em base de massa seca, expresso em porcentagem (% m m<sup>-1</sup>). Após a extração, o óleo foi armazenado em freezer a -20°C, até o processo de identificação e quantificação dos componentes dos óleos essenciais.

Para tal, as amostras foram diluídas a 1% de concentração, utilizando hexano e 1 µL desta solução foi injetada em cromatógrafo gasoso acoplado em espectrômetro de massas (GC/MS) Shimadzu (2010 Plus).

O injetor foi mantido a 250°C e a separação dos constituintes foi realizada por coluna capilar HP-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm) tendo gás hélio como carreador (1 mL min<sup>-1</sup>). A temperatura do forno foi programada de forma crescente (60 a 240°C / 3°C min<sup>-1</sup>).

Os constituintes químicos foram identificados pelos seus índices de retenção linear, calculados a partir da injeção de uma série homóloga de n-alcenos (VAN DEN DOOL; DEC. KRATZ, 1963) e pelos espectros de massas, ambos comparados com dados da literatura (ADAMS, 2017).

Os compostos foram quantificados utilizando um CG com detector de ionização de chamas (DIC) nas mesmas condições da GC/MS, porém utilizando hidrogênio (1,5 mL min<sup>-1</sup>) como gás carreador. Sua composição porcentual foi obtida

via integração eletrônica do sinal do DIC pela divisão da área de cada componente pela área total (%).

### 5.2.3 Compostos fenólicos

Os procedimentos foram realizados no Laboratório de Química Analítica, Nutrição e Bromatologia, da USC-Universidade de Santiago de Compostela, em Santiago de Compostela-Espanha.

Para análise dos conteúdos de ácidos, xanthohumol, isoxanthohumol, 6-prenilnaringenina e 8-prenilnaringenina foram utilizadas amostras colhidas na terceira safra do experimento e aplicada uma adaptação do método descrito por (LOUREIRO et al., 2019).

Pesaram-se 100 mg de estróbilos triturados de lúpulo, e adicionaram-se 10 ml de etanol absoluto para extração. As amostras condicionadas em frascos de vidro, foram sonicadas em ultrassom Branson 5510 (Branson Ultrasonic Corp., Danbury, CT, EUA) por 30 minutos. Depois foram diluídas em água ultrapura: 500 µl de lúpulo triturado + etanol absoluto e 500 µL de água ultrapura.

As amostras finais foram transferidas para frascos de vidro âmbar de HPLC, por filtração com membranas de PTFE de tamanho de poro de 0,45 µm. Todos os ensaios de extração foram realizados em triplicata para todas as amostras.

As amostras foram medidas com o método HPLC-DAD otimizado em diferentes comprimentos de onda (225, 270, 310 e 326 nm). O equipamento utilizado foi o HPLC-DAD-UV Modelo 1200 Infinity Series da Agilent Technologies (Hewlett-Packard, Waldbronn, Alemanha) equipado com desgaseificador a vácuo, bomba quaternária, bandeja de amostras, sistema de coluna termostática e detector de rede (DAD), todos controlados pelo software HP ChemStation (versão B.03.01-SR1 (317)).

A separação dos compostos foi realizada com uma coluna Phenomenex Luna C18 (2) (150 x 3 mm, tamanho de partícula de 5 µm, 100 Å) a 30°C.

Os solventes utilizados como fase móvel foram metanol (A) e água ultrapura (B), ambos acidificados a 0,5% com ácido acético. A separação dos compostos seguiu gradiente de eluição: 0 a 6 minutos (30 % A + 70% B); 6 a 10 minutos (70% A + 30% B); 10 a 26 minutos (80% A + 20% B); 26 a 28 minutos (90%A + 10%B) e 28 a 30 minutos (100% A). O volume de injeção foi de 10 µl, o fluxo foi de 0,8 ml min<sup>-1</sup> e as medições foram feitas no comprimento de onda de 326 nm.

Para determinação dos ácidos amargos foi utilizado padrão de referência ICE4 (composto por 42,58% de  $\alpha$ -ácidos — 10,98% de cohumulona e 31,60% de adhumulona + humulona (ad + humulona) —, e 26,54% de  $\beta$ -ácidos — 13,02% de colupulona e 13,52% de adlupulona + lupulona (ad + lupulona) fornecido por Labor Veritas, Zurique, Suíça. Para determinação dos compostos xanthohumol, isoxanthohumol, 6-prenilnaringenina e 8-prenilnaringenina os respectivos padrões foram fornecidos pela Biosynth-Carbosynth, Berkshire, Reino Unido.

Os compostos foram identificados pela comparação dos tempos de retenção e espectros de UC com aqueles obtidos com padrões puros injetados sob as mesmas condições cromatográficas e foram quantificados pelo método do padrão externo com curvas de calibração (coeficientes de correlação  $>0,999$  para todos os compostos).

A linearidade ( $R^2$ ) foi determinada usando linhas de calibração de 7 pontos no caso de ICE4 —com concentrações de 2 a 200 mg L<sup>-1</sup> e linhas de 8 pontos, com concentrações de 0,05 a 5 mg L<sup>-1</sup> para xanthohumol e isoxanthohumol, e 0,02 a 2 mg L<sup>-1</sup> para 6-prenilnaringenina e 0,05 a 2 mg L<sup>-1</sup> para 8-prenilnaringenina.

#### 5.2.4 Análise estatística

Fez-se análise de variância com posterior aplicação de teste de Scott Knott para comparar as médias, considerando  $p \leq 0,05$  em todas as avaliações.

As condicionantes para a análise de variância foram verificadas a partir dos testes de homoscedasticidade (Bartlett, Hartley e Levene) e normalidade (Jarque-Berra). Os dados foram analisados pelos software Speed Stat (CARVALHO et al., 2020).

Também foi realizada análise multivariada por análise de componentes principais (PCA), utilizando-se o software PAST3.

### 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira safra (TABELA 11) o rendimento médio de óleo essencial foi de 0,13%, enquanto na segunda (TABELA 12) a média geral foi de 0,27%.

Na primeira safra não foi observada diferença significativa no rendimento do óleo dos genótipos avaliados. Por outro lado, na segunda safra verificou-se as seguintes diferenças: os genótipos mais produtivos foram Paraná 2, Cascade, Savage e Cristal, com rendimento de óleo variando entre 0,32 e 0,54%.

Estudo realizado na Itália, ao comparar o rendimento de óleo de diferentes genótipos identificou rendimento que variou entre 0,2 e 1,1% (PISTELLI et al., 2018). Outro estudo, este realizado na Polônia encontrou rendimentos variando entre 0,83 e 2,22%, para quatro cultivares (LEONARDI et al., 2013). Nos EUA, foi obtido rendimento de 1,47% (JELIAZKOVA et al., 2018).

O rendimento da produção de OE é afetado diretamente por condições ambientais, como temperatura, fotoperíodo, disponibilidade de água, além da nutrição, fatores genéticos, idade e condições de crescimento da planta (DIETZ et al., 2020; KHAMMAR et al., 2021).

Desta forma, os potenciais de rendimento da maioria dos cultivares de lúpulo geralmente apresentam um declínio acentuado de produtividade quando cultivados fora da Europa ou região do Pacífico Noroeste, ao serem submetidos a testes iniciais visando reprodução e seleção de genótipos (DARBY et al., 2017). Considerando que este foi o primeiro teste destes genótipos em condição ambiental do Brasil, os resultados obtidos neste trabalho não foram surpreendentes.

Quanto à composição do óleo essencial, seu perfil mostrou-se diferente entre os genótipos testados, em ambas as safras de cultivo. Na primeira safra (TABELA 11) foram identificados 16 compostos, os quais em média representam 88,21% do perfil do óleo.

Destes foram: 2 monoterpenos (mirceno,  $\beta$ -felandreno), 1 álcool monoterpeneo (linalol), 8 sesquiterpenos ((E)- $\beta$ -farneseno, (E)-cariofileno,  $\alpha$ -trans-bergamoteno, 9-epi-(E)-cariofileno, trans-cadina-1(6),4-dieno,  $\delta$ -selineno,  $\beta$ -selineno e  $\gamma$ -cadineno), 1 álcool sesquiterpeneo ( $\alpha$ -cadinol), 1 éster (heptanoato de metil), 1 aldeído (n-nonanal) e 2 cetonas (2-decanone, 2-undecanone).

Os 5 compostos predominantes foram na ordem: mirceno, (E) $\beta$ -farneseno,  $\delta$ -selineno,  $\beta$ -selineno e (E)cariofileno, juntos representando 78,8% do perfil médio dos OE dos genótipos, na primeira safra. Na segunda safra, repetiu-se esses compostos, porém com uma pequena inversão na ordem, com  $\beta$ -selineno e (E)cariofileno trocando de posição. Nessa safra esses compostos representaram 76,2% do perfil.

O genótipo CAA, teve o perfil com maior teor de compostos identificados (92,12%) e apresentou os maiores teores de mirceno, n-nonanal, 2-decanone,  $\beta$ -felandreno e linalol. Enquanto no genótipo PR1 foram os compostos: (E)- $\beta$ -farneseno,  $\alpha$ -cadinol, trans-cadina-1(6),4-dieno,  $\gamma$ -cadineno,  $\alpha$ -trans-bergamoteno e  $\beta$ -felandreno.

Para PR2 foram (E)- $\beta$ -farneseno,  $\gamma$ -cadineno e  $\beta$ -felandreno. RS teve como maiores teores em relação aos demais: (E)- $\beta$ -farneseno,  $\alpha$ -cadinol, trans-cadina-1(6),4-dieno,  $\gamma$ -cadineno, n-nonanal e 2-decanone, enquanto para CHI foram (E)- $\beta$ -farneseno, (E)-cariofileno,  $\alpha$ -cadinol, trans-cadina-1(6),4-dieno,  $\gamma$ -cadineno e  $\alpha$ -trans-bergamoteno.

Para os sesquiterpenos,  $\beta$ -selineno,  $\delta$ -selineno, 9-epi-(E)-cariofileno, a cetona 2-undecanone e o éster heptanoato de metil, não foram observadas diferenças significativas entre os genótipos.

Quanto às classes de compostos, os terpenos predominaram, sendo majoritários os sesquiterpenos, seguidos dos monoterpenos. O genótipo menos abundante em sesquiterpenos foi o CAA, e todos os demais apresentaram teores inferiores, desse composto, porém sem diferenças entre si.

Em relação aos monoterpenos, houve comportamento inverso aos sesquiterpenos, com os maiores teores observados na CAA. Quanto ao álcool sesquiterpeno os genótipos majoritários foram PR1, RS e CHI. Já para as cetonas, foram CAA, PR1 e RS, enquanto para álcool monoterpeno foi CAA.

Por outro lado, não foi observada diferença entre os teores de ésteres, nos genótipos avaliados.

TABELA 11 – COMPOSIÇÃO E RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DE 5 GENÓTIPOS DE LÚPULO CULTIVADOS EM GUARAPUAVA NA SAFRA 2020/2021. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NA LINHA, NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE SCOTT-KNOTT ( $p \leq 0,05$ ).

| Composto                    | Genótipos |         |         |         |         | Média | CV % | P-Valor            |
|-----------------------------|-----------|---------|---------|---------|---------|-------|------|--------------------|
|                             | CAA       | PR1     | PR2     | RS      | CHI     |       |      |                    |
| Mirceno                     | 42,32 a   | 26,25 c | 34,54 b | 27,25 c | 16,88 d | 29,45 | 19,1 | <0,001**           |
| (E)- $\beta$ -farneseno     | 16,44 b   | 20,25 a | 18,73 a | 18,96 a | 19,16 a | 18,71 | 7,86 | 0,01**             |
| $\delta$ -selineno          | 10,17 a   | 12,63 a | 11,38 a | 11,68 a | 13,42 a | 11,86 | 17,9 | 0,32 <sup>ns</sup> |
| $\beta$ -selineno           | 9,31 a    | 11,97 a | 10,5 a  | 10,98 a | 12,45 a | 11,04 | 18,1 | 0,09 <sup>ns</sup> |
| (E)-cariofileno             | 5,43 c    | 7,04 b  | 7,26 b  | 8,29 b  | 10,73 a | 7,75  | 17,4 | <0,001**           |
| $\alpha$ -cadinol           | 1,58 b    | 2,12 a  | 1,62 b  | 2,22 a  | 2,51 a  | 2,01  | 10,9 | <0,01**            |
| trans-cadina-1(6),4-dieno   | 1,61 b    | 2,05 a  | 1,79 b  | 1,95 a  | 2,32 a  | 1,94  | 14,4 | <0,001**           |
| $\gamma$ -cadineno          | 1,25 b    | 1,8 a   | 1,81 a  | 1,81 a  | 1,8 a   | 1,69  | 17,9 | <0,001**           |
| 2-undecanone                | 1,15 a    | 1,15 a  | 0,83 a  | 1,04 a  | 0,91 a  | 1,02  | 22,1 | 0,07 <sup>ns</sup> |
| $\alpha$ -trans-bergamoteno | 0,71 c    | 0,9 a   | 0,79 b  | 0,77 b  | 0,87 a  | 0,81  | 5,5  | <0,001**           |
| n-nonanal                   | 0,48 a    | 0,49 a  | 0,43 b  | 0,58 a  | 0,35 b  | 0,47  | 18,8 | <0,001**           |
| 9-epi-(E)-cariofileno       | 0,34 a    | 0,42 a  | 0,38 a  | 0,4 a   | 0,46 a  | 0,40  | 19,0 | 0,15 <sup>ns</sup> |
| 2-decanone                  | 0,44 a    | 0,4 a   | 0,3 b   | 0,4 a   | 0,36 b  | 0,38  | 12,2 | <0,001**           |
| $\beta$ -felandreno         | 0,39 a    | 0,26 b  | 0,34 a  | 0,29 b  | 0,24 b  | 0,30  | 28,1 | 0,04*              |
| Linalol                     | 0,29 a    | 0,21 b  | 0,18 b  | 0,18 b  | 0,21 b  | 0,21  | 13,4 | 0,003**            |
| Heptenoato de metil         | 0,21 a    | 0,13 a  | 0,17 a  | 0,19 a  | 0,15 a  | 0,17  | 23,0 | 0,23 <sup>ns</sup> |
| Sesquiterpeno               | 45,26 b   | 57,06 a | 52,64 a | 54,84 a | 61,21 a | 54,20 | 5,9  | 0,002**            |
| Monoterpeno                 | 42,71 a   | 26,51 c | 34,88 b | 27,54 c | 17,12 d | 29,75 | 11,1 | <0,001**           |
| Álcool Sesquiterpeno        | 1,58 b    | 2,12 a  | 1,62 b  | 2,22 a  | 2,51 a  | 2,01  | 15,8 | 0,02*              |
| Cetona                      | 1,59 a    | 1,55 a  | 1,14 b  | 1,44 a  | 1,27 b  | 1,40  | 8,3  | 0,003**            |
| Aldeído                     | 0,48 b    | 0,49 b  | 0,43 c  | 0,58 a  | 0,35 c  | 0,47  | 11,3 | 0,004**            |
| Álcool Monoterpeno          | 0,29 a    | 0,21 b  | 0,18 b  | 0,18 b  | 0,21 b  | 0,21  | 13,4 | 0,003**            |
| Éster                       | 0,21 a    | 0,13 a  | 0,17 a  | 0,19 a  | 0,15 a  | 0,17  | 23,0 | 0,23 <sup>ns</sup> |
| TOTAL                       | 92,12     | 88,07   | 91,06   | 86,99   | 82,82   | 88,21 |      |                    |
| Rendimento óleo             | 0,12 a    | 0,14 a  | 0,13 a  | 0,12 a  | 0,13 a  | 0,13  | 42,8 | 0,99               |

FONTES: O Autor (2021).

LEGENDA: \* Diferença significativa  $p \leq 0,05$ ; \*\* Diferença altamente significativa  $p \leq 0,01$ ; ns Diferença não significativa  $p \leq 0,05$ .

Na segunda safra (TABELA 12) foi identificada uma quantidade superior de compostos (32), representando 91,6% do perfil total do óleo essencial das amostras.

Esses compostos estão distribuídos em 7 grupos de metabólitos secundários, listados em ordem decrescente de presença no perfil: 15 sesquiterpenos ((E)- $\beta$ -farneseno,  $\delta$ -selineno, (E)-cariofileno,  $\beta$ -selineno,  $\alpha$ -humuleno,  $\alpha$ -calacoreno, trans-cadina-1(6),4-dieno,  $\alpha$ -cadineno,  $\gamma$ -cadineno,  $\delta$ -cadineno,  $\alpha$ -trans-bergamoteno,  $\beta$ -copaeno,  $\alpha$ -amorfenol e 9-epi-(E)-cariofileno), 2 monoterpenos (heptenoato de metil e decanoato de metila), 6 álcoois de sesquiterpeno ( $\alpha$ -cadinol, álcool de cariofilenila, óxido de cariofileno, (2Z, 6E)-farnesol, epi- $\alpha$ -cadinol e (E)-nerolidol), 5 cetonas (2-

undecanona, 2-tridecanona, 2-decanona, (6Z)-pentadecen-2-ona e 2-dodecanona), 1 aldeído (n-nonanal), 1 álcool monoterpeneo (linalol) e 2 ésteres (heptenoato de metila e decanoato de metila). Por outro lado, nenhum composto contendo enxofre foi identificado.

O genótipo que teve identificada a maior porção do perfil do OE foi a CRI (93,21%). Os genótipos mais ricos em monoterpeneos foram PR2, CAS e SAV, enquanto PR1 foi a mais rica em sesquiterpeneos. Quanto à álcool sesquiterpeneo, o genótipo PR1 junto com CHI apresentaram os maiores índices. SAV obteve os maiores valores de cetonas e álcool monoterpeneo, PR2 de ésteres e COL, CAA e PR1 de aldeídos.

COL em comparação com os demais genótipos, demonstrou os maiores teores de (E)- $\beta$ -farneseno,  $\alpha$ -cadineno,  $\alpha$ -humuleno,  $\alpha$ -trans-bergamoteno, (2Z, 6E) - farnesol, n-nonanal e  $\beta$ -copaeno.

CAA destacou-se no composto n-nonanal. PR1 obteve destaque para (E)- $\beta$ -farneseno, trans-cadina-1(6),4-dieno,  $\delta$ -selineno,  $\beta$ -selineno,  $\alpha$ -cadinol, 2-tridecanona,  $\alpha$ -trans-bergamoteno e n-nonanal. PR2: mirceno,  $\delta$ -cadineno,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -felandreno e decanoato de metila. CHI:  $\alpha$ -cadinol, trans-cadina-1(6),4-dieno,  $\delta$ -selineno,  $\beta$ -selineno, 2-tridecanona e n-nonanal. IS1 se destacou em (E)-cariofileno, linalol,  $\alpha$ -trans-bergamoteno,  $\beta$ -pineno, Álcool de cariofilenila, Heptenoato de metil e n-nonanal.

CAS: mirceno,  $\beta$ -pineno, e  $\beta$ -felandreno. SAV: mirceno,  $\alpha$ -cadineno, linalol e  $\beta$ -pineno. E por fim, CRI destacou-se nos compostos: (E)- $\beta$ -farneseno e  $\alpha$ -trans-bergamoteno.

Embora as características aromáticas do lúpulo sejam inerentes à cada genótipo, diferenças podem estar presentes dentro do mesmo genótipo, em função de local e/ou ano de cultivo (FORTESCHI et al., 2019).

Assim, eram esperadas alterações nos perfis dos óleos, dos diferentes genótipos, cultivados em safras diferentes, visto que essa situação é dependente de muitos fatores, como as características específicas de cada cultivar, grau de amadurecimento do cone, condições climatológicas, aspectos nutricionais e condições de armazenamento (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021).

O mirceno é o composto responsável pelo odor característico do lúpulo fresco (MOZZON; FOLIGNI; MANNOZZI, 2020), comumente é o composto mais abundante

no perfil do óleo essencial de lúpulo (SAWICKA et al., 2021) e junto com o linalol, porém este presente em quantidade bem inferior, estão entre os mais importantes aromas do óleo essencial de lúpulo (KORPELAINEN; PIETILÄINEN, 2021).

Neste trabalho, na safra 1, para todos os genótipos o composto predominante foi o mirceno, com exceção ao CHI cujo composto majoritário foi o (E)- $\beta$ -farneseno. Esse composto é valorizado em lúpulos aromáticos (ALMEIDA et al., 2021), cujos teores se destacaram na safra 2, nos genótipos COL, PR1 e CRI.

O genótipo com maior teor de mirceno na safra 1, foi o CAA, o qual apresentou o menor teor de (E)- $\beta$ -farneseno dentre os genótipos. CAA foi também o que apresentou o maior teor de linalol. Esse composto, é produto de hidratação do mirceno, e a maior polaridade do grupo hidroxila aumenta a sua solubilidade em água (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

Na segunda safra, o mirceno foi o composto com maior quantidade em todos os genótipos, com exceção de PR1, cujo compostos mais presentes foram  $\delta$ -selineno,  $\beta$ -selineno e (E)- $\beta$ -farneseno, porém com teores bem próximos ao mirceno. Os genótipos com maior teor de mirceno nessa safra foram CAS e SAV.

A participação do linalol no perfil do OE de lúpulo na segunda safra do experimento, com 0,78% na média dos genótipos, 1,20% (IS1) e 1,34% (CAS), melhores tratamentos, mostra que o OE deste ensaio é mais rico deste composto que em outros trabalhos: 0,39% nos Estados Unidos (JELIAZKOVA et al., 2018), 0,34-0,56% na Itália (GRESTA et al., 2022) e 0,2-0,8% na Polônia (PISTELLI et al., 2018).

Este composto é fundamental na determinação do sabor e aroma da cerveja (HONG et al., 2022), especialmente o aroma floral (SANTAGOSTINI et al., 2020). Assim o linalol é considerado um indicador de qualidade do lúpulo (ALMAGUER et al., 2014; RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

Geraniol, outro indicador importante de qualidade para algumas cultivares de lúpulo, não foi identificado em nenhuma amostra, nas duas safras da pesquisa. Fatores ambientais, clima, solo e latitude podem ser a causa dessa ausência (SU; YIN, 2021; VAN OPSTAELE et al., 2012). O geraniol também é um exemplo de um composto varietal específico que não pode ser encontrado em todas as cultivares de lúpulo em concentrações detectáveis (DIETZ et al., 2020). Assim, é possível também que os materiais testados, sejam genótipos não produtores deste composto.

O único genótipo que se destacou em relação a  $\alpha$ -humuleno foi a COL. (E)-cariofileno apresentou teor mais elevado no genótipo IS1. Quanto ao  $\alpha$ -transbergamoteno os genótipos que obtiveram os maiores teores foram COL, PR1 e CRI.

A presença do mirceno no perfil do genótipo Chinook (CHI), variou bastante em relação às duas safras (16,9 % na primeira e 29,4% na segunda). Destaca-se que o teor na segunda safra se aproximou dos valores esperados para a cultivar, que fica entre 35 e 40 % (MOZZON; FOLIGNI; MANNOZZI, 2020). Comparando com a proporção de cariofileno listada por estes autores para essa cultivar (9-11%), os valores obtidos também foram semelhantes: (10,7% na safra 1 e 9,0 na safra 2).

Os teores médios de cariofileno, 7,7% (safra 1) e 6,5% (safra 2) foram semelhantes à média (6,6%) de 6 cultivares testadas em diferentes regiões da Polônia, todas com latitude entre 51°13'N e 51°16' N (SAWICKA et al., 2021).

Porém, o composto (E)-cariofileno, embora seja o quinto mais abundante na primeira safra e o quarto na segunda safra, não tem muita importância para a qualidade da cerveja, pois devido a sua baixa solubilidade, apenas uma mínima parte contribui com sabor ou aroma da cerveja (RUTNIK; HRNČIČ; KOŠIR, 2021).

A presença de óxido de cariofileno nas amostras de COL, CAA, PR2 e CAS, na segunda safra indicam um pequeno grau de oxidação das amostras, visto que seus teores são bem inferiores aos teores de (E)-cariofileno (15,7; 2,80; 8,10 e 20,8% respectivamente).

Altas proporções de selineno são negativas para o lúpulo destinado a indústria cervejeira, pois afetam negativamente o aroma (NESVADBA et al., 2020). Na primeira safra não foram observadas diferenças entre os genótipos, para esse composto, porém na segunda, os genótipos que apresentaram menor proporção foram COL, PR2, CAS e CRI, para  $\delta$ -selineno e PR2, CAS e CRI para  $\beta$ -selineno.

A ausência de compostos contendo enxofre é algo interessante, pois estes compostos possuem limiar de sabor e aroma muito baixos e por vezes, sua presença é capaz de suprimir o aroma e sabor frutado induzidos por linalol ou geraniol, podendo deixar a cerveja com aromas que lembram cebola ou urina de gato (DIETZ et al., 2020), portanto indesejáveis.

Ressalta-se que estes experimentos foram conduzidos, tendo material experimental plantas jovens de lúpulo, com amostras coletadas das primeiras e segundas floradas e a presença e teor de alguns compostos são dependentes da idade do lúpulo (PEACOCK; DEINZER, 1979).

TABELA 12 - COMPOSIÇÃO E RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DE 9 GENÓTIPOS DE LÚPULO CULTIVADOS EM GUARAPUAVA NA SAFRA 2021/2022. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NA LINHA, NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE SCOTT-KNOTT ( $p \leq 0,05$ ).

| Composto (%)                | Genótipos (continua) |     |       |     |       |      |       |      |       |      |       | CV % | P-Valor |      |       |      |       |      |      |                    |
|-----------------------------|----------------------|-----|-------|-----|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|---------|------|-------|------|-------|------|------|--------------------|
|                             | COL                  | CAA | PR1   | PR2 | CHI   | IS1  | CAS   | SAV  | CRI   | M    |       |      |         |      |       |      |       |      |      |                    |
| Mirceno                     | 37,05                | c   | 47,71 | b   | 15,29 | d    | 63,49 | a    | 29,44 | c    | 49,30 | b    | 64,87   | a    | 53,41 | b    | 47,13 | b    | 7,0  | <0,001**           |
| (E)- $\beta$ -farneseno     | 18,17                | a   | 6,60  | b   | 17,33 | a    | 1,89  | b    | 3,35  | b    | 4,07  | b    | 3,71    | b    | 20,16 | a    | 9,41  | a    | 15,9 | <0,001**           |
| $\delta$ -selineno          | 2,50                 | d   | 6,11  | b   | 20,66 | a    | 0,84  | d    | 21,32 | a    | 5,02  | b    | 0,60    | d    | 3,37  | c    | 6,86  | d    | 13,4 | <0,001**           |
| (E)-cariofileno             | 4,85                 | d   | 6,84  | c   | 9,74  | b    | 4,93  | d    | 8,98  | b    | 14,94 | a    | 3,41    | e    | 2,50  | e    | 6,53  | e    | 14,6 | <0,001**           |
| $\beta$ -selineno           | 2,29                 | d   | 5,44  | b   | 18,91 | a    | 1,53  | e    | 19,35 | a    | 4,06  | c    | 0,55    | e    | 2,86  | d    | 6,25  | e    | 8,8  | <0,001**           |
| $\alpha$ -humuleno          | 11,24                | a   | 7,64  | c   | 0,33  | e    | 7,93  | c    | 0,25  | e    | 0,75  | e    | 8,60    | b    | 0,40  | e    | 4,73  | d    | 8,5  | <0,001**           |
| $\alpha$ -calacoreno        | 2,22                 | nd  | nd    | nd  | nd    | nd   | nd    | nd   | nd    | nd   | 0,95  | 0,15 | 0,15    | 3,48 | 1,22  | 1,60 | 1,60  | 1,60 | ***  |                    |
| $\alpha$ -cadinol           | 1,09                 | b   | 0,90  | b   | 3,22  | a    | nd    | nd   | 2,86  | a    | 0,91  | b    | nd      | nd   | 1,19  | b    | 0,46  | c    | 11,2 | <0,001**           |
| Trans-cadina-1(6),4-dieno   | 0,59                 | c   | 1,24  | b   | 3,25  | a    | nd    | nd   | 3,32  | a    | 1,03  | b    | 0,39    | c    | 1,05  | b    | 0,36  | c    | 11,8 | <0,001**           |
| $\alpha$ -cadineno          | 1,80                 | a   | 0,11  | b   | nd    | nd   | 0,53  | b    | 0,12  | b    | 0,80  | b    | 0,29    | b    | 2,65  | a    | 0,98  | b    | 31,8 | <0,001**           |
| $\gamma$ -cadineno          | 1,04                 | a   | 0,97  | a   | 1,27  | a    | 0,98  | a    | 0,84  | a    | 0,82  | a    | 0,63    | a    | 0,69  | a    | 0,52  | a    | 24,7 | 0,11 <sup>NS</sup> |
| 2-tridecanona               | 0,89                 | b   | 0,94  | b   | 1,26  | a    | 0,66  | c    | 1,20  | a    | 0,68  | c    | 0,59    | c    | 0,80  | b    | 0,69  | c    | 12,1 | <0,001**           |
| Linalol                     | 0,79                 | b   | 0,88  | b   | 0,22  | c    | 0,58  | b    | 0,62  | b    | 1,20  | a    | 0,65    | b    | 1,34  | a    | 0,75  | b    | 16,2 | <0,001**           |
| $\delta$ -cadineno          | 0,92                 | b   | 0,65  | b   | 0,58  | b    | 1,46  | a    | 0,65  | b    | 0,49  | b    | 0,65    | b    | 0,64  | b    | 0,51  | b    | 20,7 | <0,001**           |
| $\alpha$ -trans-bergamoteno | 1,02                 | a   | 0,28  | b   | 0,86  | a    | 0,37  | b    | 0,31  | b    | 1,32  | a    | 0,24    | b    | nd    | nd   | 0,86  | a    | 48,5 | 0,012*             |
| $\beta$ -pineno             | 0,49                 | b   | 0,59  | b   | 0,22  | c    | 0,99  | a    | 0,22  | c    | 0,87  | a    | 1,02    | a    | 0,81  | a    | 0,62  | b    | 19,9 | <0,001**           |
| 2-undecanone                | 0,38                 | d   | 0,69  | b   | 0,26  | e    | nd    | nd   | 0,42  | d    | 0,72  | b    | 0,30    | e    | 0,84  | a    | 0,53  | c    | 7,1  | <0,001**           |
| Óxido de cariofileno        | 0,76                 | nd  | 0,14  | nd  | nd    | 0,40 | nd    | nd   | nd    | nd   | nd    | 0,71 | 0,71    | nd   | nd    | 0,50 | 0,50  | 0,50 | ***  |                    |
| 9-epi-(E)-cariofileno       | nd                   | nd  | 0,21  | nd  | 0,71  | nd   | nd    | 0,80 | 0,80  | 0,14 | 0,14  | nd   | nd      | nd   | nd    | 0,46 | 0,46  | 0,46 | ***  |                    |
| Álcool de cariofilenila     | 0,46                 | b   | 0,21  | b   | 0,43  | b    | 0,38  | b    | 0,31  | b    | 1,08  | a    | 0,31    | b    | nd    | nd   | 0,45  | 0,45 | 23,6 | <0,001**           |
| $\beta$ -felandreno         | 0,38                 | b   | 0,49  | b   | 0,14  | c    | 0,66  | a    | 0,31  | b    | 0,41  | b    | 0,74    | a    | 0,45  | b    | 0,44  | b    | 8,1  | <0,001**           |
| $\alpha$ -amorfeno          | nd                   | nd  | 0,12  | nd  | nd    | nd   | nd    | nd   | nd    | nd   | nd    | 0,55 | 0,55    | nd   | nd    | 0,33 | 0,33  | 0,33 | ***  |                    |
| Decanoato de metila         | 0,32                 | c   | nd    | nd  | 0,13  | c    | 0,73  | a    | nd    | nd   | 0,47  | b    | 0,26    | c    | 0,22  | c    | 0,33  | c    | 10,5 | <0,001**           |
| Heptenoato de metil         | nd                   | nd  | 0,35  | b   | nd    | nd   | 0,39  | b    | 0,19  | c    | 0,54  | a    | 0,23    | c    | 0,34  | b    | 0,20  | c    | 9,0  | <0,001**           |

| Composto (%)           | Genótipos (continuação) |      |       |     |       |     |       |      |       |      |       | M    | CV %  | P Valor |       |      |       |       |                    |
|------------------------|-------------------------|------|-------|-----|-------|-----|-------|------|-------|------|-------|------|-------|---------|-------|------|-------|-------|--------------------|
|                        | COL                     | CAA  | PR1   | PR2 | CHI   | IS1 | CAS   | SAV  | CRI   |      |       |      |       |         |       |      |       |       |                    |
| (Z, 6 E)-farnesol      | 0,51                    | a    | 0,13  | c   | 0,21  | c   | nd    | 0,29 | b     | nd   | 0,14  | c    | 0,28  | b       | 0,19  | c    | 0,25  | 13,8  | <0,001**           |
| N-nonanal              | 0,28                    | a    | 0,33  | a   | 0,34  | a   | 0,18  | b    | 0,29  | a    | 0,28  | a    | 0,14  | b       | 0,15  | b    | 0,24  | 18,4  | <0,001**           |
| 2-decanone             | nd                      | nd   | nd    | nd  | nd    | nd  | 0,20  | 0,18 | nd    | 0,20 | nd    | nd   | 0,26  | 0,16    | 0,20  | 0,20 | 0,20  | ***   | ***                |
| (6Z)-pentadecen-2-ona  | nd                      | 0,22 | 0,14  | nd  | nd    | nd  | 0,20  | nd   | nd    | nd   | nd    | nd   | 0,25  | 0,14    | 0,19  | 0,19 | 0,19  | ***   | ***                |
| Epi- $\alpha$ -cadinol | 0,19                    | nd   | nd    | nd  | nd    | nd  | nd    | nd   | nd    | nd   | nd    | nd   | nd    | nd      | 0,19  | 0,19 | 0,19  | ***   | ***                |
| (E)-nerolidol          | nd                      | 0,12 | nd    | nd  | nd    | nd  | 0,16  | nd   | nd    | 0,16 | 0,15  | 0,21 | 0,16  | 0,16    | 0,16  | 0,16 | 0,16  | ***   | ***                |
| $\beta$ -copaeno       | 0,19                    | a    | 0,12  | a   | 0,12  | a   | 0,21  | a    | 0,12  | a    | 0,12  | a    | 0,13  | a       | nd    | 0,14 | 0,14  | 62,3  | 0,81 <sup>NS</sup> |
| 2-dodecanona           | nd                      | nd   | nd    | nd  | nd    | nd  | nd    | nd   | nd    | nd   | nd    | nd   | 0,13  | nd      | 0,13  | nd   | 0,13  | ***   | ***                |
| Monoterpenos           | 37,92                   | c    | 48,79 | b   | 15,65 | e   | 65,14 | a    | 29,97 | d    | 50,59 | b    | 66,63 | a       | 64,86 | a    | 48,22 | 7,0   | <0,001**           |
| Sesquiterpenos         | 46,83                   | c    | 36,25 | d   | 73,76 | a   | 20,67 | e    | 59,64 | b    | 34,51 | d    | 19,90 | e       | 17,64 | e    | 38,27 | 8,3   | <0,001**           |
| Álcool Sesquiterpeno   | 3,01                    | b    | 1,50  | d   | 3,86  | a   | 0,78  | e    | 3,46  | a    | 2,14  | c    | 1,31  | d       | 1,68  | d    | 2,06  | 15,5  | <0,001**           |
| Cetonas                | 1,27                    | c    | 1,84  | b   | 1,66  | b   | 0,67  | d    | 1,80  | b    | 1,81  | b    | 0,89  | c       | 2,28  | a    | 1,52  | 8,51  | <0,001**           |
| Álcool monoterpeno     | 0,79                    | b    | 0,88  | b   | 0,22  | c   | 0,58  | b    | 0,62  | b    | 1,20  | a    | 0,65  | b       | 1,34  | a    | 0,78  | 16,2  | <0,001**           |
| Ésteres                | 0,32                    | d    | 0,35  | d   | 0,13  | e   | 1,12  | a    | 0,19  | e    | 1,01  | b    | 0,50  | c       | 0,57  | c    | 0,51  | 6,82  | <0,001**           |
| Aldeídos               | 0,28                    | a    | 0,33  | a   | 0,34  | a   | 0,18  | b    | 0,29  | a    | 0,28  | a    | 0,18  | b       | 0,14  | b    | 0,24  | 18,4  | <0,001**           |
| Total                  | 90,42                   |      | 89,98 |     | 95,62 |     | 89,12 |      | 95,95 |      | 91,54 |      | 90,09 |         | 88,51 |      | 93,21 | 91,60 |                    |
| Rendimento óleo        | 0,12                    | b    | 0,18  | b   | 0,08  | b   | 0,32  | a    | 0,12  | b    | 0,22  | b    | 0,32  | a       | 0,54  | a    | 0,52  | 42,9  | 0,016              |

FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: nd: não detectado; \* Diferença significativa  $p \leq 0,05$ ; \*\* Diferença altamente significativa  $p \leq 0,01$ ; NS - Diferença não significativa  $p \leq 0,05$ ; \*\*\* sem quantidade de dados suficientes para análise de variância.

Considerando ácidos alfa e beta e seus componentes principais, bem como o xanthohumol, na primeira safra (TABELA 13) o genótipo PR2 apresentou os maiores valores. Ainda nessa safra, os genótipos RS, CHI e PR2 obtiveram os maiores teores de adhumulona + humulona, ácidos alfa totais e xanthohumol.

RS também teve o mesmo desempenho de PR2 considerando a soma de xanthohumol e isoxanthohumol. Quanto à relação alfa:beta ácidos e o teor de isoxanthohumol, não foram observadas diferenças entre os genótipos testados.

TABELA 13 – TEORES DE ÁCIDOS E POLIFENÓIS DE 5 GENÓTIPOS DE LÚPULO CULTIVADOS EM GUARAPUAVA-PR NA SAFRA 2020/2021. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NA LINHA, NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE SCOTT-KNOTT ( $P \leq 0,05$ ).

| COMPOSTO<br>mg g <sup>-1</sup> | GENÓTIPOS |        |         |        |        | M | CV<br>% | p-valor |                     |
|--------------------------------|-----------|--------|---------|--------|--------|---|---------|---------|---------------------|
|                                | CAA       | PR1    | PR2     | RS     | CHI    |   |         |         |                     |
| Cohumulona                     | 0,43      | b 0,36 | b 0,82  | a 0,64 | a 0,46 | b | 0,54    | 20,0    | 0,012*              |
| Adhumulona + humulona          | 1,84      | b 1,31 | b 4,26  | a 3,82 | a 3,26 | a | 2,90    | 22,9    | 0,004**             |
| Ácidos Alfa                    | 2,27      | b 1,68 | b 5,08  | a 4,46 | a 3,72 | a | 3,44    | 22,1    | 0,005**             |
| Colupulona                     | 1,13      | c 1,05 | c 3,58  | a 2,46 | b 1,40 | c | 1,92    | 25,0    | 0,002**             |
| Adlupulona + lupulona          | 0,93      | b 0,66 | b 2,80  | a 1,54 | b 1,14 | b | 1,41    | 34,5    | 0,011*              |
| Ácidos Beta                    | 2,06      | b 1,71 | b 6,37  | a 4,00 | b 2,54 | b | 3,34    | 28,8    | 0,005**             |
| Ácidos Totais                  | 4,34      | b 3,39 | b 11,45 | a 8,46 | a 6,26 | b | 6,78    | 24,9    | 0,005**             |
| $\alpha/\beta$                 | 1,22      | a 1,01 | a 0,80  | a 1,11 | a 1,49 | a | 1,13    | 15,9    | 0,05 <sup>ns</sup>  |
| Xanthohumol                    | 0,61      | b 0,63 | b 1,00  | a 1,07 | a 0,65 | b | 0,79    | 9,70    | <0,001**            |
| Isoxanthohumol                 | 0,07      | a 0,08 | a 0,08  | a 0,08 | a 0,08 | a | 0,08    | 16,8    | 0,870 <sup>ns</sup> |
| Iso + Xanthohumol              | 0,68      | b 0,71 | b 1,08  | a 1,15 | a 0,73 | b | 0,87    | 8,8     | <0,001**            |

FONTE: O autor (2022).

Na segunda safra do experimento (TABELA 14), observou-se uma produção bem mais elevada de ácidos amargos, em comparação com a primeira (5,28:1).

Quanto aos polifenóis iso e xanthohumol, os teores também foram mais elevados na segunda safra (2,12:1). Na segunda safra, a produção de alfa ácidos foi superior a produção de beta ácidos, em uma relação média de 1,14:1, proporção muito semelhante a primeira safra, que ficou em 1,13:1 a favor dos alfas ácidos.

Na safra 2, foram observadas diferenças entre os genótipos, em relação a todas as variáveis avaliadas. Dentre os genótipos testados, SAV apresentou os maiores teores de ad + humulona, ad + lupulona, ácidos beta, ácidos totais, isoxanthohumol, xanthohumol e a soma de iso + xanthohumol.

CAS foi superior aos demais para cohumulona, colupulona, ácidos beta, ácidos totais e isoxanthohumol. CAA destacou-se nos teores de ad + humulona, ácidos alfa, ácidos totais e relação  $\alpha/\beta$ . CRI sobressaiu-se nos teores de ad +

humulona, xanthohumol e a soma de iso + xanthohumol. RS ficou na primeira posição para ad + lupulona e ácidos beta. CHI sobressaiu-se apenas para ácidos beta e IS1 para xanthohumol.

A produção de ácidos ( $\alpha+\beta$ ) ficou abaixo da faixa de 10 a 25% (BIENDL et al., 2014). Os maiores teores de ácidos totais ficaram na faixa de 5%, na safra 2, para os genótipos mais produtivos em ácidos (CAA, CAS e SAV).

A biossíntese de ácidos é dependente dos aminoácidos leucina, isoleucina e valina, logo depende da via do fosfoenolpiruvato. E a síntese da deoxihumulona, precursora dos ácidos, é dependente do complexo DMAPP / IPP, cuja síntese é derivada das vias do metileritrol fosfato e do ácido mevalônico (HONG et al., 2021).

O cultivo de genótipos em condições climáticas adversas às regiões que foram adaptadas, pode ter dificultado o processo de síntese dependente de diversas vias metabólicas. Seja por condições de temperatura média diferentes e por um regime bem diferenciado de fotoperíodo, com número inferior de horas-luz. Vale destacar também que são plantas de primeira e segunda safra de cultivo, período em que a planta tem menor potencial de produção de metabólitos secundários.

A chalcona xanthohumol foi identificada nos diferentes genótipos em teores médios de 0,08% na primeira safra do experimento e 0,18% na segunda, com destaque a produção de 0,27 e 28% para os genótipos SAV e CRI na segunda safra.

Estes teores estão dentro da faixa de valores encontrados nas áreas produtivas de lúpulo: 0,1-1,0% (BOCQUET et al., 2018a), porém mais próximos dos limites inferiores e abaixo da média esperada: 0,5% (KEUKELEIRE et al., 2007).

Por outro lado, o isoxanthohumol, isômero do xanthohumol, apresentou na média das duas safras de pesquisa teor de 0,0085%, o qual está de acordo com o indicado na literatura para as áreas produtivas (STEVENS; PAGE, 2004).



Esses dados nos levam a apontar que possivelmente as condições de cultivo do Brasil favorecem o processo de ciclização do xanthohumol em isoxanthohumol. Importante ressaltar que o isoxanthohumol pode ser metabolizado no fígado humano para formar 8-prenilnaringenina, o mais potente fitoestrogênio já isolado (HRNČIČ et al., 2019).

Os genótipos que apresentaram maior produção de prenilnaringeninas foram: CAS para 6-prenilnaringenina, CAA para 8-prenilnaringenina e para a soma dos dois. Porém os teores encontrados foram bem inferiores ao esperado que é de 20  $\mu\text{g g}^{-1}$  (STEVENS; PAGE (2004).

Após a análise de variância, aplicou-se o método estatístico multivariado por Análise de Componentes Principais (PCA) para verificar se havia similaridades ou diferenças entre os genótipos estudados, levando em consideração todas as variáveis ao mesmo tempo.

Essa análise mostrou que na safra 2020/2021 (FIGURA 19), os dois primeiros componentes principais explicaram mais de 99% da variância dos dados (FIGURAS 19A, 19B, 19C E 19D). Os 5 genótipos avaliados, apresentaram características bem distintas entre si, em relação a composição do óleo essencial. Diferenças acentuadas foram observadas principalmente entre PR1, CHI e CAA, situados em posições opostas nos quadrantes e em distâncias relativamente longas entre si. Foi possível observar que quanto maior a síntese de mirceno, menor a síntese de todos os demais compostos.

Quanto às classes de óleos essenciais, percebe-se que CHI está situado a mais esquerda do quadrante esquerdo inferior, em função de seus baixos teores de monoterpenos e CAA está situado na posição oposta no quadrante inferior dado aos seus baixos teores de sesquiterpenos.

Na safra 2021/2022 FIGURA 20, os dois primeiros componentes explicaram para os compostos do óleo essencial de lúpulo, 94,46% (FIGURAS 20A e 20B) e para as classes de compostos 99,93% (FIGURAS 20C e 20E) da variância dos dados.

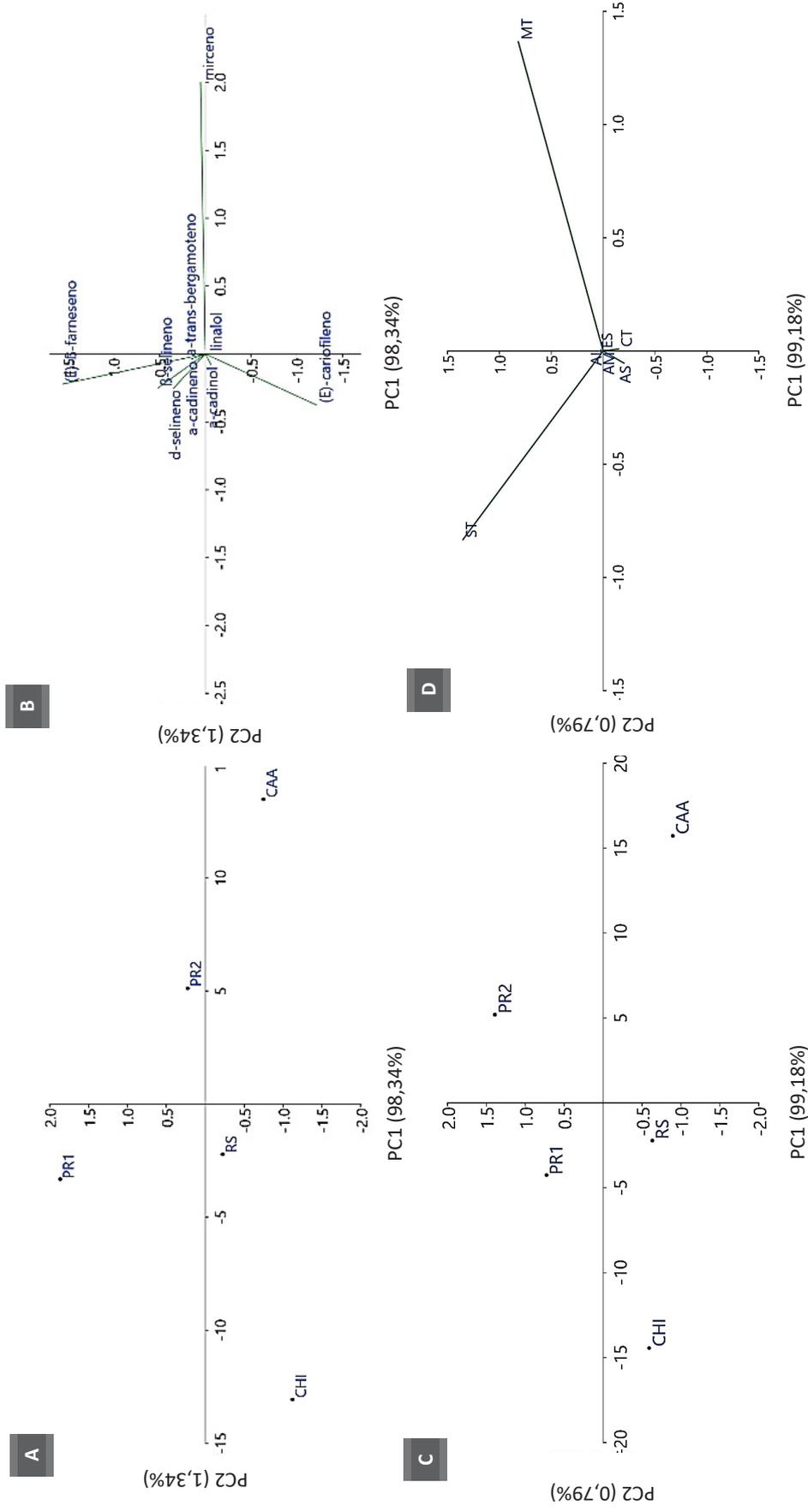
A análise PCA destaca, em relação ao perfil do óleo essencial de lúpulo de 9 genótipos, semelhanças entre CAS, PR2 e SAV. IS1 e CAA formam outro grupo semelhante. Ao passo que CHI, PR1, COL e CRI, diferenciam-se entre si e em relação aos demais. Quanto às classes de compostos, ainda nessa safra, podem-se formar os seguintes agrupamentos: CAS e PR2; IS1 e CAA.

Os demais genótipos são bem distintos entre si e em relação aos demais. Destaca-se que quanto maior a síntese de monoterpenos, menores os teores de aldeídos, cetonas e álcoois sesquiterpenos.

Em relação aos polifenóis na safra 2020/2021 (FIGURA 21A e 21B), CAA e PR1 mostraram semelhanças, face ao baixo conteúdo de  $\alpha$ -ácidos, ao passo que os demais genótipos não têm semelhanças entre si e em relação a CAA e PR1. O genótipo RS se destaca em relação aos  $\alpha$ -ácidos e PR2 para  $\beta$ -ácidos.

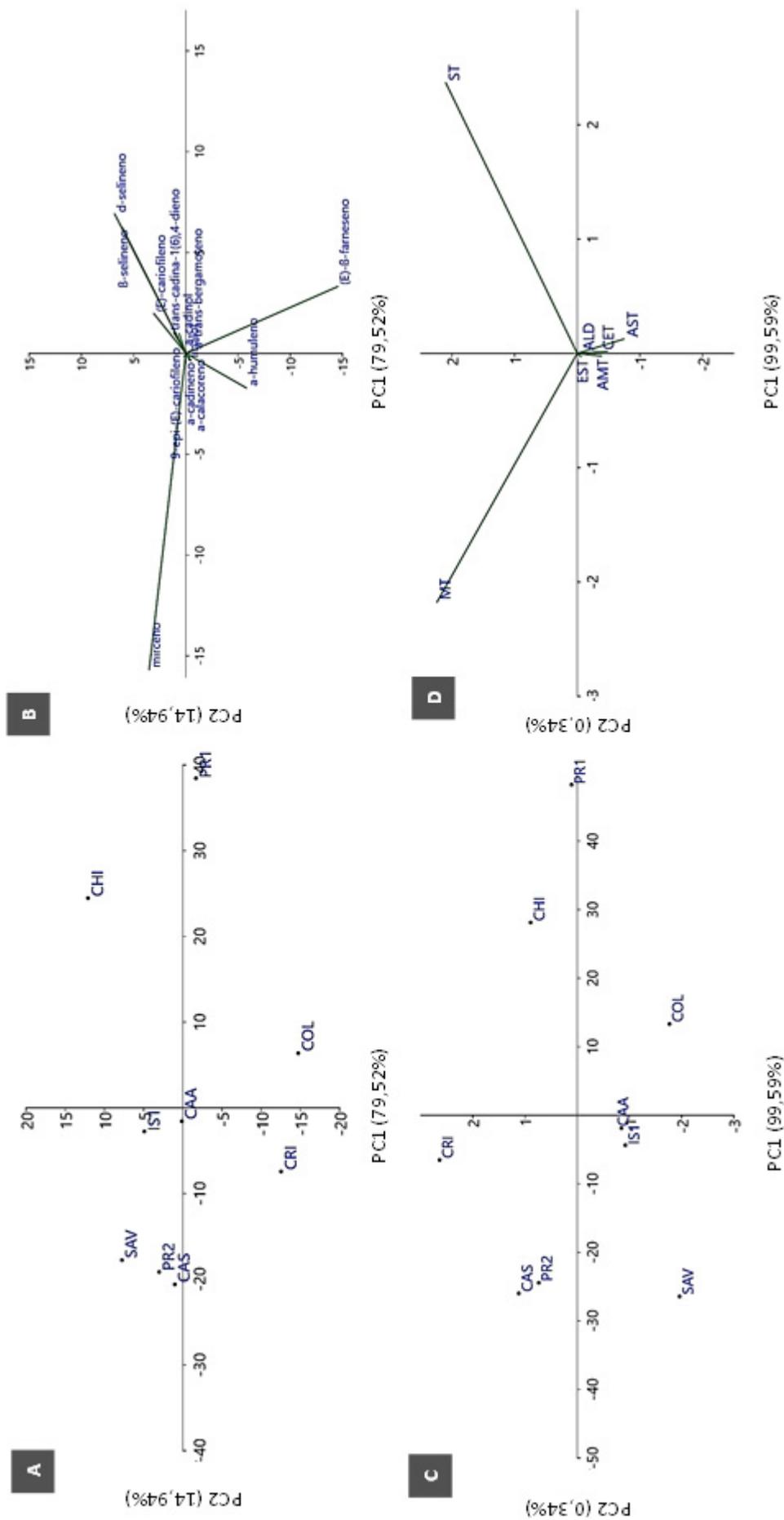
Para 2021/2022 (FIGURA 21C e 21D), CAS e SAV, formam um par, com elevados teores de xanthohumol,  $\alpha$ -ácidos e  $\beta$ -ácidos. CAA se destaca em relação aos teores de  $\alpha$ -ácidos e 6-prenilnaringenina. Enquanto COL, PR1 e PR2, estão posicionados em um quadrante que indica genótipos pobres nos polifenóis estudados.

FIGURA 19 – ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA), DE COMPOSTOS (A-B) E CLASSES DE COMPOSTOS DE ÓLEO ESSENCIAL (C-D) DE GENÓTIPOS DE LÚPULO, SAFRA 2020/2021.



FONTE: O Autor (2023).  
 LEGENDA: MT: monoterpene; ST: sesquiterpene; EST: éster; CET: cetona; AMT: álcool sesquiterpene; AM: álcool monoterpene; ALD: aldeído.

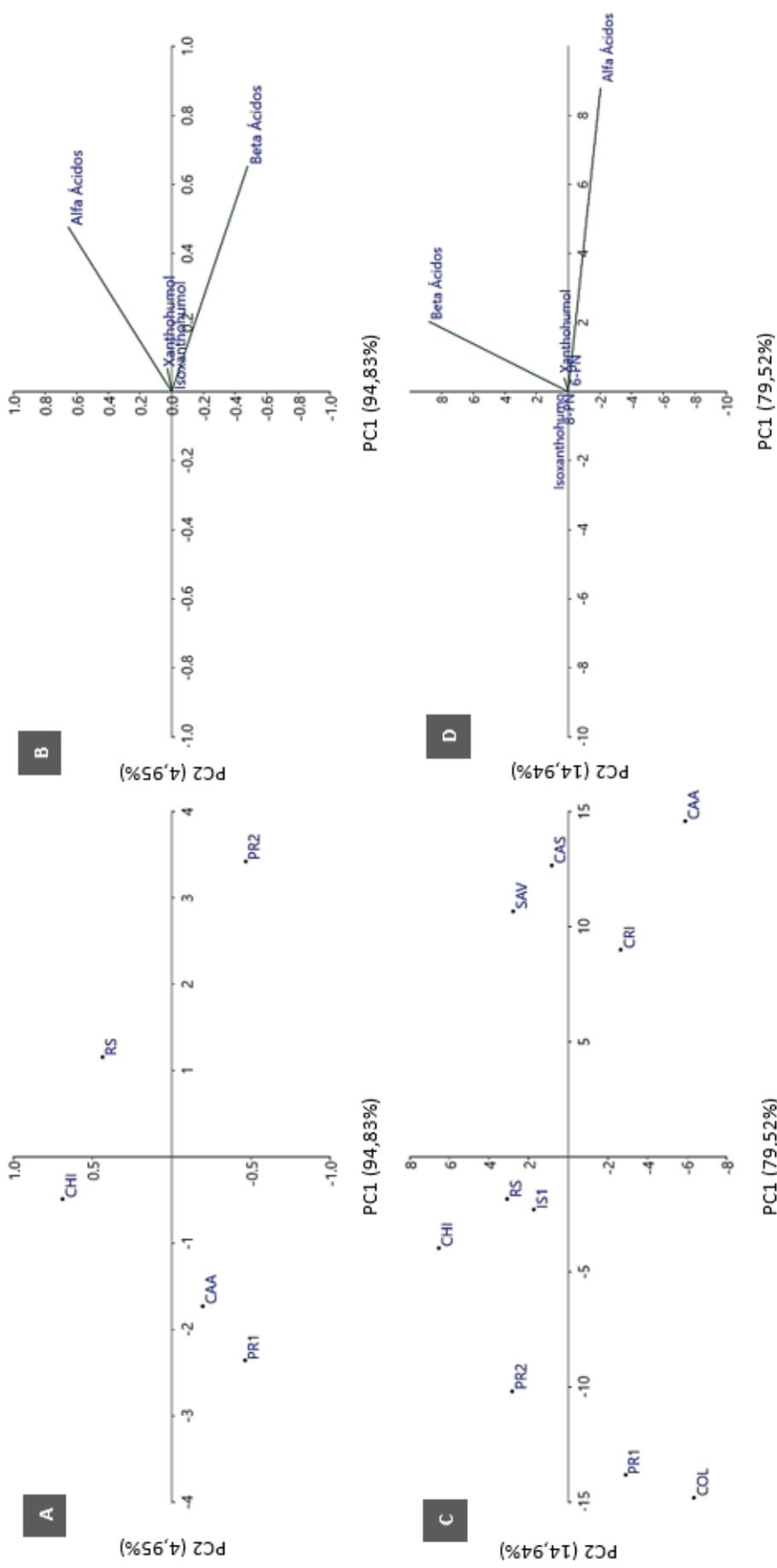
FIGURA 20 - ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA), DE COMPOSTOS (A-B) E CLASSES DE COMPOSTOS DE ÓLEO ESSENCIAL (C-D) DE GENÓTIPOS DE LÚPULO, SAFRA 2021/2022.



FONTE: O Autor (2023).

LEGENDA: MT: monoterpeno; ST: sesquiterpeno; EST: éster; CET: cetona; AST: álcool sesquiterpeno; AMT: álcool monoterpeno; ALD: aldeído

FIGURA 21 – ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA), DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE GENÓTIPOS DE LÚPULO CULTIVADOS EM DUAS SAFRAS: 2020/2021 (A-B) E 2021/2022 (C-D).



FONTE: O Autor (2023).

As diferenças observadas nesse trabalho entre a composição dos cones, seja do perfil dos óleos ou dos compostos fenólicos avaliados, dentro do mesmo genótipo de uma safra para outra, e mesmo as diferenças entre a composição de compostos secundários dos genótipos cultivados no Brasil em relação aos cultivados em outras regiões do mundo, também podem ser explicadas pelo fato das espécies vegetais possuírem DNA metilado, o que leva alguns genes a serem ligados mais facilmente que outros.

Estresses bióticos e abióticos, diferenças de solo, horas luz e disponibilidade de água, dentre outras variações ambientais, podem influenciar esse processo de metilação (ZHANG; LANG; ZHU, 2018).

Assim, embora o DNA não tenha a sequência original da molécula alterada, o padrão de metilação pode ser diferente (HIERONYMUS, 2012), repercutindo em diferente síntese de metabólitos secundários.

#### 5.4 CONCLUSÕES

Os genótipos de lúpulo cultivados em região subtropical brasileira apresentam perfil distinto de óleos essenciais, ácidos alfa e beta, xanthohumol, isoxanthohumol e 6-,8-prenilnaringenina.

Pensando no mercado cervejeiro, os teores de óleos essenciais e de  $\alpha$ -ácidos estão abaixo do desejado, lembrando que são plantas de primeira e segunda safra, com potencial de melhoria nesses índices nas próximas safras. Dentro deste contexto, os genótipos com maior potencial para a indústria cervejeira no critério aroma, são CAA, CAS e SAV, em função dos teores de linalol encontrados no perfil do óleo essencial. Quanto ao amargor, outra exigência da indústria cervejeira, face os teores de  $\alpha$ -ácidos o genótipo mais recomendado é o CAA.

Por outro lado, verifica-se um bom potencial para uso medicinal, especialmente em relação às chalconas xanthohumol e isoxanthohumol, cujos teores encontrados nesse trabalho assemelham-se aos das regiões tradicionais produtoras de lúpulo. Para estes compostos o genótipo de maior destaque foi o SAV. Quanto às prenilnaringeninas, outra chalcona de interesse medicinal, o genótipo com maior destaque é o CAA.

## 5.5 REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. 4. ed. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation, 2017. V. 24.
- ALMAGUER, C. et al. Humulus lupulus – a story that begs to be told . A review. **Institute of Brewing & Distilling Published**, 2014. n. June, p. 1–26.
- ALMEIDA, A. R. et al. Brazilian Grown Cascade Hop (Humulus lupulus L.): LC-ESI-MS-MS and GC-MS Analysis of Chemical Composition and Antioxidant Activity of Extracts and Essential Oils. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 2021. v. 79, n. 2, p. 156–166. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1795586>>.
- ALMEIDA, J. M.; SILVA, J. C. R. L.; MARQUES, M. O. M. Perfil químico de óleos essenciais de lúpulo variedade Saaz. Botucatu, SP, Brasil: UNESP - Botucatu, 2019. p. 22–23.
- ALVARES, C. A. et al. Köppen’s climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, 2013. v. 22, n. 6, p. 711–728.
- ASTRAY, G. et al. Humulus lupulus L. as a natural source of functional biomolecules. **Applied Sciences (Switzerland)**, 2020. v. 10, n. 15.
- BIENDL, M. et al. **Hops: Their Cultivation, Composition and Usage**. 1. ed. Nuremberg, Germany: [s.n.], 2014.
- BOCQUET, L. et al. Humulus lupulus L., a very popular beer ingredient and medicinal plant: overview of its phytochemistry, its bioactivity, and its biotechnology. **Phytochemistry Reviews**, 2018. v. 17, n. 5, p. 1047–1090.
- CARVALHO, A. M. X. et al. SPEED stat: A free, intuitive, and minimalist spreadsheet program for statistical analyses of experiments. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 2020. v. 20, n. 3, p. 1–6.
- DARBY, H. et al. **Organic Hop Variety Trial Final Report**. Burlington, Vermont, USA: [s.n.], 2017. Disponível em: <[https://www.uvm.edu/sites/default/files/Northwest-Crops-and-Soils-Program/2016-ResearchReports/2016\\_Hop\\_Variety\\_Trial\\_April2017.pdf](https://www.uvm.edu/sites/default/files/Northwest-Crops-and-Soils-Program/2016-ResearchReports/2016_Hop_Variety_Trial_April2017.pdf)>.
- DIETZ, C. et al. The multisensory perception of hop essential oil: a review. **Journal of the Institute of Brewing**, 2020. v. 126, n. 4, p. 320–342.
- FORTESCHI, M. et al. Quality assessment of Cascade Hop (Humulus lupulus L.) grown in Sardinia. **European Food Research and Technology**, 2019. v. 245, n. 4, p. 863–871. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-018-3215-0>>.
- GRESTA, F. et al. Agronomic traits and essential oil profiles of Humulus lupulus L. cultivated in southern Italy. **Journal of Essential Oil Research**, 2022. v. 35, n. 01, p. 60–70. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10412905.2022.2103190>>.
- HIERONYMUS, S. **For the love of hops - The Practical Guide to Aroma, Bitterness and the Culture of Hops**. 1. ed. Boulder, Colorado, USA: Brewers Publications, 2012.
- HONG, K. et al. Key Enzymes Involved in the Synthesis of Hops Phytochemical

Compounds: From Structure, Functions to Applications. **International Journal of Food Science and Technology**, 2021. v. 22, n. 17, p. 9373–9393.

HONG, K. et al. Varietal differences in the phytochemical components' accumulation and aroma profile of three *Humulus lupulus* cultivars. **Food Control**, 2022. v. 132, n. August 2021, p. 108499. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108499>>.

HRNČIČ, M. K. et al. Hop compounds: Extraction techniques, chemical analyses, antioxidative, antimicrobial, and anticarcinogenic effects. **Nutrients**, 2019. v. 11, n. 2, p. 1–37.

JELIAZKOVA, E. et al. Sequential elution of essential oil constituents during steam distillation of hops (*Humulus lupulus* L.) and influence on oil yield and antimicrobial activity. **Journal of Oleo Science**, 2018. v. 67, n. 7, p. 871–883.

KEUKELEIRE, J. et al. Relevance of organic farming and effect of climatological conditions on the formation of  $\alpha$ -acids,  $\beta$ -acids, desmethylxanthohumol, and xanthohumol in hop (*Humulus lupulus* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2007. v. 55, n. 1, p. 61–66.

KHAMMAR, A. A. et al. Nutritive Composition, Growth, Biochemical Traits, Essential Oil Content and Compositions of *Salvia officinalis* L. Grown in Different Nitrogen Levels in Soilless Culture. **Journal of Science and Plant Nutrition**, 2021. v. 21, p. 3320–3332.

KORPELAINEN, H.; PIETILÄINEN, M. Hop (*Humulus lupulus* L.): Traditional and Present Use, and Future Potential. **Economic Botany**, 2021. v. 75, p. 302–322.

LEONARDI, M. et al. Characterisation of four popular Polish hop cultivars. **International Journal of Food Science and Technology**, 2013. v. 48, p. 1770–1774.

LOUREIRO, P. V. et al. Determination of Xanthohumol in Hops, Food Supplements and Beers by HPLC. **Foods**, 2019. v. 8, n. 435, p. 1–16.

MONGELLI, A. et al. Are *Humulus lupulus* L. ecotypes and cultivars suitable for the cultivation of aromatic hop in Italy? A phytochemical approach. **Industrial Crops & Products**, 2016. v. 83, p. 693–700. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.046>>.

MOZZON, M.; FOLIGNI, R.; MANNOZZI, C. Brewing Quality of Hop Varieties Cultivated in Central Italy Based on Multivolatile Fingerprinting and Bitter Acid Content. **Foods**, 2020. v. 9, n. 5, p. 541–555.

NAGYBÁKAY, N. E. et al. Optimized Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction Enhances the Recovery of Valuable Lipophilic Antioxidants and Other Constituents from Dual-Purpose Hop (*Humulus lupulus* L.) Variety Ella. **Antioxidants**, 2021. v. 10, n. 918, p. 1–21.

NESVADBA, V. et al. Evaluation of Czech hop cultivars since 2010 till 2019. **Plant, Soil and Environment**, 2020. v. 66, n. 12, p. 658–663.

PATZAK, J. et al. Number and size of lupulin glands, glandular trichomes of hop (*Humulus lupulus* L.), play a key role in contents of bitter acids and polyphenols in hop cone. **International Journal of Food Science and Technology**, 2015. v. 50, n. 8, p. 1864–1872.

PEACOCK, V. E.; DEINZER, M. L. Chemistry of Hop Aroma in Beer. **Journal of American Society of Brewing Chemists**, 1979. v. 39, n. 4, p. 136–141.

PISTELLI, L. et al. Aroma profile and bitter acid characterization of hop cones (*Humulus lupulus* L.) of five healthy and infected Polish cultivars. **Industrial Crops and Products**, 2018. v. 124, n. August, p. 653–662. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.009>>.

RETTBERG, N.; BIENDL, M.; GARBE, L. A. Hop aroma and hoppy beer flavor: Chemical backgrounds and analytical tools—A review. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 2018. v. 76, n. 1, p. 1–20. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/03610470.2017.1402574>>.

ROSSINI, F. et al. Agronomic performance and beer quality assessment of twenty hop cultivars grown in Central Italy. **Italian Journal of Agronomy**, 2016. v. 11, n. 746, p. 180–187.

ROSSINI, F. et al. Hops (*Humulus lupulus* L.) as a novel multipurpose crop for the mediterranean region of Europe: Challenges and opportunities of their cultivation. **Agriculture (Switzerland)**, 2021. v. 11, n. 6.

RUTNIK, K.; HRNČIČ, M. K.; KOŠIR, I. J. Hop Essential Oil: Chemical Composition, Extraction, Analysis, and Applications. **Food Reviews International**, 2021. v. 00, n. 00, p. 1–23. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1874413>>.

SANTAGOSTINI, L. et al. *Humulus lupulus* L. cv. Cascade grown in Northern Italy: morphological and phytochemical characterization. **Plant Biosystems**, 2020. v. 154, n. 3, p. 316–325. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/11263504.2019.1610111>>.

SAWICKA, B. et al. Assessment of the suitability of aromatic and high-bitter hop varieties (*Humulus lupulus* L.) for beer production in the conditions of the małopolska vistula gorge region. **Fermentation**, 2021. v. 7, n. 3.

STEVENS, J. F.; PAGE, J. E. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: To your good health! **Phytochemistry**, 2004. v. 65, n. 10, p. 1317–1330.

SU, X. et al. Performance of alternative drying techniques on hop (*Humulus lupulus* L.) aroma quality: An HS-SPME-GC-MS-O and chemometrics combined approach. **Food Chemistry**, 2022. v. 381, n. January, p. 132289. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132289>>.

SU, X.; YIN, Y. Aroma characterization of regional Cascade and Chinook hops (*Humulus lupulus* L.). **Food Chemistry**, 2021. v. 364, n. March, p. 130410. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130410>>.

VAN DEN DOOL, H.; DE KRATZ, P. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas–liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, 1963. v. 11, p. 463–471. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002196730180947X>>.

VAN OPSTAELE, F. et al. Characterization of Novel Varietal Floral Hop Aromas by Headspace Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography – Mass Spectrometry/Olfactometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2012. v. 60, p. 12270–12281.

ZHANG, H.; LANG, Z.; ZHU, J. K. Dynamics and function of DNA methylation in plants.

**Nature Reviews Molecular Cell Biology**, 2018. v. 19, n. 8, p. 489–506. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41580-018-0016-z>>.

ZHOU, K.; YANG, S.; LI, S. M. Naturally occurring prenylated chalcones from plants: Structural diversity, distribution, activities and biosynthesis. **Natural Product Reports**, 2021. v. 38, n. 12, p. 2236–2260.

## 6 CONCLUSÕES GERAIS

A cultura do lúpulo apresenta resposta positiva à aplicação de diferentes dosagens de N, em especial em relação ao número de cones por plantas, produção de massa seca da parte aérea (folhas, ramos e cones) e produção de óleo essencial por planta.

A cultura mostrou-se sensível às alterações ambientais de cada safra, considerando os componentes de rendimento massa seca da parte aérea, produção de cones e óleo essencial.

Aplicações crescentes de N, proporcionam acúmulo deste nutriente nas folhas, situação que não ocorre no restante da parte aérea (cones e ramos).

Os compostos majoritários no perfil do óleo essencial do lúpulo Chinook foram mirceno, (E)- $\beta$ -farneseno,  $\delta$ -selineno,  $\beta$ -selineno e (E)-cariofileno e as condições ambientais de cada safra alteram a composição do óleo essencial.

Dentre os 16 compostos identificados no óleo essencial de lúpulo, aplicações de N promoveram alteração somente nos teores das cetonas, 2-decanone e 2-undecanone.

As doses crescentes de N diminuem a síntese de  $\alpha$  e  $\beta$ -ácidos, além das chalconas xanthohumol, isoxanthohumol. Por outro lado, contribuem para o aumento da síntese de 6-prenilnaringenina.

Foram observadas diferenças entre os genótipos em relação ao perfil dos óleos essenciais, bem como na produção de ácidos alfa e beta, xanthohumol, iso xanthohumol e 6-prenilnaringenina.

O genótipo com maior potencial para a indústria cervejeira, é o CAA em função dos teores de linalol encontrados no perfil do óleo essencial e dos teores de  $\alpha$ -ácidos.

Por outro lado, verifica-se um bom potencial para uso medicinal, especialmente em relação às chalconas xanthohumol e isoxanthohumol, cujos teores encontrados nesse trabalho assemelham-se aos das regiões tradicionais produtoras de lúpulo. Para estes compostos o genótipo de maior destaque foi o SAV. Quanto às prenilnaringeninas, outra chalcona de interesse medicinal, o genótipo com maior destaque é o CAA.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As informações disponibilizadas pelo conjunto de pesquisas que compuseram este documento, trazem uma importante contribuição para o processo de desenvolvimento da cultura do lúpulo no Brasil, visto que todos os experimentos foram conduzidos em condições de campo ao longo de três safras.

Embora em linhas gerais, os índices produtivos da cultura estiveram abaixo dos valores encontrados em outros trabalhos realizados em zonas tradicionais de cultivo do lúpulo, os dados obtidos fornecem importantes elementos para a realização de novas pesquisas e subsídios aos produtores.

Verificou-se a necessidade de se pesquisar o comportamento do N na cultura em dosagens acima de 250 kg N ha<sup>-1</sup>, visto que o efeito das doses nos componentes produtivos foi linear.

O experimento realizou-se em área de campo sem irrigação. Em área irrigada o comportamento das doses de N, poderá ser diferente do que foi encontrado nesse ensaio.

Quanto à produção de ácidos, observou-se uma tendência crescente em seu teor a partir de 140 até 250 kg N ha<sup>-1</sup>. Portanto novos testes com dosagens acima de 250, são necessários para encontrar o ponto de equilíbrio entre a máxima produção de cones,  $\alpha$ -ácidos e óleos essenciais. Mesma situação em relação à chalcona de grande interesse medicinal, o xanthohumol.

Dentre os genótipos testados, em relação a produção de metabólitos secundários, aponta-se como promissores os genótipos CAS, SAV e CAA, pela maior produção de óleo essencial e perfil mais rico de mircenol e linalol. CAA e SAV também se destacaram em relação a produção de ácidos e SAV para xanthohumol. CAS também se destacou na produção de 6-prenilnaringenina e CAA para 8-prenilnaringenina.

Assim, indicamos estes 3 genótipos para estudos mais aprofundados, inclusive em relação aos componentes de rendimento relacionados ao metabolismo primário.

## REFERÊNCIAS GERAIS

ABERL, A.; COELHAN, M. Determination of volatile compounds in different hop varieties by headspace-trap gc/ms - in comparison with conventional hop essential oil analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 2785–2792, 2012.

ABRAM, V. et al. A comparison of antioxidant and antimicrobial activity between hop leaves and hop cones. **Industrial Crops and Products**, v. 64, p. 124–134, 2015.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. 4. ed. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation, 2017. v. 24

AGGARWAL, D. et al. Recent patents on therapeutic activities of xanthohumol: A prenylated chalconoid from hops (*Humulus lupulus* L.). **Pharmaceutical Patent Analyst**, v. 10, n. 1, p. 37–49, 2021.

AKDAĞ, A.; ÖZTÜRK, E. Distillation methods of essential oils. **Nisan**, v. 45, n. 1, p. 22–31, 2019.

AL-ALAMI, Z. M.; SHRAIDEH, Z. A.; TAHA, M. O.  $\beta$ -Caryophyllene as putative male contraceptive: Enhances spermatogenesis but not spermiogenesis in albino rats. **Medicinal Chemistry Research**, v. 24, n. 11, p. 3876–3884, 2015.

ALMAGUER, C. et al. *Humulus lupulus* – a story that begs to be told . A review. **Institute of Brewing & Distilling Published**, n. June, p. 1–26, 2014.

ALMEIDA, A. R. et al. Bioactive compounds and antioxidant activities of Brazilian hop (*Humulus lupulus* L.) extracts. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 340–347, 2020.

ALMEIDA, A. R. et al. Brazilian Grown Cascade Hop (*Humulus lupulus* L.): LC-ESI-MS-MS and GC-MS Analysis of Chemical Composition and Antioxidant Activity of Extracts and Essential Oils. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 79, n. 2, p. 156–166, 2021.

ALMEIDA, B. R. et al. Macronutrient omission changes lippia gracilis schauer, a threatened medicinal plant, growth and volatile chemical composition. **HortScience**, v. 53, n. 12, p. 1877–1882, 2018.

ALMEIDA, J. M.; SILVA, J. C. R. L.; MARQUES, M. O. M. **Perfil químico de óleos essenciais de lúpulo variedade Saaz**. I Encontro Brasileiro De Pesquisadores E Produtores De Lúpulo. **Anais...Botucatu**, SP, Brasil: UNESP - Botucatu, 2019.

ALMEIDA, A. Da R. et al. Bioactive compounds and antioxidant activities of Brazilian hop (*Humulus lupulus* L.) extracts. **International Journal of Food Science and Technology**, 2020. v. 55, n. 1, p. 340–347.

ALONSO-ESTEBAN, J. I. et al. Phenolic composition and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of hop (*Humulus lupulus* L.) Seeds. **Industrial Crops and Products**, v. 134, n. February, p. 154–159, 2019.

ALONSO-GATO, M. et al. Essential oils as antimicrobials in crop protection. **Antibiotics**, v. 10, n. 1, p. 1–12, 2021.

ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.

AMINI, M.; KAFI, M.; PARSA, M. Effects of macronutrient supplementation on physiological, qualitative and quantitative traits of *salvia leriifolia* benth. **Pakistan Journal of Botany**, v. 51, n. 6, p. 2053–2058, 2019.

AMORIELLO, T. et al. Evaluation of spent grain biochar impact on hop (*Humulus lupulus* L.) growth by multivariate image analysis. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 10, n. 2, p. 1–11, 2020.

APROLÚPULO. **Levantamento Estatístico Arolúpulo 2021**. Disponível em: <<https://www.aprolupulo.com.br/blog/levantamento-estatistico-aprolupulo-2021>>. Acesso em: 16 dez. 2022.

ARON, P. M.; TING, P. L.; SHELLHAMMER, T. H. HPLC-ESI-MS identification of hop-derived polyphenols that contribute antioxidant capacity and flavor potential to beer. In: QIAN, M. C.; SHELLHAMMER, T. H. (Eds.). **Flavor Chemistry of Wine and Other Alcoholic Beverages**. 1. ed. Oregon, USA: ACS Publications, 2012. v. 1104p. 217–234.

ASTRAY, G. et al. *Humulus lupulus* L. as a natural source of functional biomolecules. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 10, n. 15, 2020.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.

BANDEIRA, P. N.; MENEZES, E. S. A. DE; HÉLCIO, S. Potencial farmacológico de chalconas : uma breve revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 5, p. 1455–1473, 2018.

BARTH, R. **The Chemistry of Beer : The Science in the Suds**. 1. ed. New Jersey, USA: Wiley, 2013.

BAVEC, F.; ČEH BREŽNIK, B.; BREŽNIK, M. Hop yield evaluation depending on experimental plot area under different nitrogen management. **Plant, Soil and Environment**, v. 49, n. 4, p. 163–167, 2003.

BECK, H. E. et al. Present and future köppen-geiger climate classification maps at 1-km resolution. **Scientific Data**, v. 5, p. 1–12, 2018.

BEDINI, S. et al. Not just for beer: evaluation of spent hops (*Humulus lupulus* L.) as a source of eco-friendly repellents for insect pests of stored foods. **Journal of Pest Science**, v. 88, n. 3, p. 583–592, 2015.

BEDINI, S. et al. *Cannabis sativa* and *Humulus lupulus* essential oils as novel control tools against the invasive mosquito *Aedes albopictus* and fresh water snail *Physella acuta*. **Industrial Crops and Products**, v. 85, p. 318–323, 2016.

BIENDL, M. et al. **Hops: Their Cultivation, Composition and Usage**. 1. ed. Nuremberg, Germany: [s.n.].

BIENDL, M.; KOETTER, P. U. Hops (*Humulus lupulus*): A review of its historical and medicinal uses. **HerbalGram**, n. 87, p. 44–57, 2010.

BINDER, S.; KNILL, T.; SCHUSTER, J. Branched-chain amino acid metabolism in higher plants. **Physiologia Plantarum**, v. 129, n. 1, p. 68–78, 2007.

BOCQUET, L. et al. *Humulus lupulus* L., a very popular beer ingredient and medicinal plant: overview of its phytochemistry, its bioactivity, and its biotechnology. **Phytochemistry Reviews**, v. 17, n. 5, p. 1047–1090, 2018a.

BOCQUET, L. et al. Antifungal activity of hop extracts and compounds against the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici*. **Industrial Crops and Products**, v. 122, n. May, p. 290–297, 2018b.

BOCQUET, L.; SAHPAZ, S.; RIVIÈRE, C. An Overview of the antimicrobial properties of hop. In: MÉRILLON, J.-M.; RIVIERE, C. (Eds.). **Natural Antimicrobial Agents. Sustainable Development and Biodiversity**, vol 19. Rajasthan, India: Springer, 2018. p. 31–54.

BODNER, G.; NAKHFOROOSH, A.; KAUL, H. P. Management of crop water under drought: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, n. 2, p. 401–442, 2015.

BOLTON, J. L. et al. The multiple biological targets of hops and bioactive compounds. **Chemical Research in Toxicology**, v. 32, p. 222–233, 2019.

BRANT, V. et al. Distribution of root system of hop plants in hop gardens with regular rows cultivation. **Plant, Soil and Environment**, v. 66, n. 7, p. 317–326, 2020.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, v. 30, n. 2, p. 365–372, 2000.

BRIGGS, D. E. et al. **Brewing: Science and Practice**. 1. ed. Abingdon, England: Woodhead Publishing Limited, 2004.

BSG. **German Hallertauer Magnum**. Disponível em: <<https://bsgcraftbrewing.com/german-hallertauer-magnum/>>. Acesso em: 10 nov. 2022.

BUSTAMANTE, M. Á. et al. Effects of soil fertilization on terpenoids and other carbon-based secondary metabolites in *rosmarinus officinalis* plants: A comparative study. **Plants**, v. 9, n. 7, p. 1–19, 2020.

CALVO-CASTRO, L. A. et al. The oral bioavailability of 8-prenylnaringenin from hops (*Humulus lupulus* L.) in healthy women and men is significantly higher than that of its positional isomer 6-prenylnaringenin in a randomized crossover trial. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 62, n. 7, p. 1–27, 2018.

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

CARMO, C. A. F. S. et al. **Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados na embrapa solos**. Circular T ed. Rio de Janeiro, RJ, Brasil: EMBRAPA, 2000.

CARVALHO, A. M. X. et al. SPEED stat: A free, intuitive, and minimalist spreadsheet program for statistical analyses of experiments. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 20, n. 3, p. 1–6, 2020.

CARVALHO, V. P. DE. **Zoneamento agroclimático da cultura de lúpulo para o Estado do Rio de Janeiro: uma aplicação da lógica Fuzzy**. Dissertação de Mestrado. UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE, 2018.

CERENAK, A.; KRALJ, D.; JAVORNIK, B. Compounds of essential oils as markers of hop resistance (*Humulus lupulus*) to powdery mildew (*Podosphaera macularis*). **Acta Agriculturae Slovenica**, v. 93, n. 3, p. 267–273, 2009.

ČERMÁK, P. et al. Inhibitory effects of fresh hops on *helicobacter pylori* strains. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 33, n. 4, p. 302–307, 2015.

CERVIERI JUNIOR, O. **Panoramas setoriais 2030: Bebidas** (BNDES, Ed.). Brasília-DF: [s.n.]. Disponível em: <[https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/14256/2/Panoramas Setoriais 2030 - Bebidas\\_P.pdf](https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/14256/2/Panoramas_Setoriais_2030_-_Bebidas_P.pdf)>.

CESLOVÁ, L. et al. Characterization of prenylflavonoids and hop bitter acids in various classes of Czech beers and hop extracts using high-performance liquid chromatography – mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 7249–7257, 2009.

CHADWICK, L. R.; PAULI, G. F.; FARNSWORTH, N. R. The pharmacognosy of *Humulus lupulus* L. (hops) with an emphasis on estrogenic properties. **Phytomedicine**, v. 13, n. 1–2, p. 119–131, 2006.

CHAUDHARY, S. C. et al. D -Limonene modulates inflammation , oxidative stress and Ras-ERK pathway to inhibit murine skin tumorigenesis. **Human & Experimental Toxicology**, v. 31, n. 8, p. 798–811, 2012.

CHEN, W.-J.; LIN, J.-K. Mechanisms of Cancer Chemoprevention by Hop Bitter Acids ( Beer Aroma ) through Induction of Apoptosis Mediated by Fas and Caspase Cascades. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 55–64, 2004.

CHO, M. et al. The antitumor effects of geraniol : Modulation of cancer hallmark pathways ( Review ). **International Journal Of Oncology**, v. 48, p. 1772–1782, 2016.

CHRYSARGYRIS, A. et al. Vegetative, physiological, nutritional and antioxidant behavior of spearmint (*Mentha spicata* L.) in response to different nitrogen supply in hydroponics. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 6, p. 52–61, 2017.

CLARK, S. M. et al. Transcriptome analysis of bitter acid biosynthesis and precursor pathways in hop (*Humulus lupulus*). **BMC Plant Biology**, v. 13, n. 12, p. 01–14, 2013.

CLEEMPUT, M. VAN et al. Hop (*Humulus lupulus*)-derived bitter acids as multipotent bioactive compounds. **Journal of Natural Products**, v. 72, p. 1220–1230, 2009.

COLLIN, S. et al. Polyphenols and Beer Quality. In: RAMAWAT, K.; MÉRILLON, J. M. (Eds.). **Natural Products**. Berlin, Germany: Springs, 2013. p. 2333–2359.

CÖMERT ÖNDER, F. et al. Antiproliferative activity of *Humulus lupulus* extracts on human hepatoma (Hep3B), colon (HT-29) cancer cells and proteases, tyrosinase,  $\beta$ -lactamase enzyme inhibition studies. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 31, n. 1, p. 90–98, 2016.

CORNELISON, J. M. et al. Evaluation of hops (*Humulus lupulus*) as an antimicrobial in broiler diets. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 2, p. 134–136, 2006.

DAHAM, S. S. et al.  $\beta$ -Caryophyllene induces apoptosis and inhibits angiogenesis in colorectal cancer models. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 19, p. 1–20, 2021.

DARBY, H. et al. **Organic Hop Variety Trial Final Report**. Burlington, Vermont, USA: [s.n.]. Disponível em: <[https://www.uvm.edu/sites/default/files/Northwest-Crops-and-Soils-Program/2016-ResearchReports/2016\\_Hop\\_Variety\\_Trial\\_April2017.pdf](https://www.uvm.edu/sites/default/files/Northwest-Crops-and-Soils-Program/2016-ResearchReports/2016_Hop_Variety_Trial_April2017.pdf)>.

DEFRA. **Fertiliser Manual**. 8. ed. Norwich, England: TSO, 2010.

DEWICK, P. . **Medicinal Natural Products Medicinal**. 3. ed. Nottingham, UK: A John Wiley and Sons, Ltd., 2009. v. 1

DIETZ, C. et al. The multisensory perception of hop essential oil: a review. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 126, n. 4, p. 320–342, 2020.

DODDS, K. **Hops a guide for new growers**. 1. ed. [s.l.] Department of Primary Industries, Australian Government, 2017.

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

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

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

ERIKSEN, R. L. et al. Photosynthetic activity of six hop (*Humulus lupulus* L.) cultivars under different temperature treatments. **HortScience**, v. 55, n. 4, p. 403–409, 2020.

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

ERIKSEN, R. L. et al. Gene expression of agronomically important secondary metabolites in cv . ‘ USDA Cascade ’ Hop ( *Humulus lupulus* L . ) cones during critical developmental stages. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 80, n. 4, p. 356–369, 2022.

EYRES, G.; DUFOUR, J.-P. Hop essential oil: analysis, chemical composition and odor characteristics. In: **Beer in health and disease prevention**. Dunedin, New Zealand: [s.n.]. p. 239–254.

FAOSTAT. **Value of agricultural production: hop cones**. Roma, Itália: [s.n.]. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#home>>.

FARAG, M. A. et al. Metabolite profiling and fingerprinting of commercial cultivars of *Humulus lupulus* L. (hop): A comparison of MS and NMR methods in metabolomics. **Metabolomics**, v. 8, n. 3, p. 492–507, 2012.

FARAG, M. A.; WESSJOHANN, L. A. Cytotoxic effect of commercial *Humulus lupulus* L. (hop) preparations - In comparison to its metabolomic fingerprint. **Journal of Advanced Research**, v. 4, n. 4, p. 417–421, 2013.

FEINER, A. et al. Downy mildew resistance is genetically mediated by prophylactic production of phenylpropanoids in hop. **Plant, Cell & Environment**, v. 44, n. 1, p. 323–338, 2020.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos , aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova**, v. 39, n. Figura 2, p. 120–130, 2017.

FERNANDES, E. S. et al. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-

humulene and ( - ) - trans -caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **European Journal of Pharmacology**, v. 569, p. 228–236, 2007.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, p. 529–535, 2019.

FERREYRA, M. L. F.; RIUS, S. P.; CASATI, P. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. **Frontiers in Plant Science**, v. 3, n. 222, p. 1–15, 2012.

FIDYT, K. et al.  $\beta$ - caryophyllene and  $\beta$ - caryophyllene oxide—natural compounds of anticancer and analgesic properties. **Cancer Medicine**, v. 5, n. 10, p. 3007–3017, 2016.

FONTOURA, S. M. V.; BAYER, C. Ammonia volatilization in no-till system in the south-central region of the state of Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 34, n. 5, p. 1677–1684, 2010.

FORSTER, A.; GAHR, A. On the fate of certain hop substances during dry hopping. **BrewingScience**, v. 66, n. 7, p. 93–103, 2013.

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

FRESCO, P. et al. New Insights on the Anticancer Properties of Dietary Polyphenols. **Medicinal Research Reviews**, v. 26, n. 6, p. 747–766, 2006.

GANDOMI, A. et al. The response of different fertilizer applications on chamomile production and their quality characteristics. **Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus**, v. 20, n. 2, p. 107–119, 2021.

GASIŃSKI, A. et al. Second life of hops: Analysis of beer hopped with hop pellets previously used to dry-hop a beer. **LWT - Food Science and Technology**, v. 159, p. 1–7, 2022.

GENDY, A. G. et al. Effect of nitrogen and potassium fertilizer on herbage and oil yield of chervil plant (*Anthriscus cerefolium* L.). **Industrial Crops and Products**, jul. 2015. v. 69, p. 167–174. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.023>>.

GENT, D. H. et al. Pre- and Postinfection Activity of Fungicides in Control of Hop Downy Mildew. **Plant Disease**, v. 99, n. 6, p. 858–865, 2015.

GENT, D. H.; OCAMB, C. M. Predicting infection risk of hop by *Pseudoperonospora humuli*. **Phytopathology**, v. 99, n. 10, p. 1190–1198, 2009.

GENT, D. H.; OCAMB, C. M.; FARNSWORTH, J. L. Forecasting and management of hop downy mildew. **Plant Disease**, v. 94, n. 4, p. 425–431, 2010.

GRAF, T. et al. *Humulus lupulus* – The hidden half. **BrewingScience**, v. 67, p. 161–166, 2014.

GREEF, J. M. Productivity of maize (*Zea mays* L.) in relation to morphological and physiological characteristics under varying amounts of nitrogen supply. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 172, n. 5, p. 317–326, 1994.

GRESTA, F. et al. Agronomic traits and essential oil profiles of *Humulus lupulus* L. cultivated in southern Italy. **Journal of Essential Oil Research**, v. 35, n. 01, p. 60–

70, 2022.

GUIMARÃES, A. G.; SERAFINI, M. R.; QUINTANS-JUNIOR, L. J. Terpenes and derivatives as a new perspective for pain treatment: a patent review. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 24, n. 3, p. 243–265, 2014.

GUTIÉRREZ-DEL-RÍO, I.; FERNÁNDEZ, J.; LOMBÓ, F. Plant nutraceuticals as antimicrobial agents in food preservation: terpenoids, polyphenols and thiols. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 52, n. 3, p. 309–315, 2018.

HAN, M. et al. The genetics of nitrogen use efficiency in crop plants. **Annual Review of Genetics**, v. 49, n. September, p. 269–289, 2015.

HASLBECK, K. et al. The influence of brewing yeast strains on monoterpene alcohols and esters contributing to the citrus flavour of beer. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 124, n. 4, p. 403–415, 2018.

HAZRATI, S.; KHURIZADEH, S.; SADEGHI, A. R. Application of zeolite improves water and nitrogen use efficiency while increasing essential oil yield and quality of *Salvia officinalis* under water-deficit stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 3, p. 1707–1716, 2022.

HEŘMÁNEK, P.; RYBKA, A.; HONZÍK, I. Determination of moisture ratio in parts of the hop cone during the drying process in belt dryer. **Agronomy Research**, v. 16, n. 3, p. 723–727, 2018.

HIERONYMUS, S. **For the love of hops - The practical guide to aroma, bitterness and the culture of hops**. 1. ed. Boulder, Colorado, USA: Brewers Publications, 2012.

HIFNAWY, M. S. et al. Nature-inspired male contraceptive and spermicidal products. **Phytochemistry Reviews**, v. 20, p. 797–843, 2021.

HIGGINS, D. S.; MILES, T. D.; HAUSBECK, M. K. Fungicide efficacy against pseudoperonospora humuli and point mutations linked to carboxylic acid amide resistance in Michigan. **Plant Disease**, v. 105, n. 7, p. 1880–1889, 2021.

HILDEBRANDT, T. M. et al. Amino acid catabolism in plants. **Molecular Plant**, v. 8, n. 11, p. 1563–1579, 2015.

HNILIČKOVÁ, H.; HNILIČKA, F.; KROFTA, K. Determining the saturation irradiance and photosynthetic capacity for new perspective varieties of hop (*Humulus lupulus* L.). **Cereal Research Communications**, v. 35, n. 2 PART I, p. 461–464, 2007.

HO, K. H. et al. Xanthohumol regulates miR-4749-5p-inhibited RFC2 signaling in enhancing temozolomide cytotoxicity to glioblastoma. **Life Sciences**, v. 254, n. May, p. 117807, 2020.

HONG, K. et al. Key Enzymes involved in the synthesis of hops phytochemical compounds: from structure, functions to applications. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 22, n. 17, p. 9373–9393, 2021.

HONG, K. et al. Varietal differences in the phytochemical components' accumulation and aroma profile of three *Humulus lupulus* cultivars. **Food Control**, v. 132, n. August 2021, p. 108499, 2022.

HOPLIST. **Hop Varieties**. Disponível em: <<https://www.hopslis.com/>>. Acesso em: 11 nov. 2022.

HRNČIČ, M. K. et al. Hop compounds: Extraction techniques, chemical analyses, antioxidative, antimicrobial, and anticarcinogenic effects. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 1–37, 2019.

IGLESIAS, A. et al. Essential oils from *Humulus lupulus* as novel control agents against *Varroa destructor*. **Industrial Crops and Products**, v. 158, n. October, p. 113043, 2020.

IHGC. Report - **International Hop Growers Convention**. 2019.

IHGC. **Summary Reports International Hop Grower's Convention - Economic Commission, Summary Reports**. Praga, CZ: [s.n.]. Disponível em: <[http://www.hmelj-giz.si/ihgc/doc/2022\\_JUL\\_IHGC\\_ECREport\\_p.pdf](http://www.hmelj-giz.si/ihgc/doc/2022_JUL_IHGC_ECREport_p.pdf)>.

IHGC. **Commercial hop varieties list (2022)**. Celje, Slovenia: [s.n.]. Disponível em: <[http://www.hmelj-giz.si/ihgc/doc/2022\\_NOV\\_IHGC\\_HopVarietyList.pdf](http://www.hmelj-giz.si/ihgc/doc/2022_NOV_IHGC_HopVarietyList.pdf)>.

INUI, T. et al. Different beers with different hops. Relevant compounds for their aroma characteristics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 20, p. 4758–4764, 2013.

ISKRA, A. E. et al. Influence of nitrogen fertility practices on hop cone quality. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 77, n. 3, p. 199–209, 2019.

ISO. **ISO 9235\_2013(en), Aromatic natural raw materials — Vocabulary**. Disponível em: <<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9235:ed-2:v1:en>>. Acesso em: 17 out. 2022.

JACQUOT, A. et al. Post-translational regulation of nitrogen transporters in plants and microorganisms. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 10, p. 2567–2580, 2017.

JELIAZKOVA, E. et al. Sequential elution of essential oil constituents during steam distillation of hops (*Humulus lupulus* L.) and influence on oil yield and antimicrobial activity. **Journal of Oleo Science**, v. 67, n. 7, p. 871–883, 2018.

JELÍNEK, L. et al. Comparison of czech hop cultivars based on their contents of secondary metabolites. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 28, n. 4, p. 309–316, 2010.

JELÍNEK, L. et al. Influence of growing area , plant age , and virus infection on the contents of hop secondary metabolites. **Czech J. Food Sci.**, v. 30, n. 6, p. 541–547, 2012.

JELÍNEK, L. et al. Application of a hop by-product in brewing: Reduction in the level of haze-active prolamines and improved antioxidant properties of the beer. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 120, n. 2, p. 99–104, 2014.

JOHNSON, D. A. Two degree-day models for predicting initial emergence of hops shoots systemically infected with *Pseudoperonospora humuli*. **Plant Disease**, v. 75, n. 3, p. 285–287, 1991.

KAMPA, M. et al. Polyphenols and cancer cell growth. **Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology**, v. 159, n. June, p. 79–113, 2007.

KAO, T. H.; WU, G. Y. Simultaneous determination of prenylflavonoid and hop bitter acid in beer lee by HPLC-DAD-MS. **Food Chemistry**, v. 141, n. 2, p. 1218–1226, 2013.

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

KARAMANOS, A. J.; SOTIROPOULOU, D. E. K. Field studies of nitrogen application on Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) letsvaart) essential oil during two cultivation seasons. **Industrial Crops and Products**, v. 46, p. 246–252, 2013.

KAŠKONAS, P. et al. Clustering analysis of different hop varieties according to their essential oil composition measured by GC/MS. **Chemical Papers**, v. 70, n. 12, p. 1568–1577, 2016.

KATAR, D.; KATAR, N.; CAN, M. Agricultural and quality characteristics of sage (*Salvia fruticosa* Mill.) depending on nitrogen applications. **Journal of Plant Nutrition**, v. 45, n. 10, p. 1441–1449, 2022.

KAVALIER, A. R. et al. Phytochemical and morphological characterization of hop (*Humulus lupulus* L.) cones over five developmental stages using high performance liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry, ultrahigh performance liquid chromatography photodi. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 9, p. 4783–4793, 2011.

KAVALIER, A. R. et al. Targeted analysis of polyphenol metabolism during development of hop (*Humulus lupulus* L.) cones following treatment with prohexadione-calcium. **Food Chemistry**, v. 145, p. 254–263, 2014.

KEILER, A. M. et al. Evaluation of estrogenic potency of a standardized hops extract on mammary gland biology and on MNU-induced mammary tumor growth in rats. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 174, n. July, p. 234–241, 2017.

KEMME, L. **Grower Notes: Spring 2016**. Zeeland, MI: [s.n.].

KENNY, S. T. Identification of U.S.-Grown Hop Cultivars by Hop Acid and Essential Oil Analyses. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 48, 1990.

KENNY, S. T. Photosynthetic Measurements in Hop (*Humulus lupulus*). **Acta Horticulturae**, v. 668, p. 241–248, 2005.

KEUKELEIRE, J. DE et al. Formation and accumulation of  $\alpha$ -acids,  $\beta$ -acids, desmethylxanthohumol, and xanthohumol during flowering of hops (*Humulus lupulus* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 15, p. 4436–4441, 2003.

KEUKELEIRE, J. et al. Relevance of organic farming and effect of climatological conditions on the formation of  $\alpha$ -acids,  $\beta$ -acids, desmethylxanthohumol, and xanthohumol in hop (*Humulus lupulus* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 1, p. 61–66, 2007.

KHAMMAR, A. A. et al. Nutritive composition, growth, biochemical traits, essential oil content and compositions of *Salvia officinalis* L. grown in different nitrogen levels in soilless culture. **Journal of Science and Plant Nutrition**, v. 21, p. 3320–3332, 2021.

KILLEEN, D. P. et al. Fast sampling, analyses and chemometrics for plant breeding: bitter acids, xanthohumol and terpenes in lupulin glands of hops (*Humulus lupulus*). **Phytochemical Analysis**, v. 28, n. 1, p. 50–57, 2016.

KISHIMOTO, T. et al. Comparison of the Odor-active compounds in unhopped beer and beers hopped with different hop varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 8855–8861, 2006.

KOLENC, Z. et al. Hop (*Humulus lupulus* L.) response mechanisms in drought stress: Proteomic analysis with physiology. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 105, p. 67–78, 2016.

KONDIĆ, D. et al. Morphological and biochemical characterization of wild hop (*Humulus lupulus* L.) populations from banja luka area (bosnia and herzegovina). **Agronomy**, v. 11, n. 2, 2021.

KOPP, P. A. The global hop: An agricultural overview of the brewer's gold. In: PATTERSON, M.; HOALST-PULLEN, N. (Eds.). **The Geography of Beer**. 1. ed. Dordrecht, Netherlands: Springer, 2014. p. 77–88.

KORDI, S. et al. Intercropping system and N<sub>2</sub> fixing bacteria can increase land use efficiency and improve the essential oil quantity and quality of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1–14, 2020.

KOŘEN, J. Influence of plantation row spacing on quality and yield of hops. **Plant, Soil and Environment**, v. 53, n. 6, p. 276–282, 2007.

KORJEM, K. M. M. An overview on chemical constituents, medicinal applications, pharmacological activity, toxicology, metabolism and pharmacokinetics of strobilus lupuli. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 12, n. 4, p. 4613–4625, 2022.

KORPELAINEN, H.; PIETILÄINEN, M. Hop (*Humulus lupulus* L.): Traditional and present use, and future potential. **Economic Botany**, v. 75, p. 302–322, 2021.

KOŠIR, I. J.; OCVIRK, M. Evolution of beer aroma. In: BORDIGA, M.; NOLLET, L. M. L. (Eds.). **Food Aroma Evolution**. 1. ed. New York, USA: CRC Press, 2020. p. 353–364.

KOVAČEVIČ, M.; KAČ, M. Determination and verification of hop varieties by analysis of essential oils. **Food Chemistry**, v. 77, n. 4, p. 489–494, 2002.

KREBS, C. Hops: A viable alternative crop for the Central/Southern plains? **Crops & Soils Magazine**, v. 52, n. July-August, p. 4–6, 2019.

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

KROFTA, K.; KUERA, J.; URBAN, J. Transpiration-An important contribution to overall water balance of the hop plantation. **Acta Horticulturae**, v. 1010, p. 183–190, 2013.

KRÓL, B. et al. Biomass production, active substance content, and bioaccessibility of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) letsvaart) following the application of nitrogen. **Industrial Crops and Products**, v. 148, n. February, p. 1–11, 2020.

KUCERA, J.; KROFTA, K. Mathematical model for prediction of alpha acid contents from meteorological data for ' saaz ' aroma variety. **Acta Horticulturae**, v. 848, n. ISHS 2009, p. 131–140, 2009.

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

228–239, 2019.

LAGOS, F. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; DESCHAMPS, C. Vegetative propagation of hops (*Humulus lupulus* L.): Historical approach and perspectives. **Semina:Ciencias Agrarias**, v. 43, n. 3, p. 1373–1394, 2022.

LAMY, V. et al. Chemopreventive effects of lupulone, a hop  $\beta$ -acid, on human colon cancer-derived metastatic SW620 cells and in a rat model of colon carcinogenesis. **Carcinogenesis**, v. 28, n. 7, p. 1575–1581, 2007.

LAPCZYNSKI, A.; LETIZIA, C. S.; API, A. M. Fragrance material review on d -linalool. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 11, p. S193–S194, 2008.

LAWLOR, D. W. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: Mechanisms are the key to understanding production systems. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 370, p. 773–787, 2002.

LEE, J. et al. Anti-invasive effect of  $\beta$ -myrcene, a component of the essential oil from *Pinus koraiensis* cones, in metastatic MDA-MB-231 human breast cancer cells. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, v. 58, n. 4, p. 563–569, 2015.

LEONARDI, M. et al. Characterisation of four popular Polish hop cultivars. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 1770–1774, 2013.

LI, J. et al. Characteristic  $\alpha$ -Acid Derivatives from *Humulus lupulus* with Antineuroinflammatory Activities. **Journal of Natural Products**, v. 80, n. 12, p. 3081–3092, 2017.

LIAN, H. et al. A synergistic increase in water and nitrogen use efficiencies in winter wheat cultivars released between the 1940s and the 2010s for cultivation in the drylands of the shaanxi Province in China. **Agricultural Water Management**, v. 240, n. May, p. 106308, 2020.

LIBERATORE, C. M. et al. Chemical and physical pre-treatments to improve in vitro seed germination of *Humulus lupulus* L., cv. Columbus. **Scientia Horticulturae**, v. 235, n. December 2017, p. 86–94, 2018.

LIGOR, M. et al. Evaluation of genetic variability of wild hops (*Humulus lupulus* L.) in Canada and the Caucasus region by chemical and molecular methods. **Industrial Crops and Products**, v. 124, n. 7, p. 658–663, 2015.

LIMA, M. C. et al. Effect of shading and nitrogen fertilization on nitrogen metabolism, essential oil content and antimicrobial activity of *Achillea millefolium*. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 42, p. 1–12, 2020.

LIN, M. et al. Role of characteristic components of humulus lupulus in promoting human health. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 30, p. 8291–8302, 2019.

LIU, S. et al. Importance of matching soil N transformations, crop N form preference, and climate to enhance crop yield and reducing N loss. **Science of the Total Environment**, v. 657, p. 1265–1273, 2019.

LIU, Z.; WANG, L.; LIU, Y. Rapid differentiation of chinese hops varieties (*Humulus lupulus*) using volatile fingerprinting by HS-SPME-GC-MS combined with multivariate statistical analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 10, p. 3758–3766, 2018.

LOUREIRO, P. V. et al. Determination of xanthohumol in hops, food supplements and beers by HPLC. **Foods**, v. 8, n. 435, p. 1–16, 2019.

MCCALLUM, J. L. et al. Phytochemical characterization of wild hops (*Humulus lupulus* ssp. *lupuloides*) germplasm resources from the maritimes region of Canada. **Frontiers in Plant Science**, 2019. v. 10, n. 1438, p. 1–15.

MACKINNON, D. et al. The impact of weather conditions on alpha-acid content in hop (*Humulus lupulus* L.) cv. aurora. **Plant, Soil and Environment**, v. 66, n. 10, p. 519–525, 2020.

MALIZIA, R. A. et al. Essential oil of hop cones (*Humulus lupulus* L.). **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, n. 1, p. 13–15, 1999.

MAPA. **Anuário da cerveja 2020 - Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA)**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/com-crescimento-de-14-4-em-2020-numero-de-cervejarias-registradas-no-brasil-passa-de-1-3-mil/anuariocerveja2.pdf>>.

MAPA. **Lúpulo no Brasil: perspectivas e realidades**. 1. ed. Brasília-DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2022.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. E. A. Anuário da Cerveja. **MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, p. 16, 2020.

MARCEDDU, R.; CARRUBBA, A.; SARNO, M. Cultivation trials of hop (*Humulus lupulus* L.) in semi-arid environments. **Heliyon**, v. 6, n. 10, p. e05114, 2020.

MARSCHNER, P. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3. ed. Adelaide, Australia: Elsevier, 2012.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C. et al. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: Challenges for sustainable and productive agriculture. **Annals of Botany**, v. 105, n. 7, p. 1141–1157, 2010.

MCCALLUM, J. L. et al. Phytochemical characterization of wild hops (*Humulus lupulus* ssp. *lupuloides*) germplasm resources from the maritimes region of Canada. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 1438, p. 1–15, 2019.

MEKONNEN, B.; GAREDEW, W. Growth, yield, and quality responses of turmeric (*Curcuma longa* L.) to nitrogen fertilizer rate and timing of its application. **Acta Agrobotanica**, v. 72, n. 3, p. 1–11, 2019.

MIYASHITA, M.; SADZUKA, Y. Effect of linalool as a component of *Humulus lupulus* on doxorubicin-induced antitumor activity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 53, p. 174–179, 2013.

MONGELLI, A. et al. Italian hop germplasm: Characterization of wild *Humulus lupulus* L. genotypes from Northern Italy by means of phytochemical, morphological traits and multivariate data analysis. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 16–27, 2015.

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

MORAIS, L.A.S., 2009. Influência dos fatores abióticos na composição química

dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**. 27, p. 4050–4063.

MORCOL, T. B. et al. Hop (*Humulus lupulus* L.) terroir has large effect on a glycosylated green leaf volatile but not on other aroma glycosides. **Food Chemistry**, v. 321, n. October 2019, p. 126644, 2020.

MORCOL, T. B.; MATTHEWS, P. D.; KENNELLY, E. J. Differences in leaf chemistry and glandular trichome density between wild southwestern american hop (*Humulus neomexicanus*) and commercial hop cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 27, p. 7798–7814, 2021.

MOZZON, M.; FOLIGNI, R.; MANNOZZI, C. Brewing quality of hop varieties cultivated in central Italy based on multivolatile fingerprinting and bitter acid content. **Foods**, v. 9, n. 5, p. 541–555, 2020.

MUKHTAR, Y. M. et al. Biochemical significance of limonene and its metabolites : future prospects for designing and developing highly potent anticancer drugs. **Bioscience Reports (2018)**, v. 38, p. 1–12, 2018.

MURAKAMI, A. et al. Molecular phylogeny of wild Hops, *Humulus lupulus* L. **Heredity**, v. 97, n. 1, p. 66–74, 2006.

NAGEL, J. et al. EST analysis of hop glandular trichomes identifies an O-methyltransferase that catalyzes the biosynthesis of xanthohumol. **Plant Cell**, v. 20, n. 1, p. 186–200, 2008.

NAGYBÁKAY, N. E. et al. Optimized supercritical CO<sub>2</sub> extraction enhances the recovery of valuable lipophilic antioxidants and other constituents from dual-purpose hop (*Humulus lupulus* L.) variety Ella. **Antioxidants**, v. 10, n. 918, p. 1–21, 2021.

NAKAWUKA, P. et al. Effect of deficit irrigation on yield quantity and quality , water productivity and economic returns of four cultivars of hops in the Yakima Valley , Washington State. **Industrial Crops & Products**, v. 98, p. 82–92, 2017.

NESVADBA, V. et al. Evaluation of Czech hop cultivars since 2010 till 2019. **Plant, Soil and Environment**, v. 66, n. 12, p. 658–663, 2020.

NEVE, R. A. **Hops**. 1. ed. London: Chapman and Hall, 1991.

NIKOLIĆ, D.; BREEMEN, R. B. VAN. Analytical methods for quantitation of prenylated flavonoids from hops. **Current Analytical Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 71–85, 2013.

NOWAK, B. et al. Pharmacokinetics of xanthohumol in rats of both sexes after oral and intravenous administration of pure xanthohumol and prenylflavonoid extract. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, v. 29, n. 9, p. 1101–1109, 2020.

NURZYŃSKA-WIERDAK, R. et al. Essential oil composition of sweet basil cultivars as affected by nitrogen and potassium fertilization. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 37, n. 4, p. 427–436, 2013.

NUUTINEN, T. Medicinal properties of terpenes found in *Cannabis sativa* and *Humulus lupulus*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 157, p. 198–228, 2018.

OCVIRK, M.; OGRINC, N.; KOSIR, I. J. Determination of the geographical origin of hops (*Humulus lupulus* L.) using stable isotopes of C , N and S. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 8, p. 1–24, 2018.

OLESIŃSKA, K.; SUGIER, D.; KACZMARSKI, Z. Yield and chemical composition of raw material from meadow arnica (*Arnica chamissonis* less.) depending on soil conditions and nitrogen fertilization. **Agriculture (Switzerland)**, v. 11, n. 9, p. 1–17, 2021.

OLIVEIRA, M. M.; PAIS, M. S. Glandular trichomes of *Humulus lupulus* var . Brewer ' s gold ( hops ): ultrastructural aspects of peltate trichomes. **Journal of submicroscopic cytology and pathology**, v. 22, n. 2, p. 241–248, 1990.

OMER, E. A. et al. Effect of nitrogen and potassium fertilizers on growth, yield, essential oil and artemisinin of artemisia annua L Plant. **International Research Journal of Horticulture**, v. 2, n. 2, p. 11, 2014.

PASANDI POUR, A.; FARAHBAKHS, H.; TOHIDINEJAD, E. Nitrogen, phosphorous and potassium levels affected growth indices, leaf gas exchange parameters and biomass production of henna (*Lawsonia inermis* L.) ecotypes. **Industrial Crops and Products**, v. 163, n. January, p. 113297, 2021.

PATZAK, J. et al. Hop Latent Viroid (HLVd)-caused pathogenesis: effects of HLVd infection on lupulin composition of meristem culture-derived *Humulus lupulus*. **Biologia Plantarum**, v. 44, p. 579–585, 2001.

PATZAK, J. Comparison of RAPD, STS, ISSR and AFLP molecular methods used for assessment of genetic diversity in hop (*Humulus lupulus* L.). **Euphytica**, v. 121, n. 1, p. 9–18, 2001.

PATZAK, J. et al. Assessment of the genetic diversity of wild hops (*Humulus lupulus* L.) in Europe using chemical and molecular analyses. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, n. 2, p. 136–145, 2010.

PATZAK, J. et al. Number and size of lupulin glands, glandular trichomes of hop (*Humulus lupulus* L.), play a key role in contents of bitter acids and polyphenols in hop cone. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 8, p. 1864–1872, 2015.

PAULA-FREIRE, L. I. G. et al. *Ocimum gratissimum* essential oil and its isolated compounds ( eugenol and myrcene ) reduce neuropathic pain in mice. **Planta Medica**, v. 82, n. 03, p. 211–216, 2016.

PAVENTI, G. et al. Biological activity of *Humulus lupulus* (L.) essential oil and its main components against *Sitophilus granarius* (L.). **Biomolecules**, v. 10, n. 8, p. 1–17, 2020.

PAVLOVIC, V. et al. Environment and weather influence on quality and market value of hops. **Plant, Soil and Environment**, v. 58, n. 4, p. 155–160, 2012.

PAVLOVIČ, V. et al. Modelling of Quality Prediction for Hops (*Humulus lupulus* L.) in Relation to Meteorological Variables. **Balwois**, v. 25, n. May, p. 1–5, 2010.

PEACOCK, V. E.; DEINZER, M. L. Chemistry of hop aroma in beer. **Journal of American Society of Brewing Chemists**, v. 39, n. 4, p. 136–141, 1979.

PERESTRELO, R. et al. A powerful approach to explore the potential of medicinal plants as a natural source of odor and antioxidant compounds. **Journal Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 132–144, 2016.

PERPÈTE, P. et al. Varietal discrimination of hop pellets by essential oil analysis I . Comparison of Fresh Samples. **Journal of the American Society of Brewing**

**Chemists**, v. 56, n. 3, p. 104–108, 1998.

PICHERSKY, E.; LEWINSOHN, E.; CROTEAU, R. Purification and characterization of S-linalool synthase, an enzyme involved in the production of floral scent in *Clarkia breweri*. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 316, n. 2, p. 803–807, 1995.

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

PONTICELLI, M. et al. The promising ability of *Humulus lupulus* L. Iso -  $\alpha$  -acids vs . diabetes, inflammation, and metabolic syndrome: a systematic review. **Molecules**, v. 26, n. 954, p. 1–32, 2021.

PRADO-AUDELO, M. L. DEL et al. Therapeutic applications of terpenes on inflammatory diseases. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, n. August, p. 1–7, 2021.

PRAET, T. et al. Flavor activity of sesquiterpene oxidation products , formed upon lab-scale boiling of a hop essential oil – derived sesquiterpene hydrocarbon fraction ( cv . Saaz ). **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 74, n. 1, p. 65–76, 2016.

PURAYANNUR, S. et al. The hop downy mildew pathogen *Pseudoperonospora humuli*. **Molecular Plant Pathology**, v. 22, n. 7, p. 755–768, 2021.

RAO, V. S.; MENEZES, A. M.; VIANA, G. S. Effect of myrcene on nociception in mice. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 42, n. 12, p. 877–878, 1990.

RAUT, S. et al. Influence of pre-drying storage time on essential oil components in dried hops (*Humulus lupulus* L.). **Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 6, p. 2247–2255, 2020.

REHER, T. et al. Evaluation of hop (*Humulus lupulus*) as a repellent for the management of *Drosophila suzukii*. **Crop Protection**, v. 124, n. March, 2019.

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

ROSSBAUER, V. G. et al. Phanologische entwicklungsstadien von kulturhopfen ( *Humulus lupulus* L . ). **Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.**, v. 47, n. 10, p. 249–253, 1995.

RODOLFI, M. et al. The effect of different organic foliar fertilization on physiological and chemical characters in hop (*Humulus lupulus* L., cv Cascade) leaves and cones. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 11, n. 15, 2021.

RODRIGUES, M. A.; MORAIS, J. S.; CASTRO, J. P. M. DE. **Jornadas de lúpulo e cerveja: novas oportunidades de negócio. Livro de atas**. Bragança, Portugal: Instituto Politécnico de Bragança, 2015.

ROSSINI, F. et al. Agronomic performance and beer quality assessment of twenty hop cultivars grown in Central Italy. **Italian Journal of Agronomy**, v. 11, n. 746, p. 180–187, 2016.

ROSSINI, F. et al. Hops (*Humulus lupulus* L.) as a novel multipurpose crop for the mediterranean region of europe: Challenges and opportunities of their cultivation. **Agriculture (Switzerland)**, v. 11, n. 6, 2021.

RUFINO, A. T. et al. Evaluation of the anti-inflammatory, anti-catabolic and pro-anabolic effects of E-caryophyllene, myrcene and limonene in a cell model of osteoarthritis. **European Journal of Pharmacology**, v. 750, p. 141–150, 2015.

RUGGERI, R.; LORETI, P.; ROSSINI, F. Exploring the potential of hop as a dual purpose crop in the Mediterranean environment: shoot and cone yield from nine commercial cultivars. **European Journal of Agronomy**, v. 93, n. November 2017, p. 11–17, 2018.

RUTNIK, K.; HRNČIČ, M. K.; KOŠIR, I. J. Hop essential oil: chemical composition, extraction, analysis, and applications. **Food Reviews International**, v. 00, n. 00, p. 1–23, 2021.

RYBÁČEK, V. Biological basis of hop production. In: **Developments in Crop Science**. [s.l.: s.n.]. v. 16p. 25–120.

SALANȚĂ, L. C. et al. Determination of volatiles in hops from Romania by solid phase fiber microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Analytical Letters**, v. 49, n. 4, p. 477–487, 2016.

SALEHI, B. et al. Therapeutic potential of  $\alpha$ - and  $\beta$ -pinene: a miracle gift of nature. **Biomolecules**, v. 9, n. 738, p. 1–34, 2019.

SANTAGOSTINI, L. et al. *Humulus lupulus* L. cv. Cascade grown in Northern Italy: morphological and phytochemical characterization. **Plant Biosystems**, v. 154, n. 3, p. 316–325, 2020.

SAPIR-MIR, M. et al. Peroxisomal localization of arabidopsis isopentenyl diphosphate isomerases suggests that part of the plant isoprenoid mevalonic acid pathway is compartmentalized to peroxisomes. **Plant Physiology**, v. 148, n. 3, p. 1219–1228, 2008.

SARTORI, L. O. et al. An efficient, fast, and green procedure to quantify  $\alpha$ - and  $\beta$ -acids and xanthohumol in hops and their derived products. **Food Chemistry**, v. 373, n. September 2021, p. 1–9, 2022.

SAWICKA, B. et al. Assessment of the suitability of aromatic and high-bitter hop varieties (*Humulus lupulus* L.) for beer production in the conditions of the małopolska vistula gorge region. **Fermentation**, v. 7, n. 3, 2021.

SENSKE, A. M. **Optimization of N fertilization for hops (*Humulus lupulus*) in Iowa soils**. [s.l.] Iowa State University, 2020.

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

SHELLIE, R. A. et al. Varietal characterization of hop (*Humulus lupulus* L.) by GC-MS analysis of hop cone extracts. **Journal of Separation Science**, v. 32, n. 21, p. 3720–3725, 2009.

SIEGLE, L.; SCOGGINS, H. 2018 Virginia Hop Grower Survey: Results. **Virginia Cooperative Extension**, p. 1–12, 2019.

SILVA, T. C. et al. Macroelement omission in hydroponic systems changes plant growth and chemical composition of *Melissa officinalis* L. essential oil. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 24, n. January, 2021.

SLEHA, R. et al. Strong antimicrobial effects of xanthohumol and beta-acids

from hops against clostridioides difficile infection in vivo. **Antibiotics**, v. 10, n. 4, 2021.

SMALL, E. A Numerical and Nomenclatural Analysis of Morpho-Geographic Taxa of *Humulus*. **American Society of Plant Taxonomists**, v. 3, n. 1, p. 37–76, 2019.

SOARES, L. B.; FIRMO, H. T. **O cultivo do lúpulo em terras brasileiras : como este ingrediente pode fomentar a pesquisa acadêmica e as economias locais** . XV Encontro Nacional De Engenharia E Desenvolvimento Social. **Anais...**Alagoinhas-BA: 2018.

SOLARSKA, E.; SOSNOWSKA, B. The impact of plant protection and fertilization on content of bioactive substances in organic hops. **Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus**, v. 14, n. 3, p. 93–101, 2015.

SPÓSITO, M. B. et al. A cultura do lúpulo. **Série Produtor Rural**, p. 81, 2019.

SREČEC, S. et al. Influence of Climatic Conditions on Accumulation of  $\alpha$ -acids in Hop Cones. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v. 73, n. 3, p. 161–166, 2008.

STATISTA. **Beer - Brazil**. Disponível em: <<https://www.statista.com/outlook/cmo/alcoholic-drinks/beer/brazil>>. Acesso em: 16 dez. 2022.

STATTI, G. Phytochemical components of aromatic plants and factors influencing their variability. In: BAGETTA, G.; COSENTINO, M.; SAKURADA, T. (Eds.). **Aromatherapy Basic Mechanisms and Evidence-Based Clinical Use**. 1. ed. New York, USA: CRC Press, 2016. p. 59–84.

STEENACKERS, B.; COOMAN, L.; VOS, D. Chemical transformations of characteristic hop secondary metabolites in relation to beer properties and the brewing process: A review. **Food Chemistry**, v. 172, p. 742–756, 2015.

STEVENS, J. F. et al. Prenylflavonoids from *Humulus lupulus*. **Phytochemistry**, v. 44, n. 8, p. 1575–1585, 1997.

STEVENS, J. F. et al. Fate of xanthohumol and related prenylflavonoids from hops to beer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 6, p. 2421–2428, 1999.

STEVENS, J. F.; PAGE, J. E. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: To your good health! **Phytochemistry**, v. 65, n. 10, p. 1317–1330, 2004.

STEVENS, R. **The chemistry of hop constituents**. 1. ed. Nutfield. Surrey. England: Brewing Industry Research Foundation, 1966.

ŠTULÍKOVÁ, K. et al. Therapeutic perspectives of 8-prenylnaringenin, a potent phytoestrogen from hops. **Molecules**, v. 23, n. 3, p. 1–13, 2018.

SU, X. et al. Performance of alternative drying techniques on hop (*Humulus lupulus* L.) aroma quality: An HS-SPME-GC-MS-O and chemometrics combined approach. **Food Chemistry**, v. 381, n. January, p. 132289, 2022.

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

SUGIYAMA, R.; ODA, H.; KUROSAKI, F. Two distinct phases of glandular trichome development in hop (*Humulus lupulus* L.). **Plant Biotechnology**, v. 23, n. 5,

p. 493–496, 2006.

SUN, T. L. et al. Xanthohumol attenuates isoprenaline-induced cardiac hypertrophy and fibrosis through regulating PTEN/AKT/mTOR pathway. **European Journal of Pharmacology**, v. 891, p. 173690, 2021.

SURENDRAN, S. et al. Myrcene—What are the potential health benefits of this flavouring and aroma agent? **Frontiers in Nutrition**, v. 8, n. July, p. 1–14, 2021.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2017.

TAKEMOTO, Y. et al. Distribution of inhaled volatile  $\beta$ -caryophyllene and dynamic changes of liver metabolites in mice. **Scientific Reports**, v. 11, p. 1–10, 2021.

TAKOI, K. et al. The contribution of geraniol metabolism to the citrus flavour of beer: synergy of geraniol and  $\beta$ -citronellol under coexistence with excess linalool. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 116, n. 3, p. 251–260, 2010.

TETALI, S. D. Terpenes and isoprenoids: a wealth of compounds for global use. **Planta**, v. 249, n. 1, p. 1–8, 2019.

THOMAS, G. G.; SCHWABE, W. W. Factors controlling flowering in the hop (*Humulus lupulus* L.). **Annals of Botany**, v. 33, n. 4, p. 781–793, 1969.

THORNTHWAITE, C. W.; MATHER, J. R. The water balance. **Publications in climatology**, v. 8, p. 5–86, 1955.

TIAN, B. et al. Multifunctional chitosan-based film loaded with hops  $\beta$ -acids: Preparation, characterization, controlled release and antibacterial mechanism. **Food Hydrocolloids**, v. 124, n. PB, p. 107337, 2022.

TOWNSEND, M. S.; HENNING, J. A. AFLP discrimination of native North American and cultivated hop. **Crop Science**, v. 49, n. 2, p. 600–607, 2009.

TREUTTER, D. Significance of flavonoids in plant resistance: A review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 4, n. 3, p. 147–157, 2006.

TRONINA, T.; POPŁONSKI, J.; BARTMANSKA, A. Flavonoids as phytoestrogenic components of hops. **Molecules**, v. 25, n. 4201, p. 1–21, 2020.

TUNG, M.-C. et al. Discovery of 8-prenylnaringenin from hop (*Humulus lupulus* L.) as a potent monoacylglycerol lipase inhibitor for treatments of neuroinflammation and Alzheimer's disease. **RSC Advances**, v. 11, p. 31062–31072, 2021.

TURNER, S. F. et al. Challenges and opportunities for organic hop production in the united states. **Agronomy Journal**, v. 103, n. 6, p. 1645–1654, 2011.

TURSUN, E.; LI, Z.; AISA, H. A. Isolation and identification of soft resins from *Humulus lupulus* L. **Industrial Crops and Products**, v. 172, n. August, p. 114014, 2021.

TYŚKIEWICZ, K. et al. Essential oils from *Humulus lupulus* scCO<sub>2</sub> extract by hydrodistillation and microwave-assisted hydrodistillation. **Molecules**, v. 23, n. 11, 2018.

USA HOPS. **Variety Manual - USA HOPS 2016**. Moxee, WA, USAUSA HOPS, , 2016. Disponível em: <[https://www.usahops.org/cabinet/data/2016\\_VarietyManual%281%29.pdf](https://www.usahops.org/cabinet/data/2016_VarietyManual%281%29.pdf)>

VAN DEN DOOL, H.; DEC. KRATZ, P. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, p. 463–471, 1963.

VAN HOLLE, A. et al. The brewing value of Amarillo hops (*Humulus lupulus* L.) grown in northwestern USA: A preliminary study of terroir significance. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 123, n. 3, p. 312–318, 2017.

VAN HOLLE, A. et al. Single Nucleotide Polymorphisms and Biochemical Markers As Complementary Tools to Characterize Hops (*Humulus lupulus* L.) in Brewing Practice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 13, p. 3761–3771, 2019.

VAN OPSTAELE, F. et al. Characterization of novel varietal floral hop aromas by headspace solid phase microextraction and gas chromatography – mass spectrometry/olfactometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 12270–12281, 2012.

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

VIERO, F. et al. Ammonia volatilization from nitrogen fertilizers in no-till wheat and maize in southern Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 5, p. 1515–1525, 2014.

VILLACORTA, N. F. et al. Endogenous hormonal profiles in hop development. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 27, n. 1, p. 93–98, 2008.

WALKER, M. C.; VAN DER DONK, W. A. The many roles of glutamate in metabolism. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 43, n. 2–3, p. 419–430, 2016.

WANG, G. et al. Terpene biosynthesis in glandular trichomes of hop. **Plant Physiology**, v. 104, n. 3, p. 1254–1266, 2008.

WANG, G.; MA, W.; DU, J.  $\beta$ -Caryophyllene (BCP) ameliorates MPP<sup>+</sup> induced cytotoxicity. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 103, n. 67, p. 1086–1091, 2018.

WEBER, N. et al. Hop extract acts as an antioxidant with antimicrobial effects against propionibacterium acnes and *Staphylococcus Aureus*. **Molecules**, v. 24, n. 223, p. 1–13, 2019.

WHITESIDE, G. T.; LEE, G. P.; VALENZANO, K. J. The Role of the cannabinoid CB2 receptor in pain transmission and therapeutic potential of small molecule CB2 receptor agonists. **Current Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 917–936, 2007.

WITTE, C. P. Urea metabolism in plants. **Plant Science**, v. 180, n. 3, p. 431–438, 2011.

XIN, G. et al. Xanthohumol isolated from *Humulus lupulus* prevents thrombosis without increased bleeding risk by inhibiting platelet activation and mtDNA release. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 108, p. 247–257, 2017.

XU, H. et al. Characterization of the formation of branched short-chain fatty acid:coas for bitter acid biosynthesis in hop glandular trichomes. **Molecular Plant**, v. 6, n. 4, p. 1301–1317, 2013.

YAKIMA CHIEF. **Hop Varietal Guide**. Sunnyside, USA, 2013. Disponível em:

<[www.yakimachief.com](http://www.yakimachief.com)>

YAKIMA CHIEF. **Table of Contents**. Yakima, USA Yakima Chief Hops, , 2022.  
Disponível em:

<[https://www.yakimachief.com/media/wysiwyg/Yakima\\_Chief\\_Hops\\_Varieties.pdf](https://www.yakimachief.com/media/wysiwyg/Yakima_Chief_Hops_Varieties.pdf)>

YU, L. et al. Novel prenylated bichalcone and chalcone from *Humulus lupulus* and their quinone reductase induction activities. **Fitoterapia**, v. 93, p. 115–120, 2014.

ZANOLI, P.; ZAVATTI, M. Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 116, n. 3, p. 383–396, 2008.

ZHANG, H.; LANG, Z.; ZHU, J. K. Dynamics and function of DNA methylation in plants. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 19, n. 8, p. 489–506, 2018.

ZHOU, K.; YANG, S.; LI, S. M. Naturally occurring prenylated chalcones from plants: Structural diversity, distribution, activities and biosynthesis. **Natural Product Reports**, v. 38, n. 12, p. 2236–2260, 2021.