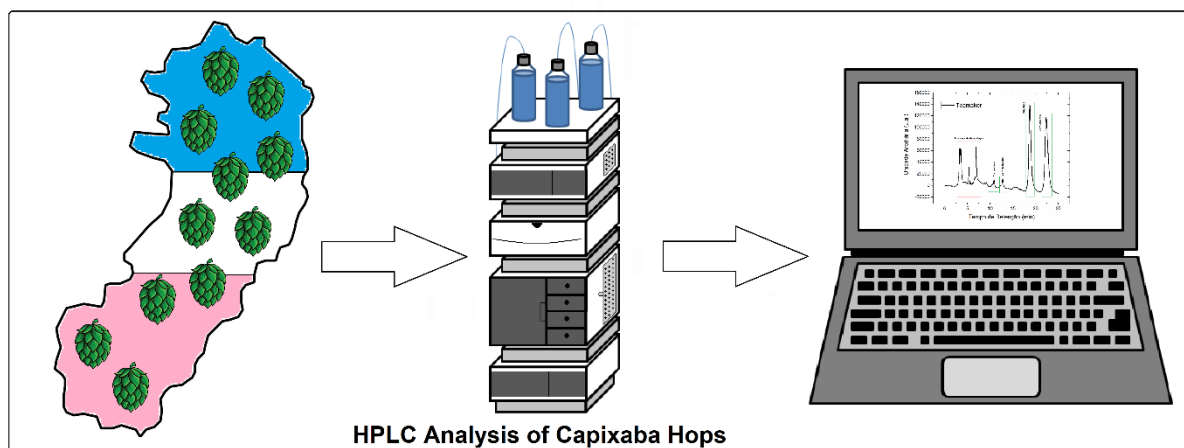


GRAPHICAL ABSTRACT



IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS TEORES DE α E β - ÁCIDOS DOS LÚPULOS PLANTADOS NO ESPÍRITO SANTO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC)

IDENTIFICATION AND QUANTIFICATION OF α AND β -ACID CONTENT OF HOPS
PLANTED IN ESPÍRITO SANTO BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID
CHROMATOGRAPHY (HPLC)

Amanda Borges de Souza¹  e Juliano Souza Ribeiro^{1,*} 

¹Coordenadoria do Mestrado Profissional em Química em Rede Nacional – Profqui, Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Vila Velha, 29106-010 Vila Velha – ES, Brasil

* (julianoribeiro@ifes.edu.br)

Artigo submetido em 26/06/2024, aceito em 07/10/2024 e publicado em 07/10/2024.

Resumo: O Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja do mundo, perdendo apenas para China e Estados Unidos. Contudo, uma das matérias primas essenciais para a produção da bebida, o lúpulo (*Humulus Lupulus L.*), ainda enfrenta uma dependência significativa da sua importação. Dentro das glândulas de lupulina localizadas nas flores fêmea do lúpulo encontram-se compostos que conferem amargor, aroma e importantes atividades biológicas. São as moléculas conhecidas como α e β -ácidos (Humulonas e Lupulonas), juntamente com seus óleos essenciais que contribuem para isso. A quantificação desses α e β -ácidos é importante para cervejeiros e pesquisadores, uma vez que através deles, aprimoram-se características sensoriais e funcionais das cervejas. Na última década, através da certificação de mudas desta flor no Brasil, alguns estados brasileiros vêm apresentando variedades bem adaptadas ao clima. Os estados do Sul e Sudeste, na vanguarda deste cultivo vêm desempenhando um papel crucial nesse processo de popularização do Lúpulo. Assim, o objetivo deste trabalho foi a quantificação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), dos α e β -ácidos presentes em amostras capixabas e de outros estados do país. Os resultados indicaram uma quantidade elevada de β -ácidos na Variedade *Teamaker* (12,51 g 100 g⁻¹, m/m), enquanto os α -ácidos foram predominantes nas variedades como *Zeus* (14,89 g 100 g⁻¹, m/m) e *Comet* (14,69 g 100 g⁻¹, m/m). O estudo demonstrou ainda que a etapa de processamento das flores (colheita, secagem e armazenamento), ainda carecem de maior cuidado, uma vez que algumas variedades estudadas (*Polaris e East Rent Golding*) apresentam uma quantidade significativa de compostos já oxidados devido á má conservação.

Palavras-chave: Cohumulona; Colupulona; Lupulina; Teamaker.

Abstract: Brazil is the third largest beer producer in the world, behind only to China and the United States. However, one of the essential raw materials to produce the drink, hops (*Humulus Lupulus L.*), still faces significant dependence on imports. Inside the lupulin glands located in female hop flowers are compounds that provide bitterness, aroma and important biological activities. It is the molecules known as α and β -acids (Humulones and Lupulones), together with their essential oils that contribute to this. The quantification of these α and β -acids is vital for brewers and researchers, since they improve the sensorial and functional characteristics of beers. In the last decade, through the certification of seedlings of this flower in Brazil, some Brazilian states have been presenting varieties well adapted to the climate. The states of the South and Southeast, at the forefront of this cultivation, have been playing a crucial role in this process of popularizing Hops. Thus, the objective of this work was the quantification, by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), of the α and β -acids present in samples from Espírito Santo and other states in the country. The results indicated a high amount of β -acids in the *Teamaker* variety (12.51 g 100 g⁻¹, m/m), while α -acids were predominant in varieties such as *Zeus* (14.89 g 100 g⁻¹, m/m) and *Comet* (14.69 g 100 g⁻¹, m/m). The study also demonstrated that the flower processing stage (harvesting, drying and storage) still requires greater care, since some varieties studied (*Polaris* and *East Rent Golding*) present a significant amount of compounds already oxidized due to poor conservation.

Keywords: Cohumulone; Colupulone; Lupulin; Teamaker.

1 INTRODUÇÃO

A produção das cervejas artesanais ou *Craft beers*, no Brasil, vem crescendo de forma considerável nos últimos anos. O Anuário Brasileiro da Cerveja, publicado em 2024, com dados referentes a 2023, apresenta um total de 1847 cervejarias registradas no MAPA, um aumento de 947% em relação ao ano de 2013, 10 anos antes (MAPA, 2024). Como resultado disso, a demanda por ingredientes de alta qualidade que possam proporcionar perfis únicos de sabor, amargor e aroma só aumenta.

A partir desta demanda crescente por matérias primas de qualidade e um paladar mais apurado dos consumidores brasileiros, uma planta singular apareceu, desempenhando um papel importante na criação de cervejas com riqueza sensorial e nuances extraordinárias (Silva, 2019).

Esta planta é o lúpulo, pertencente à espécie *Humulus lupulus*, L. da família *Cannabaceae* (Figura 1a). Originária de regiões temperadas da Europa e Ásia, o lúpulo tem conquistado os paladares do Brasil e do mundo, tornando-se um componente indispensável no processo de fabricação de cervejas (Alonso, 2019).

Reconhecido por suas características únicas, o lúpulo é apreciado não apenas por sua contribuição ao amargor, mas também por sua capacidade de conferir aromas complexos (Beer Analytics, 2024) e atividades biológicas significativas às cervejas (Karabín *et al.*, 2016; Schönberger & Kostecky, 2011; Hrnčíč *et al.*, 2019; Almeida *et al.*, 2019; Almeida *et al.*, 2021). Com seus cones florais repletos de glândulas de lupulina (Figura 1a, b e c), o lúpulo libera humulonas e lupulonas, mais conhecidas pelos cervejeiros como α - e β -ácidos, como elementos que moldam o perfil sensorial e funcional das cervejas (Almaguer, 2014; Veríssimo *et al.*, 2022).

Contudo, o Brasil não produzia oficialmente esta flor até anos atrás, por

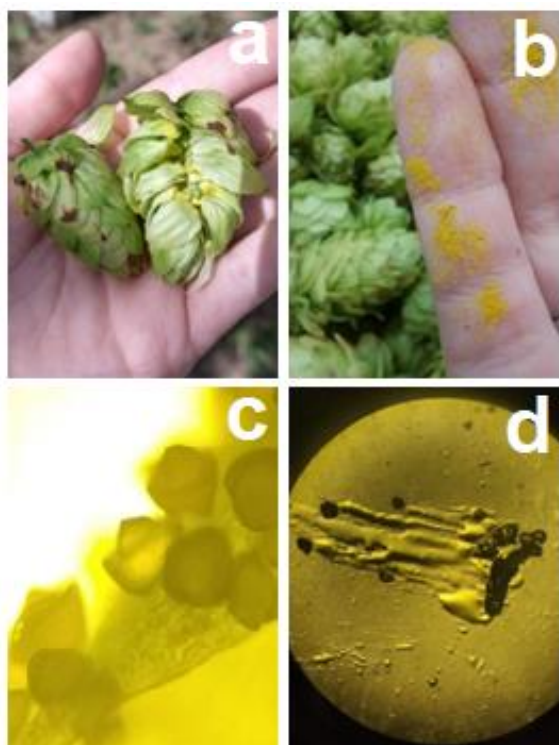
isso, essa matéria-prima era exclusivamente importada.

Felizmente, na última década, o Brasil viu florescer seus próprios campos de lúpulo, introduzindo mudas certificadas em plantações legais (Jornal o Dia, 2023). Principalmente nos estados do Sul e Sudeste, diversas variedades adaptadas ao clima brasileiro têm se destacado, tais como *Comet*, *Cascade*, *Saaz*, *Zeus* e *Chinook*, dentre outros. Segundo o Mapa do Lúpulo Brasileiro (Aprolúpulo, 2023) até 2023 foram cadastrados 114 produtores, espalhados em, aproximadamente, 112 hectares, contendo mais de 230 mil plantas e produzindo 88 toneladas desta flor. Esse avanço marca não apenas uma evolução no cenário agrícola nacional, mas também uma expansão significativa na produção de ingredientes cervejeiros de alta qualidade.

Assim, o objetivo deste trabalho foi a quantificação dos α e β -ácidos presentes nas amostras estudadas utilizando a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC – *em inglês*) como método de referência.

Os resultados não apenas ajudam a ter uma compreensão mais profunda das características dessas matérias-primas em solo brasileiro, mas também fornecem informações valiosas sobre a potencialidade de variedades de Lúpulo, como o *teamaker*, para outras áreas do conhecimento, tais como, saúde, cosmetologia, entre outras.

Figura 1: (a) Lúpulo aberto; (b) Glândulas de lupulina; (c) e (d) Glândulas de lupulina no microscópio óptico (ampliação de 40x).



2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para realizar as análises de α e β -ácidos em amostras de lúpulos por HPLC foi utilizada a metodologia desenvolvida por Danenhower *et al.* (2008), com adaptações.

2.1. OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE LÚPULO

As amostras utilizadas para análise de α e β -ácidos por HPLC foram as seguintes: Flor (material fresco) variedades *Nugget* (A1), *Cascade* (A2) e *Columbus* (A3) cedidas pelo Pátio de Lúpulo Experimental (HopES) produzidos em Matilde – ES (colheita em 06/23); Flor (material seco) variedades *Zeus* (A4) e *Teamaker* (A5) cedidas pelo viveiro Ninkasi produzidas em Teresópolis - RJ (colheita em 05/2023); Flor (material seco) variedades *Polaris* (A6) e *East Rent Golding* (A7) provenientes do Estado de Santa Catarina; Flor (material fresco)

variedades *Cascade* (A8) e *Comet* (A9) cedidas pelo Campo Experimental de Lúpulo em Viana – ES (colheita em 05/2023) (Figura 2a, b).

Figura 2: (a) Campo Experimental em Viana, ES; (b) amostra de Lúpulo colhido;



Fonte: Autor, 2023.

2.2. PREPARO DAS AMOSTRAS

Após a colheita, o lúpulo apresenta uma quantidade significativa de umidade, o que pode favorecer o crescimento de microrganismos indesejados, deterioração e degradação dos compostos químicos desejados, como α e β -ácidos. Portanto, a secagem em estufa com fluxo de ar foi realizada por 24 horas a 40 °C, para reduzir a umidade das flores de lúpulo (aproximadamente 70% da massa inicial). O objetivo foi atingir um nível de umidade aceitável para armazenamento seguro a longo prazo, que geralmente fica em torno de 8% a 10%. Após a secagem, as amostras foram estocadas à vácuo, sob o abrigo da luz e em temperaturas baixas como indicado por Veríssimo *et al.*, 2022. A secagem cuidadosa e controlada ajuda a preservar a integridade dos compostos voláteis e a minimizar a oxidação (Aprolúpulo, 2023).

As amostras provenientes do Viveiro Ninkasi (A4 e A5) e do Estado de Santa Catarina (A6 e A7) foram recebidas já secas e embaladas a vácuo.

2.3. EXTRAÇÃO DOS ÁCIDOS

A extração dos α e β -ácidos foi conduzida empregando uma solução composta por 85% de metanol (grau HPLC) e 15% de água ultrapura acidificada com 0,025% de ácido fórmico. Para isso, pesou-se 1,00 g de lúpulo, anteriormente macerado com auxílio de grau e pistilo, aos quais foram adicionados 30 mL da solução extratora. A mistura foi agitada mecanicamente durante uma hora a 27 °C, sob o abrigo da luz, em erlenmeyers com tampa.

Posteriormente, realizou-se filtração com papel filtro qualitativo, transferindo-se os filtrados obtidos para balões volumétricos de 50 mL e completando o volume com a solução extratora (Danenhower *et al.*, 2008).

2.4. ANÁLISES POR HPLC

As análises cromatográficas foram realizadas em um sistema cromatográfico da marca Shimadzu (modelo LC-20AT), equipado com uma coluna de fase reversa C-18 Shimadzu (100 mm de comprimento x 0,3 mm de diâmetro interno). O sistema estava acoplado a um detector espectrofotométrico UV/visível Shimadzu (modelo SPD-M20A), conectado por interface (CBM-20A) a um microcomputador para processamento dos dados. As condições de análise empregadas compreendiam um fluxo de 0,8 mL min⁻¹, com uma fase móvel constituída por 85% de metanol (grau HPLC) e 15% de água ultrapura acidificada com 0,025% de ácido fórmico. O volume de amostra injetado foi de 20 μ L. A temperatura ambiente foi mantida durante as análises e a detecção foi realizada em comprimento de onda de 326 nm (Danenhower *et al.*, 2008, com adaptações).

Para a construção da curva analítica utilizou-se 300 mg do padrão ICE-3 (*International Calibration Extract 3*) diluídos para 50 mL de metanol acidificado

com 0,025% v/v de ácido fórmico (Solução Estoque - 6 mg mL⁻¹).

O ICE-3, fornecido pela *American Society of Brewing Chemists* (ASBC) é composto por uma mistura de 13,88% de cohumulona, 30,76% de ad+n-humulona, 13,44% de colupulona e 10,84% de ad+n-lupulona.

Foram empregadas as seguintes concentrações de ICE-3 para a construção das curvas analíticas: 0,26 mg mL⁻¹ (2,2 mL da solução estoque completados com metanol acidificado em um balão de 50 mL), 0,60 mg mL⁻¹; 0,96 mg mL⁻¹; 1,38 mg mL⁻¹ e 1,68 mg mL⁻¹. Todas as soluções (amostras e padrões) foram submetidas à filtração usando um filtro de seringa de nylon com porosidade de 0,45 μ m e dispostas em vials para em seguida serem analisadas por HPLC.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O isômero principal dentre os α -ácidos encontrados no lúpulo (n-humulona, cohumulona e ad-humulona) é a cohumulona, responsável pela formação da iso-cohumulona, via isomerização, durante a fervura do mosto cervejeiro. Segundo Durello *et al.*, 2019, a maior parte do amargor das cervejas é vinculado a cis-iso-cohumulona. As lupulonas (n-lupulona, colupulona, ad-lupulona), por sua vez, não influenciam de forma significativa para o amargor, contudo, suas importantes atividades biológicas tornam a quantificação desta classe de compostos importante também.

Geralmente, as humulonas e lupulonas mostram uma afinidade por fases estacionárias apolares, porém com tempos de retenção distintos. É a partir dessa diferença no tempo de retenção que é possível separar, identificar e quantificar os ácidos α e β (Degani, 1998).

3.1. CURVAS ANALÍTICAS (ICE-3)

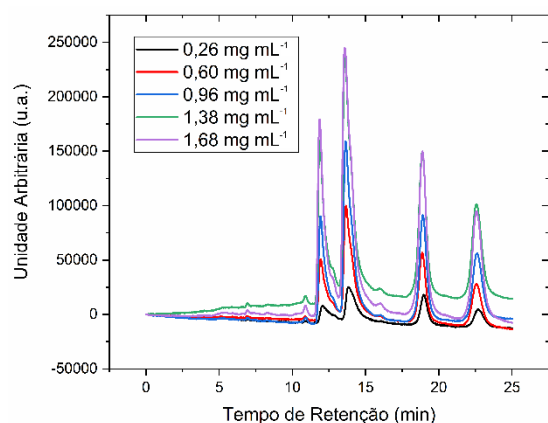
Ao construir curvas analíticas com concentrações conhecidas do padrão ICE-3, pode se criar uma relação direta entre a quantidade do(s) composto(s) presente(s) e a resposta do detector (Área do pico). Ao calcular as áreas dos picos das amostras reais e usá-las na equação da reta construída a partir da curva analítica, podemos quantificar a concentração de α e β -ácidos presentes nas amostras. A Tabela 1 apresenta as equações construídas para cada composto seguido de seu coeficiente de correlação (r^2).

Tabela 1: Equações da reta e coeficientes de correlação obtidos para cada composto de interesse.

Compostos	Equação da reta	r^2
Cohumulona	$3 \times 10^7 x - 160228$	0,9845
Ad+n-humuona	$3 \times 10^7 x - 237677$	0,9908
Colupulona	$3 \times 10^7 x - 16075$	0,9755
Ad+n-lupulona	$3 \times 10^7 x - 29675$	0,9773

A Figura 3 apresenta os cromatogramas obtidos para cada concentração utilizada na construção das 4 curvas analíticas.

Figura 3: Cromatogramas sobrepostos para as diferentes concentrações do padrão ICE-3.



Fonte: Autor, 2023.

3.2. QUANTIFICAÇÃO DOS α E β -ÁCIDOS DAS AMOSTRAS

Foram atribuídos números de 1 a 9 às variedades de lúpulo. O resultado da quantificação dos α -ácidos (cohumulona e ad+n-humulona) e dos β -ácidos (colupulona e ad+n-lupulona) das amostras estão dispostas nas tabelas 2 e 3, assim como seus respectivos cromatogramas (Figura 4).

Tabela 2: Quantificação dos α -ácidos (cohumulona, ad+n-humulona) das 9 variedades de lúpulo e percentual de cohumulona de acordo com Heale (2016).

Variedade	α - ácidos		Cohum. (%)*
	Cohum. (%)	ad+n-hum.(%)	
A1 Nugget	15,45	39,66	9,5 – 14
A2 Casc	5,92	14,99	4,5 – 8,9
A3 Colum	8,58	20,54	14 – 18
A4 Zeus	14,89	31,39	13 – 17,5
A5 Tea	0,80	0,68	0,6 – 1,8
A6 Polaris	6,46	12,62	18 – 23
A7 East	0,64	1,53	4 – 6
A8 Casc	7,16	17,83	4,5 – 8,9
A9 Comet	14,69	30,47	9,4 – 12,4

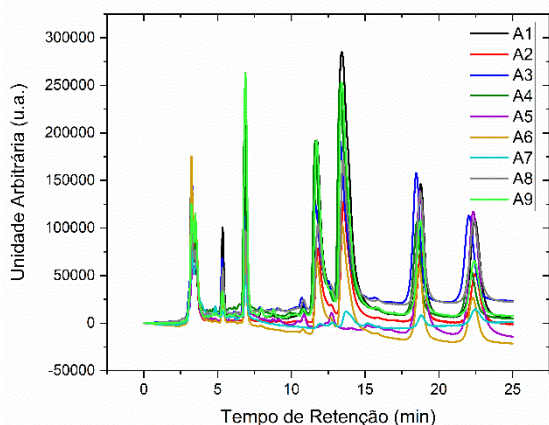
*Valores obtidos em Heale (2016).

Tabela 3: Quantificação dos β -ácidos (Colupulona e ad+n-lupulona) das 9 variedades de lúpulo e percentual de colupulona de acordo com Heale (2016).

Variedade	β -ácidos		Colup (%)*
	Colup(%)	ad+n-lup(%)	
A1 Nugget	12,38	11,39	4,2 – 5,8
A2 Casc	6,79	5,29	3,6 – 7,5
A3 Colum	11,98	9,69	4,5 – 6
A4 Zeus	9,32	6,05	4 – 6,5
A5 Team	12,51	14,35	5,3 – 13,2
A6 Polaris	5,75	4,66	4,5 – 6
A7 East	0,95	1,59	2 – 3
A8 Casc	10,40	9,43	3,6 – 7,5
A9 Comet	8,81	6,27	3 – 6,1

*Valores obtidos em Heale (2016).

Figura 4: Cromatograma sobrepostos de todas as variedades analisadas.



Fonte: Autor, 2023.

A diversidade nas concentrações de α e β -ácidos, classes de compostos químicos cruciais para o perfil gustativo da cerveja, é resultado de uma interação complexa entre diversos fatores (variedade, condições de cultivo, clima, exposição a luz solar, etc). É exatamente por esse motivo que análises realizadas com amostras nacionais e comparação de seus resultados com amostras internacionais torna-se tão importante.

A variedade de lúpulo, por exemplo, exerce uma influência significativa na construção de receitas cervejeiras. Cada uma delas apresenta características únicas, com algumas sendo conhecidas por seus elevados níveis de α -ácidos, conferindo amargor intenso, enquanto outras se destacam por proporções distintas entre ácidos α e β -ácidos, moldando o perfil sensorial de forma única.

Podemos citar como grandes exemplos de lúpulo de amargor as variedades *Columbus* (A3), por seu alto teor de α -ácidos, conferindo amargor pronunciado, além de notas resinosas e cítricas, e a variedade *Nugget* (A1), que também oferece amargor intenso e notas verdes e herbais. Por outro lado, variedades como o *Cascade* (A2 e A9) proporcionam amargor moderado, além de contribuir com aromas florais, cítricos e de toranja. Uma

variedade que merece destaque especial é *Teamaker*, conhecida como um lúpulo sem amargor e com propriedades biológicas interessantes (Schaeffer *et al.*, 2023), uma vez que apresenta valores elevados de β -ácidos (5,4-13,2%) e teores muito baixos de α -ácidos (0,6-1,8%) (Heale, 2016).

As condições de cultivo emergem como outro determinante essencial na composição dos ácidos. O solo, o clima e outros fatores ambientais interagem de maneira intrincada, afetando o desenvolvimento dos lúpulos. A quantidade de luz solar, temperatura, umidade e a composição do solo são variáveis que podem ser cuidadosamente ajustadas para otimizar as propriedades desejadas nos lúpulos. No Brasil, como a incidência de luz solar varia, em torno de 12 horas/dia, faz-se necessário a complementação de horas de luz com sistemas artificiais (3 até 5 horas a mais). Este fator é determinante para o crescimento dos cones.

Além disso, as nuances climáticas específicas de cada região de cultivo têm um impacto marcante. Variações sazonais, como temperatura e precipitação, podem influenciar significativamente o crescimento e a maturação dos lúpulos, refletindo-se nas concentrações finais de α e β -ácidos. Essa diversidade climática entre regiões produtoras contribui para a riqueza de opções disponíveis para os cervejeiros, que podem explorar uma variedade de lúpulos para criar cervejas distintas em termos de amargor e perfil de sabor (Lahnel & Fagherazzi, 2019). Um ponto positivo já notado nos cultivos espalhados pelo Brasil é que a temperatura média mais alta e a falta de estações do ano bem definidas faz com que as plantas floresçam de 2 a 3 vezes ao ano, condição contrária aos países de onde a planta é originária, pois neles, devido a um inverno rigoroso e verão de 3 meses, a planta floresce apenas uma vez (Aprolúpulo, 2023).

A comparação meticulosa entre os dados obtidos nos experimentos e as informações documentadas na literatura

(Heale, 2016) permite uma análise abrangente das características específicas de cada variedade de lúpulo. Essa abordagem facilita a identificação de variedades que não apenas atendem, mas muitas vezes superam as expectativas em termos de concentrações ideais de ácidos alfa e beta.

Quando os cervejeiros utilizam valores de “ α -ácidos” para calcular o IBU (índice de amargor de uma cerveja) de suas receitas, os dados encontrados nos rótulos dos lúpulos comercializados e interessantes para eles são referentes a cohumulona. Neste caso, podemos perceber que as amostras **A1**, **A4** e **A9** apresentam os maiores valores, confirmando suas utilizações como lúpulos de amargor. Comparando estes resultados com dados da literatura, as amostras **A1** e **A9**, apresentaram valores ligeiramente elevados de cohumulona, enquanto a **A3**, um valor mais baixo, já a amostra **A4** encontra-se dentro da faixa descrita na literatura (Heale, 2016).

As amostras **A6** e **A7**, provenientes do Estado de Santa Catarina apresentaram seus teores de α e β -ácidos muito abaixo do descrito pela literatura. Isso ocorreu provavelmente devido a forma como elas foram processadas no pós-colheita. Observando a Figura 4, estas duas amostras apresentam picos significativos (entre 2,5 e 7,5 minutos de corrida) dos compostos provenientes da oxidação dos α e β -ácidos (humulinonas e huluponas) (Taniguchi *et al.*, 2013).

Já para β -ácidos ou colupulonas, as variedades **A1**, **A3**, **A4**, **A8** e **A9**, apresentaram valores acima que os da literatura. As variedades **A2**, **A5** e **A6** obtiveram valores dentro do esperado e a variedade **A7** apresentou valor abaixo que o da literatura.

Uma variedade de lúpulo pouco conhecida, mas que chamou a atenção neste estudo foi a **A5** (*teamaker*) que apresentou valores elevados de colupulonas (12,51%(m/m)), confirmando sua possível utilização como

agente antimicrobiano em contraponto ao seu baixo poder amargor, contendo apenas 0,80%(m/m) de cohumulona. Estas características tornam esta variedade interessante para outras áreas do conhecimento, tais como saúde, farmacologia, cosmetologia, etc (Betancur *et al.*, 2023; Pereira *et al.*, 2022).

5 CONCLUSÃO & PERSPECTIVAS

Os resultados obtidos nesta análise das variedades de lúpulo em relação aos teores de α e β -ácidos refletem a complexidade, singularidade e diversidade para cada variedade de lúpulo. Vale ressaltar que as variedades **A2** *Cascade* e **A5** *Teamaker* se destacaram ao alcançar resultados satisfatórios de cohumulona e colupulona, apresentando 5,92% (m/m), 0,80%(m/m) e 6,79% (m/m), 12,51% (m/m), respectivamente. Já as variedades **A1** *Nugget* e **A9** *Comet* superando os teores para ambos os ácidos (15,45% / 12,38% e 14,69% / 8,81%, respectivamente). Os dados coletados sugerem que os lúpulos cultivados no Espírito Santo e outras partes do Brasil não apenas atendem, mas superam as expectativas, revelando-se não apenas como um ingrediente de alta qualidade, mas também como uma *commodity* de destaque, desenhando um horizonte promissor para a indústria cervejeira brasileira.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Adésio Ferreira, professor da UFES Campus Alegre por disponibilizar a central analítica.

A Prefeitura de Viana - ES e aos Viveiros Ninkasi e HopES pelos lúpulos doados para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao IFES Campus Vila Velha e ao Laboratório de Análise de Cerveja e Matérias Primas (LACEMP) pelo fomento do presente trabalho.

REFERÊNCIAS

- ALMAGUER, C.; SCHONBERGER, C.; GASTI, M.; ARENDT, E. K.; BECKER, T. (2014). *Humulus lupulus* – a story that begs to be told. A review. Institute of Brewing & Distillin.
- ALMEIDA, A. R.; MACIEL, M. V. O. B.; GANDOLPHO, B. C. G.; MACHADO, M. H.; TEIXEIRA, G. L.; BERTOLDI, F. C.; NORONHA, C. M.; VITALI, L.; BLOCK, J. M.; BARRETO, P. L. M. (2021). 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. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 79(2), 156-166.
<https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1795586>.
- ALMEIDA, A. R.; MACIEL, M. V. O. B.; MACHADO, M. H.; BAZZO, G. C.; ARMAS, R. D.; VITORINO, V. B.; VITALI, L.; BLOCK, J. M.; BARRETO, P. L. M. (2019). Bioactive compounds and antioxidant activities of Brazilian hop (*Humulus lupulus L.*) extracts. *International J. Food Sci. Technol.*, 55(1), 340-347.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.14311>.
- ALONSO-ESTEBAN, J. I.; PINELA, J.; BARROS, L.; ĆIRIC, A.; SOKOVIC, M.; CALHELHA R. C.; TORIJA-ISASA, E.; SANCHEZ-MATA, M. C.; FERREIRA, I. C. F. R. (2019). Phenolic composition and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of hop (*Humulus lupulus L.*) seeds. *Ind. Crops Prod.*, 134, 154–159.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.001>
- Aprolúpulo (2023)
<https://www.aprolupulo.com.br/>
- BEER ANALYTICS, (2024).
<https://www.beer-analytics.com/hops/flavors>
- BETANCUR, M.; LOPEZ, J.; SALAZAR, F. (2023). Antimicrobial activity of compounds from hop (*Humulus lupulus L.*) following supercritical fluid extraction: An overview. *Chil. J. Agric. Res.*, 83, 499-509.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392023000400499>.
- DANENHOWER, T. M.; BAKER, G. A. (2008). HPLC analysis of α - and β -Acids in hops. *J. Chem. Educ.*, 85(7), 954- 956.
<https://doi.org/10.1021/ed085p954>
- DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. (1998). Cromatografia um breve ensaio. *Quím. Nova Esc.*, 7, 21-25.
- DURELLO, R. S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ JUNIOR, S. (2019). Química do lúpulo. *Quím. Nova*, 42,900-919. DOI: 10.21577/0100-4042.20170412
- HEALEY, J. (2016) *The Hops List: 265 beer hop varieties from around the world.* Julian Healey, 1° ed.
- HRNČIČ, M. K.; ŠPANINGER, E.; KOŠIR, I. J.; KNEZ, Ž.; BREN, U. (2019). Hop compounds: extraction techniques, chemical analyses, antioxidative, antimicrobial, and anticarcinogenic effects. *Nutrients*, 11(2), 257-294. doi: 10.3390/nu11020257
- Jornal o Dia (2023)
<https://odia.ig.com.br/teresopolis/2023/06/6655407-produtora-de-teresopolis-se-torna-primeira-certificadora-de-mudas-de-lupulo-no-brasil.html>
- KARABÍN, M.; HUDCOVÁ, T.; JELÍNEK, L.; DOSTÁLEK, P. (2016). Biologically active compounds from hops and prospects for their use. *Comprehensive Rev. Food Sci. Food Saf.*, 15(3), 542-567. DOI: 10.1111/1541-4337.12201
- LAHNEL, N. M.; FAGHERAZZI, M. M. (2019). Manual de Boas Práticas para o Cultivo do Lúpulo – Arolúpulo.

Associação Brasileira de Produtores de Lúpulo.

Technol., 25, e2021093.
DOI:10.1590/1981-6723.09321

Mapa (2024)
<https://www.gov.br/agricultura/pt-br>

PEREIRA, O. R.; SANTOS, G.; SOUZA, M. J. (2022). Hop By-Products: Pharmacological Activities and Potential Application as Cosmetics. *Cosmetics*, 9, 139.
<https://doi.org/10.3390/cosmetics9060139>

SILVA, C. T. D. (2019). Caracterizações químicas dos primeiros cultivares de lúpulo (*Humulus lupulus L.*) produzidos no Brasil. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e de Saúde, Alegre - ES.

SCHAEFFER, G.; RIBEIRO J. S.; FARIAS, C. C. (2023). Avaliação da atividade Antioxidante *in vitro* das variedades de lúpulo Cascade e Teamaker cultivados no Brasil. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biomedicina) - Instituto Federal do Espírito Santo, Vila Velha – ES.

SCHÖNBERGER, C.; KOSTELECKY, T. (2011). 125th anniversary review: the role of hops in brewing. *J. Inst. Brew.*, 117(3), 259-267.

TANIGUCHI, Y.; MATSUKURA, Y.; OZAKI, H.; NISHIMURA, K.; SHINDO, K. (2013). Identification and quantification of the oxidation products derived from α -Acids and β -Acids during storage of hops (*Humulus lupulus L.*). *J. Agric. Food Chem.*, 61(12), 3121-3130.
<https://doi.org/10.1021/jf3047187>

VERÍSSIMO, L. S.; FERREIRA, A.; PINHEIRO, P. F.; RIBEIRO, J. S. (2022). Chemometric studies of hops degradation at different storage forms using UV-Vis, NIRS and UPLC analyses. *Braz. J. Food*