



UnB

Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**AVALIAÇÃO DO LÚPULO (*Humulus lupulus* L.) CULTIVADO NO DISTRITO
FEDERAL PARA USO CERVEJEIRO**

BERNARDO PONTES GUIMARÃES

Orientadora: Prof.^a Dra. Grace Ferreira Ghesti

Brasília, DF

2021

**AVALIAÇÃO DO LÚPULO (*Humulus lupulus* L.) CULTIVADO NO DISTRITO
FEDERAL PARA USO CERVEJEIRO**

Bernardo Pontes Guimarães

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química da Universidade de Brasília como
parte do requisito para obtenção do título
de Mestre em Química.

Orientadora: Prof.^a Dra. Grace Ferreira Ghesti

Brasília, DF

2021

Dedico este trabalho aos meus pais, Alberto e Teresa Cristina.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram com meu crescimento pessoal e profissional. Em especial, agradeço aos meus familiares, amigos e colegas de laboratório.

Sou muito grato à minha família, que sempre me apoiou nos estudos. Um especial agradecimento aos meus pais, que sempre me deram todo amparo e me apoiaram nas escolhas que fiz. Com toda certeza, vocês são a minha maior motivação para alcançar os meus objetivos. Meus irmãos, Felipe e Paula, à minha cunhada Thaísa e sobrinha Diana pelo suporte, puxões de orelha e momentos de descontração e felicidade.

Aos meus colegas de laboratório: Isabella Cenci que, apesar da distância e fuso horário, sempre me ofereceu suporte e que se tornou uma grande amiga; Viviane Brasil e Rafael Werneburg, sou muito grato por todo apoio ao longo desse período, foram vários momentos de diversão, alegria, estresse, broncas, alguns lanches e até companhia em congressos. Eu não teria chegado até aqui sem o companheirismo de vocês. Munique, Luis Eduardo, e Carlos Müller obrigado por contribuírem com seus conhecimentos, eles foram grandemente apreciados.

A meus amigos, Julia Caliman pelos momentos de angústia durante o mestrado; e Zambrotti por me auxiliar com os desestresses. Obrigado pela compreensão, pelos momentos de distração, pelo amparo, por me apoiarem, e até mesmo pelos puxões de orelha e impulsionamento para que eu sempre desse o meu melhor.

Um imenso agradecimento aos meus professores, desde os do Ensino Fundamental, passando pelo Ensino Médio até os do Ensino Superior e Mestrado. Tive a honra de ter aulas com diversos professores que tanto me ensinaram, auxiliaram e me acompanharam nesse processo. Agradeço em especial à minha professora do Colégio Sigma, Natália Rocha, e aos professores doutores da UnB, Alexandre Fonseca, Ângelo Machado, Ingrid Távora e tantos outros que sempre me mostraram toda a beleza da Química.

À minha orientadora, Profa. Dra. Grace Ghesti, agradeço por todo o suporte, paciência, conhecimento e conversas. Eu admiro sua vontade e disponibilidade, sempre fazendo diversas coisas ao mesmo tempo e, ainda assim, conseguindo encaixar um novo projeto em sua rotina. Agradeço pela motivação que você transmite e o quanto me impulsionou para produzir e divulgar ciência também em língua portuguesa.

À Central Analítica do Instituto de Química, da Universidade de Brasília, obrigado pelo auxílio durante as várias análises realizadas.

À Perita Criminal Bárbara Alves Lima e à Seção de Perícias e Análises Laboratoriais (SPAL), do Instituto de Criminalística da Polícia Civil do Distrito Federal, meu muito obrigado pela disponibilidade e auxílio com as análises de cerveja.

Ao Laboratório de Controle e Qualidade de Fármacos e Medicamentos e ao Laboratório de Tecnologia de Medicamentos, Alimentos e Cosméticos, da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, sou grato pelo auxílio com a análise de extração de óleos essenciais.

À Escola Superior de Cerveja e Malte e à Universidade de Brasília meu reconhecimento pelas oportunidades e conhecimentos adquiridos. Duan Ceola, você é um grande profissional e professor. Muito obrigado pelos ensinamentos que foram cruciais para o andamento deste trabalho.

Agradeço ainda ao CNPq, pela concessão da bolsa para a realização desta pesquisa, e à CAPES, pelo apoio educacional e acesso a periódicos.

Aos demais amigos e amigas, familiares, meu muito obrigado por toda cerveja apreciada e pelos momentos de alegria e descontração.

“I was always interested in big problems, and when I see a big problem, I say:
‘Let us try to solve it, let’s try to think a solution!’”
Christopher Pissarides

RESUMO

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é a planta cuja inflorescência é utilizada pela indústria cervejeira para fornecer aromas e amargor à bebida, sendo 98% desse insumo importado. A planta é dioica e floresce uma vez ao ano em países de clima temperado, onde tradicionalmente é cultivada. Recentemente, todavia, começou a ser cultivada no Brasil apresentando múltiplas florações ao ano. Verificou-se que para se gerar uma nova variedade demora cerca de dez anos e, para protegê-la, na maioria dos países, são apenas exigidas características botânicas. O Brasil, por ter múltiplas florações, pode reduzir esse período em 33%. Alguns países protegem as cultivares por meio de Designação de Origem Protegida (DOP) ou Indicação Geográfica Protegida (IGP). Em vista disso e do possível impacto positivo na economia, provocado pela comercialização de variedades de lúpulo produzidas nacionalmente, este trabalho caracterizou físico-quimicamente o lúpulo e a cerveja produzida com *dry hopping* (DH). Comparou-se as variedades Cascade (CasCe) e Chinook (ChiCo) cultivadas no Distrito Federal com os seus pares comerciais cultivados nos Estados Unidos (CasCo e ChiCo, respectivamente), analisando-se seus teores de alfa-ácido, de polifenóis e de óleos essenciais conforme metodologia da EBC. O lúpulo Cascade nacional apresentou propanoato de isoamila e 6-metil-heptanoato de metila, ésteres com aromas que remetem a abacaxi, além de dl-limoneno, com aroma cítrico. As duas variedades cultivadas em solo brasileiro apresentaram propanoato de isoamila, beta-pineno e decenoato de metila que não foram observadas nos *pellets* americanos. As cervejas com DH foram caracterizadas em relação à densidade, teor alcoólico, polifenóis, voláteis e análise sensorial. A realização de DH proporcionou maior teor alcoólico, diminuição de oxigênio dissolvido e aumento de polifenóis totais. Apesar de presente em todas as amostras de lúpulo *in natura*, apenas a cerveja com CasCo teve beta-mirceno identificado na composição de seus voláteis, enquanto apenas as variedades brasileiras apresentaram di-hidromircenol e farnesano. A cerveja com DH de ChiCe apresentou derivados de farnesol. Quanto às suas propriedades, os nossos cones de lúpulo podem não apenas substituir seus pares comerciais, como indicam possuir características botânicas e organolépticas intrínsecas do local de cultivo (*terroir*), agregando ainda mais valor ao seu uso, em especial como *dry hopping*. Com o aumento do cultivo da espécie, o Brasil apresenta um cenário promissor, podendo vir a ser exportador de lúpulo e de suas variedades nos próximos anos.

Palavras-chave: Cerveja. Cultivar. Propriedade intelectual. Tecnologia cervejeira.

ABSTRACT

Hop (*Humulus lupulus* L.) is the plant which flowers (cones) is used by the brewing industry to give aromas and bitterness to beer, 98% of this input is imported. Hop is dioecious and it flowers annually in cold climate countries, where it is traditionally cultivated. It has been recently cultivated in Brazil for the last few years with multiple flowering each year. It takes about ten years to develop a new variety, and in most countries, it requires only botanical characteristics to protect them. As Brazilian cultivated hops have multiple flowering, this period could be shortened up to 33%. Some countries also have their cultivars protected by Protected Designation of Origin (PDO) or Protected Geographical Indication (PGI). In light of this and of the positive impact on the Brazilian economy caused by Brazilian hop varieties and commercialization, this work aims to physicochemically characterize hop cones or pellets and dry hopped beers with them. The cones from hop varieties cultivated in Brazil were Cascade (CasCe) and Chinook (ChiCe) were compared to pellets from the USA regarding the alpha acid, polyphenols and essential oils content, following the EBC methodology. Isoamyl propanoate and 6-methylheptanoate were identified in Brazilian Cascade essential oils, esters which aroma reminds of pineapple, dl-limonene, which has a citric aroma, was also identified. Isoamyl propanoate, beta-pinene and methyl decanoate were not identified in either US pellet but were identified in both CasCe and ChiCe. Dry hopped (DH) beers were characterized regarding their density, ABV, polyphenols, volatiles and sensorial analysis. Dry hopping promoted a higher ABV, lower dissolved oxygen and higher polyphenol content. Even though beta-myrcene was identified in all hop samples, only beers dry hopped with CasCo had it in its volatiles. On the other hand, CasCe and ChiCe presented dihydromyrcenol and farnesan, ChiCe also had some farnesol-derived molecules. Brazilian hops not only have similar content to their commercial counterparts but can also substitute them and they even displayed some botanical and organoleptic characteristics inherent to their growing place (terroir), adding more value to their use, especially in dry hopping. As hop cultivation increases in Brazil, the country has a promising potential of becoming a hop and hop variety exporter soon.

Keywords: Hops. Cultivar. Intellectual Property. Brewing technology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ilustração do fluxograma da produção de cerveja.	3
Figura 2 – Ilustração de processo de fabricação de cerveja com destaque aos pontos mais comuns de adição de lúpulo e seus nomes.	6
Figura 3 – Produção anual do Brasil (quadrado) e mundial (círculo) de cerveja em bilhões de litros entre 2009 e 2017.	8
Figura 4 – Mapa mundi com destaque em amarelo para os 15 países com maior produção de cerveja.....	9
Figura 5 – Mapa mundi com destaque para os 15 países com maior produção de lúpulo (verde) e para as regiões compreendidas entre os paralelos 35 e 55 dos hemisféricos norte e sul (amarelo).	11
Figura 6 – Estimativa de área cultivada (laranja) e produção mundial de lúpulo (azul) e alfa-ácidos (cinza) de 2004 a 2018 (estimativa).	12
Figura 7 – Etapas necessárias para produção de novas variedades de lúpulo.	13
Figura 8 – Distribuição dos produtores de lúpulo por estado brasileiro.....	14
Figura 9 – Plantação de lúpulo (<i>Humulus lupulus</i> L.) em treliça no Distrito Federal.....	15
Figura 10 – Principais óleos essenciais de caráter frutado ou oral presentes em cada etapa de produção da cerveja e ponto do processo onde são perdidos.	18
Figura 11 – Estruturas químicas dos alfa-ácidos (cohumulona, humulona, prehumulona, posthumulona, adhumulona e adprehumulona).	20
Figura 12 – Reação de isomerização de alfa-ácidos a iso-alfa-ácidos.	20
Figura 13 – Mecanismo de reação de isomerização de alfa-ácidos a iso-alfa-ácidos.	21
Figura 14 – Fotólise de iso-alfa-ácidos e processo de formação de 3-metilbut-2-en-1-tiol.	22
Figura 15 – Estruturas químicas de beta-ácidos (colupulona, lupulona, prelupulona, postlupulona e adlupulona).	23
Figura 16 – Reações de oxidação de alfa-ácidos a humulinonas e de beta-ácidos a huluponas. Em verde, moléculas presentes no lúpulo e, em laranja, moléculas presentes na cerveja.	24
Figura 17 – Principais pontos de adição de produtos de lúpulo.	26
Figura 18 – Número de cultivares registradas como Direito de Criador de Plantas (liso) ou Patente de Plantas (hachurado) em cada país.	35
Figura 19 – Variedades de lúpulo locais (branca) e internacionais (cinza) cultivadas em cada país.....	36
Figura 20 – Possibilidade de Proteção de Propriedade Intelectual (PI) para lúpulo. Pode haver acúmulo de proteções de PI.	38
Figura 21 – Teor de umidade (% m/m) das amostras com os valores mínimo e máximo indicados (linhas pontilhadas).	39
Figura 22 – Teor de alfa-ácidos (% (m/m)) das amostras de lúpulo e seus erros (barras) com o teor nominal dos lúpulos Cascade (esquerda) e Chinook (direita) comerciais (linhas).	41
Figura 23 – Teor de polifenóis (% (m/m)) nas amostras e seu desvio-padrão (barras) e na literatura (linha pontilhada).	43
Figura 24 – Teor de óleos essenciais presentes nas amostras e teor nominal dos lúpulos Cascade à esquerda, Chinook à direita (linhas contínuas) e mínimos e máximos da flor da literatura (linhas pontilhadas).	44
Figura 25 – Polifenóis totais presentes nas cervejas.	49
Figura 26 – Características gerais das cervejas sem lupulagem a frio (controle, em branco) e com lupulagem a frio utilizando cones de lúpulo da variedade Cascade cultivados no Distrito Federal (verde) e de <i>pellets</i> da mesma variedade provenientes dos Estados Unidos (laranja).	54

- Figura 27** – Análise sensorial dos lúpulos da variedade Cascade cultivados no Brasil (vermelho) e nos Estados Unidos (azul). À esquerda, os aromas dos lúpulos foram representados e à direita, seus principais sabores..... 54
- Figura 28** – Características gerais das cervejas sem lupulagem a frio (controle, em branco) e com lupulagem a frio utilizando cones de lúpulo da variedade Chinook cultivados no Distrito Federal (verde) e de *pellets* da mesma variedade provenientes dos Estados Unidos (laranja). 55
- Figura 29** – Análise sensorial dos lúpulos da variedade Chinook cultivados no Brasil (vermelho) e nos Estados Unidos (azul). À esquerda, os aromas dos lúpulos foram representados e à direita, seus principais sabores..... 56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais enzimas envolvidas na brassagem, seus substratos, produtos e faixas ótimas de atuação.....	4
Tabela 2 – Composição química média de cones de flor de lúpulo secos.....	16
Tabela 3 – Lista de produtos derivados de lúpulo utilizados no mercado cervejeiro com suas principais vantagens e desvantagens.	25
Tabela 4 – Características mínimas necessárias em cada país para registro de nova cultivar, como Direito de Criador de Planta ou Patente de Planta.....	32
Tabela 5 – Índice de estocagem (HSI) e percentual de alfa-ácidos oxidados de cones de lúpulo <i>in natura</i> do Distrito Federal das variedades Cascade (CasCe) e Chinook (ChiCe) e seus pares comerciais em <i>pellet</i> dos Estados Unidos, Cascade (CasCo) e Chinook (ChiCo)..	42
Tabela 6 – Compostos voláteis identificados nos óleos extraídos de lúpulos das variedades Cascade do Distrito Federal (CasCe) e dos Estados Unidos (CasCo) e Chinook do Distrito Federal (ChiCe) e dos Estados Unidos (ChiCo). Valores referentes a porcentagem da área de cada pico.....	46
Tabela 7 – Valores de teor alcoólico, extrato original, grau real de fermentação, concentração de O ₂ e de açúcar em cerveja sem <i>dry hopping</i> (controle) e com adição de <i>dry hopping</i> das variedades Cascade do cerrado (CasCe) e comercial (CasCo) e Chinook do cerrado (ChiCe) e comercial (ChiCo).	48
Tabela 8 – Compostos voláteis identificados em cervejas sem lupulagem a frio (controle) e com lupulagem utilizando as variedades Cascade do Distrito Federal (CasCe) e dos Estados Unidos (CasCo) e variedade Chinook do Distrito Federal (ChiCe) e dos Estados Unidos (ChiCo).....	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Alfa-ácidos
APROLUPULO	Associação Brasileira de Produtores de Lúpulo
ASBC	Associação Americana de Químicos Cervejeiros (<i>American Society of Brewing Chemists</i>)
CASCE	Cascade cultivado no Distrito Federal
CASCO	Cascade comercial cultivado nos Estados Unidos
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas
CHICE	Chinook cultivado no Distrito Federal
CHICO	Chinook comercial cultivado nos Estados Unidos
DH	Lupulagem a frio (<i>dry hopping</i>)
EBC	Convenção Europeia de Cervejas (<i>European Brewing Convention</i>)
GFR	Grau de Fermentação Real
HHIAA	Hexa-hidro-iso-alfa-ácidos
HSI	Índice de Estocagem de Lúpulo (<i>Hop Storage Index</i>)
IAA	Iso-alfa-ácidos
ICVV	Instituto Comunitário das Variedades Vegetais
IHGC	Convenção Internacional de Produtores de Lúpulo (<i>International Hop Growers' Convention</i>)
PBR	Direito de Cultivadores de Planta (<i>Plant Breeders' Rights</i>)
PDO	Produto de Designação de Origem
PI	Propriedade Intelectual
PIB	Produto Interno Bruto
PIG	Produto de Indicação Geográfica
PP	Patente de Planta
PVPP	Polivinilpolipirrolidona
SAMM	Seleção assistida por marcadores moleculares
THC	Tetrahydrocannabinol
TIAA	Tetra-hidro-iso-alfa-ácidos
UE	União Europeia
UPOV	União para Proteção de Variedades Vegetais
USPTO	Escritório de Marcas e Patentes dos Estados Unidos

GLOSSÁRIO

Açúcares fermentescíveis: carboidratos metabolizados pela levedura, normalmente de cadeia pequena, até três monômeros: glicose, maltose e maltotriose.

Biotransformação: atividade da levedura de transformar os óleos essenciais do lúpulo em outras moléculas, alterando seu aroma.

Brassagem: todo o processo de preparação do mosto para a fermentação.

Cultivar: espécies de plantas que foram melhoradas devido à alteração ou introdução, pelo homem, de uma característica que antes não possuíam. Elas se distinguem das outras variedades da mesma espécie de planta por sua homogeneidade, estabilidade e novidade.

Lupulagem tardia: técnica de adição de lúpulo nos instantes finais da fervura ou durante o *whirlpool* para evitar a volatilização dos aromas do lúpulo.

Lupulagem a frio: também conhecido como *dry hopping*, é a técnica de adição de lúpulo durante a fermentação ou maturação para valorizar seus aromas.

Malte: produto obtido após o grão passar por todo o processo de malteação. Normalmente, o termo malte faz referência ao malte de cevada. Quando feito a partir de outros cereais, leva o nome do cereal junto. Exemplo: malte de trigo.

Mosto: líquido obtido durante o processo de produção de cerveja pela infusão de malte moído em água aquecida.

Óleos essenciais: conjunto de moléculas que conferem aroma, composto principalmente por terpeno, sesquiterpenos, ésteres e seus derivados.

Pellet: forma moída e prensada do lúpulo.

Redemoinho: conhecido como *whirlpool*, é a técnica de recircular o mosto recém-fervido tangencialmente, a fim de depositar materiais particulados de lúpulo e proteínas precipitadas do mosto quente.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS.....	2
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	2
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	2
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	3
3.1 PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE CERVEJA	3
3.1.1 Brassagem.....	3
3.1.2 Fermentação.....	4
3.1.3 Maturação	5
3.2 UTILIZAÇÃO DO LÚPULO NA CERVEJA	5
3.2.1 Mosturação	6
3.2.2 Pré-fervura	6
3.2.3 Início da fervura.....	6
3.2.4 Lupulagem tardia.....	7
3.2.5 Lupulagem a frio	7
3.3 MERCADO CERVEJEIRO	8
3.4 LÚPULO	10
3.4.1 Produção	10
3.4.2 Morfologia.....	15
3.4.3 Composição Química	15
3.4.4 Produtos de lúpulo.....	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1 PROPRIEDADE INTELECTUAL DE CULTIVARES	26
4.2 MATÉRIAS-PRIMAS	27
4.3 ANÁLISES DOS LÚPULOS	27
4.3.1 Umidade	27
4.3.2 Alfa-ácidos.....	27
4.3.3 Índice de estocagem (HSI)	28
4.3.4 Polifenóis.....	28
4.3.5 Óleos essenciais.....	28
4.4 CERVEJA COM LUPULAGEM A FRIO.....	29
4.4.1 Análises com PBA-B BeerAlcolyzer	29
4.4.2 Polifenóis totais	29

4.4.3	Análise de voláteis por CG/EM.....	29
4.4.4	Análise sensorial.....	30
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1	PROPRIEDADE INTELECTUAL DE CULTIVARES	30
5.2	LÚPULO <i>IN NATURA</i>	38
5.2.1	Umidade	38
5.2.2	Alfa-ácidos.....	40
5.2.3	Índice de estocagem de lúpulo (HSI)	41
5.2.4	Polifenóis.....	42
5.2.5	Óleos essenciais.....	43
5.3	CERVEJA COM LUPULAGEM A FRIO.....	47
5.3.1	Análises com PBA-B BeerAlcolyzer	47
5.3.2	Polifenóis totais	48
5.3.3	Análise de voláteis na cerveja com lupulagem a frio por CG/EM	50
5.3.4	Análise sensorial.....	53
6	CONCLUSÕES.....	56
7	REFERÊNCIAS	58
8	ANEXOS.....	64
9	APÊNDICE	69
10	ARTIGOS PUBLICADOS OU ACEITOS PARA PUBLICAÇÃO	81

1 INTRODUÇÃO

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é uma trepadeira, dioica, perene e de florescência anual em países de clima temperado, onde é tradicionalmente cultivada. Na base das inflorescências (cones) da planta feminina localizam-se tricomas e neles, a glândula de lupulina, local onde se encontram suas moléculas de interesse. Nessa glândula há a biossíntese de metabólitos secundários como terpenoides, compostos fenólicos, alfa-ácidos e beta-ácidos, entre outros. Esses compostos estão presentes desde o início da formação do cone, mas são acumulados na sua maturação. A flor do lúpulo é o ingrediente primordial na cerveja porque fornece componentes que melhoram sua estabilidade microbiológica, espuma, sabores e aromas.

Os componentes químicos do lúpulo podem ser utilizados por várias indústrias, dentre elas, a farmacêutica e a cervejeira são as que mais se destacam. A indústria farmacêutica está focada principalmente nos polifenóis, que podem atuar como anticancerígenos, e nos óleos essenciais, para tratamento de aromaterapia. A indústria cervejeira, por outro lado, está mais interessada nos alfa-ácidos, moléculas que reagem a iso-alfa-ácido, que fornecem o amargor característico da cerveja, e os óleos essenciais, classe de moléculas que fornece aromas para cerveja.

O volume produzido mundialmente está relativamente estável nos últimos sete anos, similar à situação brasileira, mesmo com o aumento de micro e pequenas cervejarias, que buscam sensações distintas daquelas oferecidas pelas cervejarias de grande produção. Este mercado é o mais propenso a receber o lúpulo cultivado em solo nacional, tanto pelo seu preço reduzido quanto pelas características físico-químicas e organolépticas que possuem. O setor cervejeiro é responsável por 2% do Produto Interno Bruto (PIB), mais de 37 mil empregos diretos e 2,7 milhões empregos indiretos (SINDICERV, 2019). Este setor vem vivenciando um crescimento de micro e pequenas cervejarias, que produzem cervejas distintas, muitas vezes empregando quantidades maiores de lúpulo por produção.

O Brasil tem grande interesse no cultivo do lúpulo, já que esse se mostra possível de ser cultivado mesmo em climas tropicais, a despeito do que está na literatura. Isso porque além de ser o insumo mais caro do processo produtivo da cerveja, é quase que exclusivamente importado, portanto, seu preço oscila em função da variação cambial. Esse interesse, inclusive, foi verificado em ações governamentais, como a criação de uma linha de crédito de 600 milhões de reais exclusiva para o cultivo do lúpulo, oferecida pelo Governo do Estado do

Rio de Janeiro em parceria com o Banco do Brasil. O maior entrave atual na utilização do lúpulo nacional pelas indústrias é a falta de empresas que realizem o seu beneficiamento.

Os principais produtos feitos a partir da flor é o *pellet*, que consiste na compressão da flor para pastilhas. Isso é desejado por aumentar a densidade do produto, diminuindo o volume ocupado quando estocado, além de evitar sua oxidação ao ser mantido em atmosfera modificada. Alguns dos demais produtos são extratos de óleos essenciais, de iso-alfa-ácidos e de iso-alfa-ácidos reduzidos. O extrato de óleos essenciais e de iso-alfa-ácidos são principalmente utilizados pela indústria cervejeira para padronização de lotes.

Tendo isso em vista, o presente trabalho teve por objetivo a realização de uma prospecção tecnológica sobre a proteção de novas cultivares de lúpulo; além da caracterização dos cones de lúpulo cultivados no Distrito Federal para avaliar sua possível inserção na indústria cervejeira.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Este trabalho tem por objetivo realizar pesquisa sobre proteção de propriedade intelectual relativo ao desenvolvimento de novas cultivares da planta de lúpulo, bem como a caracterização dos cones de lúpulo cultivados no Distrito Federal e da cerveja utilizando-os como lupulagem a frio.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar pesquisa sobre proteção da propriedade intelectual a respeito de variedades de lúpulo;
- Avaliar as características do cone do lúpulo cultivado no Distrito Federal por meio da quantificação de seus principais componentes (umidade, alfa-ácidos, índice de estocagem, polifenóis e óleos essenciais);
- Identificar os principais componentes presentes nos óleos essenciais por utilização de cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG/EM);
- Avaliar as cervejas com lupulagem a frio utilizando esses cones por meio de análises físico-químicas (densidade, extratos finais, teor alcoólico, O₂ e CO₂ dissolvidos, polifenóis etc.) e sensoriais;

- Identificar os principais componentes presentes nos voláteis das cervejas com lupulagem a frio por utilização de cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG/EM).

3 REVISÃO DA LITERATURA

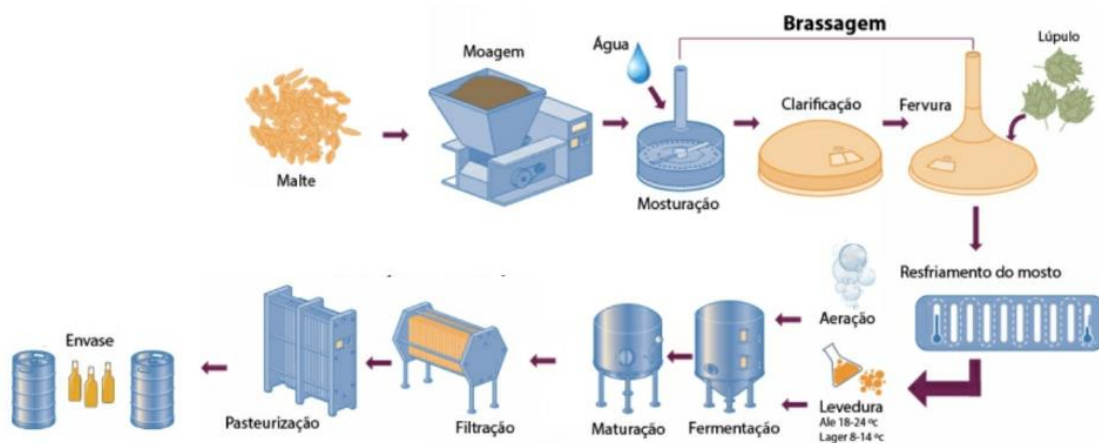
A legislação brasileira, por meio do Decreto nº 9.902, de 8 de julho de 2019, que modifica o artigo 36 do Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, afirma que:

“Cerveja é a bebida resultante da fermentação, a partir da levedura cervejeira, do mosto de cevada malteada ou de extrato de malte, submetido previamente a um processo de cocção adicionado de lúpulo ou extrato de lúpulo, hipótese em que uma parte da cevada malteada ou do extrato de malte poderá ser substituída parcialmente por adjunto cervejeiro” (BRASIL, 2019, p.7).

3.1 PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE CERVEJA

O processo de fabricação de cerveja consiste em duas grandes etapas: uma quente e uma fria. A quente é realizada na sala de brassagem, onde ocorrem a mosturação, filtração e fervura; enquanto a fria é composta pela fermentação e maturação, ilustrada na Figura 1 (WHITE; ZAINASHEFF, 2010; GHESTI *et al.*, 2018).

Figura 1 – Ilustração do fluxograma da produção de cerveja.



Fonte: GHESTI *et al.* (2018) com adaptação.

3.1.1 Brassagem

Mosturação é o nome dado ao processo de cozimento dos insumos amiláceos (aqueles que possuem amido), como o malte de cevada e adjuntos cervejeiros – outros cereais

adicionados e que substituem parcialmente o malte. O objetivo dessa etapa é a otimização da utilização das enzimas presentes no malte de cevada. As principais enzimas presentes e suas temperaturas ótimas de funcionamento estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Principais enzimas envolvidas na brassagem, seus substratos, produtos e faixas ótimas de atuação.

Enzima	Substrato	Principais produtos	Faixa ótima de atuação (°C)
Beta-glucanase	Beta-glucanos		45 – 50
Proteases	Proteínas	Aminoácidos e peptídeos	45 – 52
Beta-amilase	Amido	Maltose	60 – 65
Alfa-amilase	Amido	Dextrinas	67 – 72

Fonte: O'Rourke (2002) e Kunze (2004) com adaptação.

As alfa-amilases são endo-hidrolases, ou seja, quebram a molécula de amido em pontos internos, gerando diferentes produtos. As beta-amilases são exo-hidrolases, atuam no fim das cadeias de açúcares e têm como único produto a maltose, carboidrato fermentescível composto de duas moléculas de glicose. Proteases degradam proteínas a peptídeos ou aminoácidos. Beta-glucanases são hidrolases que degradam beta-glucanos, diminuindo, assim, a viscosidade do mosto (O'ROUKE, 2002; KUNZE, 2004).

Para o melhor funcionamento das enzimas, é feita uma rampa de aquecimento com pausas para que as enzimas de interesse possam atuar. Terminada a rampa, o mosto vai para a clarificação, etapa na qual é filtrado para que os grãos sejam removidos (ESSLINGER, 2009). A filtração é antecedida pelo *mashing off* (termo em inglês que significa o fim da mosturação), que consiste em uma pausa a 78 °C para desnaturação de enzimas. O aquecimento da água a temperaturas acima de 80 °C faz com que algumas substâncias que não são desejadas sejam extraídas dos grãos.

Após a filtração, o mosto filtrado segue para a fervura, momento em que, tradicionalmente, se adiciona o lúpulo e que apresenta duração de pelo menos 60 minutos (DE KEUKELEIRE, 2000), mas pode ser diminuída em 30 a 40%, caso a fervura seja pressurizada (VAN NIEROP *et al.*, 2004). Terminada a fervura, realiza-se um procedimento chamado *whirlpool* (redemoinho em inglês) para que haja a precipitação de complexos proteicos, moléculas maiores (polifenóis) e partes insolúveis do lúpulo. O mosto então é resfriado para inoculação da levedura.

3.1.2 Fermentação

É durante a fermentação que a levedura (fungo unicelular do gênero *Saccharomyces*) atua. Esse microrganismo é responsável por transformar os pequenos açúcares (mono, di e

trissacarídeos) em etanol e outros compostos responsáveis pelos aromas e paladar da cerveja. A temperatura de fermentação depende da levedura utilizada. Leveduras do tipo *lager* (*S. pastorianus*) tipicamente fermentam a temperaturas mais frias (8–12 °C), enquanto leveduras do tipo *ale* (*S. cerevisiae*), a temperaturas mais altas (17–23 °C) (WHITE; ZAINASHEFF, 2010).

Contudo, algumas moléculas que são produzidas na fermentação podem possuir propriedades organolépticas indesejadas, mais conhecidas por seu nome em inglês, *off-flavours*. Seu principal exemplo é o diacetil, que possui um aroma amanteigado, mas há também acetoina, ácidos orgânicos, dentre outros. Para reduzir sua concentração, abaixa-se a temperatura em uma etapa denominada maturação (ESSLINGER, 2009; HOLT *et al.*, 2018).

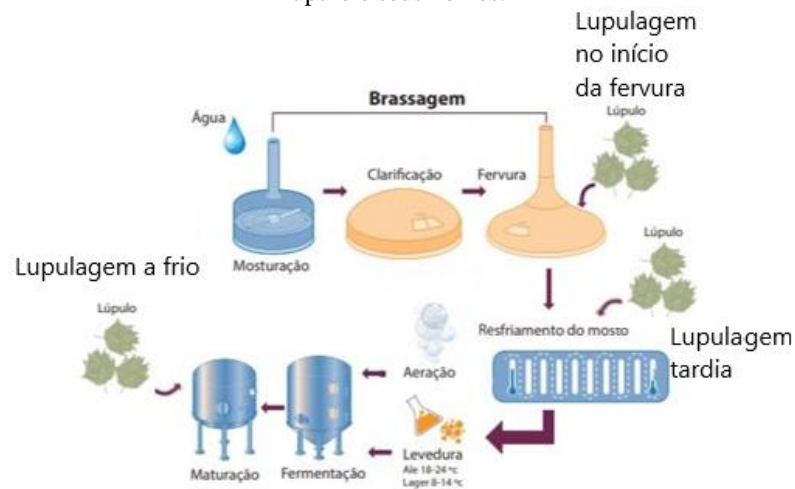
3.1.3 Maturação

A maturação é uma etapa opcional, podendo não ocorrer. Ela consiste na diminuição da temperatura até cerca de zero grau. A baixas temperaturas, há uma maior deposição das leveduras no fundo do fermentador, o que facilita o processo posterior de filtração, bem como o acúmulo de CO₂ e pressurização do tanque. Algumas moléculas, como o diacetil, são convertidas em outras com maior limiar de percepção, melhorando o aroma e sabor da cerveja. Terminado o processo de maturação, a cerveja segue para o envase e está pronta para o consumo (KUNZE, 2004).

3.2 UTILIZAÇÃO DO LÚPULO NA CERVEJA

O lúpulo é de suma importância para a cerveja, não apenas pelo amargor e aroma, mas também pelas estabilidades microbiológica e de espuma, além da formação de turbidez (SCHMIDT; BIENDL, 2017). Pode-se adicionar a flor (pura ou em *pellet*) em diferentes etapas do processo de fabricação da cerveja. Ela pode ser adicionada durante a mosturação, logo após a clarificação, durante a fervura ou durante a fermentação ou maturação, como ilustrado na Figura 2. Contudo, produtos de lúpulo, como seu extrato, podem ser utilizados em todas as etapas do processo, inclusive após a filtração.

Figura 2 – Ilustração de processo de fabricação de cerveja com destaque aos pontos mais comuns de adição de lúpulo e seus nomes.



Fonte: Ghesti (2018) e Gomes *et al.* (2021) com adaptação.

3.2.1 Mosturação

Em 1943, Kolbach e Wilharm estudaram sobre a utilização de lúpulo durante a mosturação. Em seu estudo, identificaram que é um método ineficiente para fornecer amargor e para coagulação proteica durante a fervura (WIETSTOCK; KUNZ; METHNER, 2016). A reação que fornece o amargor ocorre a temperaturas superiores às da mosturação, mas como o lúpulo fica retido na torta de filtração durante a clarificação, a finalidade do seu uso de fornecer amargor não é atingida, motivo pelo qual não é uma prática utilizada atualmente.

3.2.2 Pré-fervura

Pode-se adicionar o lúpulo logo após a clarificação, procedimento mais conhecido por seu nome em inglês, *first wort hopping*. Nessa condição, Preis e Miller observaram uma melhora das propriedades sensoriais e do rendimento de substâncias amargas, contudo a cerveja teve um amargor menor que aquelas com lupulagem durante a etapa de fervura (WIETSTOCK; KUNZ; METHNER, 2016).

3.2.3 Início da fervura

É durante a fervura que ocorrem algumas reações químicas cruciais para as características da cerveja. Durante este processo, há a isomerização de alfa-ácidos a iso-alfa-ácidos, mas ocorrem também outras reações, como a de Maillard, em que a parte redutora de sacarídeos (geralmente mono ou dissacarídeos) reage com aminoácidos presentes no mosto,

provocando um aumento de coloração no mesmo, além da precipitação proteica por associação com polifenóis (KUNZE, 2004).

Nesta etapa do processo, costuma-se usar lúpulos com maior teor de alfa-ácidos para minimizar as quantidades utilizadas no processo. Nesse sentido, a quantidade de óleos essenciais e outros componentes costuma ser negligenciada ou de preocupação secundária na escolha da flor, dado que os compostos voláteis serão eliminados por evaporação (KUNZE, 2004).

3.2.4 Lupulagem tardia

A adição do lúpulo ao mosto pode ser feita também no fim da fervura ou início do *whirlpool*, conhecida como lupulagem tardia. A intenção dessa lupulagem é o menor tempo de contato com a alta temperatura, diminuindo assim a perda dos componentes aromáticos. Cervejas aromáticas costumam ser obtidas pela adição múltipla de lúpulo ou pela sua adição tardia. Os aromas retidos neste processo são mais próximos àqueles presentes na flor (HOLT *et al.*, 2018). Os sabores descritores desse tipo de lupulagem incluem apimentado, nobre, herbal, amadeirado, e até mesmo frutado (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018).

3.2.5 Lupulagem a frio

A produção de cervejas com maior teor de lúpulo e/ou com *dry hopping* tem crescido nos últimos tempos, acompanhando o crescimento das micro e pequenas cervejarias (MARCUSO; MÜLLER, 2018). A lupulagem a frio, mais conhecida por seus termos em inglês *dry hopping* ou *dry-hopping* (DH), é a extração a frio de compostos voláteis e não-voláteis de lúpulo em uma solução alcoólica, sendo uma técnica utilizada por cervejeiros para aumentar o aroma e a estabilidade de sabor da cerveja (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018; VOLLMER; LAFONTAINE; SHELLHAMMER, 2018). Essa extração é otimizada quando utilizados *pellets* ou o pó de lúpulo porque ambos contêm a glândula de lupulina esmagada, aumentando a superfície de contato (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018). Cervejarias de pequenos e grande portes utilizam purgas de CO₂ para otimizar o DH estático e aumentar a taxa de extração de compostos voláteis a um custo mais acessível (GOMES *et al.*, 2021). Por ser uma extração a frio, seus aromas diferem significativamente dos de lupulagem tardia, podendo inclusive ser rico em hidrocarbonetos terpênicos (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018).

A adição de lúpulo nesta etapa do processo faz com que haja uma sobreatenuação, ou seja, quebra de dextrinas presentes na cerveja além do desejado. Kirkpatrick e Shellhammer (2018) em seu estudo verificaram que enzimas degradadoras de amido como limite dextrinases, alfa-amilases, beta-amilases ou amiloglucosidases presentes no lúpulo atuavam nessa quebra. Essa sobreatenuação forneceu um acréscimo de 4,75% de CO₂ e 1,3% de teor alcoólico. Essa variação é superior, inclusive, ao erro permitido de medida da técnica (0,5%) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Como várias moléculas aromáticas presentes no lúpulo sofrem reações durante a fervura, a adição da flor durante a maturação proporciona sabores e aromas similares ao do lúpulo fresco (HOLT *et al.*, 2018). Diferentemente dos lúpulos adicionados nas etapas quentes do processo, que sofrem reações de oxidação e podem ter seus sabores alterados. Os sabores mais usados para descrever lupulagem a frio são: cítrico, floral e pinheiro (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018).

3.3 MERCADO CERVEJEIRO

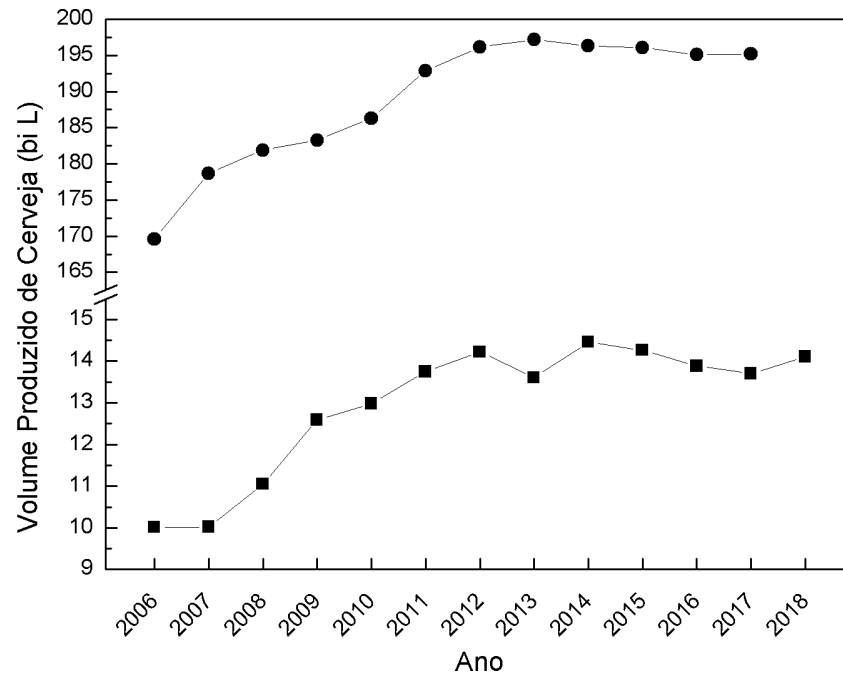
A produção anual de cerveja, a nível global e nacional, está demonstradas na **Erro! Autoreferência de indicador não válida.** É possível perceber que o mercado cervejeiro a nível global está em estável desde 2013, com produção mundial próxima a 196,200 bilhões de litros (BARTH-HAAS GROUP, 2018). Os quinze países com maior produção de cerveja no mundo estão destacados na Figura 4 (KIRIN HOLDINGS COMPANY, 2018).

No que tange ao cenário cervejeiro, o Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja do mundo (CARVALHO *et al.*, 2018; KIRIN HOLDINGS COMPANY, 2018), com produção nacional de 14,1 bilhões de litros em 2018. Estima-se que entre 2,5 e 2,7% desse valor seja referente a cervejarias artesanais independentes, com produção de 352 a 380 milhões de litros nesse mesmo ano de 2018 (ABRACERVA, 2018; LAPOLLI, 2019), ocasião em que a indústria cervejeira foi responsável por 1,8% do Produto Interno Bruto (PIB) (ABRACERVA, 2018).

Acompanhando a tendência observada no mundo, no Brasil esta indústria está em processo de ascensão com crescente número de cervejarias registradas no MAPA (MARCUSO; MÜLLER, 2018). O crescimento do volume de cerveja produzida entre 2007 e 2017 foi de 34,9%, aumentando de 10,38 bilhões de litros em 2007 para 14,00 bilhões de litros em 2017. Esse crescimento fez com o Brasil subisse de sexto para terceiro maior

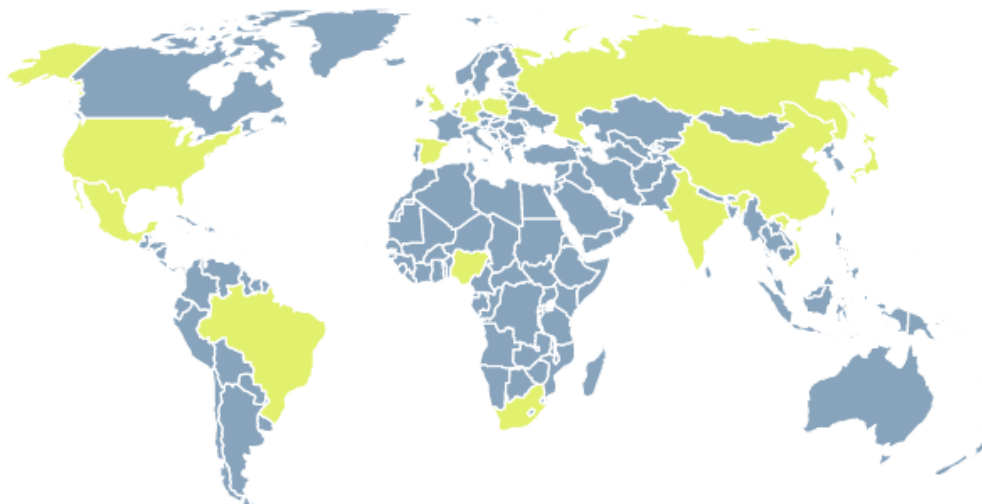
produtor mundial de cerveja (KIRIN HOLDINGS COMPANY, 2018). Consequentemente, há crescimento da demanda dos insumos para fabricação de cerveja.

Figura 3 – Produção anual do Brasil (quadrado) e mundial (círculo) de cerveja em bilhões de litros entre 2009 e 2017.



Fonte: Próprio autor, com dados de IBGE (2019), CervBrasil (2018), Barth-Haas Group (2018) e Lapolli (2019).

Figura 4 – Mapa mundi com destaque em amarelo para os 15 países com maior produção de cerveja.



Fonte: Próprio autor, com dados de Kirin Holdings Company (2018).

Nesse mercado, importa-se a maior parte da cevada usada na produção de malte nacional, bem como do próprio malte de cevada (MÜLLER, 2018), e 98% do lúpulo também vem do exterior (BERBERT, 2017). O lúpulo é o insumo proporcionalmente mais caro na

produção da bebida (DENBY *et al.*, 2018). Somente em 2018, a importação desse insumo alcançou 350 milhões de dólares (MINISTÉRIO DA ECONOMIA, 2019), totalizando mais de um bilhão de reais.

A maioria das novas cervejarias – classificadas como micro ou pequenas, tomando como base sua produção anual – tem como diferencial a elaboração de produtos distintos daqueles de produção em massa (ABRACERVA, 2018). Dentre essas diferenças encontra-se a fabricação de cervejas com maior teor de lúpulo em sua receita, seja adicionado na fervura ou na maturação (BOCQUET *et al.*, 2018).

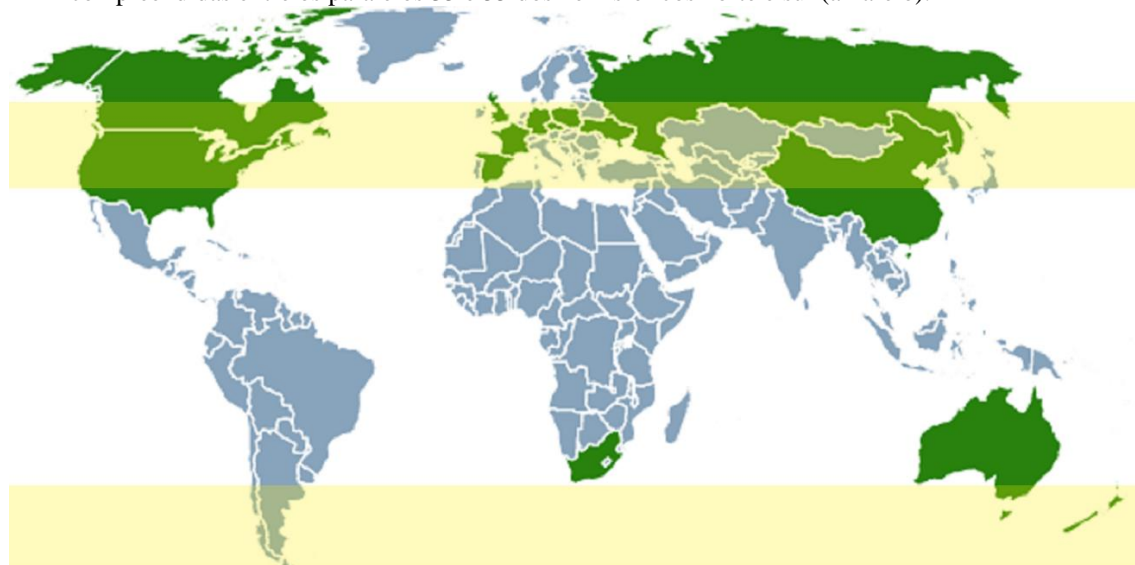
A fim de promover esses diferenciais e acompanhando esse crescimento, já há no País alguns produtores de lúpulo e 33 cultivares de lúpulo registradas no MAPA, mas nenhuma com proteção nacional, ou seja, obtida com métodos de melhoramento vegetal (MAPA, 2020). O Centro-Oeste localiza-se distante da costa, portanto os insumos são transportados por longas distâncias até chegar às indústrias, o que eleva o valor do produto final. Além do mais, por se encontrar no centro do País, uma ampliação no setor industrial da região pode gerar novas oportunidades de trabalho, reduzir o custo com transporte e armazenagem, e ainda aumentar o desenvolvimento econômico da região.

3.4 LÚPULO

3.4.1 Produção

O cultivo de lúpulo ocorre em vários países do globo e sua utilização é quase exclusiva da indústria cervejeira (STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015; BOCQUET *et al.*, 2018). Seu cultivo é feito principalmente em países de clima temperado compreendidos entre os paralelos 35 e 55 de ambos os hemisférios e sua safra é anual (BOCQUET *et al.*, 2018), ilustrado na Figura 5. A área e quantidade a nível global tende a aumentar e principalmente com uma maior produção de lúpulos de aroma (com maior teor de óleos essenciais) (BOCQUET *et al.*, 2018).

Figura 5 – Mapa mundi com destaque para os 15 países com maior produção de lúpulo (verde) e para as regiões compreendidas entre os paralelos 35 e 55 dos hemisférios norte e sul (amarelo).



Fonte: Próprio autor, com dados de Bocquet *et al.* (2018) e International Hop Growers' Convention (2018).

3.4.1.1 PRODUÇÃO NO MUNDO

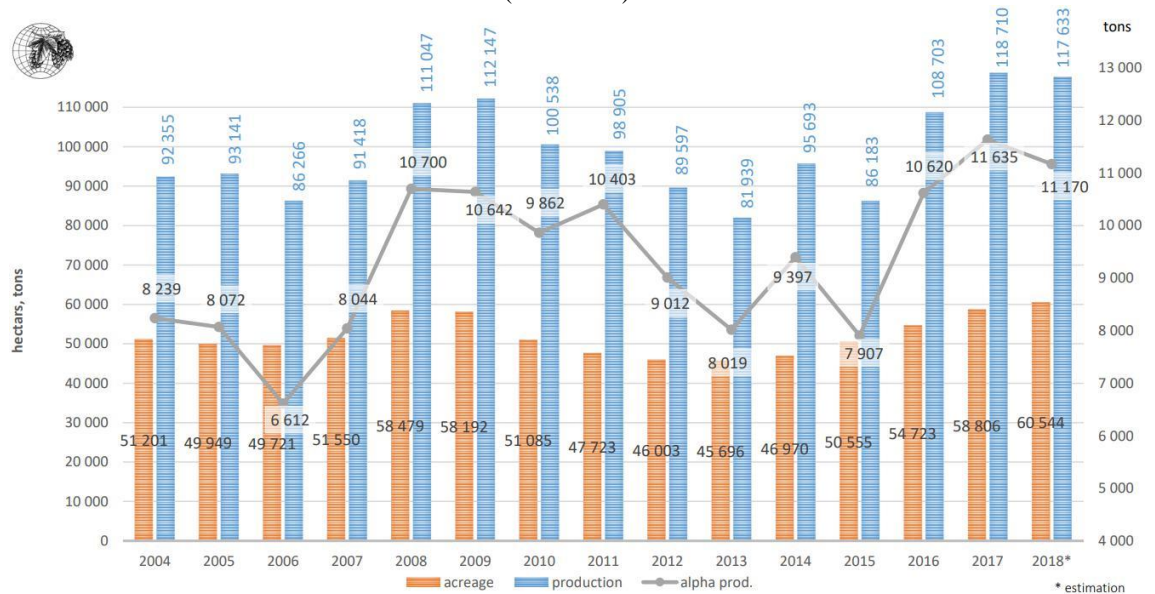
Atualmente, a produção concentra-se no hemisfério norte. Os maiores produtores são Estados Unidos e Alemanha, demais importantes produtores do hemisfério norte são República Tcheca, Polônia, Eslovênia e o Reino Unido (INTERNATIONAL HOP GROWERS' CONVENTION, 2019). No hemisfério sul, a produção é exclusiva dos países mais austrais, como indicado na Figura 5. A Austrália e a Nova Zelândia são os países que mais produzem ao sul da linha do Equador (INTERNATIONAL HOP GROWERS' CONVENTION, 2019). A África do Sul também possui uma produção, ainda que menor, apoiada na iluminação artificial da plantação para que tenha o mesmo fotoperíodo (tempo exposta a luz solar diariamente) dos demais países.

De acordo com os dados da Convenção Internacional de Produtores de Lúpulo (*International Hop Growers' Convention*, em inglês) (2018), entre 2004 e 2018, a área de cultivo oscilou entre 45,7 e 60,5 mil hectares, a produção de lúpulo variou de 81,9 a 118,7 toneladas e a de alfa-ácidos de 6,6 a 11,6 toneladas. A nível global, a produção de lúpulo está em crescimento, como pode ser observado na Figura 6, enquanto a produção de cerveja está estagnada desde 2012.

A fim de obter novos aromas, maiores rendimentos, etc. há programas de cruzamento de lúpulo para fornecer novas variedades (cultivares) que entregam novas experiências a cervejeiros ou melhoramentos aos cultivadores. O desenvolvimento de novas variedades leva

de 10 a 15 anos de pesquisa e testes até o momento da proteção da nova cultivar (ČERENAK *et al.*, 2019). O trabalho de identificar e testar novas cultivares de lúpulo consiste em várias etapas (BRITISH HOP ASSOCIATION, 2019), conforme ilustrado na Figura 7.

Figura 6 – Estimativa de área cultivada (laranja) e produção mundial de lúpulo (azul) e alfa-ácidos (cinza) de 2004 a 2018 (estimativa).

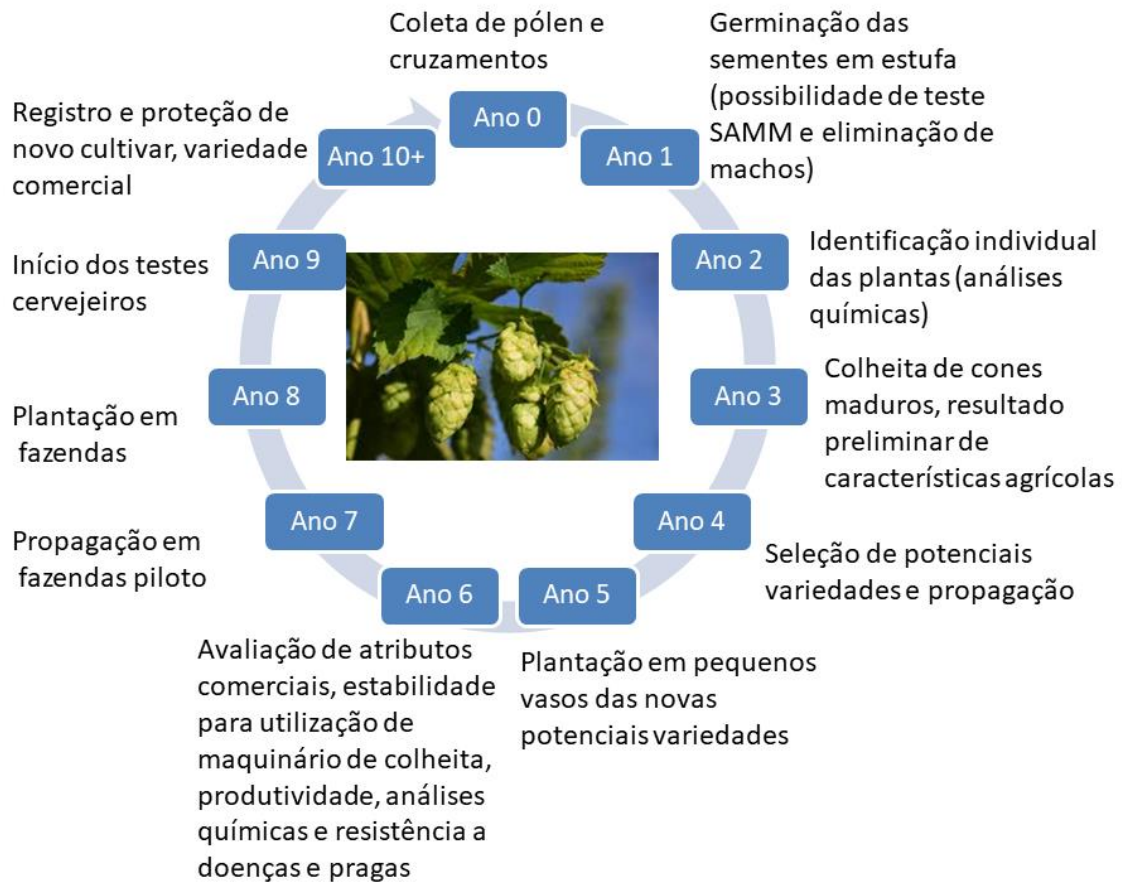


Fonte: International Hop Growers' Convention (2018).

Para a produção de uma nova variedade, o primeiro passo é fazer cruzamentos e sementeamento (cerca de 4.000 sementes por ano) (ČERENAK *et al.*, 2019). Em seguida, avalia-se suas características físico-químicas (aroma e ácidos amargos) e agrônômicas (rendimento, tamanho de cone, resistência a doenças), e apenas depois de vários anos é que ele pode ser utilizado para testes cervejeiros. Somente após a conclusão dos testes de campo, iniciam-se as etapas de proteção e, por fim, sua comercialização.

Esse extenuante processo pode ser agilizado pela utilização de seleção assistida com marcadores moleculares (SAMM). Ao invés de aguardar até o florescimento e realizar a diferenciação fenotípica entre plantas masculinas e femininas, os marcadores podem ser utilizados no início da propagação e os machos já são descartados. SAMM evita o uso desnecessário de agrotóxicos, pesticidas, herbicidas, fertilizantes e mão-de-obra em plantas masculinas, bem como evitar a fertilização cruzada, adulterando os valores de rendimento e composição. Essa determinação de sexo antecipada reduz a área total de triagem em um terço, recuperando os custos com SAMM (ČERENAK *et al.*, 2019).

Figura 7 – Etapas necessárias para produção de novas variedades de lúpulo.



Fonte: Próprio autor.

3.4.1.2 PRODUÇÃO NO BRASIL

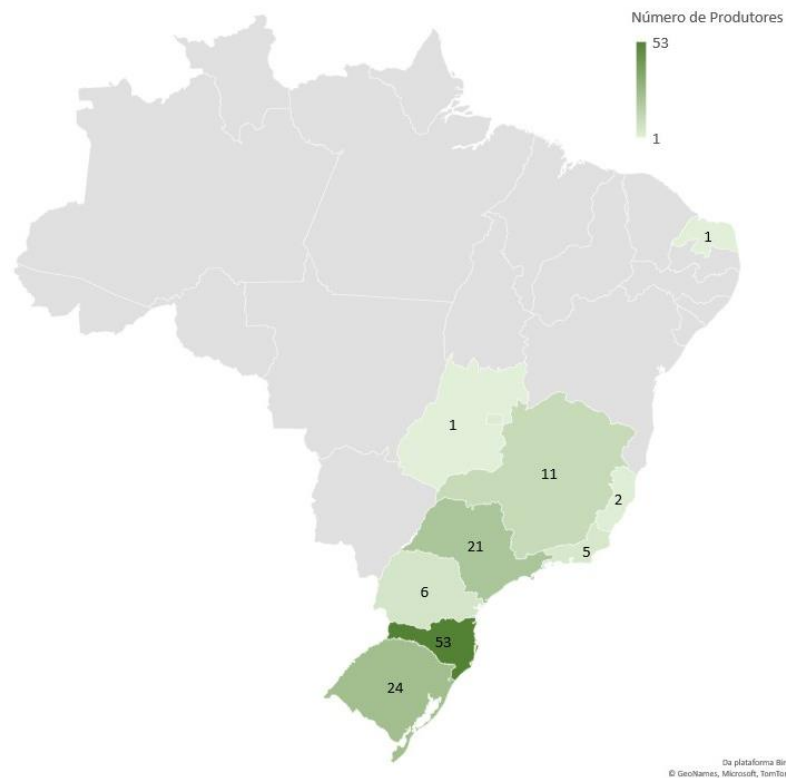
O primeiro registro de cultivo de lúpulo em terras brasileiras data de 2005, mas foi nos últimos anos que a produção começou a ganhar perspectivas de crescimento. A primeira experiência ocorreu na Serra da Mantiqueira (RJ) com sementes da planta cultivadas em estufa. Entretanto, ao levar ao campo, as plantas morreram e foram descartadas. Tempos depois, o agricultor observou que uma planta havia resistido e crescido. Hoje, a fazenda possui 950 plantas e produção anual de 800 kg. A cervejaria Baden Baden utilizou o lúpulo para fabricação da primeira cerveja com lúpulo brasileiro em 2017 (HENRIQUE BIGHETTI, 2018).

Tendo em vista o crescimento do mercado, em 2016 o MAPA disponibilizou a entrada de pedidos de cultivares (MAPA, 2020). Em novembro de 2018, o Viveiro Ninkashi conseguiu a autorização do MAPA para venda de mudas de cinco variedades da planta. Isso possibilitou a utilização de lúpulo legalizado e adaptado ao clima brasileiro. Essa agilidade

permitiu que fosse possível a utilização de lúpulos frescos e em flor, ante aos importados, geralmente de safras de anos anteriores e na forma de *pellets*. Outro fator impulsionador dessa cultura é o fato que no sul do Brasil a cultura tem se mostrado bianual (duas vezes ao ano) e no Distrito Federal, trianual (três vezes ao ano) ante a produção anual (uma vez ao ano) das regiões tradicionais em climas temperados (GUIMARÃES *et al.*, 2021).

O surgimento de novas micro e pequenas cervejarias incentivou o cultivo da planta em diferentes locais do país, além da criação da Associação Brasileira de Produtores de Lúpulo (APROLUPULO) em 2018. Já há 127 produtores associados à APROLUPULO (2021), e sua distribuição está disposta na Figura 8. Os cultivos ainda são domésticos ou em pequena escala, como apresentado na Figura 9.

Figura 8 – Distribuição dos produtores de lúpulo por estado brasileiro.



O Estado do Rio de Janeiro têm se mostrado uma área de destaque para o cultivo da planta. Tendo isso em vista, o Banco do Brasil, em parceria com o Governo do Estado do Rio de Janeiro, abriu uma linha de crédito de 600 milhões de reais para o cultivo de lúpulo nas regiões serrana, centro e sul fluminenses (CATALISI, 2019). A proposta visa propiciar o crescimento do setor agrícola, da indústria e do turismo cervejeiro.

Figura 9 – Plantação de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em treliça no Distrito Federal.



Fonte: Próprio autor.

3.4.2 Morfologia

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é uma trepadeira, angiosperma, dioica, perene, herbácea e de florescência anual (BOCQUET *et al.*, 2018). Pode alcançar até 10m de altura (BOCQUET *et al.*, 2018) e crescimento de até 30 cm diários. Na base das inflorescências (cones) da planta fêmea localizam-se tricomas glandulares na glândula de lupulina, local de interesse para fabricação de cerveja (DENBY *et al.*, 2018).

Nesta glândula há a biossíntese de metabólitos secundários como terpenoides (DENBY *et al.*, 2018), compostos fenólicos, alfa- e beta-ácidos, entre outros (BOCQUET *et al.*, 2018). Esses compostos estão presentes desde o início da formação do cone, mas são acumulados na sua maturação (BOCQUET *et al.*, 2018). A flor do lúpulo é o ingrediente primordial na cerveja por fornecer componentes que melhoram sua estabilidade microbiológica, espuma, sabores e aromas (SILVA FERREIRA *et al.*, 2018).

3.4.3 Composição Química

Na inflorescência da planta fêmea, encontra-se a glândula de lupulina, onde se localizam os componentes de maior interesse do lúpulo para o processo cervejeiro: óleos

essenciais, polifenóis, alfa-ácidos e beta-ácidos (CATTOOR *et al.*, 2013). A composição química está contida na Tabela 2.

Tabela 2 – Composição química média de cones de flor de lúpulo secos.

Constituinte	Quantidade (%)
Resinas totais:	15 – 30
Das quais resinas duras totais:	3 – 5
Das quais resinas macias totais:	10 – 20
Alfa-ácidos	5 – 13
Beta-ácidos	5 – 15
Óleos Essenciais	0,5 – 3
Umidade	10
Monossacarídeos	2
Polifenóis (taninos)	4
Pectinas	2
Aminoácidos	0,1
Ceras e esteroides	Traços – 25
Cinzas	8
Proteínas	15
Celulose, etc.	43

Fonte: Almaguer *et al.* (2014) com adaptação.

3.4.3.1 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são biossintetizados nos tricomas das glândulas de lupulina. Eles são compostos por moléculas voláteis presentes no lúpulo e responsáveis pelo aroma (HOLT *et al.*, 2018; RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018). Os principais aromas associados a lúpulos são cítricos, esterificados, florais, herbais e terrosos (TING; RYDER, 2017), sendo centenas de moléculas responsáveis e representam 0,5 a 3% da matéria seca (ALMAGUER *et al.*, 2014), como mostrado na Tabela 2. Fatores climáticos (geografia e maturação da flor) e genéticos (cultivar), bem como os tratamentos posteriores (secagem, processamento e armazenamento) alteram significativamente os óleos essenciais presentes. O armazenamento pode inclusive oxidar esta classe de compostos (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018; MORCOL *et al.*, 2020).

Há três grandes classes de moléculas que compõem esses óleos: hidrocarbonetos, diferenciados em terpenos (C-10) e sesquiterpenos (C-15) e outros de cadeia alifática; compostos oxigenados com a mesma cadeia carbônica dos terpenos (denominados terpenoides, sesquiterpenoides e norisoprenoides) (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018); e compostos sulfurados (HOLT *et al.*, 2018). As fórmulas estruturais de algumas moléculas estão representadas na Figura 1, em Anexo. Em termos quantitativos, os hidrocarbonetos representam 70% dos óleos essenciais presentes no lúpulo. Dentre eles, os mais presentes são

os sesquiterpenos alfa-humuleno, beta-cariofileno e beta-farneseno, e o terpeno mirceno (TING; RYDER, 2017; HOLT *et al.*, 2018).

Os hidrocarbonetos são pouco solúveis e rapidamente são perdidos no processo de fervura (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018). Ao passo que os terpenos e sesquiterpenos oxigenados, por apresentarem oxigênio em sua composição (éter, epóxido, álcool), possuem solubilidade um pouco maior e podem permanecer no mosto e no produto final. Estes terpenos podem estar presentes no óleo, mas sua maioria é produto de oxidação durante o período de fervura (HOLT *et al.*, 2018). A concentração de mirceno, um terpeno, varia de 3 a 10 mg/g no lúpulo seco, mas quase não é detectado na cerveja. Ele sofre reação de ciclização, cujos produtos são alfa- e beta-pinenos, canfeno e rho-cimeno. Porém, são seus produtos oxigenados (linalool, nerol, geraniol, citral, alfa-terpineol e carvona) que costumam ser identificados na cerveja (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018). Praet *et al.* (2016) provaram que vários produtos de oxidação de sesquiterpenos foram formados durante a fervura, fornecendo aromas lupulados e condimentados à cerveja. Mirceno só foi observado acima do limiar de percepção em cervejas com lupulagem a frio (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018).

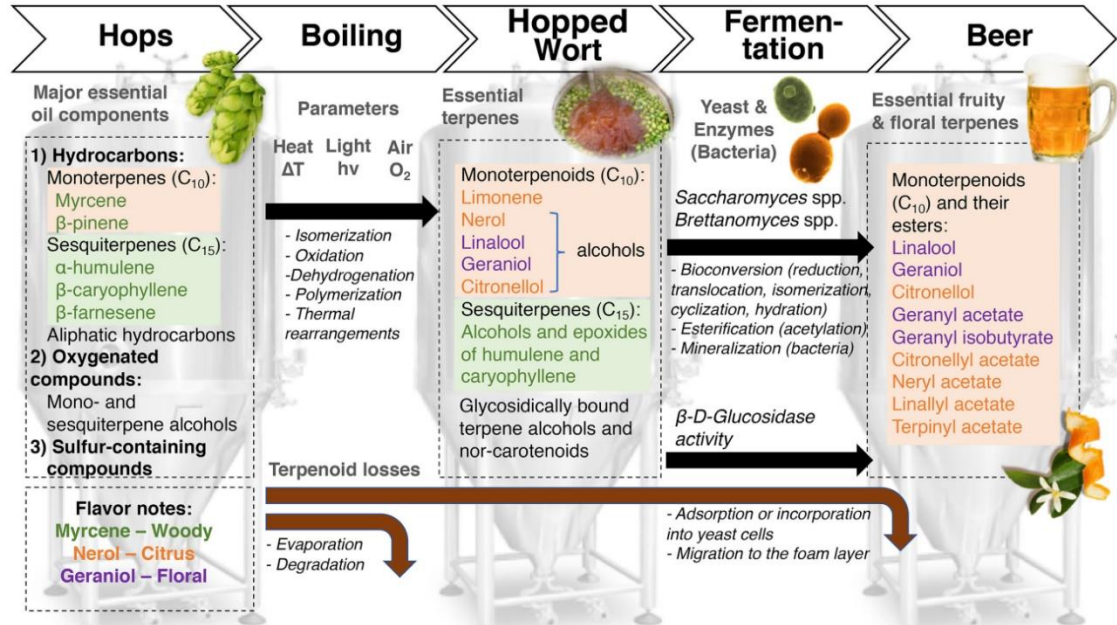
Aromas frutados e florais estão em maior demanda na indústria de bebidas e vários esforços foram feitos para melhorar ou amplificar os perfis de frutas (HOLT *et al.*, 2018). Lúpulos que possuam seus óleos ricos em sesquiterpenos tendem a ter um aroma terroso, herbal, amadeirado ou condimentado, enquanto os ricos em monoterpênicos tendem a ter um aroma mais cítrico ou frutado (NANCE; SETZER, 2011). As Figuras 2 a 5 em Anexo ilustram as principais moléculas responsáveis pelos aromas na cerveja, sendo a última só de terpenoides e sesquiterpenoides.

Por fim, os aromas associados de compostos sulfurados tendem a ser associados a odores desagradáveis como podridão (sulfeto de hidrogênio, H₂S), geralmente com limiar de percepção baixo. Alguns dos aromas provocados por compostos sulfurados na cerveja são milho (dimetilsulfeto, (CH₃)₂S), queijo, cebola e batata (VERMEULEN; GUYOT-DECLERCK; COLLIN, 2003).

A fim de fornecer aroma é comum a adição de lúpulo ao fim do processo de fervura, método conhecido como lupulagem tardia, *late hopping* em inglês. Entretanto, poucos componentes aromáticos permanecem na cerveja, sem que sejam alterados (SILVA FERREIRA *et al.*, 2018). Como visto, a percepção de aromas na cerveja é função da concentração e variedade das moléculas presentes, algumas dessas estão expostas na Tabela 1

em Anexo, assim como seus aromas característicos. Já a Figura 10 mostra alguns dos óleos essenciais presentes e perdidos a cada etapa da fabricação de cerveja.

Figura 10 – Principais óleos essenciais de caráter frutado ou floral presentes em cada etapa de produção da cerveja e ponto do processo onde são perdidos.



Fonte: Holt *et al.* (2018).

Cultivares de lúpulos estadunidenses (como o Cascade, Citra, Mosaic e Bravo) tendem a apresentar maior quantidade de geraniol que cultivares europeus (Saaz, Hallertauer Tradition e Magnum) (HOLT *et al.*, 2018). A cultivar Cascade é rica em terpenos (principalmente geraniol e linalool), o que faz com que tenha um aroma cítrico. Os álcoois geraniol, linalool e alfa-citronelol atuam de forma sinérgica e o aroma final da cerveja é função da proporção de suas quantidades (HOLT *et al.*, 2018), podendo ser cítrico ou floral.

As cultivares Cascade, Citra e Tomahawk foram reportadas como tendo tióis polifuncionais como compostos chaves em seus aromas (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018). Ainda, compostos sulfurados tendem a serem indesejados e podem ocasionar aromas relacionados a queijo, vegetais cozidos, queimado ou emborrachado (RETTBERG; BIENDL; GARBE, 2018).

A variedade Cascade apresenta uma intensidade de aroma moderada e bastante distinta, seus principais aromas são os de morango, cítrico, amora, lichia e *toffee*. A variedade Chinook também apresenta intensidade de aroma moderada, mas seus aromas remetem a frutas vermelhas, orégano, lichia e funcho (BARTHHAAS, 2021).

3.4.3.2 POLIFENÓIS

Polifenóis são caracterizados por conterem a função fenol e serem antioxidantes naturais. Estima-se que o lúpulo contribua com 20 a 40% dos polifenóis presentes na cerveja, ainda que sua utilização seja muito inferior à do malte, que contribui com o restante (NAGY *et al.*, 2014; MUDURA; COLDEA, 2015; DOSTÁLEK; KARABÍN; JELÍNEK, 2017).

Os polifenóis de baixa massa molecular são os grandes responsáveis pelo poder redutor do mosto e das cervejas, protegendo-a de processos oxidativos e melhorando sua estabilidade de paladar. Já os polifenóis de alta massa molecular, tanoides, contribuem para a coloração da cerveja e formação de turbidez (JASKULA-GOIRIS *et al.*, 2014).

A turbidez é causada pela complexação de polifenóis com proteínas. Essa complexação é denominada de instabilidade coloidal. Quando a reação é reversível, é denominada turvação a frio, ocorrendo apenas em baixas temperaturas. Os polifenóis realizam interações intermoleculares com regiões apolares de proteínas, em especial, aquelas contendo fenilalanina, triptofano e tirosina, que possuem anel benzênico. A turvação a quente ocorre quando há a polimerização desses polifenóis com os aminoácidos aromáticos, formando ligações covalentes. Essas turvações são indesejáveis por aparentarem ser impróprias para consumo na visão do consumidor (JASKULA-GOIRIS *et al.*, 2014).

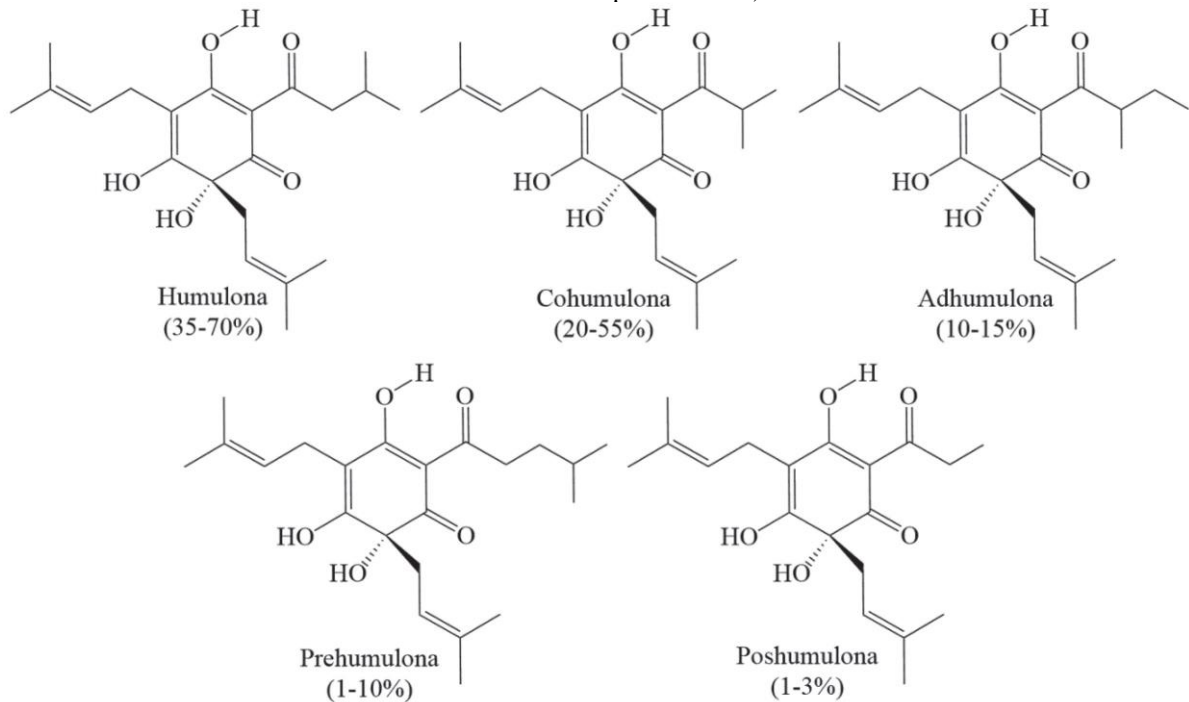
Os polifenóis podem ser removidos ao passar a cerveja por um filtro de polivinilpolipirrolidona (PVPP) durante a filtração. Essa técnica é mais empregada por grandes cervejarias a fim de obter uma cerveja mais límpida. Outra forma de diminuir a quantidade de polifenol é a de utilizar produtos de lúpulo, como extrato de alfa-ácidos e de óleos essenciais (JASKULA-GOIRIS *et al.*, 2014). Jaskula-Goiri *et al.* (2014) não observaram impactos na coloração da cerveja ou na estabilidade da espuma pela adição de polifenóis de lúpulo, entretanto tais cervejas obtiveram maior poder redutor e turvação a frio, como esperado.

3.4.3.3 ALFA-ÁCIDOS

Os alfa-ácidos, também denominados humulonas, são uma classe de moléculas insolúveis em água. Eles se diferenciam pelas suas cadeias laterais, sendo adhumulona, cohumulona e humulona os três principais análogos (DOSTÁLEK; KARABÍN; JELÍNEK, 2017). As estruturas químicas dos diferentes alfa-ácidos estão representadas na Figura 11.

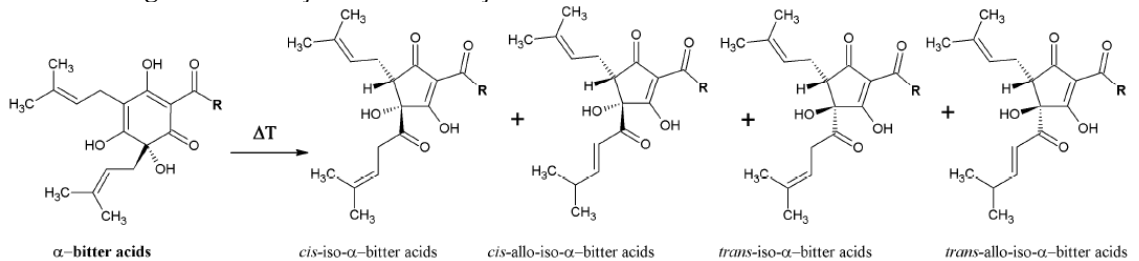
Quando em elevadas temperaturas (70 a 120 °C), isomerizam-se a iso-alfa-ácidos com rendimento de 30 a 40% (ZUFALL *et al.*, 2008; STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015), tornando-se solúveis, como mostrado na Figura 12. Por este motivo, no processo de fabricação da cerveja, tradicionalmente, adiciona-se o lúpulo durante a fervura (STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015). O mecanismo dessa reação está representado na Figura 13 e a etapa determinante da velocidade do processo é a primeira, em que uma base desprotona o hidrogênio, formando um enolato.

Figura 11 – Estruturas químicas dos alfa-ácidos (cohumulona, humulona, prehumulona, posthumulona, adhumulona e adprehumulona).



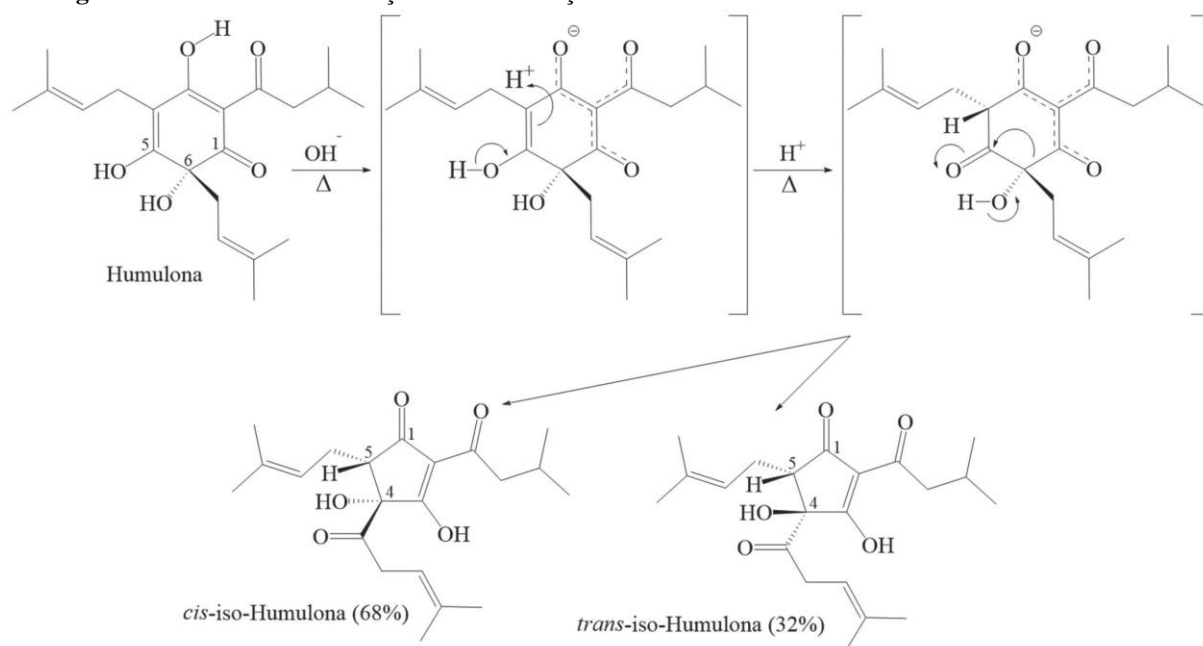
Fonte: Durello, Silva e Bogusz Jr. (2019).

Figura 12 – Reação de isomerização de alfa-ácidos a iso-alfa-ácidos.



Fonte: Dostálek, Karabín e Jelínek (2017).

Figura 13 – Mecanismo de reação de isomerização de alfa-ácidos a iso-alfa-ácidos.



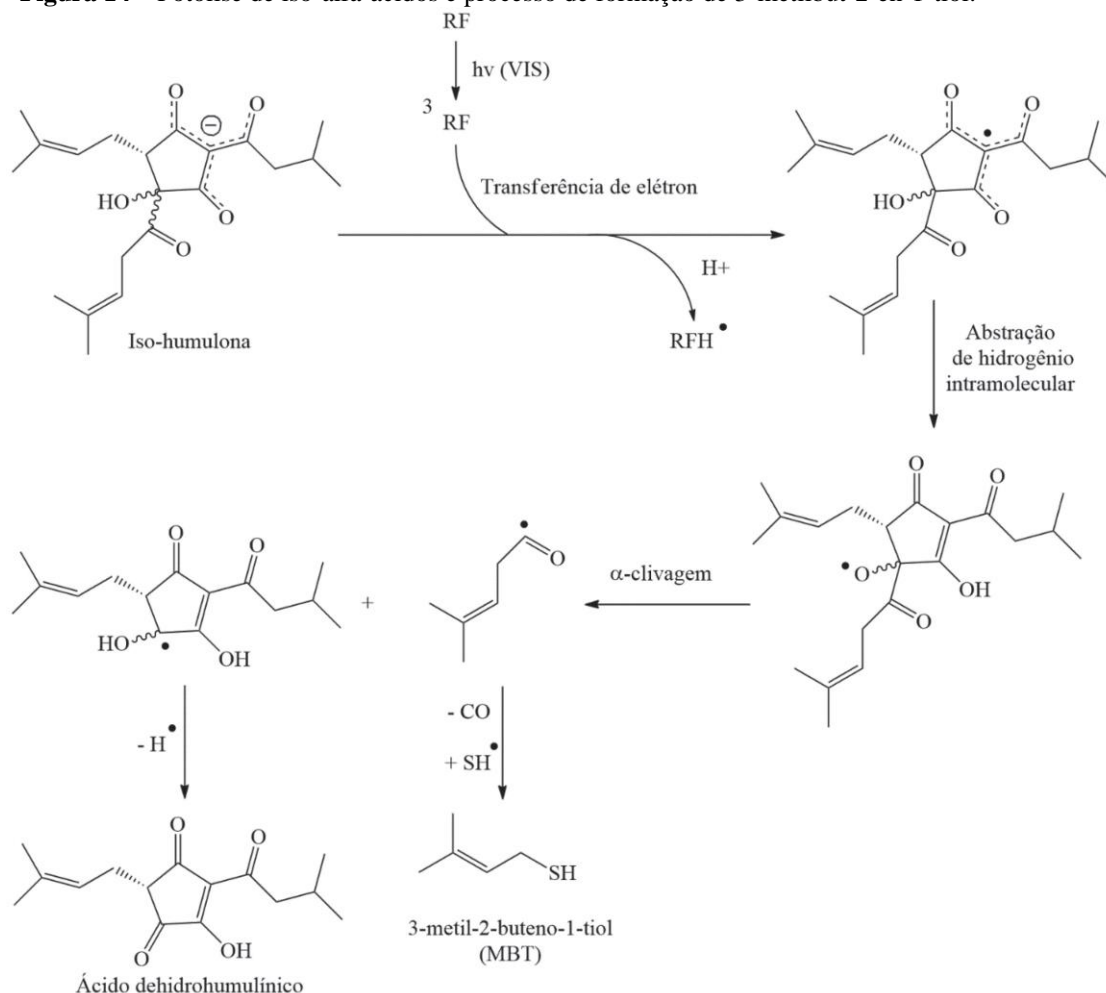
Fonte: Durello, Silva e Bogusz Jr. (2019).

O pH do mosto cervejeiro costuma estar entre 5,0 e 5,5 (STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015), ou seja, é um meio ácido. Contudo, como a etapa determinante é a desprotonação, tem seu rendimento aumentado com o aumento do pH, favorecendo a formação do intermediário de reação. Outro modo de se catalisar a reação é com a utilização de catalisadores básicos aumentando o rendimento da reação, excedendo 90% depois de 6 horas. Este resultado foi obtido com utilização de uma base orgânica contendo prolina, um aminoácido com cadeia lateral aminada (base de Lewis). Entretanto, inicialmente eram utilizadas bases inorgânicas como hidróxidos ou carbonatos alcalinos (bases de Arrhenius) (STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015).

Além de fornecer amargor típico da bebida, os iso-alfa-ácidos possuem propriedades tensioativas, aumentando o tempo de retenção da espuma, e inibindo o crescimento de bactérias Gram-positivas, promovendo o poder bacteriostático da flor (ZUFALL *et al.*, 2008; CATTOOR *et al.*, 2013; STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015). Contudo, os iso-alfa-ácidos são moléculas fotossensíveis. A luz pode promover a homólise da ligação alfa ao enol, gerando dois radicais. Essa reação é favorecida porque um radical formado é estabilizado por ressonância e o outro radical é pela presença do aldeído. Este reage com um grupo sulfidril (-SH) presente em aminoácidos sulfurados ou outros compostos sulfurados presentes na cerveja e perde o CO por mecanismo radicalar, originando o 3-metilbut-2-en-1-tiol (Figura 14) (ZUFALL *et al.*, 2008). Esse composto é conhecido por fornecer um aroma extremamente indesejado associado ao de gambá e que pode ser identificado em

concentrações na faixa de ppt (ZUFALL *et al.*, 2008; STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015).

Figura 14 – Fotólise de iso-alfa-ácidos e processo de formação de 3-metilbut-2-en-1-íol.



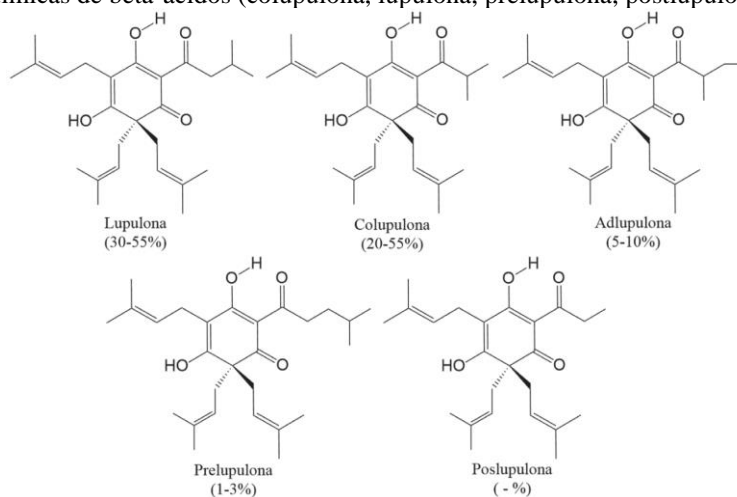
Fonte: Durello, Silva e Bogusz Jr. (2019).

Por se tratar de uma reação radicalar, a desestabilização do intermediário formado inibe sua ocorrência. Conseqüentemente, a utilização de iso-alfa-ácidos reduzidos impede a fotorreação. Os iso-alfa-ácidos reduzidos são os di-hidro-iso-alfa-ácidos, mais conhecidos como rho-iso-alfa-ácidos, tetra-hidro-iso-alfa-ácidos e hexa-hidro-iso-alfa-ácidos. Os rho possuem redução da função cetona, desestabilizando o intermediário radicalar (originalmente estabilizado pela ligação pi com o oxigênio). Os tetra possuem redução da ligação pi alílica, impedindo, assim, a saída do CO na reação, antes estabilizada por ressonância. Os hexa são a combinação da redução do rho e do tetra (STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015). Em termos de estabilidade de paladar e de espuma, as formas reduzidas são mais estáveis que os iso-alfa-ácidos não reduzidos, com exceção do rho (ZUFALL *et al.*, 2008; STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015).

3.4.3.4 BETA-ÁCIDOS

Os beta-ácidos, também denominados lupulonas, são outra classe de moléculas insolúveis em água e, por isso, apresentam pouca importância ao processo cervejeiro (DOSTÁLEK; KARABÍN; JELÍNEK, 2017) e sua estrutura química está representada na Figura 15. Embora o rendimento de oxidação não exceda 2% em condições de armazenamento, pode alcançar 40% na presença de substâncias redutoras, como a glicose (STEENACKERS; DE COOMAN; DE VOS, 2015). Seus compostos oxidados podem apresentar solubilidade baixa (DOSTÁLEK; KARABÍN; JELÍNEK, 2017), e não há ainda um consenso científico sobre sua importância para o processo de fabricação da cerveja.

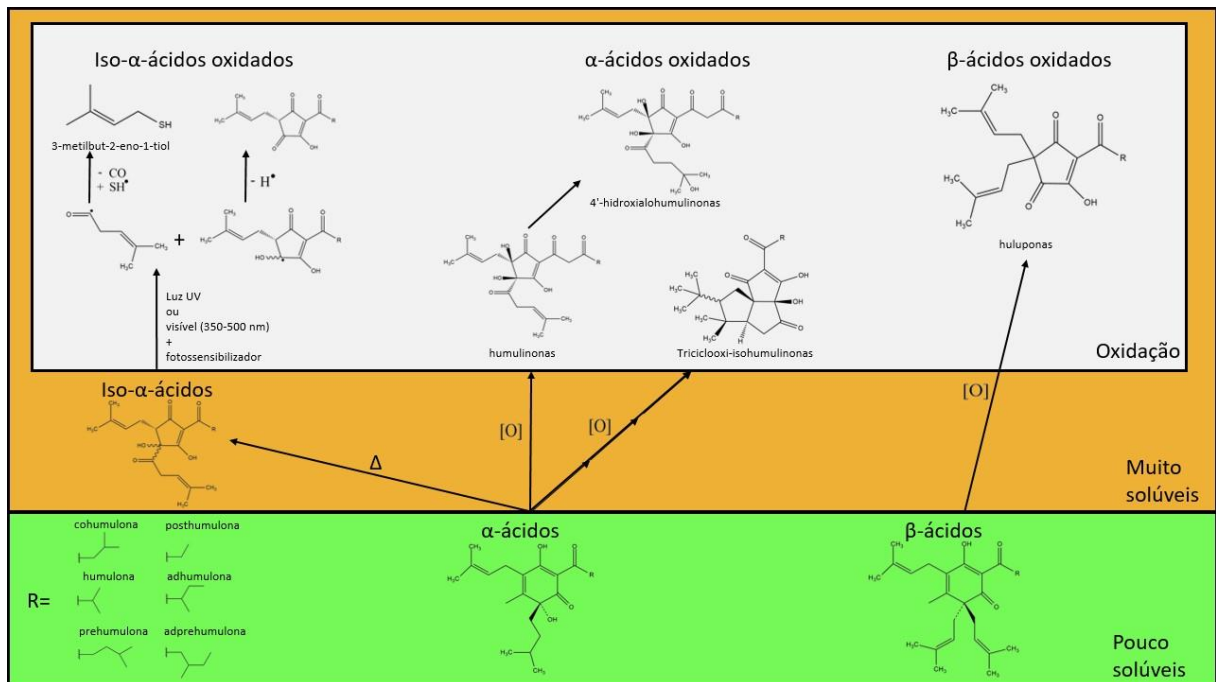
Figura 15 – Estruturas químicas de beta-ácidos (colupulona, lupulona, prelupulona, postlupulona e adlupulona).



Fonte: Durello, Silva e Bogusz Jr. (2019).

Algazzali e Shellhammer (2016) realizaram o estudo mais recente acerca do amargor relativo de iso-alfa-ácidos, humulinonas e huluponas (nomes dados às formas oxidadas de alfa- e beta-ácidos, respectivamente). Os autores relataram que humulinonas possuem 66% do amargor de iso-alfa-ácidos e huluponas 84%. As reações de oxidação desses compostos estão representadas na Figura 16.

Figura 16 – Reações de oxidação de alfa-ácidos a humulinonas e de beta-ácidos a huluponas. Em verde, moléculas presentes no lúpulo e, em laranja, moléculas presentes na cerveja.



Fonte: Gomes *et al.* (2021) com adaptação.

3.4.4 Produtos de lúpulo

Muitos produtos derivados de lúpulo são utilizados no mercado cervejeiro, mas alguns, como o extrato de óleos essenciais são utilizados pela indústria farmacêutica. Dentre os produtos mais comuns na indústria da bebida, destacam-se os extratos em CO_2 , soluções de iso-alfa-ácidos (IAA) e soluções de iso-alfa-ácidos reduzidos: rho-iso-alfa-ácidos (rho), tetra-hidro-iso-alfa-ácidos (THIAA) e hexa-hidro-iso-alfa-ácidos (HHIAA). As versões reduzidas oferecem a vantagem de não poderem ser oxidadas por radiação ultravioleta, ou seja, não há necessidade de se utilizar recipientes opacos ou âmbar, a fim de evitar que sejam formados aromas ou sabores indesejados. THIAA ainda proporcionam um aumento da sensação de amargor e de retenção de espuma, HHIAA proporcionam ambas características intensificadas ao preço de uma pequena alteração de paladar (KUNZE, 2004).

Dentre as principais vantagens da utilização de produtos de lúpulo, as principais são: diminuição do preço de transporte e armazenamento; padronização de amargor e aroma; melhoramento do rendimento de amargor; pode-se comprar e estocar em anos de superprodução e não depender da flutuação de preços do mercado; e podem ser dosados automaticamente (KUNZE, 2004). Alguns produtos de uso cervejeiro e suas vantagens e

desvantagens estão descritos na Tabela 3 e seus principais pontos de adição estão mostrados na Figura 17.

Tabela 3 – Lista de produtos derivados de lúpulo utilizados no mercado cervejeiro com suas principais vantagens e desvantagens.

Produto	Vantagens	Desvantagens
Produtos Vegetais	Possuem polifenóis (antioxidante).	Alto teor de vegetais; Possuem polifenóis; (causadores de turbidez); Necessitam de refrigeração; na armazenagem.
Flor	Frescor; Óleos essenciais menos oxidados.	Oxida rapidamente; Baixo tempo de prateleira; Maior volume; (armazenagem); Maior perda na panela; (formação de espuma); Absorção de água.
<i>Pellet T-90</i>	Maior tempo de prateleira; Maior área superficial; Mais denso; Absorção de água menor que da flor.	Perda na panela (formação de espuma).
<i>Pellet enriquecidos ou Pellet T-45</i>	Mais concentrado em alfa-ácidos; Maior tempo de prateleira; Maior área superficial; Mais denso; Absorção de água menor que da flor.	Perda na panela (formação de espuma).
<i>Pellet isomerizado</i>	Concentração conhecida de iso-alfa-ácidos; Não necessita de refrigeração; Menor formação de <i>trub</i> ; Maior tempo de prateleira; As glândulas de lupulina são mais acessíveis; Não necessita ser fervido; Absorção de água menor que da flor.	Menor volume; Perda na panela (formação de espuma); Degradação de óleos essenciais.
Extratos em geral	Não possuem matéria vegetal; Menor volume; Não há perda na panela (não há formação de espuma ou absorção de água); Não possui polifenóis (menor turbidez e adstringência). Facilidade de estocagem.	Custo; Não possui polifenol (antioxidante).
Extrato em CO ₂	Seletivo para alfa-ácido e óleos essenciais;	Maior custo; Diminuição do poder antioxidante (polifenóis). Não possui aroma;
Solução de alfa-ácido	Menor custo que demais soluções; Valor conhecido de alfa-ácido.	Concentração de iso-alfa- ácido depende da fervura; Maior custo que <i>pellets</i> ou flor.
Solução de iso-alfa- ácido	Concentração conhecida de iso-alfa-ácido; Pode ser dosado somente na hora do envase e fazer correções.	Não possui aroma; Elevado Custo.
Solução de iso-alfa- ácido reduzido	Concentração conhecida de iso-alfa-ácido; Pode ser dosado somente na hora do envase e fazer correções;	Não possui aroma; Elevado Custo.

Melhor retenção de espuma;
É resistente ou inerte a luz.

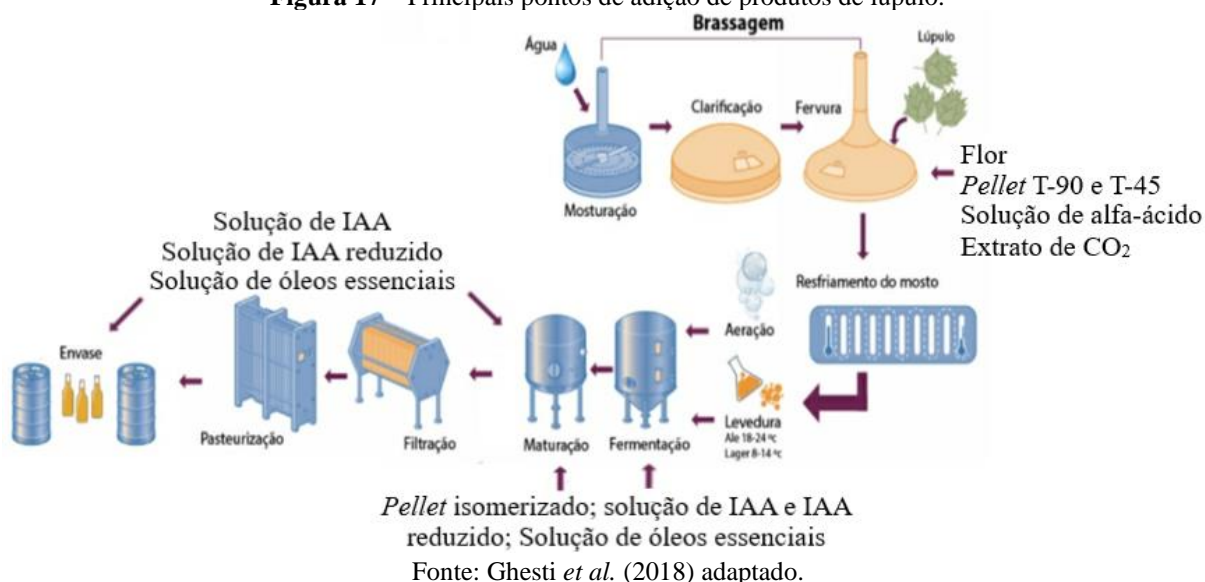
Extrato de óleos
essenciais

Rico em aromas;
Pode ser utilizado para padronização.

Elevado custo de produção.

Fonte: Próprio autor, com dados de Shellhammer, American Society of Brewing Chemists e Master Brewers Association of the Americas (2009), Blendlet *et al.* (2015), Schönberger e Kostelecky (2011) e Kunze (2004).

Figura 17 – Principais pontos de adição de produtos de lúpulo.



4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PROPRIEDADE INTELECTUAL DE CULTIVARES

Os Direitos de Criador de Planta (*Plant Breeders' Rights*, PBR em inglês) são registrados diferentemente em cada país e, para uma melhor avaliação de como a propriedade intelectual é protegida, foram realizadas uma análise qualitativa e uma quantitativa nos dez países com maior produção de lúpulo, de acordo com o IHGC, além do Brasil, primeiro país tropical a cultivar a planta. As pesquisas foram realizadas em janeiro de 2021.

A análise qualitativa foi feita para melhor entender as diferentes características requisitadas por cada país para se registrar uma nova variedade sob a convenção da União para Proteção de Variedades Vegetais (UPOV, em francês) e para registro de patente de planta nos Estados Unidos. Então, para melhor avaliar como ocorre a propriedade intelectual sobre cultivares, uma análise quantitativa foi conduzida sobre o número de cultivares de lúpulo protegidos na UPOV. A pesquisa foi realizada no próprio banco de dados da UPOV utilizando o nome científico da espécie (*Humulus lupulus*). Como nos EUA é utilizado o sistema de patentes, utilizou-se o programa de computador Questel® Orbit, com as

delimitações de Classificação de Patentes como *US (main & x-ref)* e o termo pesquisado foi “PLT236000”, que inclui apenas patentes de planta de lúpulo.

Ademais, realizou-se uma pesquisa qualitativa sobre Designações de Origem Protegida (DOP) e Indicação Geográfica Protegida (IGP). Como apenas as designações europeias foram encontradas, a busca se restringiu àquela região e fez uso do programa eAmbrosia. Utilizou-se fragmento de “lúpulo” nas diversas línguas da UE: “hop” para inglês e fragmento de *hopfen* em alemão; “chm” (*chmel* em tcheco, *chmiel* em polonês e *chmel* em eslovaco); “hub” (*hublon* em francês); “hme” (*hmelj* em esloveno), “lup” (lúpulo em português e em espanhol).

4.2 MATÉRIAS-PRIMAS

As matérias-primas utilizadas na produção foram: lúpulos em *pellet* T-90 Cascade (6,2% alfa-ácidos, 1,1 mL/100 g de óleo essencial) safra 2018, EUA, lote I-8670, marca Baarth-Haas Group, Alemanha; *pellet* Chinook (11,6% alfa-ácidos; 1,7 mL/100 g de óleo essencial) safra 2018, EUA, lote I-8590, marca Barth-Haas Group, Alemanha; cones das variedades Cascade safra 05/2019 e Chinook safra 02/2019 cultivados no Distrito Federal, Brasil, obtidos da *Tamayo Hops*. Esses lúpulos foram cultivados com irrigação por gotejamento e adubação orgânica.

4.3 ANÁLISES DOS LÚPULOS

4.3.1 Umidade

A análise de umidade foi medida conforme EBC 7.2. O método consiste no aquecimento em forno pré-aquecido. O conteúdo de umidade é medido pela perda mássica no processo.

4.3.2 Alfa-ácidos

A quantificação de alfa-ácido foi feita por titulação condutivimétrica com acetato de chumbo (II), conforme EBC 7.4.

4.3.3 Índice de estocagem (HSI)

A análise de índice de estocagem foi realizada conforme a EBC 7.13.

Likens, Nickerson e Zimmerman (1970) desenvolveram uma equação para calcular a quantidade média de ácidos perdidos em cones de lúpulos femininos em função do HSI, e está representada abaixo:

$$\% \text{ de ácidos oxidados} = 61,8 + 102 * \log\left(\frac{A_{275}}{A_{325}}\right) = 61,8 + 102 * \log(HSI)$$

Valores de até 0,30 são um indicativo de que o lúpulo está fresco, até 0,40 são aceitáveis e acima de 0,40 são questionáveis.

4.3.4 Polifenóis

A análise de polifenóis foi feita de acordo com a EBC 7.14, com redução de tamanho de amostra para 0,650 g e 450 mL de água e fervura de 1 hora. Utilizou-se um espectrofotômetro e as medições foram feitas a 600 nm.

4.3.5 Óleos essenciais

A análise de óleo essencial foi realizada de acordo com a EBC 7.10, com redução de tamanho de amostra de 100 g para 75 g.

4.3.5.1 ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS POR CG/EM

A análise dos óleos essenciais do lúpulo foi feita conforme EBC 7.12 mas com utilização de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). O equipamento utilizado foi o cromatógrafo GC-2010 com detector GCMS-QP2010 Plus e injetor AOC-5000. Os óleos essenciais foram diluídos em pentano em razão de 1:1000 para alcançar a faixa ótima de leitura do aparelho. Os parâmetros do CG/EM foram: energia de ionização (EI) de 70 eV, injeção de 1 µL de amostra a 200 °C com split 1:10, coluna Restek Rtx-5MS (30 m x 250 µm x 0,25 µm), carreamento por He a 1,4 mL/min, scan de 30 a 450 m/z. A rampa de aquecimento utilizada foi 50 °C por 1 minuto, 50 – 180 °C a 2°C/min. A identificação de picos foi realizada em picos com contagem total superior a 30.000 leituras.

4.4 CERVEJA COM LUPULAGEM A FRIO

Fabricou-se 100 L de cerveja puro malte do tipo Pilsen, utilizando 16,5 kg de malte Pilsen (Agrária Malte, Guarapuava, Brasil), 50 g de lúpulo Magnum estadunidense (BarthHaas, Estados Unidos) adicionados no início da fervura, 88 g de levedura Safbrew S-23 (Fermentis, França), 66 L de água primária e 64 L de água de lavagem. As paradas realizadas foram a proteica a 52 °C por 5 minutos; beta-amilase a 63 °C por 20 minutos; e alfa-amilase a 72 °C por 20 minutos. A fervura foi realizada por 1 h. A fermentação foi realizada a 12 °C por 10 dias, seguida de 20 dias de maturação a 0 °C. A cerveja foi então dividida em fermentadores menores e adicionada de 4 g/L de lúpulo a 12 °C por 24 h. Então a cerveja foi envasada e mantida a 2 °C até a realização das análises.

4.4.1 Análises com PBA-B BeerAlcolyzer

Várias características físico-químicas da cerveja, como densidade, extratos originais e finais (% m/m), teor alcoólico (% v/v), quantidade dissolvida de CO₂ (mg/L), açúcares remanescentes (mg/L), grau real de fermentação (%) e conteúdo calórico foram medidos utilizando o Beer Alcolyzer Plus (Anton Paar, Áustria).

4.4.2 Polifenóis totais

A análise de polifenóis totais foi realizada conforme EBC 7.14, com aumento de tempo de fervura para 1 h.

4.4.3 Análise de voláteis por CG/EM

A análise dos voláteis da cerveja foi feita por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM) a partir do utilizado por Lafontaine e Shellhammer (2018) com modificações. O equipamento utilizado foi o cromatógrafo GC-2010 com detector GCMS-QP2010 Plus e injetor AOC-5000. A amostra analisada foi preparada como segue: centrifugou-se 150 g de cerveja por 5 min a 2000 rpm e, então, em um balão separador, adicionou-a a 75 mL de diclorometano, agitou-se e permaneceu em repouso por 2 h. A fase orgânica foi removida, e centrifugada por 4 min a 2000 rpm. Os parâmetros do CG/EM foram: energia de ionização (EI) de 70 eV, injeção de 1 µL de amostra a 200 °C com split 1:10, coluna Restek Rtx-5MS (30 m x 250 µm x 0,25 µm), carreamento por He a 1,4 mL/min, scan de 30 a 450 m/z. A rampa de aquecimento utilizada foi 50 °C por 1 minuto, 50 – 180 °C

a 2°C/min. A identificação de picos foi realizada em picos com contagem total superior a 30.000 leituras.

4.4.4 Análise sensorial

A análise sensorial descritiva qualitativa (ADQ) foi feita em acordo com a NBR 14140, para quantificação e identificação de características organolépticas da bebida. As características gerais foram avaliadas num sistema de dez pontos, em que 1 representa “Desgostei extremamente” e 10, “Gostei extremamente”. As características foram cor, aroma, intensidade de aroma, sabor, impressão global e amargor. Na sequência, foi pedido para que os principais aromas e sabores fossem avaliados com notas de 0-5, em que 0 é “Não perceptível” e 5, “Intenso”. A ficha avaliativa está disposta na Figura 1 do Apêndice. Os avaliadores (n=7) foram previamente treinados a fim de identificar os sabores, desejados ou não, mais comuns na fabricação de cervejas Pilsen.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PROPRIEDADE INTELECTUAL DE CULTIVARES

O registro de cultivares como propriedade intelectual e as características das plantas necessárias para tal depende do país onde será realizado o registro. Não foram encontrados dados sobre o processo de registro na China, portanto o estudo comparativo foi feito com os demais países com maior produção de lúpulo e com o Brasil.

A convenção da UPOV definiu uma série de características botânicas para diferenciação de variedades de lúpulo, sendo usadas por todos os países para definição de distinção (UPOV, 2021). Ainda que haja um consenso sobre as características básicas para se provar distinção em uma nova variedade, alguns países exigem mais informações que outros. As características necessárias para se registrar uma nova cultivar e as dispostas na UPOV estão na Tabela 4.

Dentro da União Europeia (UE), o Instituto Comunitário das Variedades Vegetais (ICVV) é o órgão responsável por registrar o direito sobre variedades de plantas. Consequentemente, todos os países membros exigem o mesmo padrão de características botânicas estabelecidas pela UPOV para registro de novas variedades, bem como informações adicionais acerca da resistência a pragas e doenças, do tipo de uso e se é um organismo

geneticamente modificado (OGM). Ainda que seja necessário declarar se é um OGM, até 2014 não havia testes de campo com cultivares geneticamente modificados sendo conduzidos (BLENDL *et al.*, 2014) e nem foram encontradas cultivares comerciais. Ainda assim, a Alemanha e outros países já estão demandando lúpulos sem modificação genética. Curiosamente, até o momento, o Reino Unido não possui lúpulo na lista de plantas passíveis de proteção, portanto a proteção tem de ser feita junto a toda UE no IVCC, o que pode mudar com a saída do país do bloco.

A Nova Zelândia e a África do Sul exigem apenas alguns dos critérios presentes na UPOV. Para registro no Brasil ou na Austrália, por outro lado, é necessário descrever todas as características presentes nas diretrizes da UPOV. O Japão foi o único país pesquisado a requerer, além das características botânicas, caracterização química também para registro de novas cultivares. Essas características são relação de alfa-ácidos para beta-ácidos, conteúdo de humulona e de cohumulona nos alfa-ácidos, quantificação e caracterização dos óleos essenciais, entre outras (GUIMARÃES *et al.*, 2021).

Os Estados Unidos permitem o registro de novas cultivares de várias formas diferentes, a exemplo de patentes de planta (PP), patentes de utilidade, ambas fornecidas pelo Escritório de Patentes e Marcas dos Estados Unidos (USPTO, do inglês *United States Patent and Trademark Office*), ou mesmo PBR, que é fornecido pelo Departamento de Agricultura estadunidense (USDA, do inglês *United States Department of Agriculture*). Patentes de planta necessitam de várias informações extras para melhor diferenciar variedades e, ainda que possível, não foi encontrada nenhuma patente de utilidade ou PBR no país. PP possuem a vantagem de oferecer uso exclusivo aos genes da planta, direito não agraciado no PBR. Ou seja, não permite que outras companhias façam uso dos genes de cultivares patenteadas para geração de novas cultivares. Por um lado, isso garante uma maior exclusividade às características da planta, por outro, diminui a velocidade com que novas cultivares são produzidas.

Para registro de PP, os Estados Unidos não apenas seguem as diretrizes da UPOV, mas também requerem informações adicionais, como descritores agronômicos (resistência a pragas e doenças, maturidade e rendimento) e descritores químicos (conteúdo de alfa- e beta-ácidos, conteúdo de óleos totais e sua composição) (USPTO, 2007). Lúpulos são cultivados principalmente para uso cervejeiro, portanto a adoção, por parte dos governos e agências reguladoras, da exigência de incluir mais características químicas, para melhor definir a cultivar, seguindo os modelos do Japão e dos Estados Unidos é bastante benéfica, pois favorece uma melhor distinguir das cultivares.

posição da ponta										
Bractéola: forma										X
Resistência a pragas e doenças					X					X
Tipo de uso: aroma, amargor, alto alfa, ornamental, outro					X			X		X
Organismo geneticamente modificado					X					
Expectativa de vida										X
Rendimento por acre										X
Participa da convenção UPOV desde	TG/227 /1	1978	1991	1978	1991	1991	1978	1978	1991 ^b	

UPOV, União para Proteção de Variedades Vegetais; AR, Argentina; AU, Austrália; BR, Brasil; ICSVV, Instituto Comunitário das Variedades Vegetais; JP, Japão; NZ, Nova Zelândia; AS, África do Sul; EUA, Estados Unidos.

^a Membros do ICSVV até dezembro de 2020: Áustria, Bélgica, Bulgária, Croácia, Chipre, Tchêquia, Dinamarca, Estônia, Finlândia, França, Alemanha, Grécia, Hungria, Irlanda, Itália, Letônia, Lituânia, Luxemburgo, Malta, Países Baixos, Polônia, Portugal, Romênia, Eslováquia, Eslovênia, Espanha e Suécia.

^b com reservas em relação ao Artigo 35(2).

Fonte: Próprio autor.

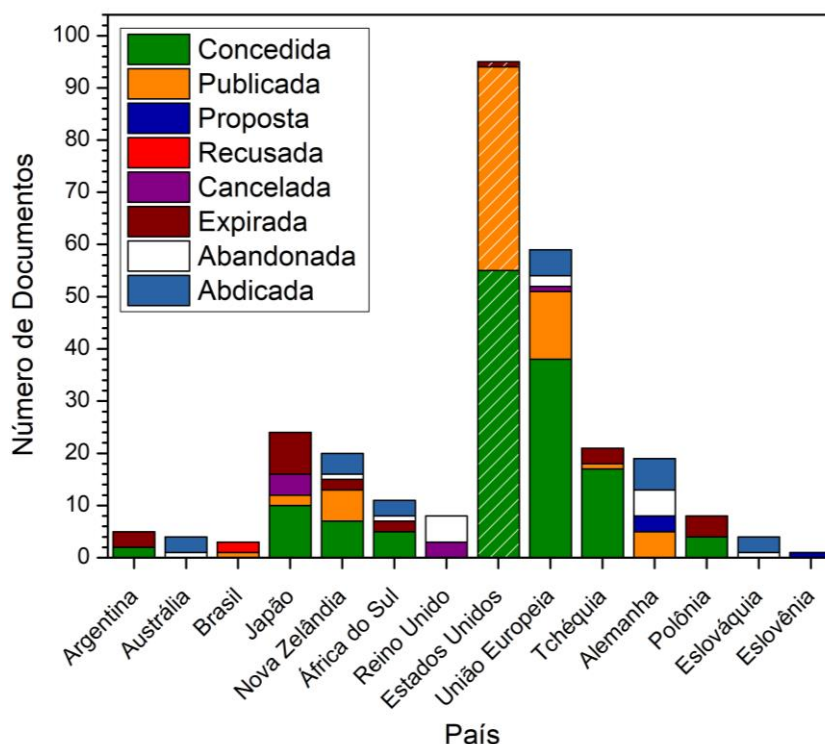
O primeiro pedido de proteção de cultivar de lúpulo foi feito pela África do Sul, em 1972, mas não logrou êxito. Já em 1979, o Japão teve um pedido depositado e, no ano seguinte, pela primeira vez, o pedido foi o concedido. A primeira variedade registrada no ICSVV foi apenas em 1995. Nos EUA, o primeiro pedido encontrado de patente de planta para lúpulo foi em 1992. Apesar disso há mais de 150 variedades de lúpulo descritas, algumas datando da década de 1950 (USPTO, 2007).

Os EUA foram o país com maior número de pedido de proteção de cultivares (concedidos ou não), como ilustrado na Figura 18. A maioria deles (75%) foi de companhias americanas, todas privadas. Dentre as empresas internacionais, as com mais pedidos foram as alemãs, neozelandesas e japonesas, embora existam pedidos de outros países também. A única companhia com financiamento público encontrada foi a eslovena *Slovenian Hop Research Institute*.

Cultivares registradas como PP ou como PBR (Figura 18) pertencem, principalmente, a corporações privadas. As corporações que mais registraram pedidos de PP foram *Association for the Development of Hop Agronomy LLC* (ADHA, antes conhecida como *American Dwarf Hop Association*, EUA), *Sapporo Breweries* (Japão), *New Zealand*

Hops (Nova Zelândia), *Yakima Chief Ranches* (EUA); e pedidos de PBR foram as *Simon H. Steiner* (Alemanha) e *HVG* (Alemanha), *Wye Hops* (Inglaterra) and *ADHA* (EUA). É estimado que até 36% da produção de lúpulo sejam de variedades desenvolvidas na última década (WATSON, 2020).

Figura 18 – Número de cultivares registradas como Direito de Criador de Plantas (liso) ou Patente de Plantas (hachurado) em cada país.



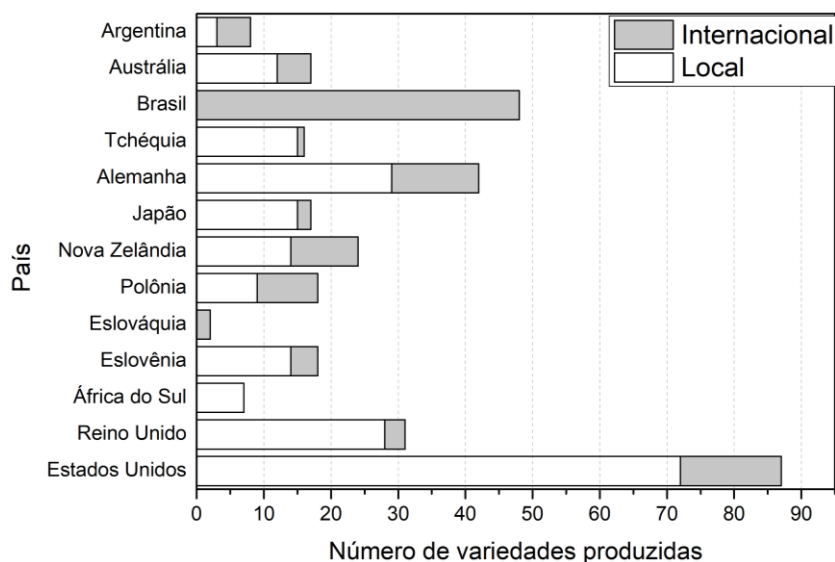
Fonte: Convenção UPOV (2021).

Dentre as patentes de planta, concedeu-se em 2019 o registro a uma variedade pertencente à outra espécie de lúpulo o *Humulus yunnanensis* Hu. *H. yunnanensis* é uma espécie selvagem que mostrou ter boa produção de canabidiol e outros canabinoides sem traços de tetrahydrocanabidiol (THC). Essa foi a única cultivar encontrada que não é pertencente à espécie *Humulus lupulus* L.

Na maioria dos países, foi observado que há preferência por variedades locais sobre as internacionais, como mostrado na Figura 18, o que aumenta a importância de se proteger cultivares. Além do mais, o número de variedades locais cultivadas em cada país individualmente é maior do que o número de variedades aplicadas, o que significa que há variedades que são mantidas em segredo pelos cultivadores, por meio de segredos industriais. Como apenas poucas empresas comercializam e processam o lúpulo, uma forma comum de proteção é apenas pela marca do produto. Ainda que não garanta nenhuma proteção legal contra fazendeiros que produzam de forma irregular, a marca é o que torna o produto confiável e agrega referência. Marcas também permitem que haja a mistura de diferentes

cultivares para criação de um novo produto no mercado. As maiores vantagens desse uso de propriedade intelectual são sua simplicidade e baixo custo.

Figura 19 – Variedades de lúpulo locais (branca) e internacionais (cinza) cultivadas em cada país.



Fonte: Próprio autor, com dados do IHGC (2019b).

O Brasil iniciou o cultivo de lúpulo recentemente e já há mais de 44 variedades estrangeiras sendo tropicalizadas, ou seja, em adaptação ao clima local. Até o momento, nenhum pedido foi concedido, ainda que dois já tenham sido feitos. De acordo com a APROLÚPULO (2020) há hoje mais de 125 produtores de lúpulo no País, 90 na região Sul e 32 na região Sudeste. As cervejarias locais têm grande interesse nos potenciais novos aromas e sabores provenientes do *terroir* e nos preços potencialmente mais baratos.

A Alemanha foi o segundo país com maior número de cultivares, todos PBR, não por acaso, é também o segundo maior produtor mundial de lúpulo. O terceiro com maior número de cultivares foi a Nova Zelândia, no hemisfério sul. A proteção de cultivares indica o quanto cada país está disposto a proteger suas variedades, mesmo que sejam cultivadas fora de seus territórios. A Nova Zelândia possui tanto cultivares protegidas sob a UPOV, quanto patentes de planta depositadas nos EUA, garantindo assim maior proteção. O Japão, mesmo não sendo um dos grandes produtores de lúpulo, é o sétimo maior produtor de cerveja no mundo e possui 6 pedidos de proteção de cultivar (KIRIN HOLDINGS COMPANY, 2018; UPOV, 2021).

Os EUA, Alemanha, Nova Zelândia, Polônia, Reino Unido, Tchéquia, Eslovênia e Austrália possuem instituições ou empresas privadas e/ou públicas dedicadas ao estudo e cruzamento de lúpulo (GUIMARÃES *et al.*, 2021). Essas instituições promovem inovação ao

desenvolver novas cultivares e ao adaptar cultivares estrangeiras às condições do país. Um dos motivos para tanto é que variedades locais são mais bem adaptadas às condições e clima específico daquele país ou região, com consequente aumento de produtividade e até exclusividade. Para além do que é necessário para a proteção de cultivares, produtores geralmente necessitam melhor caracterizar seus produtos para poder vendê-los a outros produtores ou a cervejarias e cervejeiros. Isso significa que várias características devem estar disponíveis a esse público, como conteúdo de alfa-ácidos e beta-ácidos, de óleos totais e sua composição, fração de cohumulona, além de uma análise sensorial de seus aromas e de sua estabilidade de armazenamento. De um ponto de vista agrônomo, produtividade, tempo de maturação e resistência a pragas e doenças são parâmetros importantes.

Para que novas variedades sejam desenvolvidas, faz-se necessária uma grande quantidade de tempo e investimento, conforme ilustrado na Figura 7. Nada obstante, devido às múltiplas florações em um ano, o Brasil se apresenta como um acelerador desse processo, podendo, assim, reduzir o tempo de obtenção em até 33%. O desenvolvimento de variedades nacionais pode produzir novos aromas, plantas melhor adaptadas ao aquecimento global, bem como reduzir a importação de lúpulo, que atingiu 39,2 milhões de dólares e 2.700 toneladas em 2019 (MINISTÉRIO DA ECONOMIA, 2019).

Para além de patentes de planta (EUA) e Direitos de Cultivador de Plantas que protegem apenas a cultivar, há também outras formas de proteção de direitos de propriedade intelectual, a exemplo da Proteção de Designação de Origem (PDO) e da Proteção de Indicação Geográfica (PIG), que protegem o *terroir* e a história do produto. Essas proteções evitam confusão com cultivares produzidas em vários locais ou países. Para receber uma dessas proteções, o produto deve ser original de uma área específica, local, região, ou mesmo, país, além de apresentar características ou qualidades exclusivas ou essencialmente atribuídas à sua origem geográfica. A maior diferença entre as duas é que enquanto o PIG exige que, pelo menos, uma das etapas de produção seja daquela região particular, o PDO exige que sejam todas as etapas (DIAS; MENDES, 2018).

As cultivares de lúpulo que adquiriram tais proteções geográficas foram a East Kent Goldings, Inglaterra (PDO); Saaz (*Žatecký chmel*) da Žatec (região de Saaz), Tchêquia (PDO); Tett nang (*Tett nanger hopfen*), Alemanha (PIG); lúpulos de Hallertau (*Hopfen aus der Hallertau*), Alemanha (PGI); Elbe-Saalem, Alemanha (PIG); Styrian (*Štajerski hmelj*) da Eslovênia (PIG); e aspargos de lúpulo de Poperinge (*Poperingse Hopscheuten/ Poperingse Hoppescheuten*), Bélgica (PIG). Este último não é para uso cervejeiro, mas uma comida exclusiva que utiliza brotos de lúpulo. Este tipo de proteção garante maior valor às

características por proteger o nome, métodos de processamento, atributos de cultivo, marketing e local de produção (DIAS; MENDES, 2018).

Em resumo, a proteção de propriedade intelectual sobre lúpulo pode ser sobre sua cultivar (Patente de Planta e Direito de Cultivadores de Planta), região de produção da planta ou de seus produtos (PDO e PIG) e marcas para seus produtos, além de Patente de Utilidade, ainda que nenhum exemplo deste tenha sido encontrado. Essas proteções de PI podem ser cumulativas, como ilustrado na Figura 20, garantindo ao cultivador de lúpulo ou a empresa maior valor e exclusividade, já que não podem ser replicados em outros locais.

Figura 20 – Possibilidade de Proteção de Propriedade Intelectual (PI) para lúpulo. Pode haver acúmulo de proteções de PI.



Fonte: Próprio autor.

5.2 LÚPULO *IN NATURA*

5.2.1 Umidade

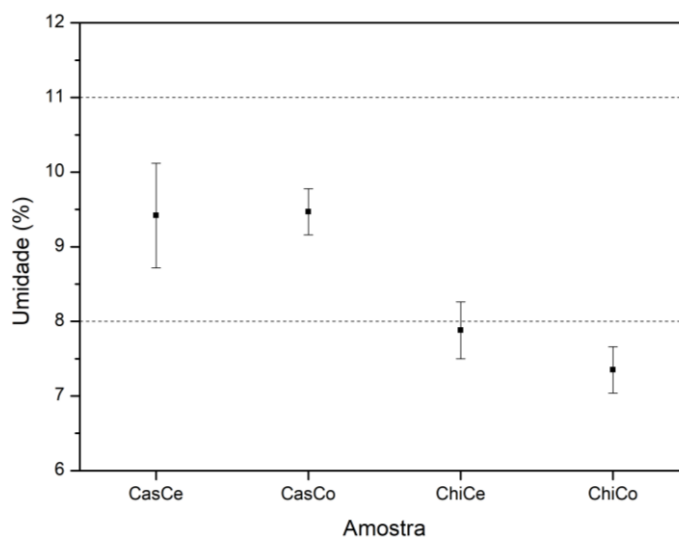
A umidade é um aspecto importante para as análises de lúpulo porque está intimamente relacionada com a capacidade de armazenamento, dificuldades na trituração e absorção de água durante a fervura. A faixa ótima de umidade é entre 8 e 11% (KUNZE, 2004; HERMÁNEK; RYBKA; HONZÍK, 2018). Umidades abaixo de 7% tendem a tornar o lúpulo muito quebradiços, favorecendo a perda de lupulina durante o processamento.

Umidades acima de 13% podem favorecer o crescimento de fungo, assim como mudanças de coloração e, em casos extremos, risco de autoignição (HERMÁNEK; RYBKA; HONZÍK, 2018).

5.2.1.1 CASCADE

A variedade Cascade cultivada no cerrado e nos EUA apresentaram valores dentro da faixa ótima de umidade, evidenciados pelas linhas tracejadas na Figura 21, com 9,42 % e 9,47 %. Como a umidade medida foi dentro da margem e com valores próximos entre si, sabe-se que ambas amostras terão valores similares de absorção de água, quando em contato com a cerveja e, também, boa armazenagem.

Figura 21 – Teor de umidade (% m/m) das amostras com os valores mínimo e máximo indicados (linhas pontilhadas).



Fonte: Próprio autor e dados de Hermánek, Rybka e Honzík (2018).

5.2.1.2 CHINOOK

As amostras da variedade Chinook obtiveram valores inferiores ou no limiar inferior da faixa indicada na Figura 21, com ChiCe apresentando apenas 7,88 % de umidade e ChiCo. 7,35 %. Essa secagem excessiva pode ocasionar maior oxidação dos compostos em seu interior, pelo maior tempo de contato com o oxigênio sob temperaturas mais altas, além de tornar o *pellet* quebradiço.

5.2.2 Alfa-ácidos

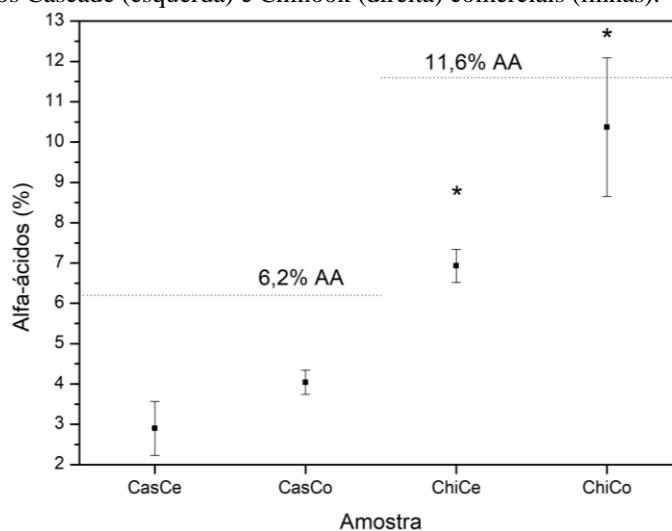
O alfa-ácido (AA) é um dos itens mais importantes para o cervejeiro, pois é ele que quantifica o tanto de lúpulo a ser adicionado com o intuito de fornecer amargor à cerveja. Por isso, quantificou-se os alfa-ácidos presentes nos lúpulos cultivados no cerrado e nos comerciais, e ainda se comparou com o nominal presente no rótulo. De acordo com Woodske (2012) e BarthHaas (2021), a variedade Cascade tem seu teor de AA entre 4,5 e 7% e a Chinook entre 12 e 14%.

5.2.2.1 CASCADE

Observou-se que o teor de alfa-ácido foi inferior na amostra comercial em relação ao que é indicado pelo fabricante, conforme mostrado na Figura 22. Isso acontece porque há demora entre as fases de plantio, análise da flor, comercialização e sua utilização na cervejaria. Esse tempo de prateleira promove a perda da quantidade desse grupo de moléculas por promover a oxidação a humulinonas. O Brasil, por apresentar múltiplas florações, permite a utilização mais rápida e com menor deterioração de alfa-ácidos, já que não precisa estocar por um ano inteiro.

A quantidade de AA dos cones de Cascade cultivados no Distrito Federal (CasCe) foi de $2,9 \pm 0,67$ %, abaixo da quantidade mínima para a variedade. Essa quantidade de alfa-ácidos não impede o seu uso, apenas, para fornecer amargor, será necessário utilizar mais lúpulo. O valor do Cascade do cerrado foi inferior ao calculado por Arruda e colaboradores (2021), ao quantificar com utilização de cromatografia líquida, em seu estudo, o Cascade brasileiro cultivado em Nova Friburgo/RJ apresentou 6,97 % de alfa-ácidos totais, situando-se próximo ao máximo reportado para a variedade. O valor encontrado em CasCe também foi menor do que o de seu par comercial (CasCo), que obteve $4,04 \pm 0,30$ %, ainda que a diferença entre CasCe e CasCo não seja estatisticamente significativa de acordo com o teste T de Student ($p=0,05$).

Figura 22 – Teor de alfa-ácidos (% (m/m)) das amostras de lúpulo e seus erros (barras) com o teor nominal dos lúpulos Cascade (esquerda) e Chinook (direita) comerciais (linhas).



* Diferença significativa entre a mesma variedade ($p < 0,05$).

Fonte: Próprio autor.

5.2.2.2 CHINOOK

Os cones da variedade Chinook nacional (ChiCe) alcançaram $6,93 \pm 0,41$ %, sendo significativamente inferior ao comercial (ChiCo) que foi $10,37 \pm 1,72$ % ($p=0,05$) e inferior ao mínimo da variedade, 12 %. ChiCo obteve um resultado estatisticamente igual ($p=0,05$) ao informado pelo fabricante. Assim como em CasCe, ChiCe apresentou valores mais baixos que seu par comercial, também necessitando de maior quantidade para se obter o mesmo amargor.

5.2.3 Índice de estocagem de lúpulo (HSI)

O índice de estocagem de lúpulo (HSI – *hop storage index*) é um importante parâmetro de avaliação para medir a qualidade do lúpulo.

5.2.3.1 CASCADE

Os valores de HSI e a quantidade de alfa-ácidos calculada para CasCe mostraram que a amostra está no limiar entre o fresco e o aceitável, enquanto CasCo está na faixa de questionável, como apresentado na Tabela 5. Essa diferença na armazenagem diminuiu a diferença de amargor presente nos alfa-ácidos, uma vez que o frescor da colheita faz com que menos ácidos sejam oxidados até o momento de sua utilização. Levando-se em consideração

o HSI, o teor de AA não oxidado de CasCe é de cerca de 2,6 %, enquanto o de CasCo é de 3,0 %.

Tabela 5 – Índice de estocagem (HSI) e percentual de alfa-ácidos oxidados de cones de lúpulo *in natura* do Distrito Federal das variedades Cascade (CasCe) e Chinook (ChiCe) e seus pares comerciais em *pellet* dos Estados Unidos, Cascade (CasCo) e Chinook (ChiCo).

	CasCe	CasCo	ChiCe	ChiCo
Índice de estocagem	0,31	0,44	0,31	0,55
Alfa-ácidos oxidados	10,04%	25,49%	10,17%	35,51%

Fonte: Próprio autor.

5.2.3.2 CHINOOK

Assim como para Cascade, o Chinook nacional apresentou 0,31, com maior frescor que seu par comercial, estando no limiar entre fresco e aceitável, já CasCo apresentou o valor de 0,55 e mais de um terço de seus AA oxidados. Levando em consideração a oxidação, ChiCe apresenta 6,2 % e ChiCo, 6,7 %, uma diferença muito inferior ao analisar-se apenas a concentração de AA em cada amostra. Também mostrando a importância de se cultivar localmente o lúpulo e promover o cultivo do lúpulo nacional.

5.2.4 Polifenóis

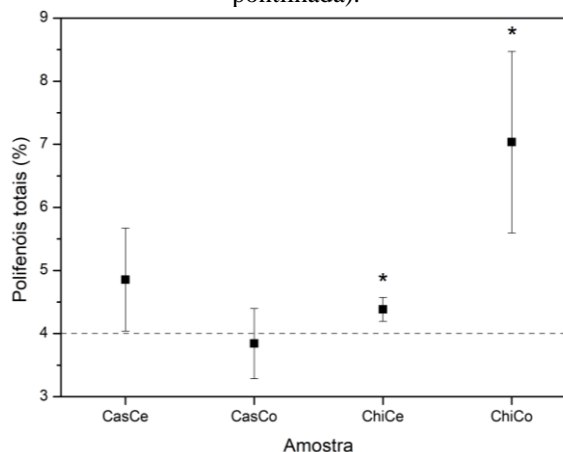
Para uso cervejeiro, a quantificação de polifenóis é um importante parâmetro porque esses compostos fornecem um gosto adstringente indesejável, além de atuar como antioxidantes. Além do mais, ao se complexar com proteínas, durante a fervura, formam o *trub*. Esse complexo de polifenol-proteína é pouco solúvel, e promove uma consequente deposição ao fundo. Almaguer *et al.* (2014) informam que, em geral, o teor de polifenóis corresponde a 4 % em massa do cone, indicado na Figura 23 com uma linha.

5.2.4.1 CASCADE

A Figura 23 revela que a amostra brasileira obteve uma média superior (4,8 %) em comparação ao *pellet* comercial (3,8 %), ainda que não haja uma diferença significativa entre elas ou o dado como típico da flor (4 %), indicando que a produção deste composto não foi fortemente influenciada pelas condições de cultivo (horas de luz diárias, umidade, temperatura etc.). Ou seja, a capacidade antioxidante de ambos os lúpulos é similar e espera-

se obter valores similares de adstringência na bebida com a utilização desses lúpulos. Almeida *et al.* (2020; 2021) em seus dois trabalhos também observaram valores maiores de polifenóis totais para lúpulos Cascade brasileiros quando comparados aos provenientes dos EUA.

Figura 23 – Teor de polifenóis (% (m/m)) nas amostras e seu desvio-padrão (barras) e na literatura (linha pontilhada).



* Diferença significativa entre a mesma variedade ($p < 0,05$).

Fonte: Próprio autor, com dados Almaguer *et al.* (2014).

5.2.4.2 CHINOOK

Por outro lado, o Chinook brasileiro obteve teor de polifenóis de 4,38 %, significativamente menor que o do *pellet* comercial, que apresentou o maior valor entre as amostras, com 7,59 %. Almaguer *et al.* (2014) comentam em seu artigo que 8 % é um valor comum em certas cultivares, assumindo que a variedade seja uma dessas, observou-se uma mudança na produção da classe de compostos, provavelmente, decorrente das mudanças climáticas entre as regiões (temperatura, duração do dia, quantidade de chuva, irrigação etc). O valor maior de polifenóis totais presentes em ChiCo pode tanto sugerir uma maior ação antioxidante na cerveja quanto uma maior sensação de adstringência em relação a ChiCe.

5.2.5 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são os compostos responsáveis pelo aroma do lúpulo, sendo utilizado para padronização de produções por sua correção, já que sua concentração é variada a cada safra. Em geral, as empresas fornecem apenas as variações comuns a variedade, mas não são dados precisos ou específicos de cada safra, além da inevitável perda devido à sua volatilidade. A fim de obter esse dado, quantificou-se as amostras por hidrodestilação e os resultados da quantificação estão na Figura 24.

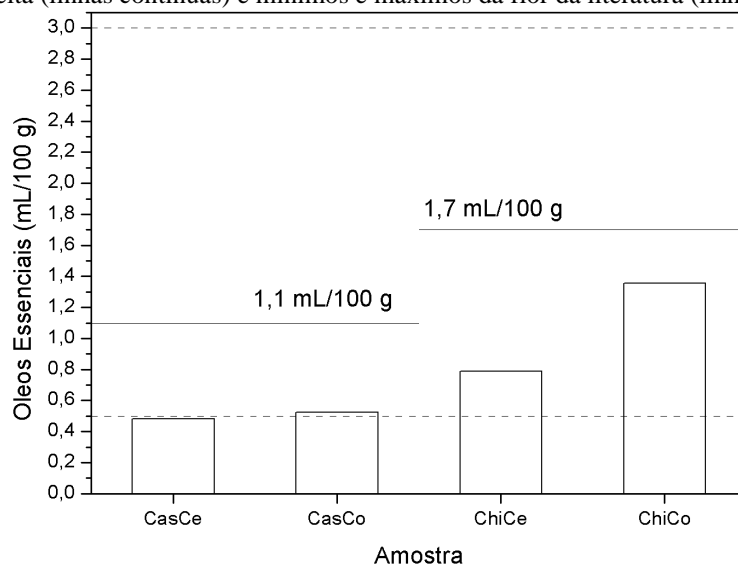
5.2.5.1 CASCADE

Observou-se que CasCe apresentou valor próximo ao obtido no *pellet* comercial, 0,4821 ante a 0,5247 ml/100 g. Embora o valor de CasCo tenha sido aquém do indicado no rótulo do produto e, assim como CasCe, aquém daquela contida no livro de Woodske (2012) e em BarthHaas (2021), que indica ser de 0,7 a 1,4 mL/ 100 g de lúpulo seco para a cultivar, beirando o mínimo apresentado na Tabela 2, de 0,5 mL/100 g.

Esses valores são inferiores ao encontrado por Almeida *et al.* (2021), que obtiveram 1,25 mL/ 100g e 3,85 mL/ 100g, para Cascade nacional e dos EUA, embora também tenha sido obtido por hidrodestilação, esses valores estão bastante acima do esperado, com o americano tendo mais de 2 vezes o máximo indicado para a cultivar. Comparando com os valores obtidos por Lafontaine *et al.* (2019), é possível que a colheita tenha sido realizada ainda no início do período de maturação da planta ou, simplesmente, que a produção de óleos tenha sido menor ou tenha havia volatilização dos óleos ainda no cultivo, decorrente das temperaturas elevadas. Como foi realizada apenas uma análise, é possível que estejam no limiar inferior do valor dado como comum.

Os valores abaixo do esperado para os *pellets* comerciais, podem ser consequência de seu longo armazenamento até o momento de utilização. Por serem extremamente voláteis, eles podem ser perdidos ao longo do tempo, mesmo nas melhores condições de armazenamento.

Figura 24 – Teor de óleos essenciais presentes nas amostras e teor nominal dos lúpulos Cascade à esquerda, Chinook à direita (linhas contínuas) e mínimos e máximos da flor da literatura (linhas pontilhadas).



Fonte: Próprio autor e dados de Woodske (2012) e Almaguer *et al.* (2014).

5.2.5.2 CHINOOK

O Chinook americano também obteve volume inferior àquele informado no rótulo, de 1,7 mL/100 g e também dos dado como típicos, variando de 1,7 a 2,7 mL/100 g, com 1,3550 mL/100 g e 0,7884 mL/100 g para ChiCe.

5.2.5.3 ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS POR CG/EM

A fim de identificar os componentes presentes nos óleos essenciais do lúpulo, os óleos essenciais obtidos por hidrodestilação foram inseridos em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas. Dentre as substâncias identificadas, verificou-se que várias delas já foram detectadas em lúpulos e seus aromas descritos na literatura, como mostrado nas Tabela a 4 do Apêndice e sintetizadas na Tabela 6 abaixo. Os terpenos, C₁₀, foram os primeiros a eluírem da coluna, os sesquiterpenos, C₁₅, foram as últimas moléculas a serem eluídas, os ésteres, por serem de variados tamanhos, saíram da coluna em diferentes tempos de eluição.

Observou-se a presença de vários compostos que atribuem características aromáticas, como monoterpenos (beta-pineno, beta-mirceno, linalool e dl-limoneno), os sesquiterpenos (trans-cariofileno, alfa-humuleno, beta-farneseno e delta-cadineno), além de alguns ésteres (propanoato de isoamila, isobutanoato de isopentila, isobutanoato de isobutila, isobutanoato de isoamila, butanoato de amila, metil-heptanoato de metila, 6-metil-heptanoato de metila e decenoato de metila).

5.2.5.4 CASCADE

Os cones dos lúpulos brasileiros apresentaram maior concentração de beta-mirceno – 83,59 % dos óleos analisados, por não terem sido processados, enquanto os *pellets* comerciais apresentaram apenas 62,65 %. Em contrapartida, os *pellets* comerciais apresentaram concentrações maiores de sesquiterpenos (trans-cariofileno, alfa-humuleno e beta-farneseno). A amostra brasileira apresentou uma variedade de moléculas que não foram identificadas no seu par comercial, como propanoato de isoamila, dl-limoneno, isobutanoato de amila e 6-metil-heptanoato de metila. Todos os ésteres apresentam caráter frutado, destacam-se propanoato de isoamila e 6-metil-heptanoato de metila por apresentarem aromas que remetem a abacaxi. Dl-limoneno é um terpeno com odor cítrico característico, podendo

ser limão ou laranja, a depender do isômero óptico. CasCo apresentou linalool, a forma hidratada do beta-mirceno, de caráter floral e cítrico, além de beta-farneseno, de aroma cítrico e amadeirado.

Tabela 6 – Compostos voláteis identificados nos óleos extraídos de lúpulos das variedades Cascade do Distrito Federal (CasCe) e dos Estados Unidos (CasCo) e Chinook do Distrito Federal (ChiCe) e dos Estados Unidos (ChiCo). Valores referentes a porcentagem da área de cada pico.

Molécula	CasCe	CasCo	ChiCe	ChiCo	Aroma
4-hidróxi-4-metilpentan-2-ona	8,98				N.I.
Diacetona álcool	3,92				N.I.
Propanoato de isoamila	0,91		0,43		Maçã, banana, abacaxi, melão, frutado, doce
Beta-pineno	0,81		0,69		Pinho, amadeirado, folha, resinoso, seco Herbal, metálico, resinoso, condimentado, balsâmico, folha, apimentado,
Beta-mirceno	83,59	62,65	84,29	70,29	terpeno, bálsamo, plástico, doce cenoura, pinhoso, aipo, limão, amadeirado
Linalool		2,42			Floral, frutado, cítrico, anis, rosa, lúpulo, semente de coentro
Alfa-pineno				0,28	Alecrim, pinho, frutado, folha, resinoso
dl-limoneno	0,53				Pinho, removedor de tintas, frutado, cítrico, laranja, limão
Isobutanoato de isopentila				3,3	Frutado
Isobutanoato de isobutila				0,2	Frutado
Isobutanoato de isoamila			1,38		Frutado, doce
Isobutirato de amila	3,76				Condimentado
6-metil-heptanoato de metila	1,3				Abacaxi
Decenoato de metila	0,64		0,54		Frutado
Trans-cariofileno	0,9	5,65	1,38	6,58	Amadeirado (cedro), condimentado, floral, removedor de tintas, cravo-da-Índia, lima, folha
Alfa-humuleno	3,38	18,25	8,87	15,31	Apimentado e amadeirado
Beta-farneseno		1,06			Amadeirado, cítrico, doce
Delta-cadineno				0,88	Herbal, amadeirado

Fonte: Próprio autor, com informações de aromas de Rettberg, Biendl e Garbe (2018) e ASBC (2019).

5.2.5.5 CHINOOK

Assim como ocorreu com CasCe, ChiCe também obteve um valor de beta-mirceno (84,29 %) superior ao *pellet* comercial (70,29 %). ChiCe foi a única amostra a apresentar isobutanoato de isoamila (aromas frutado e doce), ChiCo foi a única amostra a apresentar delta-cardineno, sesquiterpeno de aroma herbal e amadeirado.

Algumas moléculas foram identificadas em todas as amostras de lúpulo, como alfa-humuleno, trans-cariofileno e beta-mirceno. Entretanto, alguns foram exclusivos dos lúpulos nacionais, como propanoato de isoamila, beta-pineno e decenoato de metila. Nenhum composto foi observado apenas nas duas variedades estadunidenses. Esses compostos únicos dos lúpulos do DF podem ser efeito do local de cultivo, um indicativo de *terroir* e muito interessante por poder fornecer aromas diferenciados.

5.3 CERVEJA COM LUPULAGEM A FRIO

A mostura e fermentação foi idêntica e única para todas as amostras, porém a adição de lúpulo durante a maturação (lupulagem a frio ou *dry hopping*) promoveu alterações nas características físico-químicas das cervejas. Ocorreu variação do teor alcoólicos, extrato primitivo, grau real de fermentação, concentração de oxigênio e de açúcares entre o controle e as amostras com DH.

5.3.1 Análises com PBA-B BeerAlcolyzer

5.3.1.1 CASCADE

A utilização de DH utilizando cone ou *pellet* não apresentou uma diferença pronunciada entre si, contudo apresentaram maiores teores alcoólicos que a amostra controle, conseqüentemente o extrato primitivo calculado e o grau de fermentação real (GFR) foram superiores também e os açúcares residuais foram inferiores, como mostrado na Tabela 7. O aumento do teor alcoólico por DH foi observado por Kirkpatrick e Shellhammer (2018) para a variedade Cascade. Os autores, em seu estudo, atribuíram a presença de diversas enzimas no lúpulo capazes de quebrar a cadeia de oligossacarídeos (dextrinas) presentes na bebida em açúcares fermentescíveis, que então eram convertidos a etanol pela ação das leveduras. Esse dado foi verificado pela diminuição da concentração de açúcar residual.

O DH diminuiu a quantidade de oxigênio dissolvido em até 63%. Os polifenóis presentes no lúpulo contribuem para esta redução por atuarem como antioxidantes. Essa redução no oxigênio dissolvido aumenta o tempo de prateleira do produto por diminuir reações de oxidação que podem causar inclusive odores indesejados, em especial, o de papelão. Ou seja, mesmo o cone tendo maior quantidade de ar ao ser submerso que o *pellet* - que foi prensado – o ar presente não interferiu, o que significa que não houve incorporação maior de oxigênio pelo uso do cone.

Tabela 7 – Valores de teor alcoólico, extrato original, grau real de fermentação, concentração de O₂ e de açúcar em cerveja sem *dry hopping* (controle) e com adição de *dry hopping* das variedades Cascade do cerrado (CasCe) e comercial (CasCo) e Chinook do cerrado (ChiCe) e comercial (ChiCo).

Amostra	Álcool (% v/v)	Extrato Original (°P)	Grau de Fermentação Real (%)	Concentração de O ₂ (mg/L)	Concentração de açúcar (mg/L)
Controle	6,26 ± 0,03	15,27 ± 0,04**	62,76 ± 0,23	0,883 ± 0,193	3,77 ± 0,04 ^a
CasCe	6,52 ± 0,02 ^{b*}	15,52 ± 0,05**	64,22 ± 0,22**	0,321 ± 0,061 ^b	3,56 ± 0,04 ^{b**}
CasCo	6,59 ± 0,03 ^{b*}	15,40 ± 0,05*	65,47 ± 0,25**	0,391 ± 0,035 ^b	3,29 ± 0,03 ^{b**}
ChiCe	6,57 ± 0,04 ^{b**}	15,51 ± 0,03**	64,76 ± 0,27**	0,334 ± 0,054 ^b	3,45 ± 0,01 ^{b**}
ChiCo	6,34 ± 0,03 ^{a**}	15,35 ± 0,03	63,16 ± 0,24	0,342 ± 0,043 ^b	3,72 ± 0,02**

^a diferença significativa entre amostra e controle (p<0,05), ^b diferença muito significativa entre amostra e controle (p<0,01). * Diferença significativa entre amostras da mesma variedade (p<0,05). ** Diferença muito significativa entre amostras da mesma variedade (p<0,01).

Fonte: Próprio autor.

5.3.1.2 CHINOOK

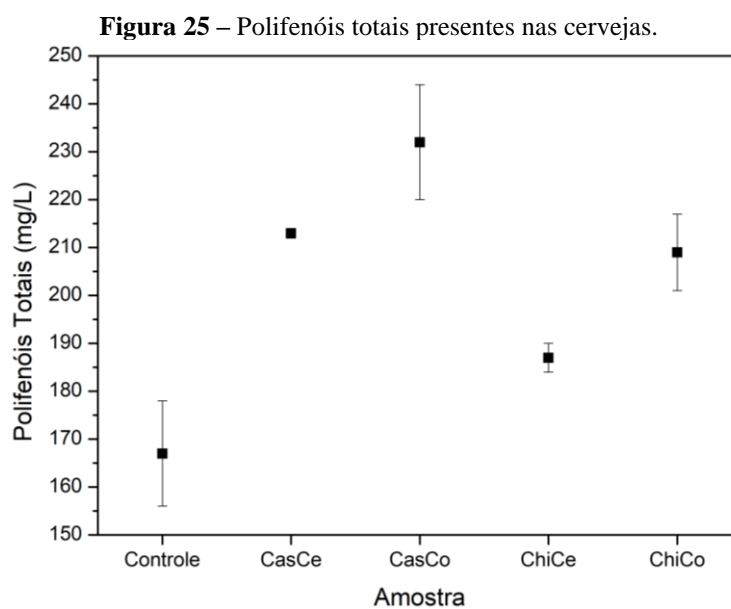
As cervejas produzidas com DH de Chinook também apresentaram valores superiores de teor alcoólico, contudo apenas ChiCe apresentou maior extrato original, maior GFR e menor açúcar residual. Isso indica que a variedade brasileira possa apresentar concentrações de enzimas diferentes daquelas americanas ou que a secagem dos *pellets* tenha sido mais intensa, desnaturando as enzimas.

5.3.2 Polifenóis totais

Os polifenóis na cerveja são responsáveis por agirem como antioxidantes naturais da bebida, porém em grande quantidade podem fornecer sabores de adstringência à bebida. Eles são majoritariamente provenientes da parte vegetal do lúpulo (folhas) e da casca do malte. Verificou-se que a adição de lúpulo na parte fria promoveu um aumento da quantidade de polifenóis totais em todas as amostras (p=0,05), como mostrado na Figura 25.

5.3.2.1 CASCADE

Ainda que a média de polifenóis dos cones de CasCe tenha sido superior, a cerveja produzida com sua utilização obteve 213 mg/L de polifenóis totais, valor inferior ao DH com CasCo, que alcançou 232 mg/L. Ou seja, a quantidade de polifenóis presente no cone não significa obrigatoriamente que a cerveja produzida a partir dela terá mais polifenóis. Verificou-se também que a adição de lúpulo aumentou a quantidade de polifenóis, uma vez que ambas as cervejas com DH obtiveram valores maiores que o da amostra controle, 167 mg/L. Esses valores similares mostram que, quanto ao potencial antioxidante, o lúpulo brasileiro é comparável ao americano, não tendo grandes variações nas quantidades dissolvidas.



Fonte: Próprio autor.

5.3.2.2 CHINOOK

Apesar de apresentar a maior quantidade de polifenóis totais nos *pellets* de lúpulo, a cerveja produzida com a utilização de ChiCo obteve 209 mg/L de polifenóis, acima daquela obtida com adição de ChiCe, 187 mg/L, e da amostra controle, sem DH, com 167 mg/L. A partir do gráfico, observou-se que as cervejas que tiveram a adição de *pellets* tiveram um aumento de 10 % em relação aos cones, isso se deu pela maior área superficial em relação aos cones, por terem sido triturados. Essa maior quantidade de polifenóis justifica a menor quantidade de oxigênio encontrada nas cervejas com DH em relação ao controle.

5.3.3 Análise de voláteis na cerveja com lupulagem a frio por CG/EM

Para melhor compreender quais substâncias presentes nos óleos essenciais dos lúpulos foram incorporadas na bebida, realizou-se uma análise de voláteis por cromatografia gasosa. Várias moléculas foram identificadas pela técnica, sendo que as mais relevantes para este estudo estão sintetizadas na Tabela 8, todas as moléculas identificadas pela técnica estão contidas nas Tabelas 5 a 9 do Apêndice.

5.3.3.1 CASCADE

A adição de lúpulo à cerveja promoveu a alteração de vários compostos, alguns identificados no controle não foram mais identificados nas amostras, outros foram específicos da adição da planta. Alguns dos compostos identificados na amostra controle foram o germacreno D (sesquiterpeno), 6-metil-heptan-1-ol, cumeno e outros vários hidrocarbonetos. Os hidrocarbonetos são facilmente carregados para fora da solução pelas bolhas de CO₂ pois possuem baixa solubilidade em soluções aquosas por sua pequena interação com o solvente.

A molécula de beta-mirceno, presente em todos os cones e *pellets*, foi identificada apenas na cerveja com DH de CasCo. Todavia, tanto CasCe quanto CasCo apresentaram di-hidromircenol – forma reduzida do mircenol – e que todas as amostras com DH apresentaram di-hidrocitronelol – forma reduzida do citronelol que, por sua vez, é a forma hidratada do beta-mirceno. Isso indica que algumas moléculas sofreram biotransformação, ou seja, alguns dos compostos originalmente encontrados no lúpulo foram modificados pelas leveduras presentes na cerveja, no caso, hidratados e reduzidos.

A molécula de beta-farneseno foi encontrada no *pellet* de lúpulo de CasCo, mas não na cerveja com seu DH. Contudo, farnesano, uma forma reduzida do beta-farneseno foi encontrada na cerveja com DH de CasCe. A molécula de iso-alfa-ácido identificada em CasCo pode ser tanto da volatilização de um IAA quanto da volatilização de um alfa-ácido que foi isomerizado durante a análise devido à alta temperatura de injeção.

Tabela 8 – Compostos voláteis identificados em cervejas sem lupulagem a frio (controle) e com lupulagem utilizando as variedades Cascade do Distrito Federal (CasCe) e dos Estados Unidos (CasCo) e variedade Chinook do Distrito Federal (ChiCe) e dos Estados Unidos (ChiCo).

Molécula	Controle	CasCe	CasCo	ChiCe	ChiCo
Butano-2,3-diol	X	X	X	X	
3-etiloctano					X
Ácido butírico	X				
Acetato de isoamila	X	X	X	X	X
3,5-dimetiloctano					X
Acetato de 1,2-dimetilpropila	X				
Cumeno	X				
Beta-mirceno			X		
2,7-dimetilocta-2,7-dieno	X				
2,7-dimetilocta-2,6-dieno					X
Terc-butirado de terc-butila	X				
3,3,6-trimetilheptano					X
5-etil-2-metilheptano					
Di-hidromircenol		X	X	X	
6-metilhetan-1-ol	X				
2,6-dimetiloct-1-eno	X				
di-hidrocitronelol		X	X	X	X
Feniletanol	X	X	X	X	X
Ácido caprílico	X				X
Ácido valérico		X			
1-butil-2-metilciclopenteno	X				
Isobutilciclohexano		X			
Iso/sec-butilciclohexano	X				
Octanoato de etila				X	
3,5-dimetiloctano	X				
3-etiloct-1-eno	X				

2,5,5-trimetil-heptano	X			
Estearol	X			
Isooctanol	X			
2,4-dimetil-heptan-1-ol		X		
Valerato de 2-tetradecila/4-tridecila/2-pentadecila	X			
Isobutil-hexano	X			
Farnesano		X	X	
Hexa-hidro-farnesol				X
Isodi-hidrovandulal			X	
2,6-dimetil-octano				X
3,8-dimetil-decano		X		
Isotridecanol				X
Germacreno di-hidrofitol		X	X	
Isodi-hidrovandual		X		
Germacrano D	X			
Hexa-hidronerolidol				X
Nonanoato de metila				X
Ácido estérico		X		
Iso-alfa-ácido			X	

Fonte: Próprio autor.

5.3.3.2 CHINOOK

As cervejas produzidas com DH de cones de ChiCe apresentaram di-hidromircenol e farnesano, ambas também encontradas nas cervejas com CasCe, indicando uma possível tendência de *terroir*. As cervejas com DH de ChiCo obtiveram hexa-hidro-farnesol e hexa-

hidronerolidol, essas moléculas são isômeras e derivadas do farnesol, um sesquiterpeno de cadeia aberta. O farnesol é utilizado pela indústria farmacêutica para enfatizar odores doces e florais (YANG *et al.*, 2019). A adição de ChiCo na cerveja adicionou o éster nonanoato de metila, que possui um aroma frutado de pera e frutas tropicais (TIETEL; MASAPHY, 2018).

Todas as amostras com DH apresentaram di-hidrocitronelol, que é a forma hidratada do beta-mirceno. Isso indica que as amostras sofreram biotransformação, ou seja, alguns dos compostos originalmente encontrados no lúpulo foram modificados pelas leveduras presentes na cerveja, no caso, hidratados e reduzidos.

5.3.4 Análise sensorial

A fim de melhor avaliar as diferenças sensoriais provocadas pela substituição dos lúpulos importados pelos cultivados no Distrito Federal, realizou-se uma análise sensorial em que os aromas e sabores de cada variedade foram quantificados por 7 profissionais treinados para realização dessas análises e os resultados foram representados abaixo.

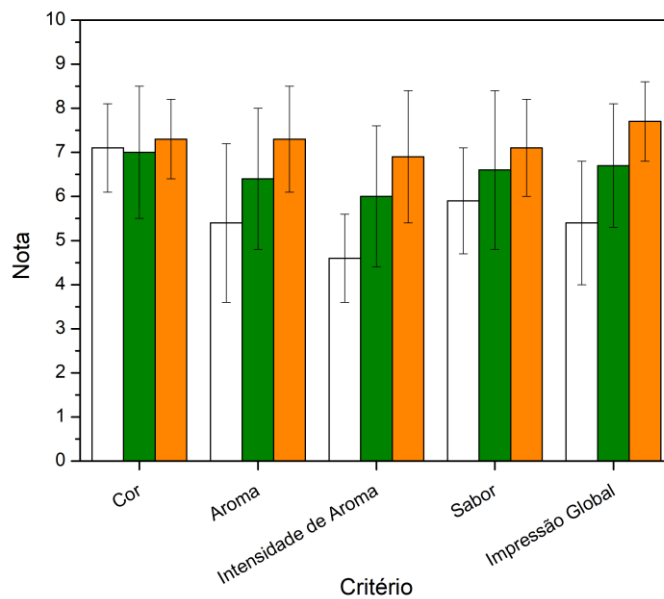
5.3.4.1 CASCADE

A Figura 26 mostra que a cor não sofreu alteração pela adição a frio do lúpulo com sua média estável a 7,1. Os aromas das cervejas com DH dessa cultivar foram fortemente influenciados pela adição de lúpulos, pois obtiveram médias um ou dois pontos acima do controle. Os valores das médias de intensidade de aroma, sabor e impressão global das amostras com DH foram maiores quando comparados ao controle. A pequena diferença (até 1 ponto) entre as amostras brasileira e estadunidense sugere que a cultivar Cascade seja pouco sensível ao clima tropical do cerrado. Para melhor avaliar essas diferenças, avaliou-se individualmente os aromas e sabores de cada variedade e seus resultados estão dispostos na Figura 27. A adição de lúpulo na etapa de maturação aumentou os valores de aromas e sabores da maioria dos critérios avaliados, com redução dos sabores de cereais, alcoólico e maltado.

A variedade Cascade é conhecida por contribuir com aromas bastante cítricos à cerveja (BLENDL *et al.*, 2014). A

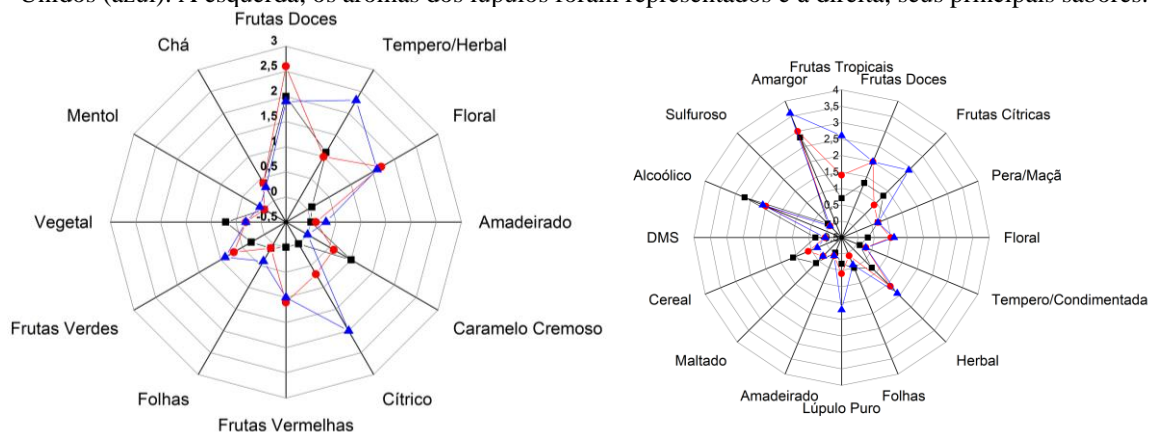
Figura 27 mostrou que o lúpulo nacional contribuiu menos com aromas cítricos e herbais ou de temperos (cravo, erva-doce, anis, manjerona), no entanto, trouxe aromas de frutas doces (cereja, maracujá, damasco, lichia) mais intensos. Os compostos que fornecem aroma são fortemente influenciados pelo *terroir* e essa variação de aromas representa uma vantagem competitiva e oportunidade para o lúpulo brasileiro, tornando o produto um potencial competidor no mercado cervejeiro, ao promover uma experiência diferente no sabor e no aroma da bebida.

Figura 26 – Características gerais das cervejas sem lupulagem a frio (controle, em branco) e com lupulagem a frio utilizando cones de lúpulo da variedade Cascade cultivados no Distrito Federal (verde) e de *pellets* da mesma variedade provenientes dos Estados Unidos (laranja).



Fonte: Próprio autor.

Figura 27 – Análise sensorial dos lúpulos da variedade Cascade cultivados no Brasil (vermelho) e nos Estados Unidos (azul). À esquerda, os aromas dos lúpulos foram representados e à direita, seus principais sabores.



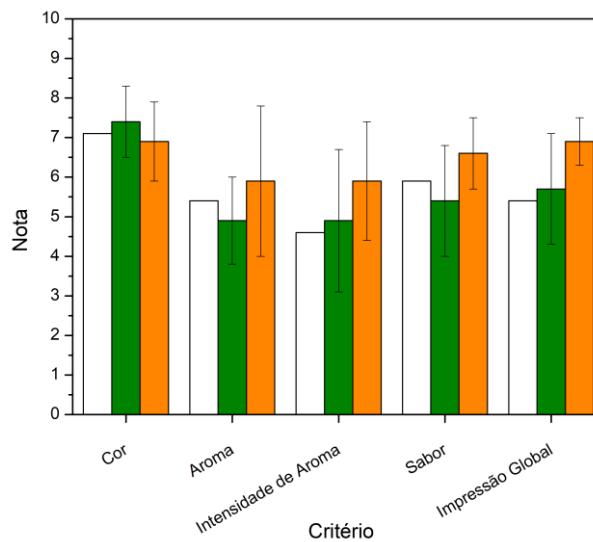
Fonte: Próprio autor.

5.3.4.2 CHINOOK

As cervejas com DH com a variedade Chinook cultivada no DF apresentaram médias inferiores ao controle em relação a aroma e sabores, embora a intensidade de aroma tenha sido superior ao do controle, conforme mostra a Figura 28. Já as cervejas com DH com *pellets* dos EUA obtiveram médias superiores para todos os critérios avaliados.

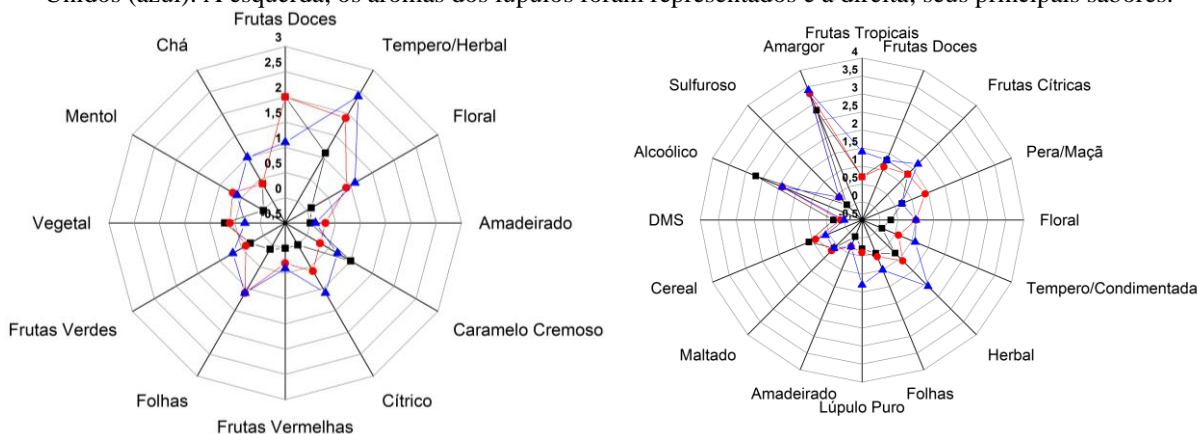
As cervejas com DH dessa cultivar obtiveram resultados muito similares no que tange aos aromas e sabores identificados pelos avaliadores para ambos os locais de cultivo, como mostrado na Figura 29. Observou-se que o aroma de fruta doce também foi maior no lúpulo do DF do que em seu par, indicando uma possível tendência de *terroir*, enquanto o aroma herbal foi inferior no lúpulo nacional. Em relação aos sabores, foi identificado um aumento da percepção do sabor de pera e maçã (frutas verdes) e diminuição de frutas tropicais. A adição de lúpulo diminuiu os valores de sabor alcoólico, independentemente da área de cultivo ou variedade, o que vai ao encontro do aumento de odores desejado ao se realizar o DH.

Figura 28 – Características gerais das cervejas sem lupulagem a frio (controle, em branco) e com lupulagem a frio utilizando cones de lúpulo da variedade Chinook cultivados no Distrito Federal (verde) e de *pellets* da mesma variedade provenientes dos Estados Unidos (laranja).



Fonte: Próprio autor.

Figura 29 – Análise sensorial dos lúpulos da variedade Chinook cultivados no Brasil (vermelho) e nos Estados Unidos (azul). À esquerda, os aromas dos lúpulos foram representados e à direita, seus principais sabores.



Fonte: Próprio autor.

6 CONCLUSÕES

Em resumo, diferentes países possuem diferentes modalidades de proteção no que tange a propriedade intelectual ou industrial. A informação necessária para proteção de novas cultivares de lúpulo é estritamente botânica na maioria dos países. Produtores europeus precisam informar se a variedade é geneticamente modificada e algumas informações agrônomicas, como resistência a pragas e doenças. Enquanto no Japão e nos EUA, além dos dados de botânica, uma caracterização química é exigida. O modelo japonês e americano melhor caracterizaram as diferentes cultivares de aroma, bem como produtividade, resistência a pragas e doenças e se é um organismo geneticamente modificado. O Japão, Alemanha, Eslovênia e Nova Zelândia possuem cultivares protegidas na UPOV e como patente de planta (EUA). A Inglaterra, Alemanha e Bélgica possuem também proteções geográficas (Proteção sobre Designação de Origem e Proteção de Indicação Geográfica) sobre lúpulo.

Por ter múltiplas florações anuais, o Brasil tem um grande potencial de desenvolvimento de novas variedades por demandar menos tempo de pesquisa e recursos em relação aos demais países. Na maioria dos casos as pesquisas são realizadas em instituições que promovem o desenvolvimento de novas cultivares, exemplos que devem ser seguidos pelo Brasil e por outros países que queiram inovar na área, já que mais e mais aromas distintos são desejados pela indústria cervejeira.

Quanto às características físico-químicas dos cones cultivados no Distrito Federal e seus pares comerciais, observou-se que as variedades analisadas, Cascade (CasCe) e Chinook (ChiCe), tiveram um processo de secagem similar, tendo sua umidade igual ao medido nas

cultivares comerciais ($p=0,05$). Para a aplicação na indústria cervejeira, o teor de alfa-ácido, um importante parâmetro, foi igual entre as variedades Cascade ($p=0,05$) e menor em ChiCe ($p=0,05$), demandando maior uso de ChiCe para que se obtenha o mesmo amargor. O teor de polifenóis de ambas amostras Cascade são próximas entre si ($p=0,05$) e do que a literatura traz como comum ao cone (4%), valor próximo do obtido em ChiCe, porém abaixo de seu par comercial que obteve 7,59% ($p=0,05$). Essa diferença no teor não acarretou em mudanças organolépticas no produto final, não tendo sido observada maior adstringência no paladar. No quesito aroma, referente à quantidade de óleos essenciais presente nas amostras, observou-se que, nos casos dos *pellets* comerciais, os valores obtidos foram menores que os de referência da cultivar ou informado pelo fabricante. Embora apresentem diferenças, estas não inviabilizam o uso do lúpulo cultivado no cerrado para uso cervejeiro. Com bases nos resultados obtidos, as propriedades físico-químicas dos lúpulos cultivados no DF são similares aos comerciais, podendo imediatamente substituí-los. Para utilização industrial, contudo, ainda demanda seu beneficiamento e, em especial, sua peletização.

As cervejas produzidas com lupulagem a frio obtiveram maior teor alcoólico, e menores valores de extrato final, açúcares residuais e oxigênio dissolvido do que a cerveja controle. O menor teor de açúcar e oxigênio proporciona maior tempo de prateleira por dificultar a contaminação bacteriana e a oxidação da bebida. A adição de lúpulo também provocou um aumento da quantidade de polifenóis em relação ao controle, entretanto este aumento não foi proporcional à quantidade de polifenóis presente no lúpulo adicionado. As variedades comerciais obtiveram valores mais altos de suas características gerais organolépticas em relação às nacionais. Os perfis sensoriais de aromas e sabores entre as variedades foram similares, com CasCe apresentando maiores aromas de frutas doces e menos de cítrico e herbal em relação a CasCo. Esta similaridade indica que ambos estão prontamente aptos a substituírem seus pares comerciais, os quais são importados.

Este é um estudo pioneiro por se tratar de lúpulo nacional e o primeiro a estudar lúpulos cultivados na região Centro-Oeste do Brasil. Em virtude das características analisadas, a região possui grande potencial para produção da planta, em especial, para *dry hopping*, pois os cones possuem aromas distintos daqueles produzidos nos Estados Unidos, carregando consigo propriedades organolépticas intrínsecas ao local de cultivo. Mais estudos são necessários para melhorar e otimizar a produção de moléculas de interesse, mas o cultivo se provou de qualidade e com grande potencial para uso em escala industrial.

7 REFERÊNCIAS

- ABRACERVA. **Dados do setor – Cerv Brasil – Associação Brasileira da Indústria da Cerveja**. Disponível em: <http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/dados-do-setor/>. Acesso em: 13 jun. 2019.
- ALGAZZALI, Victor; SHELLHAMMER, Thomas. Bitterness Intensity of Oxidized Hop Acids: humulinones and hulupones. **Journal Of The American Society Of Brewing Chemists**, [S.L.], v. 74, n. 1, p. 36-43, jan. 2016. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1094/asbcj-2016-1130-01>.
- ALMAGUER, Cynthia; SCHÖNBERGER, Christina; GASTL, Martina; ARENDT, Elke K.; BECKER, Thomas. Humulus lupulus- a story that begs to be told. A review. **Journal Of The Institute Of Brewing**, [S.L.], v. 120, n. 4, p. 289-314, set. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jib.160>.
- ALMEIDA, Aline da Rosa; MACIEL, Matheus Vinícius de Oliveira Brisol; MACHADO, Michelle Heck; BAZZO, Giovana Carolina; ARMAS, Rafael Dutra; VITORINO, Vinicius Bittencourt; VITALI, Luciano; BLOCK, Jane Mara; BARRETO, Pedro Luiz Manique. Bioactive compounds and antioxidant activities of Brazilian hop (Humulus lupulus L.) extracts. **International Journal Of Food Science & Technology**, [S.L.], v. 55, n. 1, p. 340-347, 16 ago. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ijfs.14311>.
- ALMEIDA, Aline da Rosa; MACIEL, Matheus Vinicius de Oliveira Brisola; GANDOLPHO, Bianca Cardoso Gasparini; MACHADO, Michelle Heck; TEIXEIRA, Gerson Lopes; BERTOLDI, Fabiano Cleber; NORONHA, Carolina Montanheiro; VITALI, Luciano; BLOCK, Jane Mara; BARRETO, Pedro Luiz Manique. 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**, [S.L.], v. 79, n. 2, p. 156-166, 2 set. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/03610470.2020.1795586>.
- AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS. **ASBC Methods of Analysis: Hop Flavor Database**. Disponível em: <http://methods.asbcnet.org/hop_Flavors_Database.aspx>.
- APROLÚPULO. **Conheça as regiões produtoras**. Disponível em: <<https://www.aprolupulo.com.br/>>. Acesso em: 25 mar. 2021.
- ARRUDA, Tarsila Rodrigues; PINHEIRO, Patrícia Fontes; SILVA, Pollyanna Ibrahim; BERNARDES, Patrícia Campos. A new perspective of a well-recognized raw material: phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities and α - and β -acids profile of brazilian hop (humulus lupulus l.) extracts. **Lwt**, [S.L.], v. 141, p. 110905, abr. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110905>.
- BARTH-HAAS GROUP. **HOPS 2017/2018**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.barthhaasgroup.com/images/mediacenter/downloads/pdfs/412/barth-bericht20172018en.pdf>>. Acesso em: 3 jun. 2019.
- BARTHHAAS. **Find hop varieties**. Disponível em: <<https://www.barthhaas.com/en/hops/hop-varieties-and-products/find-hop-varieties>>. Acesso em: 5 jun. 2021.
- BERBERT, S. **Conheça a produção de lúpulo brasileiro - Revista Globo Rural | Agricultura**. Disponível em: <<https://revistagloborural.globo.com/Noticias/Agricultura/noticia/2017/02/conheca-producao-de-lupulo-brasileiro.html>>. Acesso em: 14 ago. 2019.
- BLENDL, M.; ENGELHARD, B.; FORSTER, A.; GAHR, A.; LUTZ, A.; MITTER, W.; SCHMIDT, R.; SCHÖNBERG, C. **Hops: Their Cultivation, Composition and Usage**. 1. ed. Nuremberg, Germany: Fachverlag Hans Carl GmbH, 2014.

BOCQUET, L.; SAHPAZ, S.; HILBERT, J. L.; RAMBAUD, C.; RIVIÈRE, C.. Humulus lupulus L., a very popular beer ingredient and medicinal plant: overview of its phytochemistry, its bioactivity, and its biotechnology. **Phytochemistry Reviews**, [S.L.], v. 17, n. 5, p. 1047-1090, 31 jul. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11101-018-9584-y>.

BRASIL. **Decreto nº 9.902, de 8 de julho de 2019**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2019-2022/2019/decreto/D9902.htm>. Acesso em: 3 jun. 2019.

BRITISH HOP ASSOCIATION. **Hop Breeding**. Disponível em: <<https://www.britishhops.org.uk/hop-breeding/>>. Acesso em: 24 mar. 2020.

CARVALHO, N. B.; MINIM, L. A.; NASCIMENTO, M.; FERREIRA, G. H. C.; MINIM, V. P. R.; Characterization of the consumer market and motivations for the consumption of craft beer. **British Food Journal**, 2018.

CATALISI. **Banco do Brasil abre linha de crédito de R\$ 600 milhões para cultivo de lúpulo no estado do Rio**. Disponível em: <<https://catalisi.com.br/banco-do-brasil-abre-linha-de-credito-de-r-600-milhoes-para-cultivo-de-lupulo-no-estado-do-rio/>>. Acesso em: 24 mar. 2020.

CATTOOR, Ko; DRESEL, Michael; BOCK, Lies de; BOUSSERY, Koen; VAN BOCXLAER, Jan; REMON, Jean-Paul; KEUKELEIRE, Denis de; DEFORCE, Dieter; HOFMANN, Thomas; HEYERICK, Arne. Metabolism of Hop-Derived Bitter Acids. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 61, n. 33, p. 7916-7924, 12 ago. 2013. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf300018s>.

ČERENAK, Andreja; KOLENC, Zala; SEHUR, Petra; WHITTOCK, Simon P.; KOUTOULIS, Anthony; BEATSON, Ron; BUCK, Emily; JAVORNIK, Branka; KOF, Suzana; JAKĽE, Jernej. New Male Specific Markers for Hop and Application in Breeding Program. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-9, 2 out. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-50400-z>.

KEUKELEIRE, Denis de. Fundamentals of beer and hop chemistry. **Química Nova**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 108-112, fev. 2000. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422000000100019>.

DENBY, Charles M.; LI, Rachel A.; VU, Van T.; COSTELLO, Zak; LIN, Weiyin; CHAN, Leanne Jade G.; WILLIAMS, Joseph; DONALDSON, Bryan; BAMFORTH, Charles W.; PETZOLD, Christopher J.. Industrial brewing yeast engineered for the production of primary flavor determinants in hopped beer. **Nature Communications**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-10, 20 mar. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-018-03293-x>.

DIAS, Claudia; MENDES, Luís. Protected Designation of Origin (PDO), Protected Geographical Indication (PGI) and Traditional Speciality Guaranteed (TSG): a bibliometric analysis. **Food Research International**, [S.L.], v. 103, p. 492-508, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.059>.

DOSTÁLEK, Pavel; KARABÍN, Marcel; JELÍNEK, Lukáš. Hop Phytochemicals and Their Potential Role in Metabolic Syndrome Prevention and Therapy. **Molecules**, [S.L.], v. 22, n. 10, p. 1761, 19 out. 2017. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules22101761>.

DURELLO, Renato; SILVA, Lucas; BOGUSZ JUNIOR, Stanislau. QUÍMICA DO LÚPULO. **Química Nova**, [S.L.], v. 42, n. 8, p. 900-919, ago. 2019. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170412>.

ESSLINGER, H. M. **Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets**. 1. ed. Berlim, Alemanha: Wiley-VCH, 2009.

GHESTI, G.; BARROS, C.R.; PARACHIN, N.; MÜLLER, C.; PINHEIRO, L. **Análise Sensorial para Cervejas**. [s.l.] LaBCCERva - Laboratório de Bioprocessos Cervejeiros e

- Catálise em Energias Renováveis - Instituto de Química - Universidade de Brasília, 2018.
- GOMES, Fábio de Oliveira; GUIMARÃES, Bernardo Pontes; CEOLA, Duan; GHESTI, Grace Ferreira. Advances in dry hopping for industrial brewing: a review. **Food Science And Technology**, [S.L.], no prelo, 1 mar. 2021. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/fst.60620>.
- GUIMARÃES, Bernardo Pontes; NASCIMENTO, Paulo Gustavo Barboni Dantas; GHESTI, Grace Ferreira. Intellectual property and plant variety protection: Prospective study in Hop (*Humulus lupulus* L.) cultivars. **World Patent Information**, [S.L.], v. 65, p. 102041, jun. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wpi.2021.102041>.
- HENRIQUE BIGHETTI. **Produtor desenvolve o primeiro lúpulo brasileiro - Canal Rural**. Disponível em: <<https://canalrural.uol.com.br/programas/produtor-desenvolve-primeiro-lupulo-brasileiro-71816/>>. Acesso em: 20 jun. 2019.
- HERMÁNEK, 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, 2018.
- HOLT, Sylvester; MIKS, Marta H; CARVALHO, Bruna Trindade de; FOULQUIÉ-MORENO, Maria R; THEVELEIN, Johan M. The molecular biology of fruity and floral aromas in beer and other alcoholic beverages. **Fems Microbiology Reviews**, [S.L.], v. 43, n. 3, p. 193-222, 15 nov. 2018. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/femsre/fuy041>.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **IBGE | Biblioteca | Detalhes | Pesquisa industrial**. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=71719>>. Acesso em: 12 jun. 2019.
- INTERNATIONAL HOP GROWERS' CONVENTION. **Economic Comission - Summary Reports**. Disponível em: <https://www.usahops.org/img/blog_pdf/266.pdf>. Acesso em: 17 mar. 2020a.
- INTERNATIONAL HOP GROWERS' CONVENTION. **IHGC world hop variety list**. Disponível em: <https://www.lfl.bayern.de/mam/cms07/ipz/dateien/ihgc_hop_variety_list_2019_final.pdf>. Acesso em: 17 mar. 2020b.
- JASKULA-GOIRIS, Barbara; GOIRIS, Koen; SYRYN, Evelien; VAN OPSTAELE, Filip; ROUCK, Gert de; AERTS, Guido; COOMAN, Luc de. The Use of Hop Polyphenols during Brewing to Improve Flavor Quality and Stability of Pilsner Beer. **Journal Of The American Society Of Brewing Chemists**, [S.L.], v. 72, n. 3, p. 175-183, maio 2014. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1094/asbcj-2014-0616-01>.
- JASKULA-GOIRIS, Barbara; AERTS, Guido; COOMAN, Luc de. Hop α -acids isomerisation and utilisation: an experimental review. **Cerevisia**, [S.L.], v. 35, n. 3, p. 57-70, out. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cervis.2010.09.004>.
- KIRIN HOLDINGS COMPANY. **Kirin Beer University Report Global Beer Production by Country in 2017 | 2018 | News Releases | Kirin Holdings**. Disponível em: <https://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2018/0809_01.html>. Acesso em: 24 maio. 2019.
- KIRKPATRICK, Kaylyn R.; SHELLHAMMER, Thomas H.. Evidence of Dextrin Hydrolyzing Enzymes in Cascade Hops (*Humulus lupulus*). **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 66, n. 34, p. 9121-9126, 7 ago. 2018. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.8b03563>.
- KUNZE, W. **Technology Brewing and Malting**. 3. ed. Berlin, Alemanha: VLB Berlin, 2004.
- LAFONTAINE, Scott; VARNUM, Scott; ROLAND, Aurélie; DELPECH, Stéphane; DAGAN, Laurent; VOLLMER, Daniel; KISHIMOTO, Toru; SHELLHAMMER, Thomas. Impact of harvest maturity on the aroma characteristics and chemistry of Cascade hops used

- for dry-hopping. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 278, p. 228-239, abr. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.148>.
- LAFONTAINE, Scott R.; SHELLHAMMER, Thomas H.. Sensory Directed Mixture Study of Beers Dry-Hopped with Cascade, Centennial, and Chinook. **Journal Of The American Society Of Brewing Chemists**, [S.L.], v. 76, n. 3, p. 199-208, 3 jul. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/03610470.2018.1487747>.
- LAPOLLI, C. **Mercado da Cerveja 2018**. Disponível em: <https://s3-usa.s3.amazonaws.com/c/308468798/media/5cb723ad8b361/MERCADO_CERVEJEIRO_2018-2019.pdf>.
- LIKENS, S.T.; NICKERSON, G.B.; ZIMMERMANN, C.e.. An Index of Deterioration in Hops (*Humulus Lupulus*). **Proceedings. Annual Meeting - American Society Of Brewing Chemists**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 68-74, maio 1970. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/00960845.1970.12006963>.
- MAPA. **Registro Nacional de Cultivares - RNC**. Disponível em: <http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php>. Acesso em: 24 mar. 2020.
- MARCUSSO, E. C. F.; MÜLLER, V. **ANUÁRIO DA CERVEJA NO BRASIL 2018: Crescimento e Inovação**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=4&data=23/10/2015>>. Acesso em: 3 jun. 2019.
- MINISTÉRIO DA ECONOMIA. **Comex Stat - Exportação e Importação Geral**. Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral>>. Acesso em: 4 jun. 2019.
- MORCOL, Taylan B.; NEGRIN, Adam; MATTHEWS, Paul D.; KENNELLY, Edward J.. Hop (*Humulus lupulus* L.) terroir has large effect on a glycosylated green leaf volatile but not on other aroma glycosides. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 321, p. 126644, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126644>.
- MUDURA, Elena; COLDEA, Teodora. Hop-Derived Prenylflavonoids and Their Importance in Brewing Technology – A Review. **Bulletin Of University Of Agricultural Sciences And Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science And Technology**, [S.L.], v. 72, n. 1, p. 1-10, 21 maio 2015. AcademicPres (EAP) Publishing House. <http://dx.doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:11198>.
- MÜLLER, C. V. **O CONTROLE OFICIAL DE FRAUDES EM CERVEJA NO BRASIL – ESTUDO DE CASO**. 2018. Universidade de Brasília, 2018.
- NAGY, Melinda; TOFANĂ, Maria; SOCACI, Sonia A.; POP, Ana Viorica; BORȘ, Maria Doinița; FĂRCAȘ, Anca; MOLDOVAN, Ovidiu. Total Phenolic, Flavonoids and Antioxidant Capacity of Some Medicinal and Aromatic Plants. **Bulletin Of University Of Agricultural Sciences And Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science And Technology**, [S.L.], v. 71, n. 2, p. 209-210, 25 nov. 2014. AcademicPres (EAP) Publishing House. <http://dx.doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:10639>.
- NANCE, Marcelina. R.; SETZER, William. N. Volatile components of aroma hops (*Humulus lupulus* L.) commonly used in beer brewing. **Journal of brewing and distilling**, [S.L.], v. 2, n. 2, p.16-22, 30 abr. 2011. AcademicPres (EAP) Publishing House. <http://dx.doi.org/10.5897/JBD.9000010>
- O'ROURKE, Tim. The function of enzymes in brewing. **The Brewer International**, v. 2, p. 14–18, 2002.
- PRAET, Tatiana; VAN OPSTAELE, Filip; STEENACKERS, Bart; VOS, Dirk de; AERTS, Guido; COOMAN, Luc de. Flavor Activity of Sesquiterpene Oxidation Products, Formed upon Lab-Scale Boiling of a Hop Essential Oil–Derived Sesquiterpene Hydrocarbon Fraction (cv. Saaz). **Journal Of The American Society Of Brewing Chemists**, [S.L.], v. 74, n. 1, p. 65-76, jan. 2016. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1094/asbcj-2016-1205-01>.

- RETTBERG, Nils; BIENDL, Martin; GARBE, Leif-Alexander. Hop Aroma and Hoppy Beer Flavor: chemical backgrounds and analytical tools.: a review. **Journal Of The American Society Of Brewing Chemists**, [S.L.], v. 76, n. 1, p. 1-20, 2 jan. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/03610470.2017.1402574>.
- SCHMIDT, C.; BIENDL, M. LC-MS/MS Analysis of Hop Flavonoids in Dry-Hopped Beers. **BrewingScience**, v. 70, p. 197-202, 2017. Disponível em: <https://www.brewingscience.de/index.php?tpl=table_of_contents&year=2017&edition=0011%252F0012&article=90608>. Acesso em: 5 jun. 2019.
- SCHÖNBERGER, C.; KOSTELECKY, T.. 125th Anniversary Review: the role of hops in brewing. **Journal Of The Institute Of Brewing**, [S.L.], v. 117, n. 3, p. 259-267, 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/j.2050-0416.2011.tb00471.x>.
- SHELLHAMMER, T. H.; AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS; MASTER BREWERS ASSOCIATION OF THE AMERICAS. **Hop Flavor and Aroma: Proceedings of the 1st International Brewers Symposium**. 1. ed. Corvallis, Oregon, EUA: St Paul; American Society of Brewing Chemist; Master Brewers Association of the Americas, 2009.
- FERREIRA, Carlos Silva; CHANVALON, Eloi Thibault de; BODART, Etienne; COLLIN, Sonia. Why Humulinones are Key Bitter Constituents Only After Dry Hopping: comparison with other belgian styles. **Journal Of The American Society Of Brewing Chemists**, [S.L.], v. 76, n. 4, p. 236-246, 2 out. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/03610470.2018.1503925>.
- SINDICERV. **O setor em números**. Disponível em: <<https://www.sindicerv.com.br/o-setor-em-numeros/>>. Acesso em: 3 jun. 2021.
- STEENACKERS, Bart; COOMAN, Luc de; VOS, Dirk de. Chemical transformations of characteristic hop secondary metabolites in relation to beer properties and the brewing process: a review. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 172, p. 742-756, abr. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.139>.
- TIETEL, Zipora; MASAPHY, Segula. Aroma-volatile profile of black morel (*Morchella importuna*) grown in Israel. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [S.L.], v. 98, n. 1, p. 346-353, 28 jul. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.8477>.
- TING, Patrick L.; RYDER, David S.. The Bitter, Twisted Truth of the Hop: 50 years of hop chemistry. **Journal Of The American Society Of Brewing Chemists**, [S.L.], v. 75, n. 3, p. 161-180, jun. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1094/asbcj-2017-3638-01>.
- UPOV. **International Union for the Protection of New Varieties of Plants**. Disponível em: <<https://www.upov.int/portal/index.html.en>>. Acesso em: 7 jan. 2021.
- USPTO. **Hop Cultivar Descriptions**. Disponível em: <<https://www.ars.usda.gov/pacific-west-area/corvallis-or/forage-seed-and-cereal-research/people/john-henning/cultindex/>>. Acesso em: 24 mar. 2020.
- VAN NIEROP, Sandra N. E.; EVANS, David E.; AXCELL, Barry C.; CANTRELL, Ian C.; RAUTENBACH, Marina. Impact of Different Wort Boiling Temperatures on the Beer Foam Stabilizing Properties of Lipid Transfer Protein 1. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 52, n. 10, p. 3120-3129, maio 2004. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf035125c>.
- VERMEULEN, Catherine; GUYOT-DECLERCK, Christine; COLLIN, Sonia. Combinatorial Synthesis and Sensorial Properties of Mercapto Primary Alcohols and Analogues. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 51, n. 12, p. 3623-3628, jun. 2003. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf0212340>.
- VOLLMER, Daniel M.; LAFONTAINE, Scott R.; SHELLHAMMER, Thomas H.. Aroma Extract Dilution Analysis of Beers Dry-Hopped with Cascade, Chinook, and Centennial. **Journal Of The American Society Of Brewing Chemists**, [S.L.], v. 76, n. 3, p. 190-198, 3 jul. 2018. Informa UK Limited.

<http://dx.doi.org/10.1080/03610470.2018.1487746>.

WATSON, B. **The Hop Pendulum: A History of the American Hop Market**. Disponível em: <brewersassociation.org/insights/the-hop-pendulum-a-history-of-the-american-hops-market/>. Acesso em: 31 jan. 2021.

WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. **Yeast: The Practical Guide to Beer Fermentation**. Boulder, E.U.A.: Brewers Publication, 2010.

WIETSTOCK, P. C.; KUNZ, T.; METHNER, F. J. Influence of hopping technology on oxidative stability and staling-related carbonyls in pale lager beer. **BrewingScience**, 2016.

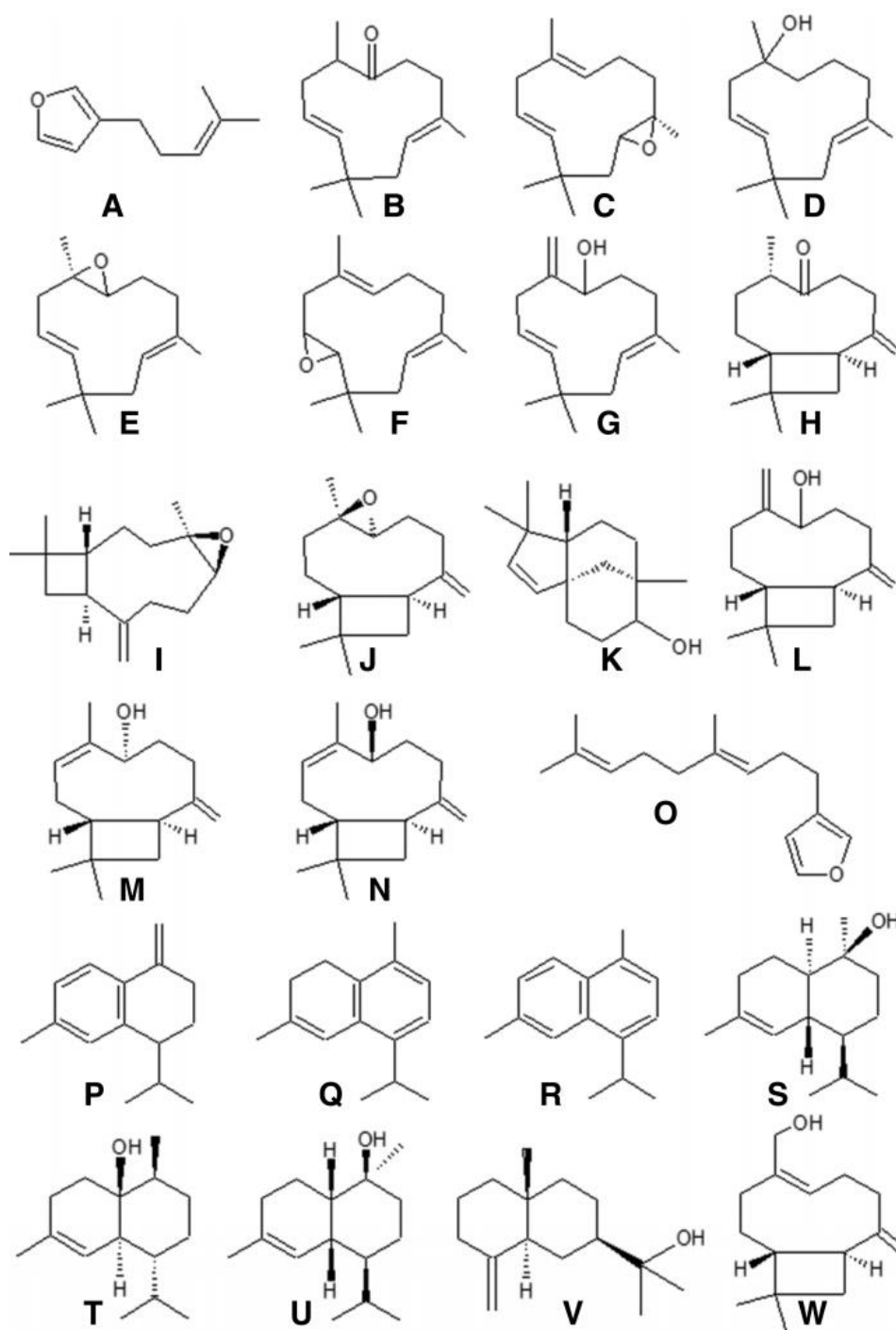
WOODSKE, D. **Hop Variety Handbook: Learn More about Hop...Create Better Beer**. [s.l.] Createspace, 2012.

YANG, Yu; JIN, Guo-Jie; WANG, Xing-Jie; KONG, Cai-Lin; LIU, Jibin; TAO, Yong-Sheng. Chemical profiles and aroma contribution of terpene compounds in Meili (*Vitis vinifera* L.) grape and wine. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 284, p. 155-161, jun. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.106>.

ZUFALL, C. *et al.* The influence of hop products on beer flavour stability. **BrewingScience**, v. 61, n. 5–6, p. 113–120, 2008.

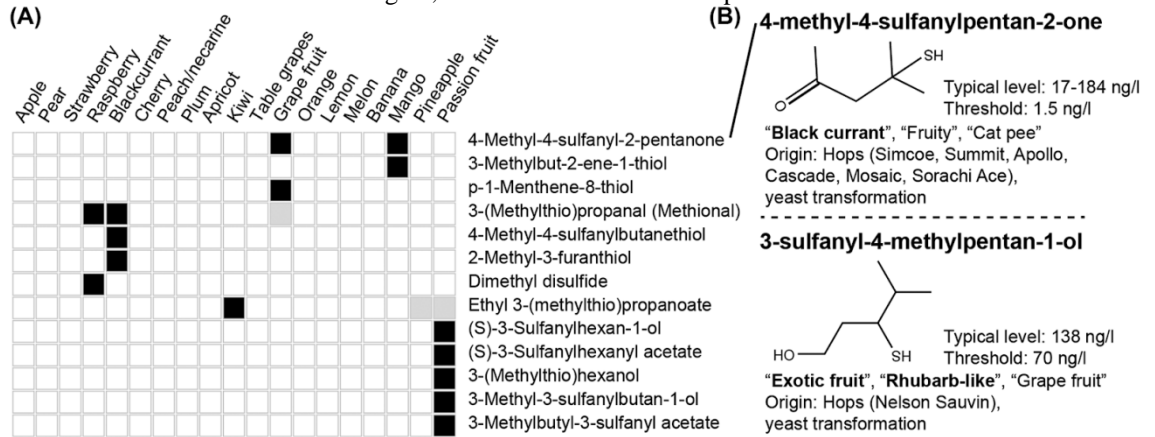
8 ANEXOS

Figura 1 – Estruturas de compostos derivados de óleos essenciais. A, perileno; B, humuladienona; C, epóxido de humuleno; D, humulol; E, epóxido de humuleno; F, epóxido de humuleno III; G, humulenol II; H, 4-S-dihidrocariofileno; I, epóxido de isocariofileno; J, óxido de cariofileno; K, covenol; L, cariofila-4(12)8(13)-dien-5-ol; M, (3Z)-cariofila-3,8(13)-dien-5-ol; N, (3Z)-cariofila-3,8(13)-dien-5-ol; O, E-dendrolasina; P, beta-calacoreno; Q, alfa-corocaleno; R, cadaleno; S, tau-cadinol; T, cubenol; U, tau-muurolol; V, beta-eudesmol; W, 14-hidróxi-beta-cariofileno.



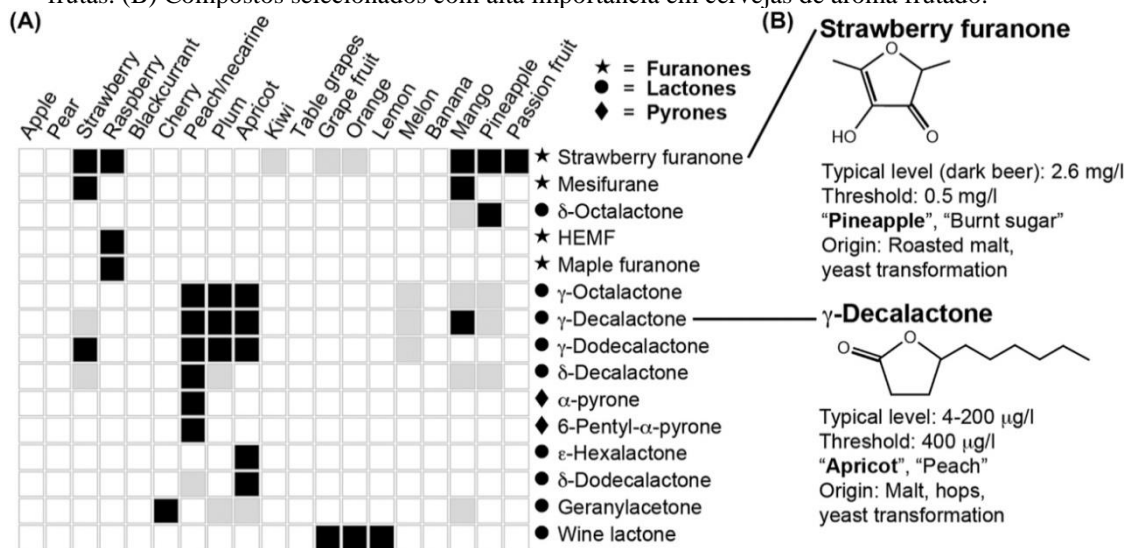
Fonte: Praet *et al.* (2016).

Figura 2 – Aromas provenientes de tióis polifuncionais. Sua ocorrência e importância sensorial em frutas (A). (B) Compostos selecionados com alta importância em cervejas de aroma frutado. Caso o composto estivesse acima de seu limiar de percepção e a maioria dos avaliadores concordassem, foi atribuído a coloração preta. Caso o limiar fosse acima do de percepção, mas menos da metade dos avaliadores concordarem, atribuiu-se a coloração cinza. Suas concentrações típicas, seus níveis de percepção e descritivos sensoriais em cerveja, bem como sua origem, estão indicados sob o composto.



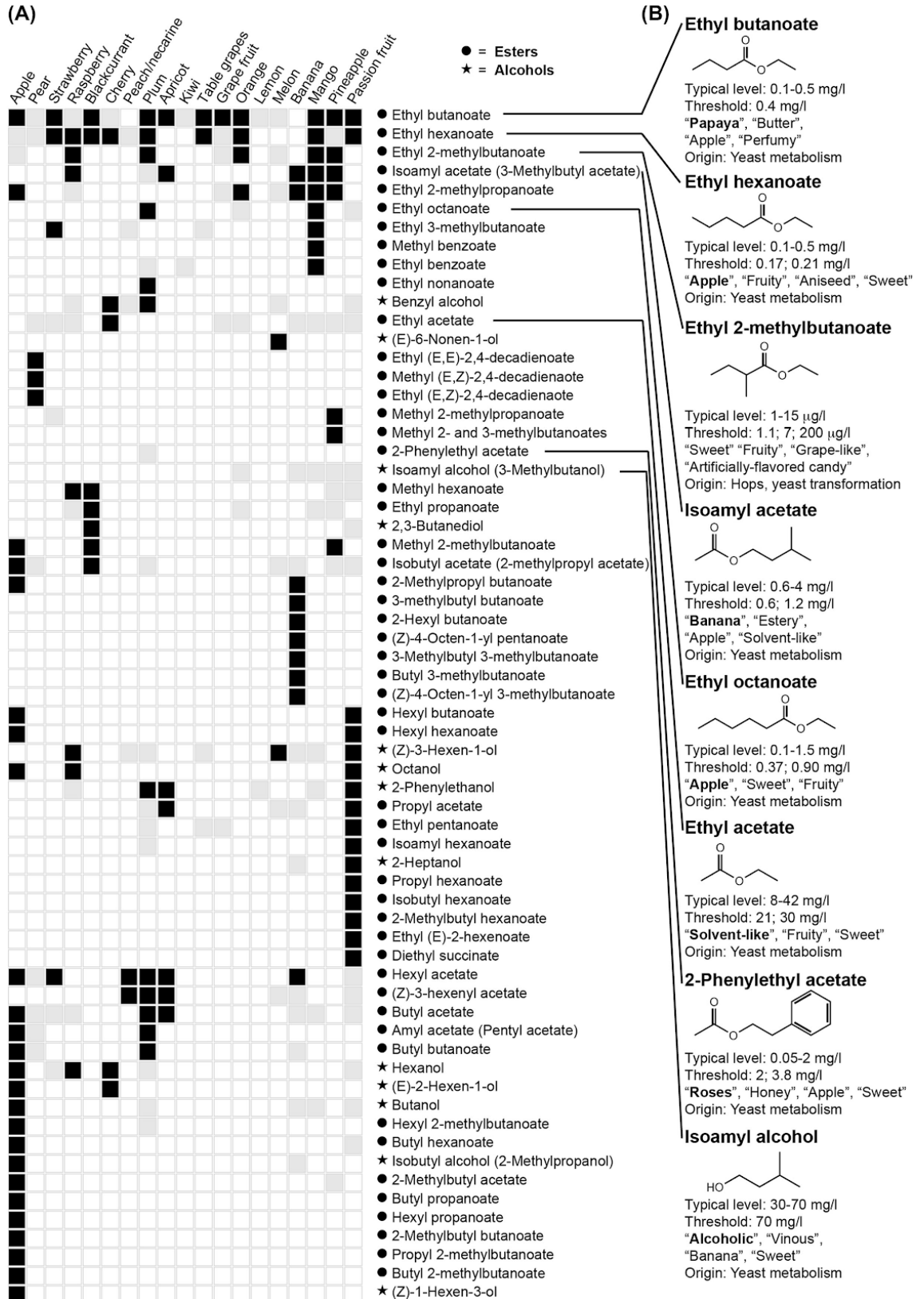
Fonte: Holt *et al.* (2018).

Figura 3 – Aromas provenientes de furanonas, lactonas e pironas. (A) Sua ocorrência e importância sensorial em frutas. (B) Compostos selecionados com alta importância em cervejas de aroma frutado.



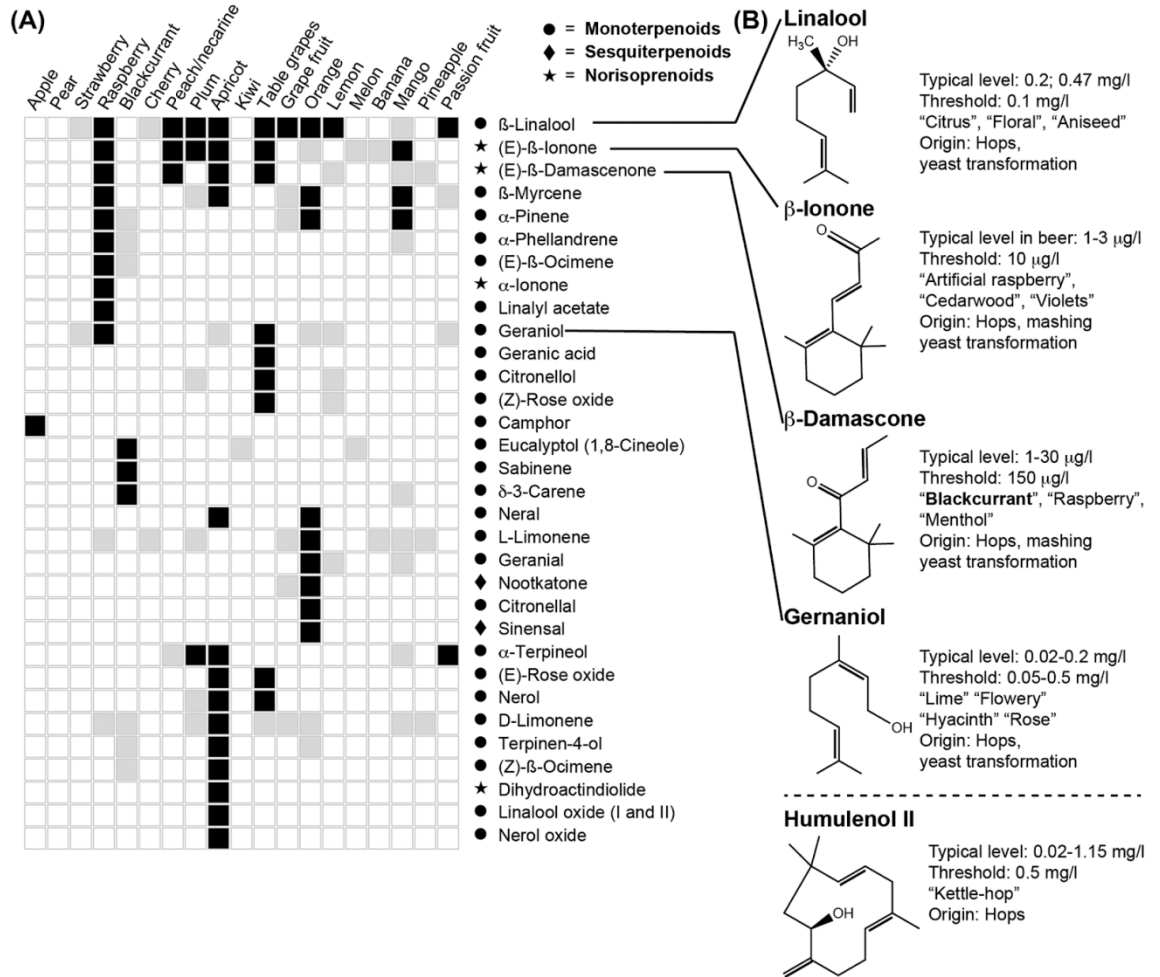
Fonte: Holt *et al.* (2018).

Figura 4 – Aromas provenientes de ésteres e álcoois encontrados em frutas e cervejas. (A) Sua ocorrência e importância sensorial em frutas. (B) Compostos selecionados com alta importância em cervejas de aroma frutado e floral.



Fonte: Holt *et al.* (2018).

Figura 5 – Terpenoides e sesquiterpenoides e norisoprenoides. (A) Sua ocorrência e importância sensorial em frutas. (B) Compostos selecionados com alta importância em cervejas de aroma frutado e floral.



Fonte: Holt *et al.* (2018).

Tabela 1 – Lista de moléculas aromáticas e seus aromas associados.

Autor	Molécula	Aroma
Hidrocarbonetos		
Holt <i>et al.</i>	Mirceno	Manga, limão e lima
Rettberg, Biendl e Garbe	Mirceno	Resina, pinheiro e herbal
Rettberg, Biendl e Garbe	Beta-cariofileno	Apimentado e amadeirado
Rettberg, Biendl e Garbe	Alfa-humuleno	Apimentado e amadeirado
Derivados Oxigenados		
Holt <i>et al.</i>	Linalool	Frutado, cítrico e floral
Rettberg, Biendl e Garbe	Linalool	Flor, fresco e notas de cítrico
Holt <i>et al.</i>	Beta-linalool	Cítrico, floral, anis e frutado
Holt <i>et al.</i>	Alfa-terpinol	Frutado, cítrico e floral
Holt <i>et al.</i>	Beta-citronelol	Frutado, cítrico e floral
Holt <i>et al.</i>	Geraniol	Lima, floral, jacinto, rosa
Rettberg, Biendl e Garbe	Geraniol	
Rettberg, Biendl e Garbe	Alfa-terpienol	Floral, fresco e notas de cítrico
Rettberg, Biendl e Garbe	Nerol	
Rettberg, Biendl e Garbe	Beta-citronelol	Floral, fresco e notas de cítrico
Rettberg, Biendl e Garbe	Epóxido de humuleno	Palha, mofo, cedro
Rettberg, Biendl e Garbe	Humulol	Palha, mofo, cedro,
Rettberg, Biendl e Garbe	Humulenol II	Palha, mofo, cedro,
Rettberg, Biendl e Garbe	Óxido de cariofileno	Lodo, floral, apimentado, cedro
Rettberg, Biendl e Garbe	14-hidróxi-beta-cariofileno	Cedro-amadeirado
Rettberg, Biendl e Garbe	Cariolan-1-ol	Gasolina, frutado, limão
Rettberg, Biendl e Garbe	Óxido de furanolinalool	Apimentado e amadeirado
Rettberg, Biendl e Garbe	Óxido de piranolinalool	Apimentado e amadeirado
Rettberg, Biendl e Garbe	Éter de karahana	Apimentado e amadeirado
Rettberg, Biendl e Garbe	Éter de lúpulo	Apimentado e amadeirado
Compostos sulfurados		
Vermeulen, Guyot-Declerck e Collin	3-mercapto-butan-1-ol	Queijo, cebola, repolho, pujante
Vermeulen, Guyot-Declerck e Collin	3-mercapto-hexan-1-ol	Ruibarbo, cenoura
Vermeulen, Guyot-Declerck e Collin	4-metil-4-mercaptopentan-2-ona	Cassis, gato, vassoura
Vermeulen, Guyot-Declerck e Collin	3-mercaptopropan-1-ol	Batata, broto

Fonte: Holt *et al.* (2018); Rettberg, Biendl e Garbe (2018); Vermeulen, Guyot-Declerck e Collin (2003).

9 APÊNDICE

Tabela 1 – Identificação dos picos de CG/EM da amostra de lúpulo de Cascade do Cerrado (CasCe).

Pico	Tempo de Retenção (min)	Área do pico (%)	Substância	Similaridade (%)	Aroma ¹
1	3,726	3,92	Diacetona álcool	98	
2	5,635	0,28	Propanoato de 2-metilbutila	95	Não informado
3	7,768	0,63	Propanoato de isoamila	93	Doce, frutado, maçã, melão
4	7,832	0,81	Beta-pineno	89	Pinho, amadeirado, folha, resinoso, seco
5	8,565	83,59	Beta-mirceno	98	Herbal, metálico, resinoso, condimentado, balsâmico, folha, apimentado, terpeno, bálsamo, plástico, doce cenoura, pinhoso, aipo, limão, amadeirado
6	9,571	0,25	2-pentilglicolato	92	----
7	9,736	3,76	Isobutirato de amila; de isopentila/ trimetilpentano	97	Condimentado
8	10,206	0,53	dl-limoneno	83	Beta-felandereo: pinho, removedor de tintas, frutado, condimentado/ limoneno: citros, laranja, frutado
9	13,501	1,30	6-metil-heptanoato de metila	91(87)	Abacaxi
10	27,107	0,64	Decenoato de metila	87	Frutado
11	33,290	0,90	Trans-cariofileno	92	Amadeirado (cedar), condimentado, floral, removedor de tintas, cravo-da-Índia, lima, seco, folha, terpeno
12	35,228	3,38	Alfa-humuleno	93	Balsâmico, floral,

grama, herbal,
condimentado,
amadeirado,
óleo de cravo-da-Índia

¹ Aromas com fonte no banco de dados de sabores de lúpulo da Sociedade Americana de Químicos de Cerveja (AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS, 2019).

Fonte: Próprio autor.

Tabela 2 – Identificação dos picos de CG/EM da amostra de lúpulo de Cascade Comercial (CasCo).

Pico	Tempo de Retenção (min)	Área do pico (%)	Substância	Similaridade (%)	Aroma ¹
1	3,736	8,98	4-hidróxi-4-metil-pentan-2-ona	98	Herbal, metálico, resinoso, condimentado, balsâmico, gerânio, folha, apimentado, terpeno, bálsamo, plástico, doce cenoura, pinhoso, aipo, limão, amadeirado
2	8,556	62,65	Beta-mirceno	98	
3	9,742	0,99	Trimetilpentano	90	
4	14,187	2,42	Linalool	89	Linalool: floral, frutado, citros, anis, terpeno, rosa, lúpulo, semente de coentro
5	33,289	5,65	Trans-cariofileno	92	Amadeirado (cedar), condimentado, floral, removedor de tintas, cravo-da-Índia, lima, seco, folha, terpeno
6	35,339	18,25	Alfa-humuleno	95	Balsâmico, floral, grama, herbal,

					condimentado, amadeirado, óleo de cravo- da-Índia Amadeirado, citros, doce
7	36,057	1,06	Beta-farneseno	86	

¹ Aromas com fonte no banco de dados de sabores de lúpulo da Sociedade Americana de Químicos de Cerveja (AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS, 2019).

Fonte: Próprio autor.

Tabela 3 – Identificação dos picos de CG/EM da amostra de lúpulo de Chinook do Cerrado (ChiCe).

Pico	Tempo de Retenção (min)	Área do pico (%)	Substância	Similaridade (%)	Aroma ¹
1	7,778	0,43	Propanoato de isoamila	89	doce, frutado, maçã, melão
2	7,842	0,69	Beta-pineno	89	Pinho, amadeirado, folha, resinoso, seco
3	8,563	84,29	Beta-mirceno	98	Herbal, metálico, resinoso, condimentado, balsâmico, gerânio, folha, apimentado, terpeno, balsamo, plástico, doce cenoura, pinhoso, aipo, limão, amadeirado
4	9,579	1,38	Isobutirato de isoamila	92	Não informado
5	9,747	2,10	trimetilpentano	92	
6	10,212	0,31	Não identificada	---	
7	15,692	0,54	Dodecanoato de metila	97	Não informado
8	33,305	1,38	Trans-cariofileno	85	Amadeirado (cedar), condimentado, floral, removedor de tintas, cravo-

					da-Índia, lima, folha, terpeno
9	35,353	8,87	Alfa-humuleno	93	Não informado

¹ Aromas com fonte no banco de dados de sabores de lúpulo da Sociedade Americana de Químicos de Cerveja (AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS, 2019).

Fonte: Próprio autor.

Tabela 4 – Identificação dos picos de CG/EM da amostra de lúpulo de Chinook Comercial (ChiCo).

Pico	Tempo de Retenção (min)	Área do pico (%)	Substância	Similaridade (%)	Aroma ¹
1	3,208	1,29	Não Identificada	---	
2	5,643	0,20	Isobutanoato de isobutila	98	Não informado
3	7,775	0,19	Não identificada	---	----
4	7,841	0,72	Beta-mirceno	90	Herbal, metálico, resinoso, condimentado, balsâmico, gerânio, folha,
5	8,563	69,57	Beta-mirceno	98	apimentado, terpeno, bálsamo, plástico, doce cenoura, pinhoso, aipo, limão, amadeirado
6	9,578	0,75	Trimetilpentano	92	----
7	9,743	3,30	Isobutanoato de isopentila	95	Frutado
8	10,217	0,28	Alfa-pineno	80	Alecrim, pinho, frutado, folha, resinoso
9	33,304	6,58	Trans-cariofileno	95	Amadeirado (cedar), condimentado, floral, removedor de tintas, cravo- da-Índia, lima, folha, terpeno

10	35,352	15,31	Alfa-humuleno	96	Balsâmico, floral, grama, herbal, condimentado, amadeirado, óleo de cravo- da-Índia
11	36,907	0,54	Não identificada	----	
12	39,071	0,40	Não identificada	----	
13	39,716	0,88	Delta-cadineno	77	Herbal, amadeirado

¹ Aromas com fonte no banco de dados de sabores de lúpulo da Sociedade Americana de Químicos de Cerveja (AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS, 2019).

Fonte: Próprio autor.

Tabela 5 – Compostos voláteis identificados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas da cerveja controle (sem lupulagem a frio).

Pico	Tempo de Retenção (min)	Área do pico (%)	Substância	Similaridade (%)	Aroma ¹
1	5,317		Butano-2,3-diol	94	Nenhum
10	8,142		Ácido butírico	90	Manteiga
11	8,450		Acetato de isoamila	97	Banana
19	11,642		Acetato de 1,2-dimetilpropila	87	
20	11,850		Cumeno	92	
24	12,400		2,7-dimetilocta-2,7-dieno	91	
26	12,750		Terc-butirado de terc-butila	90	
30	13,708		6-metilhetan-1-ol	92	
31	14,033		2,6-dimetiloct-1-eno	92	
37	16,275		Feniletanol	98	
40	18,417		1-butil-2-metilciclopenteno	87	
41	18,475		Ácido caprílico	95	
42	18,558		Iso/sec-butilciclohexano	95	
44	18,933		3,5-dimetiloctano	94	
48	20,217		3-etiloct-1-eno	88	
49	20,292		2,5,5-trimetilheptano	94	
51	20,733		Estearol	91	
52	20,933		Isooctanol	90	
65	23,375		Valerato de 2-tetradecila/4-tridecila/2-pentadecila	87	
68	24,200		Isobutil-hexano	85	
108	32,592		Germacrano D	85	

Fonte: Próprio autor.

Tabela 6 – Compostos voláteis identificados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas da cerveja com lupulagem a frio com cones de Cascade brasileiro.

Pico	Tempo de Retenção (min)	Área do pico (%)	Substância	Similaridade (%)	Aroma ¹
1	5,317		Butano-2,3-diol	97	
5	8,450		Acetato de isoamila	97	
10	13,267		di-hidromircenol	90	
11	15,150		di-hidrocitronelol	90	
12	15,283		Tetra-hidrogeraniol/di-hidrocitronelol	90	
13	16,258		Feniletanol	98	
15	18,400		Ácido valérico	80	Queijo, chulé
16	18,550		Isobutilciclohexano	90	
22	21,258		2,4-dimetil-heptan-1-ol	87	
31	26,050		Farnesano	92	
42	28,442		3,8-dimetildecano	83	
46	32,408		di-hidrofitol	85	
47	32,583		Isodi-hidrovandual	87	
63	34,875		Ácido estérico	95	

Fonte: Próprio autor.

Tabela 7 – Compostos voláteis identificados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas da cerveja com lupulagem a frio com *pellets* de Cascade estadunidenses.

Pico	Tempo de Retenção (min)	Área do pico (%)	Substância	Similaridade (%)	Aroma ¹
1	5,325		Butano-2,3-diol	97	Nenhum
5	8,458		Acetato de isoamila	97	
7	12,292		Beta-mirceno	94	Metálico
12	13,267		Di-hidromircenol	89	
13	15,142		di-hidrocitronelol	90	
14	15,275		di-hidrocitronelol	90	
15	16,258		Feniletanol	98	
59	34,942		Iso-alfa-ácido	73	

Fonte: Próprio autor.

Tabela 8 – Compostos voláteis identificados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas da cerveja com lupulagem a frio com cones de Chinook brasileiro.

Pico	Tempo de Retenção (min)	Área do pico (%)	Substância	Similaridade (%)	Aroma ¹
1	5,650		Butano-2,3-diol	96	Nenhum
5	8,442		Acetato de isoamila	97	Banana
11	13,258		Di-hidromircenol	90	
13	15,275		Tetra-hidrogeraniol	90	
14	16,258		Feniletanol	98	
16	18,775		Octanoato de etila	73	Ceroso

28	26,050	Farnesano	92	
36	27,733	Isodi- hidrovandulal	87	Herbal
43	32,400	Germacreno	84	amadeirado

Fonte: Próprio autor.

Tabela 9 – Compostos voláteis identificados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas da cerveja com lupulagem a frio com *pellets* de Chinook estadunidenses.

Pico	Tempo de Retenção (min)	Área do pico (%)	Substância	Similaridade (%)	Aroma ¹
3	7,075		3-etiloctano	90	
4	8,442		Acetato de isoamila	97	
5	11,258		3,5-dimetiloctano	92	
6	12,383		2,7-dimetilocta- 2,6-dieno	95	
8	12,867		3,3,6-trimetil- heptano	94	
9	13,000		5-etil-2-metil- heptano	94	
12	15,275		Di-hidrocitronelol Tetra-hidrogeraniol Per-hidrogeraniol	90	
13	16,258		Feniletanol	98	
15	18,383		Ácido caprílico	96	
35	27,575		Hexa-hidrofarnesol	90	
39	28,433		2,6-dimetiloctano	81	
43	32,208		Isotridecanol	87	
56	34,283		Hexa- hidronerolidol Tetra-hidrolinalool	71 70	
61	34,708		Nonanoato de metila	79	

Fonte: Próprio autor.

Figura 1 – Ficha de avaliação sensorial das cervejas produzidas. A identificação das amostras foi feita por meio de coloração da tampa da garrafa. Branca é cerveja controle; preta é com *dry-hopping* (DH) de cones de Cascade do Distrito Federal; amarela com DH de *pellets* de Cascade comercial; azul com DH de cones de Chinook do Distrito Federal e laranja com DH de *pellets* de Chinook comercial.

Seleção de provedores para análise sensorial de cerveja

Prezado(a) provedor(a), para que possamos recrutá-lo(a) para análise sensorial, precisamos que você responda com sinceridade os itens abaixo.

Nome: _____ data: ____ / ____ / ____

1. Você possui idade acima de 18 anos e abaixo de 60 anos? () Sim () Não
2. Você pesa acima de 50 kg? () Sim () Não
3. Possui alguma doença crônica, gravidez ou está amamentando? () Sim () Não
4. Está tomando algum medicamento? () Sim () Não
5. Você aprecia o produto? () Sim () Não
6. Você costuma ingerir bebidas alcoólicas em excesso? () Sim () Não

Influência de lúpulo nacional e internacional na qualidade da cerveja

Esta pesquisa tem por objetivo verificar a aceitabilidade de cerveja lager puro malte com lupulagem a frio (dry-hopping) utilizando lúpulos em flor nacional e em pellet dos Estados Unidos da América.

Você está recebendo 5 amostras de cerveja, avalie cada amostra usando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou de cada uma delas quanto aos parâmetros: cor, aroma, sabor e impressão global. Para intensidade de aroma, utilize 1 para sem aroma de dry-hopping e 9 para extremamente forte.

- | | | |
|-----------------------------|------------------------------|--------------------------|
| 1 – desgostei extremamente | 4 – desgostei ligeiramente | 7 – gostei moderadamente |
| 2 – desgostei muito | 5 – nem gostei/nem desgostei | 8 – gostei muito |
| 3 – desgostei moderadamente | 6 – gostei ligeiramente | 9 – gostei extremamente |

Identificação da amostra	Cor	Aroma	Intensidade de Aroma	Sabor	Impressão Global
Branca					
Preta					
Amarela					
Azul					
Laranja					

Comentários: _____

Influência de lúpulo nacional e internacional na qualidade da cerveja

Esta pesquisa tem por objetivo descrever os aromas da cerveja com lupulagem a frio (dry-hopping) utilizando lúpulos nacionais em flor e lúpulos americanos em pellet.

Você está recebendo 5 amostras de cerveja, avalie cada amostra usando a escala abaixo para descrever o quão intenso foi o aroma em questão para cada um dos critérios abaixo. Se necessário, há duas rodas de aromas e sabores ao final do questionário.

	0	1	2	3	4	5
	Não perceptível	Notas	Fraco	Moderado	Forte	Intenso
Aroma						
Descritor	Tampa					
	Branca	Preta	Amarela	Azul	Laranja	
Frutas Doces						
Tempero/Herbal						
Floral						
Amadeirado						
Caramelo Cremoso						
Cítrico						
Frutas Vermelhas						
Folhas						
Frutas Verdes						
Vegetal						
Mentol						
Chá						

Comentários: _____

Influência de lúpulo nacional e internacional na qualidade da cerveja

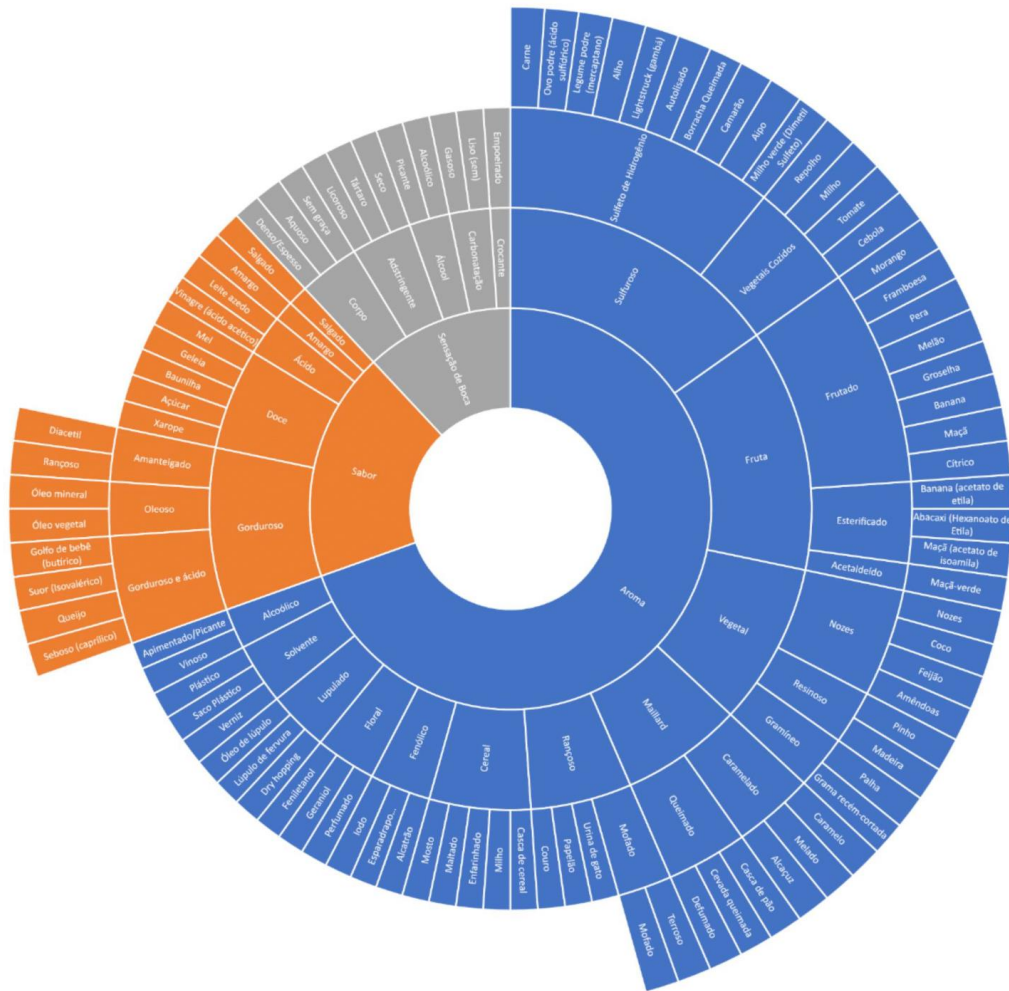
Você está recebendo 5 amostras de cerveja, avalie cada amostra usando a escala abaixo para descrever o quão intenso foi o sabor em questão para cada um dos critérios abaixo. Se necessário, há duas rodas de aromas e sabores ao final do questionário.

	0	1	2	3	4	5
	<i>Não perceptível</i>	<i>Notas</i>	<i>Fraço</i>	<i>Moderado</i>	<i>Forte</i>	<i>Intenso</i>
Sabor						
Descritor	Tampa					
	Branca	Preta	Amarela	Azul	Laranja	
Frutas Tropicais						
Frutas Doces						
Frutas Cítricas						
Pera/ Maçã						
Floral						
Tempero/ Condimentada						
Herbal						
Folhas						
Lúpulo Puro						
Amadeirado						
Maltado						
Cereal						
DMS						
Alcoólico						
Sulfuroso						

Comentários: _____



Fonte: <https://scottjanish.com/hop-flavor-and-aromatic-descriptors/>



Fonte: Roda de aromas da Escola Superior de Cerveja e Malte

10 ARTIGOS PUBLICADOS OU ACEITOS PARA PUBLICAÇÃO

Food Science and Technology

ISSN 0101-2061 (Print)
ISSN 1678-457X (Online)DOI: <https://doi.org/10.1590/ft.60620>**Advances in dry hopping for industrial brewing: a review**Fábio de Oliveira GOMES¹, Bernardo Pontes GUIMARÃES², Duan CEOLA³, Grace Ferreira GHESTI^{2*} **Abstract**

highly hopped and dry hopped beer production and consumption has increased steadily for the last twenty years, following the rise of craft breweries in the United States of America and the trend they set over the world. This overuse of hops offers some environmental, technological, and economic challenges for the beer industry. Researchers have been studying several ways to make beer more ecofriendly by promoting reuse of spent hops and increasing extraction yields. Dry hopping is a size-dependent process, making it feasible for craft breweries with their small scale production, but quite a challenge for larger tanks and breweries. Based on the literature and industrial experience from brewers, the aim of this research was to analyze and discuss different dry hopping methodologies for the brewing industry and how the parameters affect the final product. In order to shed light on this trending topic and to better aid brewers in choosing the most suitable, efficient, and environmental-friendly dry hopping process for their brewery, this work approaches the main variables that promote aroma transfer from hops into beer and how to optimize it.

Keywords: dry hopping; hopped beer; hop.

Practical Application: A review about the methodologies of dry hopping process applied to industrial brewing process.

1 Introduction

Beer is made from four main ingredients, water, barley malt, hops and yeast. Hops are the female inflorescence of the hop plant (*Humulus lupulus* L.), known as hop cones. Hop cones have glandular trichomes commonly known as lupulin gland where secondary metabolites of interest for brewing are accumulated. These metabolites are essential oils (mostly terpenes, sesquiterpenes and their oxygenated analogues, terpenoids and sesquiterpenoids), phenolic compounds, alpha-acids and beta-acids (Cattoor et al., 2013). Hop cones are used in beer as it provides components that improve microbiological stability, foam, aromas, flavor and bitterness (Schmidt & Biendl, 2017; Silva Ferreira et al., 2018). Beer bitterness comes mostly from the isomerization reaction of hop alpha acids (AA); these molecules have low solubility in water and during the boiling process they are converted into iso-alpha acids (IAA), a soluble molecule that provides the characteristic beer bitterness (Kunze, 2004).

There are several hop varieties available on the market. Each variety has its own unique characteristics, with different composition and concentrations of essential oils and resins (Palmer, 2006). The area and quantity at the global level tends to increase and mainly to a greater production of aroma hops (with a higher content of essential oils) (Bocquet et al., 2018). To enhance aroma, as essential oils are very volatile, hops are added at the end of the boiling or in the whirlpool (late hopping) or during fermentation and maturation (dry hopping).

Dry hopping (DH) is the cold extraction of volatile and non-volatile hop compounds in an alcoholic solution, a technique

used by brewers to increase the aroma and stability of beer flavor (Rettberg et al., 2018; Lafontaine et al., 2018). This extraction is optimized when using pellets or hop powder because both contain the crushed lupulin gland, increasing the contact surface. Because it is a cold extraction, its aromas differ significantly from those of late hopping, and may even be rich in terpene hydrocarbons (Rettberg et al., 2018).

As hoppy beer styles increased in popularity with consumers throughout the 21st century, brewers from the craft beer industry have been using dry hopping at an increasing rate (Lafontaine & Shellhammer, 2018). Brewing scientists have been studying this technique in order to better understand the process and its impact on beer. The focus of the studies are on different brewing parameters such as flowers or pellets (Ceola et al., 2019), contact time and temperature (Oladokun et al., 2017), and methods of dry (Podeszwa & Harasym, 2016; Lafontaine & Shellhammer, 2018). Other awareness raised and researched are the ones concerning environmental and health hazard issues, such as presence of pesticides in hops and whether they can be found in beer (Kippenberger et al., 2014) and reuse of DH spent hops (Hauser et al., 2019).

Due to the growing consumption of hopped beers, brewers are looking for the best way to do dry hopping and achieve the desired aroma profiles. In order to shed light on this trending topic and to better aid brewers in choosing the most suitable dry hopping process in a more efficient fashion and more environmentally-friendly way, this work approaches the main

Received 03 Nov., 2020

Accepted 03 Dec., 2020

¹ Cervejaria Trieste – Pontitrendaba, SP, Brasil² Laboratório de Bioprocessos Cervejeiros e Catálise em Energias Renováveis, Instituto de Química, Universidade de Brasília – UNB, Campus Darcy Ribeiro, Brasília, DF, Brasil³ Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Campus Joinville, Joinville, SC, Brasil

*Corresponding author: ghesti.grace@gmail.com, grace@unb.br

DOI: <http://dx.doi.org/10.9771/cp.v14i3.33059>

Prospecção Tecnológica do Lúpulo (*Humulus lupulus L.*) e suas Aplicações com Ênfase no Mercado Cervejeiro Brasileiro

*Technological Prospection of Hop (*Humulus lupulus L.*) and its Applications with Emphasis in the Brazilian Brewing Market*

Bernardo Pontes Guimarães¹

Rafael Benjamin Werneburg Evaristo¹

Grace Ferreira Ghesti¹

¹Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil

Resumo

O lúpulo é o insumo utilizado na fabricação de cerveja responsável por aromas e pelo amargor da bebida. No Brasil, essa matéria-prima é importada quase que em sua totalidade. Essa planta, habituada a regiões de clima específico, está sendo cultivada em solo brasileiro e obtendo resultados promissores. Em função disso, o presente artigo buscou realizar uma prospecção tecnológica, por meio de uma metodologia qualitativa exploratória, sobre o que está sendo estudado e desenvolvido sobre lúpulo e sua utilização no processo cervejeiro nos últimos 20 anos. Sabe-se que, a partir do momento em que houver a comercialização de lúpulo nacional, novas tecnologias e processos serão necessários para sua manufatura. A pesquisa revelou uma tendência de países com maior produção de lúpulo ou cerveja a investirem mais em pesquisa e desenvolvimento no setor. Além do mais, foram identificados entraves para a inserção apropriada do lúpulo cultivado em território nacional para ser utilizado pelas cervejarias.

Palavras-chaves: Lúpulo. Indústria Cervejeira. Prospecção Tecnológica.

Abstract

Hops are the ingredient used in beer brewing responsible for aromas and bitterness in the beverage. In Brazil it is almost entirely imported. This plant, although used to specific climate regions, has been cultivated in Brazilian soil and has obtained promising results. In light of this, this paper did a technological prospection on what has been researched and developed on hops and their utilization in the brewing process for the last 20 years. It is known that from the moment that Brazilian hops begun to be commercialized; new technologies and processes are required for their proper use. This research showed that the countries with highest beer or hops production invested more in the research and development sector. Other findings of this study included the difficulties for the appropriate insertion of hops cultivated in Brazilian territory to be used by breweries.

Keywords: Hops. Brewing Industry. Technological Prospecting.

Área Tecnológica: Lúpulo. Indústria de Alimentos. Mercado Cervejeiro.



Direito autoral e licença de uso: Este artigo está licenciado sob uma Licença Creative Commons. Com essa licença você pode compartilhar, adaptar, para qualquer fim, desde que atribua a autoria da obra, forneça um link para a licença, e indicar se foram feitas alterações.

Artigo recebido em: 16/08/2019
Revisado em: 06/08/2020
Aprovado em: 11/09/2020



Contents lists available at ScienceDirect

World Patent Information

journal homepage: www.elsevier.com/locate/worpatin

Intellectual property and plant variety protection: Prospective study on Hop (*Humulus lupulus* L.) cultivars

Bernardo Pontes Guimarães^a, Paulo Gustavo Barboni Dantas Nascimento^b, Grace Ferreira Ghesti^{a,*}

^a Laboratory of Brewing Bioprocesses Technology and Catalysis in Renewable Energy, Institute of Chemistry, Campus Darcy Ribeiro, University of Brasilia, 70910-900, Brasilia, Brazil

^b Laboratory of Photochemistry and Nanobiotechnology, Faculty of Ceilandia, University of Brasilia, 72220-275, Brasilia, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Hops
Humulus lupulus
 Cultivar
 Plant breeders right
 Plant variety rights
 Plant patent

ABSTRACT

Hops (*Humulus lupulus*) are used in brewing industries worldwide. Regarding hop-related intellectual property (IP), cultivars can be protected under Plant Breeders' Rights and as plant patents (USA). Hop growing areas can be granted Protected Designation of Origin (PDO) or Protected Geographic Indication (PGI). Harvested and benefited hops can be traded as registered and trademarked products. We searched for registered cultivars in the top hop producing countries and Brazil to evaluate how IP protection is achieved in each IP modalities, considering territoriality and variety distinction. Botanic data is now being supplemented with chemical and agronomic data to further differentiate varieties.

1. Introduction

Hop (*Humulus lupulus* L.) is a dioecious and diploid plant belonging to the Cannabaceae family. The inflorescences of the female plant is called hop cones or hops and are mostly used in the brewing industry (97%) [1]. The value of hops harvested worldwide was near 500 million euros in 2011; considering processing, trade and logistic it increased to about 700 million euros [2]. The flower is responsible for the characteristic beer bitterness and aromas; being divided into three groups: bitter hops, aroma hops or dual purpose hops, if both [2,3]. The most important components of hops for brewing are alpha acids (bitterness) and essential oils (aroma), although polyphenols (beer stability) and beta acids have a minor role in the process. Alpha acids, also called humulones, are further divided into their main components: humulone and cohumulone (responsible for the harsh bitterness in beer), four others are known but of lesser importance [3,4]. For drug companies, polyphenols, especially xanthohumol, and essential oils are of importance, as they act as antioxidant and calming agent, respectively [3].

These substances are secondary metabolites determined by two important factors: genetics and environment. Hop is grown asexually, so they are genetically identical (clones), but the environment plays an important role in the outcome. Major components such as alpha acid, tend not to be strongly impacted, but minor ones, such as essential oils

are [2]. Aroma hops are the ones that changes the most from it [5]. These changes provoked by edaphoclimatic and biotic conditions create characteristics specific for that region, also called *terroir*.

Hop is an expensive crop to cultivate but with a high market value compared to other crops. It needs labor, pesticides, fertilizer, specialized harvest machinery, equipment and infrastructure to post-harvest treatments (milling, kilning, conditioning, baling and storage) [2]. Therefore, increasing hop acreage is a difficult task. Nevertheless, literature states that it is a latitude-dependent crop, as it is very sensitive to photoperiod for proper growth, between 35th and 55th parallels are optimal. Otherwise, either it does not have proper growth or depends on artificial light to have the necessary day length. South Africa, for instance, uses artificial light to make up for the shorter daylight [2,3].

According to the International Hop Growers' Convention [6] there were 286 varieties in 2019; some of them are only locally grown i.e. New Zealand's Nelson Sauvin and Polish Lubelski, whereas Czech Saaz and US Cascade are cultivated in many countries. The two largest producers of hops are the United States (in the states of Idaho, Washington and Oregon) and Germany (Hallertau), which together account for approximately 75% of the worldwide production, other important producers are Czech Republic, Slovenia, United Kingdom, Spain, China, Australia, New Zealand and South Africa [7,8]. The USA has a national organization called USA Hops which is responsible for annual statistical report

* Corresponding author.

E-mail address: ghesti.grace@gmail.com (G.F. Ghesti).

<https://doi.org/10.1016/j.wpi.2021.102041>

Received 30 March 2020; Received in revised form 13 April 2021; Accepted 2 May 2021

Available online 30 May 2021

0172-2190/© 2021 Elsevier Ltd. All rights reserved.

**DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO OU TESE DE
DOUTORADO**

Declaro que a presente dissertação/tese é original, elaborada especialmente para este fim, não tendo sido apresentada para obtenção de qualquer título e que identifico e cito devidamente todas as autoras e todos os autores que contribuíram para o trabalho, bem como as contribuições oriundas de outras publicações de minha autoria.

Declaro estar ciente de que a cópia ou o plágio podem gerar responsabilidade civil, criminal e disciplinar, consistindo em grave violação à ética acadêmica.

Brasília, 09 de junho de 2021.

Assinatura do/a discente: Bernardo Pontes

Programa: Programa de Pós-Graduação em Química

Nome completo: Bernardo Pontes Guimarães

Título do Trabalho: AVALIAÇÃO DO LÚPULO (*Humulus lupulus* L.)

CULTIVADO NO DISTRITO FEDERAL PARA USO CERVEJEIRO

Nível: (X) Mestrado () Doutorado

Orientador/a: João Feneira Ghed