



LETÍCIA FAGUNDES PEREIRA

**CHEMOMETRIC AND SENSORY APPROACHES TO
EVALUATING HOPS CULTIVATED IN BRAZIL AND THEIR
APPLICATION IN BEER PRODUCTION**

**LAVRAS – MG
2025**

LETÍCIA FAGUNDES PEREIRA

**CHEMOMETRIC AND SENSORY APPROACHES TO EVALUATING HOPS
CULTIVATED IN BRAZIL AND THEIR APPLICATION IN BEER PRODUCTION**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação Multicêntrico em Química de Minas
Gerais (PPGMQ-MG), área de concentração em
Química, para a obtenção do título de Doutora.

Prof. Dr. Marcio Pozzobon Pedroso
Orientador

Prof. Dr. Cleiton Antônio Nunes
Coorientador

**LAVRAS – MG
2025**

**Ficha de identificação da obra elaborada pelo(a) autor(a) através do Sistema de Geração Automática de
Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA.**

Pereira, Letícia Fagundes.

Chemometric and sensory approaches to evaluating hops cultivated in Brazil
and their application in beer production / Letícia Fagundes Pereira. 2025.
126 p. : il.

Orientador: Marcio Pozzobon Pedroso

Coorientador: Cleiton Antônio Nunes

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2025.

Bibliografia.

1. Lúpulo brasileiro. 2. Dry Hopping. 3. Óleo Essencial. 4. PCA. 5. PLS-DA. I.
Pedroso, Marcio Pozzobon. II. Nunes, Cleiton Antônio. III. Universidade Federal de
Lavras. IV. Título.

LETÍCIA FAGUNDES PEREIRA

**CHEMOMETRIC AND SENSORY APPROACHES TO EVALUATING HOPS
CULTIVATED IN BRAZIL AND THEIR APPLICATION IN BEER PRODUCTION**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação Multicêntrico em Química de Minas
Gerais (PPGMQ-MG), área de concentração em
Química, para a obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 18 de fevereiro de 2025.
Dra. Ana Carla Marques Pinheiro, UFLA
Dr. Bruno Gonçalves Botelho, UFMG
Dra. Elisângela Jaqueline Magalhães, UFLA
Dra. Miriany Avelino Moreira Fernandez, UFLA

Prof. Dr. Marcio Pozzobon Pedroso
Orientador

Prof. Dr. Cleiton Antônio Nunes
Coorientador

**LAVRAS – MG
2025**

*Ao Alexandre (in memoriam), por todo amor e por ter
sido meu maior incentivador durante a jornada acadêmica.
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

Ainda que muitas batalhas sejam enfrentadas sozinha, sem todo o apoio recebido ao longo desses anos essa conquista nunca seria possível. Sigo para a conclusão dessa etapa extremamente grata por cada um que esteve comigo e me ajudou de alguma forma. Não é possível agradecer a todos, mas tentarei deixar aqui alguns registros de agradecimento.

Agradeço a Deus, por me fortalecer diante dos desafios enfrentados e por me capacitar a finalizar essa etapa. E aos meus pais, Vander e Lúcia, pelo apoio e amor incondicionais, por estarem sempre comigo e serem meu abrigo em todos os momentos.

Ao Alexandre, que sonhou essa conquista junto comigo e acreditou em mim mais do que eu mesma. Agradeço por ter sido meu refúgio, meu maior incentivador e por, mesmo na ausência física, continuar sendo minha inspiração e meu maior exemplo de determinação, dedicação e coragem.

Ao Marcio, por todos os ensinamentos desde o início da graduação até aqui e por tanto ter contribuído para minha formação. Agradeço pela paciência, compreensão e disponibilidade em ajudar.

Às minhas irmãs, Mariane e Vanessa, por serem a certeza de que nunca estarei só. Agradeço por estarem sempre comigo e me trazerem tanto conforto.

À minha família, em especial minhas avós e tios, por toda torcida, apoio e orações.

Aos amigos, que eu não sabia que eram tantos, por estarem presentes nos momentos que eu mais precisei e por permanecerem. Agradeço pelo apoio, pelas palavras de conforto e pelos bons momentos compartilhados. Em especial, agradeço à Paloma, que vivenciou tantos momentos comigo ao longo da jornada na UFLA e também fora dela. Aos amigos Ana Clara, Lucas, Fran, Thaiany e Rúbia, que nos últimos anos fizeram tudo ser mais leve e divertido. Ao Bruno, Arcione, Agostinho e Miguel por toda força e carinho, por todas as conversas e pelas orações. E às amigas que a corrida me deu, Bárbara e Tati, agradeço por todas as corridas, conversas e momentos compartilhados.

Agradeço aos professores, alunos e funcionários do Departamento de Biologia e do Setor de Botânica por todo apoio e pela compreensão nos momentos que precisei me ausentar para me dedicar a este trabalho.

Aos professores e técnicos do Departamento de Química por todas as contribuições para minha formação e pela amizade construída ao longo desses anos.

Ao CAPQ pela infraestrutura para realização das análises cromatográficas, em especial, ao professor Mario Guerreiro e às técnicas Lidiany e Franciane por toda ajuda e pela amizade.

À professora Graça por disponibilizar o laboratório para a extração dos óleos essenciais e por todas as contribuições; à Carol, à Gabriela e aos demais alunos do Laboratório de Óleos Essenciais, pela ajuda nas extrações. Ao professor Cleiton pelo auxílio nas análises quimiométricas. À professora Ana Carla e aos alunos do Laboratório de Análise Sensorial, em especial, Katiúcia e Maria Laura, pela ajuda na realização das análises. E aos professores Stanislau, da USP de São Carlos, e Leandro, da Unicamp, pelas contribuições e auxílio nas análises.

Às professoras Jaqueline, Miriany e Ana Carla e aos professores Bruno, Mario e Juliano, que prontamente aceitaram o convite para participar da banca desse trabalho, agradeço por todas as contribuições.

À UFLA, que há 11 anos tem sido minha segunda casa, e ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química agradeço por todas as oportunidades e por me possibilitar crescer pessoal e profissionalmente.

Agradeço aos órgãos de fomento CAPES e Fapemig. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

E, por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse até aqui. Muito obrigada!

RESUMO

O crescente interesse por cervejas especiais resultou na maior valorização do lúpulo, responsável por conferir aroma, sabor e amargor a essas bebidas. Isso contribuiu para expansão das áreas de cultivo, sendo iniciado o cultivo do lúpulo no Brasil. Como essa produção ainda é recente, torna-se necessário investigar as características do lúpulo nacional. Para isso, lúpulos de três variedades cultivadas no Brasil foram comparadas às correspondentes de duas marcas estrangeiras, a partir do teor e da composição dos óleos essenciais (OE), responsáveis pelo aroma e sabor de lúpulo das cervejas, e dos teores de α e β -ácidos, responsáveis pelo amargor. Os OE foram avaliados por cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC $\times$ GC), e os teores de α e β -ácidos foram determinados a partir dos métodos oficiais. Com esses dados, foi aplicada a análise de agrupamento hierárquico (HCA) com mapa de calor e análise discriminante de mínimos quadrados parciais (PLS-DA). Os resultados não indicaram a discriminação das amostras conforme o local de origem, mas demonstraram que os OE dos lúpulos cultivados no Brasil se diferenciaram em relação a alguns compostos, como o metil (Z)-4-decenoato e isômeros do selineno. Além disso, algumas amostras brasileiras apresentaram menor teor de OE, indicando necessidade de maior atenção ao processamento e armazenamento do lúpulo. Considerando ainda a maior valorização do lúpulo, buscou-se avaliar também sua forma de utilização na produção da cerveja. Para conferir aroma e sabor lupulado mais intensos às cervejas, o *dry hopping* (DH) tem sido empregado, processo que consiste em adicionar o lúpulo após a etapa de fermentação para extração dos compostos do OE para a cerveja. Nesse sentido, uma possível alteração seria adicionar diretamente o OE de lúpulo em substituição ao lúpulo em *pellet* do DH, avaliando a possibilidade produzir com OE cervejas com características semelhantes à do DH, o que ainda não foi avaliado em trabalhos encontrados na literatura. Assim, foram produzidas cervejas em que a única alteração foi a forma de adição de lúpulo no DH, sendo uma preparada com lúpulo peletizado e outra com OE do mesmo lúpulo. Foram realizados dois estudos, os quais se diferenciaram pela variedade (cascade e comet) e concentração dos lúpulos (1 e 2 g L⁻¹). As cervejas foram avaliadas por análises sensoriais e por análises quimiométricas através do perfil volátil obtido por microextração em fase sólida no *headspace* e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (HS-SPME-GC-MS). O perfil volátil demonstrou que, em geral, os mesmos compostos estavam presentes nas cervejas produzidas com *pellet* e com OE, com diferenças na concentração de alguns compostos, como mirceno, β -cariofileno e geranato de metila. Entretanto, as diferenças nas concentrações desses compostos não influenciaram de forma significativa nas análises sensoriais para aceitação das cervejas e para a maioria dos atributos avaliados, com exceção do amargor e do aroma de malte/cevada. Esses resultados demonstraram, de forma preliminar, que o uso de OE pode resultar em bebidas com características sensoriais semelhantes às do DH, sendo uma possibilidade para produção de cervejas, trazendo vantagens para produção e contribuições para as características sensoriais das cervejas.

Palavras-chaves: Lúpulo brasileiro; *dry hopping*; óleo essencial; PCA; PLS-DA.

ABSTRACT

The growing interest in specialty beers has resulted in a greater appreciation of hops, which are responsible for providing aroma, flavor, and bitterness to these beverages. This has contributed to the expansion of hop cultivation areas, and hop cultivation has begun in Brazil. Since this production is still recent, it is necessary to investigate the characteristics of national hops. For this purpose, hops of three varieties grown in Brazil were compared to the corresponding ones from two foreign brands, based on the content and composition of essential oils (EOs), responsible for the hop aroma and flavor of the beers, and the contents of α and β -acids, responsible for the bitterness. The EOs were evaluated by comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC $\times$ GC), and the contents of α and β -acids were determined using official methods. With these data, hierarchical cluster analysis (HCA) with heat map and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) were applied. The results did not indicate discrimination of the samples according to their place of origin, but demonstrated that the EOs of hops grown in Brazil differed in relation to some compounds, such as methyl (Z)-4-decenoate and selinene isomers. In addition, some Brazilian samples presented lower EOs content, indicating the need for greater attention to hop processing and storage. Considering the greater value of hops, we also sought to evaluate their use in beer production. To give more intense aroma and hoppy flavor to beers, dry hopping (DH) has been used, a process that consists of adding hops after the fermentation stage to extract the EO compounds into the beer. In this sense, a possible change would be to directly add hop EOs instead of pelleted hops from DH, evaluating the possibility of producing beers with EOs with characteristics similar to those of DH, which has not yet been evaluated in studies found in the literature. Thus, beers were produced in which the only change was the way hops were added to the DH, one prepared with pelleted hops and the other with EO from the same hop. Two studies were carried out, which differed in the variety (cascade and comet) and concentration of hops (1 and 2 g L⁻¹). The beers were evaluated by sensory analysis and chemometric analysis through the volatile profile obtained by solid phase microextraction in the headspace and gas chromatography coupled to mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS). The volatile profile showed that, in general, the same compounds were present in beers produced with pellets and EO, with differences in the concentration of some compounds, such as myrcene, β -caryophyllene and methyl geranate. However, the differences in the concentrations of these compounds did not significantly influence the sensory analyses for the acceptance of the beers and for most of the attributes evaluated, with the exception of bitterness and malt/barley aroma. These results demonstrated, preliminarily, that the use of EO can result in beverages with sensory characteristics similar to those of DH, making it a possibility for beer production, bringing advantages to production, and contributing to the sensory characteristics of the beers.

Keywords: Brazilian hops; dry hopping; essential oil; PCA; PLS-DA.

INDICADORES DE IMPACTO

O presente trabalho contribui para o avanço do conhecimento sobre o lúpulo cultivado no Brasil e suas formas de aplicação na produção de cervejas. Diante da importância desse insumo para o setor cervejeiro, os resultados apresentam impactos diretos nas esferas tecnológica e econômica. Ao investigar as características químicas do lúpulo nacional, o estudo fornece subsídios para a valorização da produção brasileira e para o aprimoramento das práticas de cultivo, processamento e armazenamento, favorecendo a inserção dos produtores nacionais no mercado. A aplicação do óleo essencial de lúpulo como alternativa ao *dry hopping* representa uma inovação na tecnologia de produção de cervejas, com potencial para otimizar processos produtivos, reduzir perdas e ampliar a diversidade sensorial das bebidas, beneficiando cervejarias e consumidores finais. O trabalho apresenta caráter extensionista ao envolver produtores de lúpulo e cervejarias, possibilitando a transferência de conhecimento técnico e científico à população externa à UFLA. O território impactado compreende localidades com potencial agrícola para o cultivo de lúpulo e com presença crescente de microcervejarias. O público diretamente beneficiado inclui produtores de lúpulo, empreendedores do setor cervejeiro, consumidores de cerveja e pesquisadores que podem desenvolver novos estudos com base nos resultados obtidos. A pesquisa se insere na área temática de “Tecnologia e produção”, com interface com “Meio ambiente” e “Trabalho”, conforme a Política Nacional de Extensão, ao propor soluções sustentáveis e inovadoras para a cadeia produtiva da cerveja. Os impactos estão alinhados aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU, especialmente os ODS 8 (Trabalho decente e crescimento econômico), ODS 9 (Indústria, inovação e infraestrutura) e ODS 12 (Consumo e produção responsáveis), ao estimular práticas produtivas sustentáveis, fomentar a inovação no setor de bebidas e fortalecer a economia local. A pesquisa contribui, assim, para a integração entre ciência, produção e sociedade, avaliando possibilidades que favorecem produção e o uso mais eficientes do lúpulo, criando condições para um desenvolvimento com impactos positivos na sociedade.

IMPACT INDICATORS

This study contributes to the advancement of knowledge about hops grown in Brazil and their application in beer production. Given the importance of this input for the beer industry, the results have direct impacts on the technological and economic spheres. By investigating the chemical characteristics of national hops, the study provides support for the valorization of Brazilian production and the improvement of cultivation, processing, and storage practices, favoring the insertion of national producers in the market. The application of hop essential oil as an alternative to dry hopping represents an innovation in beer production technology, with the potential to optimize production processes, reduce losses, and increase the sensory diversity of beverages, benefiting breweries and end consumers. The study has an extensionist character by involving hop producers and breweries, enabling the transfer of technical and scientific knowledge to the population outside UFLA. The impacted territory includes locations with agricultural potential for hop cultivation and a growing presence of microbreweries. The target audience includes hop producers, entrepreneurs in the beer industry, beer consumers, and researchers who can develop new studies based on the results obtained. The research falls within the thematic area of “Technology and production”, with an interface with “Environment” and “Labor”, according to the National Extension Policy, by proposing sustainable and innovative solutions for the beer production chain. The impacts are aligned with the UN Sustainable Development Goals (SDGs), especially SDG 8 (Decent work and economic growth), SDG 9 (Industry, innovation and infrastructure) and SDG 12 (Responsible consumption and production), by stimulating sustainable production practices, fostering innovation in the beverage sector and strengthening the local economy. The research thus contributes to the integration between science, production, and society, evaluating possibilities that favor more efficient production and use of hops, creating conditions for development with positive impacts on society.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

PRIMEIRA PARTE

Figura 1 – Etapas de produção da cerveja.....	20
Figura 2 – Estrutura química das A) humulonas e B) lupulonas.....	22
Figura 3 – Compostos comumente presentes no OE de lúpulo.....	23
Figura 4 – Isomerização da Humulona e cis-iso-Humulona e tras-iso-Humulona.....	25
Figura 5 – Cromatogramas obtidos com (a) GC e com (b) GC×GC.....	32

SEGUNDA PARTE

Artigo 1 – Comparative Assessment of the Chemical Composition of Locally Cultivated and Imported Hops in Brazil using Chemometrics

Figure 1 α -acids e β -acids of hop samples.....	54
Figure 2 Ratio between α -acids and β -acids.....	56
Figure 3 Essential oil content of hop samples.....	56
Figure 4 Heat map of the triplicate of hop essential oil of cascade (c), comet (cm) and sorachi ace (s) samples, and HCA of samples and compounds.....	62
Figure 5 PLS-DA scores of Brazilian (green circles) and imported (red square) samples (a), and influence of the compounds in loadings graph (b).....	63
Figure 6 Accumulated variance and leave-one-out cross-validation for the PLS-DA model.....	64
Figure S1 GC×GC-MS chromatograms of essential oils from the Comet hop variety (a) cmB1, cultivated in Brazil, and (b) cmI1, imported.....	75

Artigo 2 – Óleo essencial de lúpulo na produção de cerveja: uma abordagem química e sensorial

Figura 1 – A) Fermentadores e B) Barris <i>postmix</i> utilizados na produção das cervejas.....	83
Figura 2 – Cromatogramas completos e ampliados dos óleos essenciais dos lúpulos (A) Cascade e (B) Comet com a identificação dos principais compostos.....	88
Figura 3 – Cromatogramas sobrepostos das cervejas produzidas com o lúpulo Cascade (1DH e 1OE) e da cerveja pura.....	90
Figura 4 – Gráfico de (A) <i>scores</i> e (B) <i>loadings</i> para a PCA das cervejas preparadas com lúpulo Cascade 1DH (●) e 1OE (■).....	93
Figura 5 – Mapa de calor dos compostos voláteis presentes nas cervejas preparadas com lúpulo Cascade.....	94
Figura 6 – <i>Boxplots</i> das notas de aceitação das amostras 1DH e 1OE.....	96
Figura 7 – (A) PCoA e (B) análise de <i>penalty-lift</i> do RATA realizado para as cervejas preparadas com lúpulo Cascade.....	97
Figura 8 – Cromatogramas sobrepostos das cervejas produzidas com o lúpulo Comet (2DH e 2OE) e da cerveja pura.....	98
Figura 9 – Gráfico de (A) <i>scores</i> e (B) <i>loadings</i> para a PCA das cervejas preparadas com lúpulo Comet 2DH (●) e 2OE (■).....	101
Figura 10 – Mapa de calor dos compostos voláteis presentes nas cervejas preparadas com lúpulo Comet.....	102
Figura 11 – <i>Boxplots</i> das notas de aceitação das amostras 2DH e 2OE.....	104
Figura 12 – (A) PCoA e (B) análise de <i>penalty-lift</i> do RATA realizado para as cervejas preparadas com lúpulo Comet.....	105

LISTA DE TABELAS

Artigo 1 – Comparative Assessment of the Chemical Composition of Locally Cultivated and Imported Hops in Brazil using Chemometrics

Table 1 Description of hops samples.	52
Table 2 Compounds identified their average relative areas (N = 3) for essential oils from Brazilian and imported hops.....	60
Table S1 Results for α -acids e β -acids (N = 3) and reference values.	74
Table S2 Essential oil content of hop samples and reference values.	74
Table S3 Average relative areas of compounds identified in hop essential oils, along with Tukey's test results for each compound in each hop variety.	76

Artigo 2 – Óleo essencial de lúpulo na produção de cerveja: uma abordagem química e sensorial

Tabela 1 – Amostras de cervejas.	83
Tabela 2 – Composição do OE dos lúpulos Cascade e Comet (N = 2).	88
Tabela 3 – Média das áreas relativas dos compostos identificados nas cervejas pura, com DH com o lúpulo em pellet e com OE do lúpulo Cascade (N = 4).....	91
Tabela 4 – Frequência de citações e intensidade RATA e análises de significância dos atributos avaliados para as cervejas preparadas com o lúpulo Cascade.	95
Tabela 5 – Média das áreas relativas dos compostos identificados nas cervejas pura, com DH com o lúpulo Comet em pellet e com OE do lúpulo Comet (N = 4).	98
Tabela 6 – Frequência de citações e intensidade RATA e análises de significância dos atributos avaliados para as cervejas preparadas com o Comet.....	103
Tabela S1 – Áreas relativas médias com desvio padrão dos compostos identificados nas cervejas pura, com DH lúpulo Cascade em pellet e com OE do lúpulo Cascade.	118
Tabela S2 – Áreas relativas médias com desvio padrão dos compostos identificados nas cervejas pura, com DH lúpulo Comet em pellet e com OE do lúpulo Comet.	120

LISTA DE SIGLAS

OE	Óleo essencial
DH	<i>Dry Hopping</i>
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (do inglês, <i>Gas chromatography-mass spectrometry</i>)
GC-FID	Cromatografia gasosa com detector de ionização em chamas (do inglês, <i>Gas chromatography with flame ionization detector</i>)
EBC	<i>European Brewery Convention</i>
HS-SPME	Microextração em fase sólida no headspace (do inglês, <i>headspace solid phase microextraction</i>)
GC×GC	Cromatografia gasosa bidimensional abrangente (do inglês, <i>Two-dimensional gas chromatography</i>)
LTPRI	Índices de retenção com programação linear de temperatura (do inglês, <i>Linear Temperature Programmed Retention Indexes</i>)
ASBC	American Society of Brewing Chemists
PCA	Análise de componentes principais (do inglês, <i>Principal component analysis</i>)
HCA	Análise de agrupamento hierárquico (do inglês, <i>Hierarchical cluster analysis</i>)
PC	Componente principal (do inglês, <i>Principal component</i>)
PLS-DA	Análise discriminante de mínimos quadrados parciais (do inglês, <i>Partial least squares discriminant analysis</i>)
LV	Variável latente (do inglês, <i>Latent variable</i>)
TOFMS	Espectrometria de massa de tempo de voo (do inglês, <i>Time of Flight Mass Spectroscopy</i>)
FTIR	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (do inglês, <i>Fourier-Transform Infrared Spectroscopy</i>)
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, <i>High-performance liquid chromatography</i>)
CATA	<i>Check-all-that-apply</i>
RATA	<i>Rate-all-that-apply</i>
GC×GC-MS	Cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada à espectrometria de massas (do inglês, <i>Two-dimensional gas chromatography coupled with mass spectrometry</i>)
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
m/z	Razão massa/carga
ANOVA	Análise de variância (do inglês, <i>Analysis of variance</i>)
LOOCV	<i>Leave-One-Out Cross-Validation</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisas
PDMS/DVB/CAR	Polidimetilsiloxano/divinilbenzeno/carboxen
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
PCoA	Análise de coordenadas principais (do inglês, <i>Principal Coordinates Analysis</i>)
IBU	<i>International Bitterness Unit</i>

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	15
1	INTRODUÇÃO GERAL	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	Cerveja	17
2.2	Lúpulo	20
2.2.1	<i>Dry Hopping</i> (DH)	25
2.3	Produção do lúpulo e cultivo no Brasil	27
2.4	Cromatografia gasosa para caracterização química de lúpulo e cervejas	30
2.5	Quimiometria	33
2.6	Análises sensoriais de cervejas	36
	REFERÊNCIAS.....	38
	SEGUNDA PARTE - Artigos	46
	Artigo 1 – Comparative Assessment of the Chemical Composition of Locally Cultivated and Imported Hops in Brazil using Chemometrics	47
	Artigo 2 – Óleo essencial de lúpulo na produção de cerveja: uma abordagem química e sensorial	77
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	123
	Anexo I – Trabalhos desenvolvidos	124

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

Dentre as bebidas alcoólicas existentes, a cerveja se destaca como a mais consumida mundialmente, com um consumo crescente ao longo dos últimos anos. Acompanhando esse crescimento, nota-se a maior valorização de bebidas mais complexas, com diferenciais no sabor e aroma. Diante disso, o lúpulo tem ganhado cada vez mais destaque, em especial para aquelas de estilos de cerveja mais lupulados. Isso tem feito com que a demanda por lúpulo para produção de cerveja aumente, o que implica na necessidade de expandir o cultivo para suprir as necessidades de consumo. Esse cenário tem contribuído para que o cultivo do lúpulo se estenda para áreas onde originalmente não era cultivado, incluindo o Brasil (Lafontaine *et al.*, 2022; Pearson, Smith, Chen, 2016; Villacreces, Blanco, Caballero, 2022).

Considerando a importância do lúpulo na produção de cervejas, além do fato do Brasil se destacar como o maior importador de lúpulo da América do Sul e um dos maiores produtores mundiais de cerveja, torna-se evidente a necessidade de investir no cultivo nacional. Isso reduziria os custos da produção, garantindo também que as cervejas sejam produzidas com lúpulos mais frescos, com menor tempo de estocagem e, consequentemente, com uma maior concentração dos compostos importantes para as características sensoriais das cervejas (Jastrombek *et al.*, 2022).

Os principais compostos do lúpulo que impactam nas características sensoriais de sabor, aroma e amargor das cervejas são os α -ácidos, β -ácidos e os compostos voláteis que fazem parte do óleo essencial (OE). Enquanto os α e β -ácidos contribuem para o amargor, os OEs apresentam em sua composição diversos compostos voláteis responsáveis por conferir sabor e aroma característicos de lúpulo. Dentre os compostos do OE do lúpulo estão os monoterpenos, como o β -mirceno, os sesquiterpenos, como α -humuleno, β -cariofileno e β -farneseno, além de compostos oxigenados, como o linalol e geraniol. A composição química e a qualidade do lúpulo podem apresentar alterações conforme as condições de cultivo, colheita e processamento, havendo também grande impacto conforme o tempo e temperatura de armazenamento. Todas as variáveis apresentadas influenciam nas características do lúpulo, o qual afeta diretamente a qualidade da cerveja produzida (Almaguer *et al.*, 2014; Duarte *et al.*, 2024).

Considerando a produção da cerveja, o lúpulo pode ser adicionado em etapas distintas conforme as características que se deseja conferir à bebida. O lúpulo adicionado no início da fervura do mosto contribui para o amargor da cerveja, mas tem pouca influência no sabor e aroma. A adição de lúpulo no final da fervura contribui mais para o sabor e aroma do que para

o amargor da cerveja. E, diante da volatilidade dos compostos do OE e da alta temperatura da fervura do mosto, para conferir aromas mais intensos à cerveja, o lúpulo pode ser adicionado após a etapa de fermentação, processo denominado *dry hopping* (DH). No DH o lúpulo é adicionado em uma etapa da produção da cerveja em que as temperaturas estão mais baixas (15-25 °C) em relação à etapa de fervura, minimizando perdas por volatilização dos compostos do OE (Titus *et al.*, 2021).

No DH, o lúpulo é adicionado, normalmente, em forma de *pellets*, que consistem na flor do lúpulo que foi seca, moída e moldada em formato cilíndrico. Embora no DH a perda dos compostos do OE do lúpulo por volatilização seja minimizada, de modo que sejam melhor retidos na cerveja, a extração dos mesmos a partir do lúpulo não é tão eficiente, visto que a extração não é favorecida em baixas temperaturas (Hauser, Lafontaine, Shellhammer, 2019). Nesse cenário, sabendo que as características relativas ao aroma são provenientes do OE do lúpulo, uma possibilidade seria utilizar o próprio OE na etapa de DH em substituição ao lúpulo em *pellet*, buscando garantir a disponibilidade dos compostos e intensificar as características aromáticas.

Considerando os fatos expostos, a alta demanda por lúpulo para produção de cerveja e o potencial que essa cultura tem de crescer no país, buscou-se com esse trabalho caracterizar lúpulos brasileiros. Portanto, inicialmente, foram avaliados lúpulos cultivados e comercializados no Brasil, comparando-os com lúpulos importados das mesmas variedades. Para isso, foram utilizados como parâmetros o teor e a composição do OE e o teor de α e β -ácidos, os quais são os principais atributos quantitativos dos lúpulos comercializados e que foram avaliados a partir de modelos estatísticos e quimométricos. Além da avaliação da qualidade dos lúpulos brasileiros, uma estratégia alternativa para o uso do lúpulo na produção de cervejas também foi investigada, na qual utilizou-se OE de lúpulo na etapa de DH buscando aproveitar o maior poder de extração dos compostos voláteis à quente e a melhor retenção dos mesmos em temperaturas mais baixas. Assim, foram preparadas cervejas com DH utilizando lúpulo em *pellet* e cervejas em que foi feita a adição direta do OE na etapa de DH, as quais foram avaliadas a partir das características sensoriais e do perfil volátil.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cerveja

Produzida, normalmente, a partir da cevada ou outra fonte de amido, de leveduras, lúpulo e água, a cerveja é uma das bebidas alcoólicas mais antigas que existe e é a mais consumida em todo mundo (OMS, 2018; Villacreces, Blanco, Caballero, 2022). Considerando as bebidas de forma geral, a cerveja se posiciona como a terceira mais popular no mundo, ficando atrás apenas da água e do chá, sendo a China, os Estados Unidos e o Brasil os maiores consumidores mundiais de cerveja (Fangel *et al.*, 2018). Levando em conta o consumo per capita, em 2018, a República Tcheca apresentou o maior consumo mundial (191,8 L), seguida da Áustria (107,6 L) e da Alemanha (101,1 L). O Brasil apresentou o consumo per capita de 60 L, ocupando a 28ª posição, com um aumento do consumo com relação a 2017 (Schabo *et al.*, 2021). Contudo, quando se trata da produção mundial, o Brasil ocupou o 3º lugar em 2018, representando 7,4% da produção global com 14 bilhões de litros (Mutz *et al.*, 2021). Para as cervejas de forma geral, tem sido notável o aumento no consumo ao longo dos últimos anos. Em 2023, o consumo mundial se manteve praticamente estável, com um aumento de 0,1%, o equivalente a 200000 kL (Kirin, 2024). Nesse mesmo ano, o Brasil apresentou um crescimento de quase 7% no número de cervejarias abertas, atingindo um recorde de 1847 unidades, estando a maior parte na região sudeste (Brasil, 2024).

A produção da cerveja, em geral, ocorre com grãos que foram maltados, ou seja, passaram por um processo em que os grãos do cereal são mergulhados em água e germinados por um determinado período visando amolecer os grãos e sintetizar enzimas que, posteriormente, irão possibilitar a degradação da parede celular, de componentes proteicos e do amido. Ao final dessa fase, os grãos são secos para eliminar a umidade e interromper o crescimento, podendo também passar por aquecimento mais intenso que pode causar modificações de cor e sabor, o que é necessário conforme o estilo de cerveja que será produzida a partir do malte (Bamforth, 2017).

No processo de produção da cerveja os grãos de malte são moídos e colocados em água quente para iniciar a produção da cerveja. Com isso, é formado o mosto, que contém os açúcares provenientes do malte, necessários para a fermentação. Posteriormente, as cascas do malte são retiradas do mosto e o líquido é levado à fervura. Nessa etapa, tradicionalmente, é feita a adição do lúpulo, o qual irá fornecer amargor à cerveja, para equilibrar o sabor adocicado oriundo do malte, e também aroma de lúpulo. Entretanto, essa adição pode ocorrer em diferentes momentos da fervura do mosto ou em outras etapas da produção da cerveja conforme as características de aroma e amargor desejáveis. Em seguida, tem-se o processo de fermentação em que a levedura é adicionada ao mosto, possibilitando a conversão dos açúcares provenientes do malte em etanol, dióxido de carbono, além de outros compostos

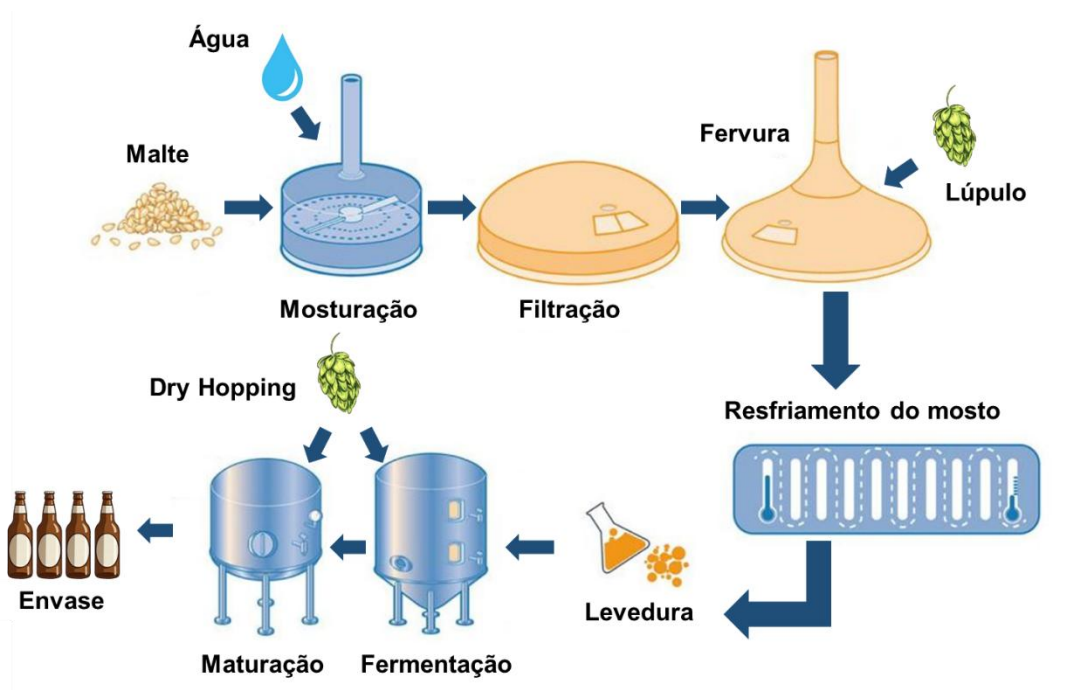
secundários que estão associados ao aroma e sabor da cerveja (Anderson *et al.*, 2019; Bamforth, 2017; Fangel *et al.*, 2018).

Considerando o processo de fermentação tem-se as principais classificações das cervejas. Na baixa fermentação, que é realizada em temperaturas entre 6 e 15°C, com as leveduras *Saccharomyces pastorianus*, são produzidas as cervejas do tipo *lager*. Para essas cervejas, as células da levedura se encontram no fundo do fermentador após o processo de fermentação, podendo ser removidas. Já nos casos de alta fermentação, as temperaturas variam entre 16 e 24°C, e são empregadas as leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, resultando nas cervejas do tipo *ale*. Nesse caso, as leveduras se encontram na superfície do meio de fermentação após o processo, resultando em uma película espessa que, em geral, não é removida completamente. A partir desses dois tipos, variações podem ocorrer na produção e também nos ingredientes utilizados, resultando em diferentes estilos, como *pilsen*, *bock*, *weizen*, *pale ales*, *brown ales*, dentre outros, os quais podem variar conforme a região produtora, aspectos culturais e a disponibilidade de ingredientes. Além disso, outras classificações podem existir conforme os processos de fabricação (Jardim *et al.*, 2018; Jiang *et al.*, 2023; Moura-Nunes *et al.*, 2016).

Por fim, ocorre a etapa de maturação por um período que pode variar de dias a semanas, e então é feita a remoção do fermento e a cerveja é filtrada e engarrafada. Para alguns estilos de cerveja, como IPAs, APAs e Pale Ales, a adição do lúpulo também pode ocorrer nas etapas de fermentação e maturação, processo denominado DH, o qual possibilita a extração a frio dos compostos do lúpulo para produção de cervejas mais aromáticas (Anderson *et al.*, 2019; Hauser *et al.*, 2019). Um esquema geral das etapas de produção da cerveja pode ser visualizado na Figura 1.

Em alguns casos, a produção de cerveja ocorre em pequena escala, priorizando a qualidade sensorial. Nessas produções, são utilizados ingredientes mais selecionados, com maior quantidade de malte e lúpulo em comparação às cervejas convencionais. No Brasil, essas cervejas são denominadas especiais ou artesanais, embora ainda não exista uma definição formal e padronizada para esses termos. Apesar disso, essas categorias têm conquistado cada vez mais consumidores. Nesse cenário, com a valorização e popularização dessas cervejas, o lúpulo vem assumindo um papel essencial no processo cervejeiro (Carvalho *et al.*, 2018; Schabo *et al.*, 2021).

Figura 1 – Etapas de produção da cerveja.



Fonte: Adaptado de Gomes *et al.* (2022).

2.2 Lúpulo

O lúpulo, *Humulus lupulus* L., é caracterizado como uma planta trepadeira dióica e suas características sensoriais estão relacionadas, principalmente, aos compostos presentes nas glândulas de lupulina, localizadas nas flores das plantas femininas, também chamadas cones do lúpulo, os quais são empregados na fabricação das cervejas. Para utilizar os cones, em geral, eles são secos, triturados e moldados na forma cilíndrica de 2 a 3 cm e 5 mm de diâmetro, formando os chamados *pellets*. Com isso, o transporte e o uso do lúpulo são facilitados, além de garantir a melhor conservação quando comparado ao lúpulo em flor (Gomes *et al.*, 2022; Lamberti *et al.*, 2023).

Assim que são colhidos, os lúpulos apresentam teores de água superiores a 75%, o que pode favorecer processos de decomposição além do crescimento de fungos. Para que isso seja evitado, contribuindo para conservação do lúpulo e de seus constituintes, ocorre a secagem até o momento em que o teor de umidade atinja 10%. Nessa condição o lúpulo pode ser armazenado em temperaturas próximas a 6°C e com atmosfera controlada para evitar processos oxidativos. Entretanto, considerando o processo de secagem, é importante que a temperatura seja a mais baixa possível, já que temperaturas muito altas poderiam contribuir

para volatilização e oxidação de componentes do lúpulo, prejudicando sua qualidade (Lamberti *et al.*, 2023; Srečec *et al.*, 2008).

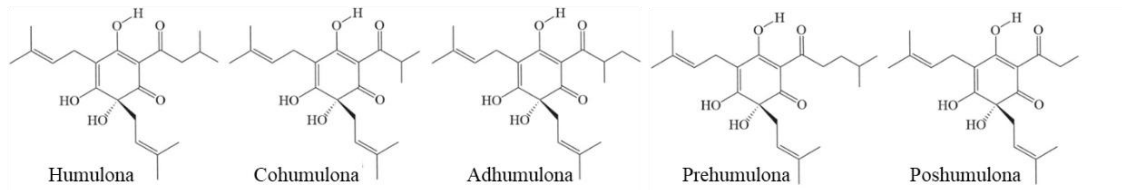
O uso do lúpulo na fabricação da cerveja se deve à lupulina, onde estão presentes os metabólitos secundários, que incluem resinas, OEs e polifenóis. As resinas são constituídas por α -ácidos e β -ácidos, compostos responsáveis pelo amargor da cerveja. Os OEs são constituídos por compostos voláteis, os quais fornecem aromas e sabores característicos de lúpulo à cerveja. Já os polifenóis apresentam propriedades antioxidantes, antimicrobianas e estabilizantes, atuam na conservação da cerveja, preservando as características organolépticas (Castro *et al.*, 2022; González-Salitre, González-Olivares, Basilio-Cortes, 2023).

No lúpulo, os polifenóis correspondem de 3 a 6% da massa seca dos cones e podem ser divididos em grupos, sendo eles os flavonóis, flavan-3-óis, ácidos carboxílicos fenólicos e outros compostos fenólicos, que incluem prenilflavonóides e estilbenoides. Além de atuarem como antioxidantes, os polifenóis também tem papel na turvação da cerveja ao longo da produção das bebidas (Mikyška, Dušek, Slabý, 2023; Mikyška *et al.*, 2022).

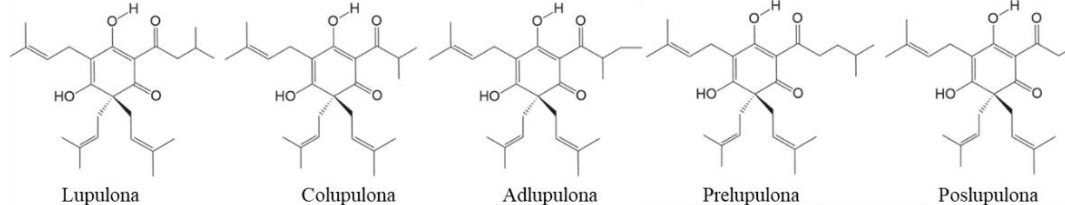
A resina compõe de 5 a 21% da massa seca do lúpulo e uma fração significativa dessa resina é constituída pelos denominados ácidos amargos, os quais podem ser divididos em α -ácidos e β -ácidos. Os α -ácidos podem corresponder, geralmente, de 1,5 a 13% da massa seca do lúpulo e são compostos por humolonas (humulona, cohumulona, adhumulona, prehumulona e poshumulona). Com o processo de fervura (temperaturas maiores que 80 °C) ocorre a isomerização dos α -ácidos a iso- α -ácidos, os quais apresentam maior solubilidade no mosto e são mais amargos, sendo responsáveis pelo amargor da cerveja. Além disso, os α -ácidos e iso- α -ácidos apresentam características antioxidantes, contribuindo para manter a estabilidade da cerveja com o armazenamento, evitando reações oxidativas. Já os β -ácidos estão presentes na massa seca do lúpulo, em geral, em frações que variam de 3 a 8%. Eles são compostos por lupulona, colupulona, adlupulona, prelupulona e poslupulona, compostos que são menos amargos que a humolonas dos α -ácidos, mas que, ainda assim, contribuem para o amargor da cerveja devido a transformações que sofrem durante o processo de fervura. Além disso, as lupulonas apresentam ação antimicrobiana, o que também contribui para a estabilidade das cervejas. As estruturas químicas das humolonas e lupulonas podem ser visualizadas na Figura 2 (Durello; Silva; Bogusz, 2019; Silva *et al.*, 2023).

Figura 2 – Estrutura química das A) humulonas e B) lupulonas.

A) Humulonas



B) Lupulonas



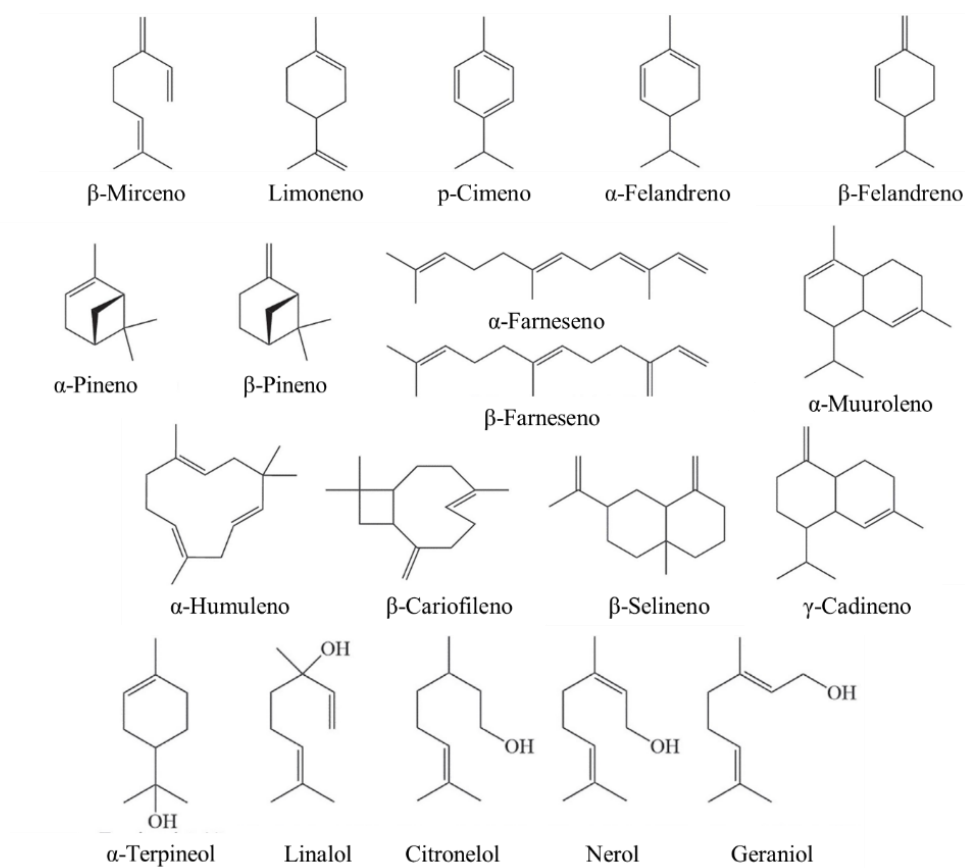
Fonte: Do autor (2025).

Os lúpulos se diferenciam em variedades e são muitas vezes classificados conforme a concentração de α -ácidos e o teor de OE, por destacar mais amargor ou aroma às cervejas, respectivamente. Assim, os lúpulos que apresentam mais que 5% de α -ácidos são denominados lúpulos de amargor, e os que possuem menos de 5% desses compostos são denominados lúpulos aromáticos. Esses últimos apresentam teor de OE mais alto, o que contribui para o aroma do lúpulo na cerveja, o qual pode ser floral, herbal, terroso, cítrico, entre outros. Há ainda lúpulos que apresentam quantidades relevantes tanto de α -ácidos quanto de OEs, denominados de lúpulo de duplo uso, conferindo à cerveja tanto aroma quanto amargor (Castro *et al.*, 2022; Kemp *et al.*, 2021).

Os OEs representam de 0,5 a 4,0%, em massa, da matéria seca obtida dos cones do lúpulo e são constituídos por compostos voláteis que se destacam por conferir à cerveja o seu perfil sensorial e o aroma de lúpulo desejável para alguns estilos. Estudos sugerem que mais de 1000 compostos estão presentes no OE do lúpulo, incluindo hidrocarbonetos, álcoois terpênicos, sesquiterpenóides, ésteres, cetonas, aldeídos e compostos de enxofre, nem todos identificados até o momento (Dietz *et al.*, 2021; Villacreces, Blanco, Caballero, 2022). Geralmente, a maior parte do OE de lúpulo é composta por mono e sesquiterpenos, com destaque para os compostos β -mirceno, α -humuleno e β -cariofileno, que apresentam frações variáveis conforme a variedade de lúpulo, mas, de forma geral, somam cerca de 80 a 90% do OE. Outros diversos compostos estão presentes em concentrações menores, alguns em níveis vestigiais e outros originados de compostos do OE que foram metabolizados. Dentre esses compostos, estão alguns oxigenados, como os álcoois linalol, β -citronelol, nerol e α -terpineol

(Dietz et al., 2020; Martins et al., 2018; Sanz *et al.*, 2019). Alguns dos compostos mais comuns encontrados em OE de lúpulo podem ser visualizados na Figura 3.

Figura 3 – Compostos comumente presentes no OE de lúpulo.



Fonte: Do autor (2025).

Os compostos presentes no OE são originados, principalmente, como subprodutos de reações do metabolismo vegetal, sendo que alguns fatores podem influenciar a quantidade e a composição do OE dos lúpulos. Dentre eles, destacam-se os fatores genéticos, que resultam em diversas variedades de lúpulos, e fatores relativos à localização geográfica do cultivo. Além disso, a maturação da planta, bem como a secagem, processamento e armazenamento do lúpulo também estão diretamente relacionados à composição do OE (Rettberg, Biendl, Garbe, 2018).

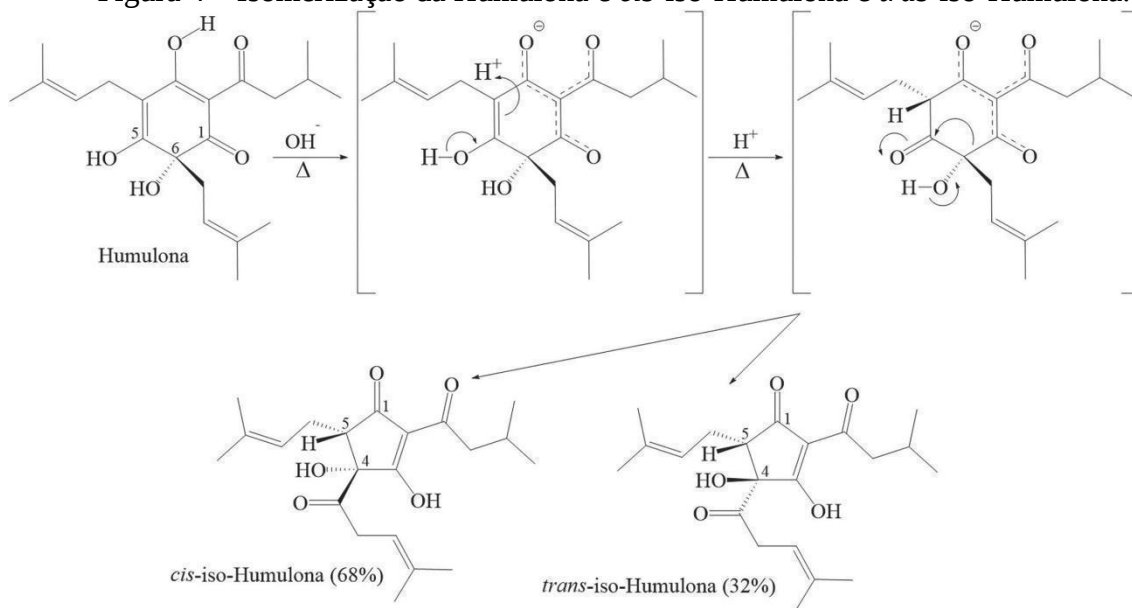
A composição do OE do lúpulo está intimamente ligada às características sensoriais da cerveja, as quais podem ser atribuídas às interações de suas frações volátil e não volátil. Considerando apenas a fração volátil, que envolve os compostos presentes no OE do lúpulo, as características de determinados compostos podem ser evidenciadas ou suprimidas conforme suas concentrações relativas e suas interações com outros compostos (Dietz *et al.*,

2021). Nesse sentido, ao avaliar sensorialmente frações de OE de lúpulo, foi observado que álcoois terpênicos induziam a sensações de aroma e sabor frutado e floral, sendo os linalol e o geraniol os principais responsáveis por essas sensações. Já o mirceno é responsável por conferir à cerveja aroma de “lúpulo verde”, enquanto os isômeros α e β -farneseno são caracterizados por notas amadeiradas e aroma agradável de lúpulo (Chen *et al.*, 2023).

Ainda com relação ao aroma da cerveja, as diferentes concentrações e proporções dos compostos presentes no OE do lúpulo irão conferir os aromas distintos mencionados anteriormente (cítrico, herbal, floral, frutados e aromas característicos do lúpulo). A partir da colheita, processamento e armazenamento do lúpulo, a quantidade de OE presente pode ser reduzida e sua composição pode ser alterada, o que também pode ocorrer com os α e β -ácidos, influenciando nas características fornecidas à cerveja (Gresta *et al.*, 2023; Rutnik, Ocvirk, Košir, 2022a).

Como descrito de forma sucinta no processo de produção da cerveja, o lúpulo é normalmente adicionado no processo de fervura, sendo utilizado no início desse processo para conferir amargor às cervejas, ou no final da fervura para conferir características aromáticas mais intensas à essas bebidas. Com a fervura, os α -ácidos são isomerizados termicamente em iso- α -ácidos (Figura 4), os quais são cerca de 10 vezes mais amargos que as suas formas não isomerizadas. Já o aroma é conferido a partir dos compostos do OE do lúpulo. Entretanto, devido à elevada temperatura da fervura, ocorre a perda de parte desses compostos por evaporação ou oxidação (Klimczak, Cioch-Skoneczny, Duda-Chodak, 2023). Assim, para a maior retenção dos compostos aromáticos, parte do lúpulo é adicionada ao mosto no final da fervura, ou após a fervura, processo denominado *late hopping*, ou ainda durante os estágios de fermentação ou maturação, consistindo no processo de DH (Ceola *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2023; Sanz *et al.*, 2019).

Figura 4 – Isomerização da Humulona e *cis*-iso-Humulona e *trans*-iso-Humulona.



Fonte: Durello, Silva & Bogusz (2019).

2.2.1 Dry Hopping (DH)

Como mencionado anteriormente, o DH consiste na adição do lúpulo ao fim da etapa de fermentação ou na etapa de maturação, quando o mosto já está resfriado após a etapa de fervura, minimizando a perda dos compostos de aroma por evaporação, o que aumenta a concentração de compostos como linalol, mirceno, humuleno, β -citronelol e geraniol na cerveja. Sendo assim, cervejas submetidas ao DH apresentam aroma de lúpulo mais intensos, contudo, sem impactar muito no amargor, já que nas temperaturas de fermentação e maturação (10-25 °C) não ocorre a isomerização dos α -ácidos. Apesar disso, há uma leve contribuição do DH para o amargor devido às humulinonas. Esses compostos são α -ácidos oxidados que apresentam características amargas e podem ser transferidas do lúpulo para a cerveja no DH (Monacci *et al.*, 2024; Rutnik, Ocvirk, Košir, 2022b; Salamon *et al.*, 2022).

Quanto à forma que o lúpulo é adicionado, o DH pode ser classificado em estático ou dinâmico. No estático, método usado normalmente, o lúpulo é apenas adicionado à cerveja, podendo ocorrer a adição de CO_2 para suspender as partículas de lúpulo e melhorar a extração. Já no DH dinâmico, pode ser feito o uso de bombas para circulação da cerveja e o lúpulo é acondicionado em camadas que possibilitam uma maior área de contato, melhorando a extração dos compostos e reduzindo o tempo necessário para o processo (Gomes *et al.*, 2022; Klimczak, Cioch-Skoneczny, Duda-Chodak, 2023).

A quantidade de lúpulo adicionada também é um fator que pode variar, o que estará diretamente relacionado a intensidade do aroma e sabor que será conferido a cerveja. Com relação a isso, atualmente, são relatados valores médios de 0,5 a 8 g de lúpulo por litro de cerveja, e em alguns casos extremos são relatadas quantidade mais altas de até 22 g por litro. Apesar dessas quantidades mais elevadas, o que eleva consideravelmente o preço da cerveja, é possível que esteja havendo desperdícios, considerando que tem sido sugerido que o máximo de sabor da cerveja é alcançado realizando o DH com 5 g por litro para a maioria dos compostos presentes no OE. Para quantidades maiores, pode-se atingir o limite de solubilidade de alguns compostos, em especial do mais apolares (Haslbeck, Minkenberg, Coelhan, 2018; Lafontaine, Shellhammer, 2018).

A partir do DH algumas alterações podem ser observadas para os sabores conferidos à cerveja, mesmo quando se utiliza uma mesma variedade de lúpulo. Isso porque, a depender das condições do processo, o que pode incluir a temperatura, o tempo de contato, dosagem e modo do DH, compostos diferentes podem ser extraídos do lúpulo e em proporções diferentes, além de poder ocorrer algumas reações e transformações desses compostos, alterando o sabor da cerveja. Tempos muito longos de DH, por exemplo, podem estar associados a um sabor gramíneo na cerveja, o que pode ocorrer devido à extração do material vegetal do lúpulo (Klimczak, Cioch-Skoneczny, Duda-Chodak, 2023; Mikyška *et al.*, 2023).

Para conferir à cerveja características semelhantes à do DH, algumas cervejarias têm feito uso de extratos do OE do lúpulo comercialmente disponíveis. É relatada uma maior reprodutibilidade para intensidade e para as características do aroma quando se usa esses extratos, o que possibilita o desenvolvimento de cervejas com atributos de sabor distintos. Dentre esses extratos, destaca-se aqueles ricos em terpenos (alguns exemplos podem ser observados na Figura 3), compostos presentes em diversas plantas, incluindo o lúpulo, e que podem conferir à cerveja um amplo espectro de sabores e aromas, incluindo cítrico, frutado e terroso (Monacci *et al.*, 2024; Van Opstaele *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2023).

Considerando as vantagens sensoriais que o uso desses extratos pode trazer a cerveja e que as principais contribuições de aroma do DH provêm do OE do lúpulo, verifica-se a possibilidade de usar o próprio OE do lúpulo para conferir à cerveja atributos semelhantes ao do DH, trazendo as vantagens do uso de um extrato, ao mesmo tempo que minimiza alguns problemas apresentadas pelo DH. Apesar da relevância, não foram encontrados estudos que avaliem a adição do OE do lúpulo na cerveja em substituição ao DH tradicional, comparando os dois processos, uma vez que isso pode ser informação confidencial de cervejarias que realizam tal processo. Esse tipo de trabalho seria interessante visto que possibilitaria uma

alternativa ao uso do lúpulo que pode apresentar vantagens para a produção da cerveja, facilitando, por exemplo, o processo de filtração bem como, aumentando a eficiência de extração dos OE do lúpulo, o que poderia possibilitar o uso de menores quantidades de lúpulo, além de trazer possíveis vantagens de maior facilidade de armazenamento e transporte do OE quando comparado ao lúpulo em *pellet*.

Além disso, levando em conta a diversidade de fatores que influenciam nas características do lúpulo, o que afeta diretamente a sua qualidade e características, nota-se a importância de avaliar lúpulos cultivados em diferentes regiões, com condições distintas nas diversas etapas de produção e processamento. Nesse sentido, verifica-se a importância de avaliar a qualidade dos lúpulos recentemente cultivados e comercializados no Brasil.

2.3 Produção do lúpulo e cultivo no Brasil

Para cultivo do lúpulo, idealmente, são necessárias condições moderadas de temperaturas e de chuvas, sendo que as condições ótimas para produção, em geral, acontecem em latitudes de 45° e 50°. Com isso, os maiores produtores estão no hemisfério norte, com destaque para os Estados Unidos e a Alemanha, responsáveis por cerca de dois terços da produção mundial. Entretanto, diante da demanda cada vez mais alta pelo lúpulo, o cultivo passou a ocorrer em algumas áreas não tradicionais (Pearson; Smith; Chen, 2016).

Como um dos maiores produtores mundiais de cerveja, o Brasil apresenta uma alta demanda por lúpulo, sendo o maior importador da América do Sul, com 3243 toneladas importadas em 2020, totalizando cerca de US\$ 57 milhões. Toda essa demanda demonstra a necessidade de investir na produção nacional, o que deve possibilitar a redução dos custos, refletindo diretamente no valor comercial da cerveja (Jastrombek *et al.*, 2022).

Atualmente, a produção de lúpulo no Brasil abrange uma área próxima a 60 hectares, sendo uma área ainda pequena, compatível com uma cultura que é recente no país. A primeira safra de lúpulo foi colhida em 2017, com cerca de 2000 kg da variedade cascade. A produção ocorreu no município de São Bento do Sapucaí, no estado de São Paulo, região da Serra da Mantiqueira. O lúpulo colhido resultou na produção de uma linha de cervejas especiais que, atualmente, é produzida com lúpulo 100% brasileiro. Após muitas tentativas sem sucesso, essa foi a primeira tentativa bem-sucedida de produção do lúpulo no país, demonstrando a possibilidade de ampliar a produção nacional, diminuindo a demanda pela importação para produção de cervejas nacionais (Almeida *et al.*, 2021; Fortuna *et al.*, 2023).

Atualmente, as maiores áreas produtoras de lúpulo no Brasil estão na região Sul e Sudeste, com destaque para os estados de Santa Catarina, Paraná e São Paulo, além de ser relatado o cultivo de lúpulo em outras regiões, como em Minas Gerais, na Bahia, no Distrito Federal e em estados do Nordeste (Durello, Silva, Bogusz, 2019; Jastrombek *et al.*, 2022; Marques *et al.*, 2024).

Como já mencionado, diversos fatores podem influenciar nas características do lúpulo produzido, as quais estão diretamente relacionadas ao OE e também aos α e β -ácidos, podendo ocorrer variações conforme a região e métodos de cultivo. Variações sazonais na concentração de α e β -ácidos no lúpulo influenciam no amargor da cerveja, contudo, essas são minimizadas a partir de ajustes na quantidade de lúpulo usada no processo de produção da cerveja conforme o amargor desejável para a bebida. Entretanto, para os OEs pode haver variações na quantidade e na composição, o que dificulta possíveis ajustes e que têm impacto direto no aroma das cervejas (Van Holle *et al.*, 2021). Além disso, a partir do momento que ocorre a colheita do lúpulo, tanto os ácidos quanto os OEs podem ser reduzidos ou modificados conforme os processamentos e condições em que o lúpulo é submetido (Rutnik, Ocvirk, Košir, 2023).

Considerando o lúpulo cultivado no Brasil, ainda são encontrados poucos estudos que avaliam as características dos mesmos. Em um desses estudos foi avaliado um lúpulo da variedade cascade cultivado no Brasil, sendo determinado seu perfil químico referente aos compostos fenólicos e à composição do OE, e realizadas comparações com um lúpulo cascade produzido nos Estados Unidos. Com os resultados, foi observado que o lúpulo brasileiro apresentou perfil de compostos fenólicos semelhante ao lúpulo importado e algumas diferenças quanto à composição do OE, com concentrações mais altas de trans- β -farneseno, β -selineno e α -selineno (Almeida *et al.*, 2021). Em outro estudo, para nove variedades cultivadas no Brasil (Spalt, Saaz, Vitória, Cascade, Mantiqueira, Columbus, Brasylijsk, Canastra e Halertau Mittelfrüh), o perfil fenólico, a atividade antioxidante e os α e β -ácidos também foram avaliados a partir de extratos hidroetanólicos obtidos dos cones, os quais também foram aplicados em ensaios de atividade antifúngica e antimicrobiana. Com esse estudo, foram verificados teores dos ácidos nos extratos hidroetanólicos em conformidade com a literatura, variando entre 6% e 38% (m/m), com valores mais altos para as variedades Vitória, Columbus e Canastra que apresentaram teores totais de α e β -ácidos entre 45,62 e 60,18% (m/m). Os extratos dos lúpulos também apresentaram alta concentração de flavonoides e compostos fenólicos, além de boa capacidade antioxidante e antimicrobiana (Arruda *et al.*, 2021).

Um trabalho utilizando apenas lúpulos brasileiros foi realizado a partir de lúpulos cultivados em uma área experimental em sistemas de cultivo orgânico e convencional, avaliando a composição do OE e quantificados os α e β -ácidos. Foram estudadas cinco variedades distintas, com as quais pode-se constatar que o sistema de cultivo causou alterações nos compostos voláteis do OE, sendo observada uma maior fração de terpenos nos lúpulos cultivados no sistema orgânico, dentre os quais, o mirceno e o cariofileno. Já para os ácidos foi observada uma grande variabilidade entre as amostras, não sendo possível associar as diferenças à forma de cultivo (Fortuna *et al.*, 2023).

Flores de lúpulo das variedades Cascade, Comet, Southern Cross, Galena, Columbus, Cluster e Zeus, cultivados no Rio Grande do Norte e Ceará, foram avaliados quanto aos ácidos amargos, xanthohumol e OE. Com os resultados, comparando com *pellets* comerciais das variedades Cascade e Citra, pode-se verificar que os cultivares apresentaram uma boa adaptação as condições do Nordeste brasileiro. Considerando os fatores avaliados, foi observado um perfil semelhante a lúpulos cultivados em regiões tradicionais, indicando um grande potencial de cultivo desses lúpulos na região Nordeste (Marques *et al.*, 2024). Apesar dos resultados apresentados nesse trabalho, observa-se que não há as mesmas variedades de lúpulos comerciais para comparação, além de ser feita uma comparação entre lúpulo em flor e lúpulo em *pellet*. Essas duas formas não apresentam boa compatibilidade para comparação, uma vez que o processamento da flor para peletização pode causar perdas e oxidações nos compostos presentes no lúpulo.

Em outro trabalho, lúpulos peletizados das variedades Centennial, Chinook, Columbus e Nugget, cultivados no Brasil, foram comparados a lúpulos das mesmas variedades produzidos nos Estados Unidos. Para isso, foi avaliado um extrato preparado a partir dos lúpulos em diclorometano, o qual foi analisado por GC-MS. Os resultados demonstram diferenças na composição química conforme o local de cultivo, sendo que nos cultivados no Brasil se destacaram os compostos trans- α -bergamoteno, 2-decanona e ι -gurjuneno, enquanto nos lúpulos americanos se diferenciaram pelos compostos β -copaeno, humuladienona e isobutirato de isopentila (Dias, Gallon, Gobbo-Neto, 2024). Mesmo comparando lúpulos cultivados no Brasil e com lúpulos importados, esse trabalho utilizou uma forma não oficial para obtenção dos extratos, o que pode trazer limitações aos dados avaliados.

Lúpulos cultivado no Brasil também foram avaliados a partir do perfil volátil, buscando avaliar a influência do local de cultivo. Para isso, foram avaliadas cinco variedades, sendo elas Magnum e Hallertauer Mittelfrüher, originárias da Alemanha, Nugget e Sorachi Ace, dos Estados Unidos, e Saaz, da República Tcheca. Foram adquiridos lúpulos em *pellet*

dessas variedades cultivados no Brasil e cultivados em seu país de origem, sendo comparados quanto ao perfil volátil por HS-SPME-GC-MS. Os resultados demonstram que há variações conforme o local de cultivo, sendo identificados 330 compostos diferentes quando comparados os lúpulos cultivados no Brasil e os equivalentes nativos (Herkenhoff, Brödel, Frohme, 2024b). Esse trabalho traz a comparação entre lúpulos brasileiros e importados, entretanto, se limita ao perfil volátil, não avaliando diretamente os OEs ou os ácidos amargos.

Considerando esses estudos, nota-se o grande potencial do cultivo do lúpulo no Brasil. No entanto, como a expansão desse cultivo ainda é recente e levando em conta as variações que podem ocorrer conforme a localidade, condições climáticas e demais fatores, nota-se a necessidade de continuar as investigações a respeito das características dos lúpulos nacionais, comparando-os com os importados, que ainda predominam no mercado. Isso possibilitará entender cada vez mais as particularidades do lúpulo brasileiro, além de direcionar os produtores a possíveis modificações ou melhorias a serem feitas no cultivo e processamento. Nesse sentido, o teor de α e β -ácidos e o teor e a composição dos OEs podem ser avaliados para avaliar as características e qualidade do lúpulo.

2.4 Cromatografia gasosa para caracterização química de lúpulo e cervejas

O uso da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) e da cromatografia gasosa com detector de ionização em chamas (GC-FID) são comuns quando se deseja avaliar a composição química de OEs, lúpulos e também cervejas. A cromatografia gasosa (GC) possibilita a separação dos compostos presentes na amostra a partir de uma coluna cromatográfica, empregando uma programação de temperatura adequada. Após separados, os compostos são detectados no espectrômetro de massas (MS) ou no detector de ionização em chamas (FID) (Cvetanović Kljakić *et al.*, 2024; Herkenhoff, Brödel, Frohme, 2024a; b).

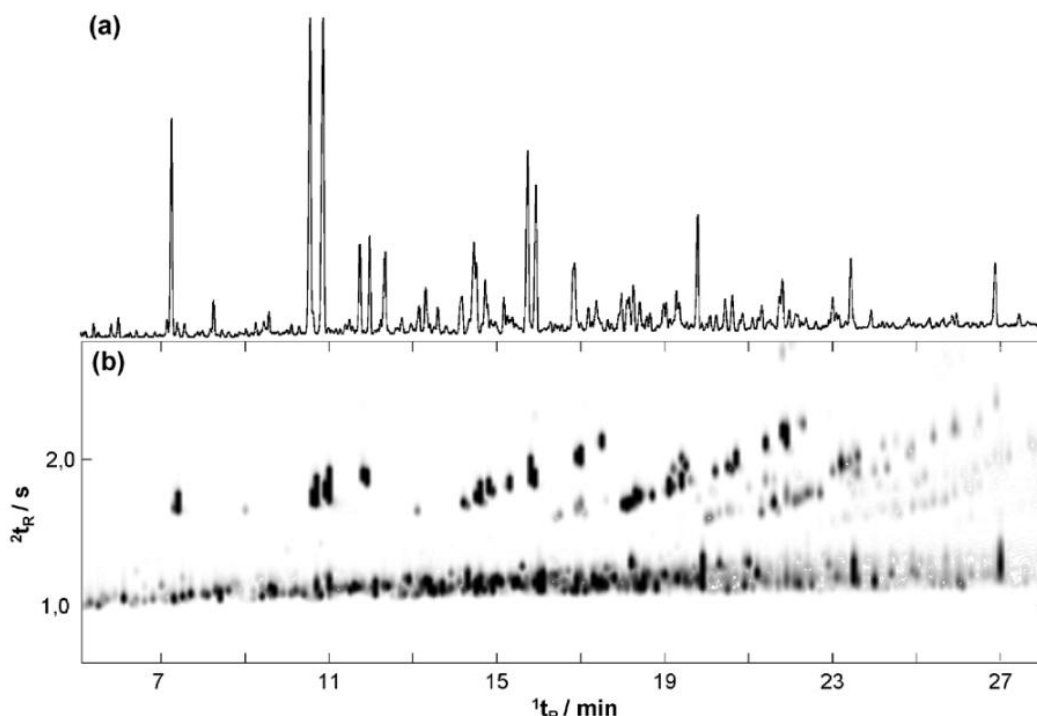
Para avaliação das propriedades químicas do lúpulo referentes as características de seu OE, inicialmente é preciso realizar a extração desse óleo. Para isso, conforme a European Brewery Convention (EBC), deve-se realizar o processo de hidrodestilação, o que ocorre a partir da imersão do lúpulo em água, em um frasco conectado a um aparelho de destilação. O processo de destilação deve ocorrer por 3 horas e, durante esse processo, o óleo é evaporado e condensado, sendo separado da amostra, podendo ser coletado e então analisado para que seja feita sua caracterização (Rutnik, Knez Hrnčič, Jože Košir, 2021).

Amostras de lúpulo e de cerveja também precisam passar por uma etapa de preparo de amostra para então serem analisados por GC-MS. Para isso, pode-se fazer o uso da técnica de microextração em fase sólida no *headspace* (HS-SPME), a qual integra a extração e injeção dos compostos voláteis de forma rápida, com uma pequena quantidade de amostra e sem o uso de solventes, sendo facilmente acoplada com as análises cromatográficas (Herkenhoff, Brödel, Frohme, 2024a; Su, Yin, 2021).

A GC convencional, emprega uma coluna (unidimensional -1D), entretanto, para análise de amostras mais complexas, buscando separar melhor os compostos para que possam ser identificados, pode-se empregar a cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC). Com a GC×GC é feita a separação dos compostos da amostra a partir de duas colunas com polaridades distintas, o que possibilita uma melhor separação e a identificação de um maior número de compostos (Omar *et al.*, 2012; Yan *et al.*, 2018).

A GC×GC consiste, basicamente, em submeter a amostra a processos de eluição sequenciais, o que permite que compostos que não foram separados em uma primeira etapa de eluição sejam separados na etapa seguinte. Isso acontece devido a existência de um modulador que conecta duas colunas sequenciais (primeira e segunda dimensão), permitindo que frações da amostra eluídas na primeira dimensão sejam reconcentradas e transferidas para a segunda dimensão. Essa transferência consiste no processo de modulação, que acontece de forma contínua e sequencial até que toda amostra seja eluída pelas duas colunas. Com isso, algumas vantagens são observadas em relação a GC unidimensional, dentre elas, o maior poder de separação, que resulta na detecção de mais compostos. Além disso, também é observada a maior seletividade e maior sensibilidade, o que se deve ao processo de compressão das frações da amostra pela modulação, resultando em picos mais estreitos e intensos, contribuindo para que detecção e identificação dos compostos. Com essas características, a GC×GC traz maiores possibilidades de se identificar diferenças importantes na composição de OEs, o que faz com que essa técnica seja cada vez mais utilizada para caracterização desse tipo de amostra. Os cromatogramas da GC×GC também se diferem daqueles da GC unidimensional, sendo os cromatogramas da GC×GC representados por diagramas de contornos; diagramas de cores, em que as cores representam a intensidade do sinal; ou diagramas tridimensionais, em que são representados em cada eixo o sinal, o tempo de retenção na primeira dimensão e o tempo de retenção na segunda dimensão. Na Figura 5 podem ser observados, para uma mesma amostra, um cromatograma obtido com a GC unidimensional e um cromatograma obtido com GC×GC representado por diagrama de cores, em escala cinza (Lebanov *et al.*, 2019; Pedroso *et al.*, 2009; Tranchida *et al.*, 2013).

Figura 5 – Cromatogramas obtidos com (a) GC e com (b) GC×GC.



Fonte: Pedroso *et al.* (2009).

Para identificação dos compostos, a MS se apresenta como uma técnica bem estabelecida, possibilitando identificações a partir da similaridade entre os espectros de massas dos picos da amostra com os espectros de massas dos compostos da biblioteca. Para confirmação das identificações realizadas por MS, podem ser utilizados os índices de retenção com programação linear de temperatura (LTPRI, do inglês *Linear Temperature Programmed Retention Indexes*) dos compostos, que são calculados tendo como referência os tempos de retenção de uma série homóloga, em geral, de n-alcenos. Essa série é injetada nas mesmas condições da amostra e, calculando os valores de LTPRI dos compostos, é feita a comparação com os índices de retenção relatados na literatura. Para GC×GC o tempo de retenção dos compostos na primeira dimensão podem ser utilizados como uma boa estimativa para cálculo do LTPRI (Von Mühlen, Marriott, 2011).

Para OEs, a quantificação dos compostos identificados através da MS pode ser feita através de análises por 1D-GC ou GC×GC com o detector FID. O funcionamento do FID se fundamenta na queima dos compostos eluídos por uma chama de hidrogênio, gerando íons, que são coletados por um eletrodo resultando num sinal elétrico, o qual é proporcional ao número de carbonos do composto. A presença de alguns grupos funcionais nas moléculas, como de álcoois ou ácidos carboxílicos, pode gerar pequenas variações no sinal. Apesar disso,

a resposta desse detector apresenta alta estabilidade, não tendo grandes variações ao longo do tempo, além de ter boa sensibilidade, com limites de detecção na ordem de picogramas a nanogramas, o que possibilita seu uso para quantificação (Lubes, Goodarzi, 2017; Tissot *et al.*, 2012). Utilizando o detector FID pode-se realizar a quantificação relativa dos compostos do OE, sendo esse o método padrão conforme a American Society of Brewing Chemists (ASBC) e a EBC. Para os principais compostos do OE do lúpulo essa técnica garante bons resultados, independente das possíveis variações de resposta do FID (Rettberg, Biendl, Garbe, 2018).

Assim, com a MS e o FID atuando como detectores para GC-1D ou GC×GC, podem ser obtidas informações qualitativas e quantitativas a respeito de amostras de OEs, o que permite caracterizá-las e entender melhor o perfil de cada um (Sgorbini *et al.*, 2015). Apesar disso, as análises cromatográficas resultam em uma grande quantidade de dados, o que torna a interpretação visual dos resultados complexa e passível de erros, não explorando todos os detalhes contidos nos resultados. Sendo assim, a aplicação de ferramentas quimiométricas tem sido uma valiosa alternativa para avaliar diferentes amostras, categorizando e discriminando-as conforme as variáveis que as compõem, além de possibilitar a identificação das variáveis responsáveis pelas relações estabelecidas (Dong *et al.*, 2023; Rasheed *et al.*, 2021).

2.5 Quimiometria

Para amostras que apresentam uma composição com certa complexidade, o uso da quimiometria possibilita explorar amplamente os resultados instrumentais, fornecendo informações químicas relevantes a partir dessa análise de dados. Essas ferramentas têm sido cada vez mais aplicadas no estudo dos OEs, lúpulos e cervejas a partir dos resultados de diferentes técnicas instrumentais, dentre as quais, técnicas cromatográficas combinadas com a espectrometria de massas. Com isso, extrair e interpretar informações a partir de um conjunto variado de dados se torna mais fácil, possibilitando que vários parâmetros sejam avaliados simultaneamente (De Lima *et al.*, 2022; Do *et al.*, 2015).

Dentre as ferramentas quimiométricas, há técnicas não supervisionadas de reconhecimento de padrões, como a análise de componentes principais (PCA) e a análise de agrupamento hierárquico (HCA). Com esse tipo de técnica, é possível avaliar dados multivariados de amostras sobre as quais não se tem conhecimento prévio de suas classificações, possibilitando o agrupamento das amostras e a identificação da formação de classes entre elas (Bansal *et al.*, 2014; Rendall *et al.*, 2015).

A PCA se fundamenta em reduzir a dimensão dos dados a partir de componentes principais (PCs) que se correlacionam às variáveis originais das amostras buscando manter uma variância máxima do conjunto de dados original. Assim, a aplicação da PCA resulta em PCs que são ordenadas de forma crescente conforme a variância que detém do conjunto de dados original. Com isso, diferentes amostras são agrupadas conforme as PCs, sendo possível estabelecer relações entre as amostras, além de interpretar as variáveis responsáveis por tais relações (Bansal *et al.*, 2014).

A HCA busca o agrupamento sucessivo das amostras conforme suas semelhanças. Assim, são formados pequenos agrupamentos entre amostras semelhantes, os quais agrupam outras amostras, formando grupos maiores de forma sucessiva até que englobe todas as amostras. Dessa forma, grupos menores tendem a apresentar maior semelhança e, à medida que vai ocorrendo outros agrupamentos, as semelhanças entre as amostras vão diminuindo. Esses agrupamentos são representados a partir de um dendograma, que é um diagrama bidimensional, com as amostras agrupadas em uma estrutura hierárquica conforme suas similaridades (Rendall *et al.*, 2015).

Existem ainda métodos de análise supervisionados, os quais consideram as classes em que cada amostra pertence para encontrar um padrão nos dados informados. Dentre esses métodos está a análise discriminante de mínimos quadrados parciais (PLS-DA), técnica que combina a regressão parcial dos mínimos quadrados com a capacidade de discriminar amostras. Na PLS-DA as variáveis que constituem cada amostra são modeladas em variáveis latentes (LVs), as quais representam os dados originais a partir de uma combinação linear. Com as LVs torna-se possível a visualizar graficamente as amostras, relacionando os padrões gráficos com as LVs e os dados originais (Ballabio, Consonni, 2013; Kalogiouri *et al.*, 2020).

Antes da aplicação dos modelos quimiométricos aos dados, o uso de ferramentas de pré-processamento pode ser necessário, buscando com isso reduzir fontes indesejadas de variações, melhorar a qualidade dos dados e os tornar comparáveis para diferentes amostras. Para dados cromatográficos e de espectrometria de massas, a aplicação dos modelos quimiométricos pode ocorrer, por exemplo, a partir dos cromatogramas completos, representados a partir de um vetor onde cada posição representa um ponto do cromatograma e o valor dessa posição a intensidade naquele ponto. Outra possibilidade seria utilizar a área de pico de compostos que foram identificados. Quando se usa as áreas dos picos, o auto-escalamento é um método de pré-processamento dos dados que pode ser utilizado. Esse método visa conferir pesos iguais a todas as variáveis que compõe a amostra, possibilitando que compostos majoritários e minoritários tenham pesos equivalentes no ajuste do modelo.

Além desse, diversos outros processamentos podem ser realizados buscando a melhor qualidade dos sinais para obter uma análise quimiométrica que seja mais compatível a realidade das amostras (Pilon *et al.*, 2020).

Para lúpulos, alguns trabalhos aplicaram a quimiometria à dados de GC-MS. Dentre eles, foi relatado o uso de GC-MS para determinar o perfil de compostos voláteis de cones de lúpulos secos, de diferentes variedades, cultivados na Nova Zelândia, sendo a PCA e a PLS-DA aplicadas aos dados buscando diferenciar as amostras. Com isso, foram identificados 61 compostos responsáveis pelas diferenciações observadas, dentre eles β -felandreno, limoneno, 2-metilbutirato de geranila e propanoato de nerila. Essas informações seriam utilizadas para auxiliar programas de melhoramento do lúpulo no país (Purdy *et al.*, 2021).

OEs obtidos por hidrodestilação de cones de lúpulos secos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa de tempo de voo (GC-TOFMS). Foram identificados de 37 a 54 compostos em cada amostra e a PCA foi aplicada para agrupá-las, sendo possível diferenciar lúpulos comerciais de lúpulos cultivados em áreas experimentais da Austrália. Com os resultados, observou-se que variedades comerciais apresentam maior concentração de monoterpenos que os experimentais, enquanto os experimentais apresentam níveis mais elevados de sesquiterpenos, como muuroleno, selineno e guaíeno (Yan *et al.*, 2019).

Amostras de lúpulo de cinco variedades distintas cultivados na Eslovênia foram coletadas entre 2002 e 2006, o OE obtido desses lúpulos por hidrodestilação foram analisados por GC-FID e por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), enquanto os α e β -ácidos foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Os parâmetros obtidos pelas análises foram combinados e avaliados separadamente a partir das análises quimiométricas, que incluíram a PCA, sendo possível a diferenciação das variedades (Ocvirk, Grdadolnik, Košir, 2016).

Considerando também a distinção entre variedades de lúpulos a partir da composição de seus OEs, análises por GC-FID foram realizadas para 78 OEs de lúpulos de cinco variedades. A partir das análises, alguns picos foram selecionados e suas áreas relativas obtidas para aplicação da quimiometria. Com a PCA pôde-se observar a separação das amostras em cinco grupos bem definidos correspondentes as cinco variedades avaliadas (Kovačević, Kač, 2002).

Para amostras de cervejas os métodos quimiométricos também são aplicados, dentre suas aplicações, foi empregada a PCA em dados obtidos a partir de análises por microextração em fase sólida no *headspace* e GC-MS (HS-SPME-GC-MS) de amostras de cerveja buscando

discriminá-las conforme a composição volátil. Assim, foram identificados os compostos voláteis responsáveis por diferenciar as amostras, sendo os principais o caproato de etila, caprilato de etila e álcool feniletílico (Gao *et al.*, 2024).

2.6 Análises sensoriais de cervejas

Além das características químicas relacionadas ao lúpulo, considerando sua importância para o sabor, aroma e amargor das cervejas, sua utilização na produção dessas bebidas deve estar associada a atributos sensoriais específicos (Van Simaey *et al.*, 2022). Além disso, pode-se estabelecer uma relação direta entre as características sensoriais e o perfil químico desses lúpulos, uma vez que, essas características são resultado da interação dos compostos presentes no lúpulo entre si ou com outros componentes da cerveja. Isso faz com que determinados atributos sensoriais sejam suprimidos ou intensificados conforme a composição do lúpulo, o que se deve, principalmente, à composição do seu OE (Dietz *et al.*, 2021).

Os compostos voláteis, provenientes do OE do lúpulo, do malte e da fermentação, resultam no aroma da bebida, gerando uma impressão ortonasal. Já os compostos que se encontram solúveis na cerveja contribuem para a percepção gustativa, que pode ser doce, azeda, amarga, dentre outras. A combinação das percepções gustativa e olfativa, proveniente do aroma, resultam na impressão de sabor, avaliada pela análise sensorial (Müller, Gastl, Becker, 2021).

Para a realização das análises sensoriais diversos métodos estão disponíveis, devendo ser escolhido aquele que fornece as informações desejadas pelo investigador (Dietz *et al.*, 2020). Os testes descritivos, por exemplo, possibilitam determinar e descrever aspectos qualitativos e quantitativos da percepção humana a partir do consumo de um produto. Isso pode permitir a obtenção do perfil sensorial de cervejas e a correlação desses resultados com outros parâmetros (Varela; Ares, 2012).

As percepções sensoriais podem ser avaliadas também a partir do método *check-all-that-apply* (CATA), no qual são fornecidos alguns atributos aos avaliadores (como amargor, aroma floral, sabor doce, cítrico, picante, entre outros) e eles devem selecionar quais deles podem ser percebidos na amostra avaliada. Esse método foi aplicado para avaliar cervejas preparadas com algumas ervas como substituintes do lúpulo, sendo elas sálvia, dente-de-leão e urtiga. Com isso, foi possível identificar especificidades sobre a preferência dos

consumidores, como a preferência por sabores cítricos e doces, além de possibilitar verificar diferenças entre a preferência de homens e mulheres (Hayward, Wedel, Mcsweeney, 2019).

A simplicidade do CATA é uma grande vantagem, entretanto, é também uma das limitações do método, uma vez que não permite avaliar a intensidade de cada atributo, apenas a presença ou ausência dos mesmos. Nesse sentido, uma variação desse método é o *rate-all-that-apply* (RATA), o qual permite aos avaliadores indicar a intensidade de cada atributo que julgarem presentes na amostra, fornecendo uma descrição mais detalhada, o que aumenta a probabilidade de identificar diferenças entre amostras (Ares *et al.*, 2014).

Os atributos a serem avaliados nos métodos CATA e RATA podem ser listados pelos próprios avaliadores a partir do método de *free listing*. Nesse método, os consumidores são solicitados a listar todos os termos que associam ao produto avaliado, possibilitando identificar quais são os atributos mais relevantes para eles. O *free listing* apresenta a vantagem de ser simples e aplicável para consumidores não treinados, permitindo identificar atributos de forma mais eficaz e ampla, os quais, posteriormente, podem ser avaliados de outras formas, como no RATA ou CATA (Yoon *et al.*, 2023).

Outra forma de análise seria a partir de escalas hedônicas, o que permite avaliar a aceitação dos consumidores. Nesse caso, o teste é classificado como afetivo e busca quantificar o quanto os consumidores gostam ou não de um determinado produto, tendo melhores resultados quando os participantes do teste são consumidores regulares do produto avaliado (Zanetta *et al.*, 2021).

Para análises sensoriais de cervejas, foi observado um trabalho em que consumidores brasileiros avaliaram cervejas produzidas com lúpulo cultivado no Brasil e lúpulo importado. Diferenças entre as bebidas foram relatadas quanto a secura e adstringência, ao amargor e na refrescância. E quanto a avaliação hedônica, os provadores atribuíram maiores pontuações às cervejas produzidas com lúpulo cultivado no Brasil, demonstrando que a origem do lúpulo causou alterações nas percepções sensoriais da cerveja (Cassago *et al.*, 2023).

Amostras de cerveja *lager* enriquecidas com diferentes frações do OE do lúpulo Magnum também foram avaliadas sensorialmente utilizando o método CATA, escalas de intensidade e análises descritivas. Com isso, pode-se relacionar as características conferidas às cervejas com os componentes dos extratos de OE utilizado. Foi observado, por exemplo, que extratos com os compostos β -cariofileno, α -humuleno e epóxidos de humuleno I e III estavam relacionados a cervejas avaliadas como mais amargas. Enquanto extratos com maiores concentrações de geraniol resultaram em cervejas com amargor suave e mais doces. Estabelecendo relações entre as características sensoriais das cervejas e a composição química

dos extratos utilizados, buscaram estabelecer relações entre o perfil sensorial dos compostos individuais e da interação entre eles nas cervejas (Dietz *et al.*, 2021).

Considerando o impacto sensorial do lúpulo na cerveja, e a relação entre essas características sensoriais e o perfil químico do lúpulo utilizado, nota-se a possibilidade de aplicação de análises sensoriais para cervejas, combinadas com análises químicas de perfil volátil. Com isso, tem-se a possibilidade de avaliar e explicar o impacto sensorial conforme as características e modificações químicas, principalmente relacionadas ao lúpulo.

REFERÊNCIAS

- ALMAGUER, C.; SCHÖNBERGER, C.; GASTL, M.; ARENDT, E. K. *et al.* Humulus lupulus – a story that begs to be told. A review. **Journal of the Institute of Brewing**, 120, n. 4, p. 289-314, 2014.
- ALMEIDA, A. R.; MACIEL, M. V. D. O. B.; CARDOSO GASPARINI GANDOLPHO, B.; MACHADO, M. H. *et al.* Brazilian Grown Cascade Hop (*Humulus lupulus* L.): LC-ESI-MS-MS and GC-MS Analysis of Chemical Composition and Antioxidant Activity of Extracts and Essential Oils. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 79, n. 2, p. 156-166, 2021.
- ANDERSON, H. E.; SANTOS, I. C.; HILDENBRAND, Z. L.; SCHUG, K. A. A review of the analytical methods used for beer ingredient and finished product analysis and quality control. **Analytica Chimica Acta**, 1085, p. 1-20, 2019.
- ARES, G.; DAUBER, C.; FERNÁNDEZ, E.; GIMÉNEZ, A. *et al.* Penalty analysis based on CATA questions to identify drivers of liking and directions for product reformulation. **Food Quality and Preference**, 32, p. 65-76, 2014.
- ARRUDA, T. R.; PINHEIRO, P. F.; SILVA, P. I.; BERNARDES, P. C. 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**, 141, p. 110905, 2021.
- BALLABIO, D.; CONSONNI, V. Classification tools in chemistry. Part 1: linear models. PLS-DA. **Analytical Methods**, 5, n. 16, p. 3790-3798, 2013.
- BAMFORTH, C. W. Progress in Brewing Science and Beer Production. **Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering**, 8, n. 1, p. 161-176, 2017.
- BANSAL, A.; CHHABRA, V.; RAWAL, R. K.; SHARMA, S. Chemometrics: A new scenario in herbal drug standardization. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, 4, n. 4, p. 223-233, 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. Anuário da Cerveja 2024: ano de referência 2023/Ministério da Agricultura e Pecuária. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: MAPA/SDA, 2024.

CARVALHO, N. B.; MINIM, L. A.; NASCIMENTO, M.; FERREIRA, G. H. D. C. *et al.* Characterization of the consumer market and motivations for the consumption of craft beer. **British Food Journal**, 120, n. 2, p. 378-391, 2018.

CASSAGO, A. L. L.; ARTÊNCIO, M. M.; CONTIN, D. R.; DE SOUZA, B. C. *et al.* The impact of hop origin information on the sensory and hedonic evaluation of highly involved consumers of craft beer. **International Journal of Wine Business Research**, 2023.

CASTRO, R.; DÍAZ, A. B.; DURÁN-GUERRERO, E.; LASANTA, C. Influence of different fermentation conditions on the analytical and sensory properties of craft beers: Hopping, fermentation temperature and yeast strain. **Journal of Food Composition and Analysis**, 106, p. 104278, 2022.

CEOLA, D.; HUELSMANN, R. D.; DA-COL, J. A.; MARTENDAL, E. Headspace-solid phase microextraction and GC-MS followed by multivariate data analysis to study the effect of hop processing type and dry hopping time on the aromatic profile of top-fermented beers. **SEPARATION SCIENCE PLUS**, 2, n. 7, p. 245-252, 2019.

CHEN, X.; WANG, M. Y.; DENG, C. H.; BEATSON, R. A. *et al.* The hops (*Humulus lupulus*) genome contains a mid-sized terpene synthase family that shows wide functional and allelic diversity. **BMC Plant Biology**, 23, n. 1, p. 280, 2023.

CVETANOVIĆ KLJAKIĆ, A.; OCVIRK, M.; RUTNIK, K.; KOŠIR, I. J. *et al.* Exploring the composition and potential uses of four hops varieties through different extraction techniques. **Food Chemistry**, 447, p. 138910, 2024.

DE LIMA, A. C.; ACEÑA, L.; MESTRES, M.; BOQUÉ, R. An Overview of the Application of Multivariate Analysis to the Evaluation of Beer Sensory Quality and Shelf-Life Stability. **Foods**, v.11, n. 14, 2022.

DIAS, G. S.; GALLON, M. E.; GOBBO-NETO, L. Comparative analysis of four hop cultivars grown in Brazil and the USA by GC-MS-based metabolomics. **Journal of the Institute of Brewing**, 130, n. 4, 2024.

DIETZ, C.; COOK, D.; WILSON, C.; MARRIOTT, R. *et al.* Sensory properties of supercritical CO₂ fractions extracted from Magnum hop essential oil. **Journal of the Institute of Brewing**, 126, n. 3, p. 263-279, 2020.

DIETZ, C.; COOK, D.; WILSON, C.; OLIVEIRA, P. *et al.* Exploring the multisensory perception of terpene alcohol and sesquiterpene rich hop extracts in lager style beer. **Food Research International**, 148, p. 110598, 2021.

DO, T. K. T.; HADJI-MINAGLOU, F.; ANTONIOTTI, S.; FERNANDEZ, X. Authenticity of essential oils. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 66, p. 146-157, 2015.

DONG, R.; SUN, J.; CUI, P.; SHI, J. *et al.* Quantitative and classification analysis of red wine by infrared spectra and gas chromatography–mass spectrometry data coupling with a new variable selection method. **Journal of Food Composition and Analysis**, 120, p. 105325, 2023.

DUARTE, P. F.; DO NASCIMENTO, L. H.; BANDIERA, V. J.; FISCHER, B. *et al.* Exploring the versatility of hop essential oil (*Humulus lupulus* L.): Bridging brewing traditions with modern industry applications. **Industrial Crops and Products**, 218, p. 118974, 2024.

DURELLO, R. S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ, S. Química do lúpulo. **Química Nova**, 42, p. 900-919, 2019.

FANGEL, J. U.; EIKEN, J.; SIERKSMA, A.; SCHOLS, H. A. *et al.* Tracking polysaccharides through the brewing process. **Carbohydrate Polymers**, 196, p. 465-473, 2018.

FORTUNA, G. C.; GOMES, J. A. D. O.; CAMPOS, O. P.; NEVES, C. S. *et al.* Agronomic performance of *Humulus lupulus* L. varieties cultivated in organic and conventional systems in São Paulo center-west, Brazil. **Ciência Rural**, 53, 2023.

FORTUNA, G. C.; NEVES, C. S.; CAMPOS, O. P.; GOMES, J. A. *et al.* Hop Tropicalization: Chemical Compositions of Varieties Grown under Organic and Conventional Systems in Subtropical Conditions. **Horticulturae**, v.9, n. 8, 2023.

GAO, Y.-F.; LI, X.-Y.; WANG, Q.-L.; LI, Z.-H. *et al.* Discrimination and quantification of volatile compounds in beer by FTIR combined with machine learning approaches. **Food Chemistry**, 22, p. 101300, 2024.

GOMES, F. O.; GUIMARÃES, B. P.; CEOLA, D.; GHESTI, G. F. Advances in dry hopping for industrial brewing: a review. **Food Science and Technology (Brazil)**, 42, 2022.

GONZÁLEZ-SALITRE, L.; GUILLERMO GONZÁLEZ-OLIVARES, L.; ANTOBELLI BASILIO-CORTES, U. *Humulus lupulus* L. a potential precursor to human health: High hops craft beer. **Food Chemistry**, 405, p. 134959, 2023.

GRESTA, F.; CALVI, A.; SANTONOCETO, C.; STRANO, T. *et al.* Agronomic traits and essential oil profiles of *Humulus lupulus* L. cultivated in southern Italy. **Journal of Essential Oil Research**, 35, n. 1, p. 60-70, 2023.

HASLBECK, K.; MINKENBERG, D.; COELHAN, M. Investigations into the Transfer Rate of Volatile Compounds in Dry Hopping Using an Octanol-Water Partition Coefficient Model. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 76, n. 3, p. 169-177, 2018.

HAUSER, D. G.; LAFONTAINE, S. R.; SHELLHAMMER, T. H. Extraction Efficiency of Dry-Hopping. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 77, n. 3, p. 188-198, 2019.

HAYWARD, L.; WEDEL, A.; MCSWEENEY, M. B. Acceptability of beer produced with dandelion, nettle, and sage. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, 18, p. 100180, 2019.

HERKENHOFF, M. E.; BRÖDEL, O.; FROHME, M. Aroma component analysis by HS-SPME/GC–MS to characterize Lager, Ale, and sour beer styles. **Food Research International**, 194, p. 114763, 2024a.

HERKENHOFF, M. E.; BRÖDEL, O.; FROHME, M. Hops across Continents: Exploring How Terroir Transforms the Aromatic Profiles of Five Hop (*Humulus lupulus*) Varieties Grown in Their Countries of Origin and in Brazil. **Plants**, 13, n. 19, p. 2675, 2024b.

JARDIM, C. C.; DE SOUZA, D.; CRISTINA KASPER MACHADO, I.; MASSOCHIN NUNES PINTO, L. *et al.* Sensory Profile, Consumer Preference and Chemical Composition of Craft Beers from Brazil. **Beverages**, 4, n. 4, p. 106, 2018.

JASTROMBEK, J. M.; FAGUERAZZI, M. M.; DE CÁSSIO PIEREZAN, H.; RUFATO, L. *et al.* Hop: An Emerging Crop in Subtropical Areas in Brazil. **Horticulturae**, v.8, n. 5, 2022.

JIANG, L.; SONG, J.; QI, M.; CAO, Y. *et al.* Carbon and nitrogen sources consumption by ale and lager yeast strains: a comparative study during fermentation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 107, n. 22, p. 6937-6947, 2023.

KALOGIOURI, N. P.; AALIZADEH, R.; DASENAKI, M. E.; THOMAIDIS, N. S. Application of High Resolution Mass Spectrometric methods coupled with chemometric techniques in olive oil authenticity studies - A review. **Analytica Chimica Acta**, 1134, p. 150-173, 2020.

KEMP, O.; HOFMANN, S.; BRAUMANN, I.; JENSEN, S. *et al.* Changes in key hop-derived compounds and their impact on perceived dry-hop flavour in beers after storage at cold and ambient temperature. **Journal of the Institute of Brewing**, 127, n. 4, p. 367-384, 2021.

KIRIN. **Global Beer Consumption by Country in 2023**. 2024. Disponível em: https://www.kirinholdings.com/en/newsroom/release/2024/1219_01.html. Acesso em: 19/03/2025.

KLIMCZAK, K.; CIOCH-SKONECZNY, M.; DUDA-CHODAK, A. Effects of Dry-Hopping on Beer Chemistry and Sensory Properties—A Review. **Molecules**, v.28, n. 18, 2023.

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

KUMAR, A.; WARBURTON, A.; SILCOCK, P.; BREMER, P. J. *et al.* Yeast Strain Influences the Hop-Derived Sensory Properties and Volatile Composition of Beer. **Foods**, v.12, n. 5, 2023.

LAFONTAINE, S. R.; SHELLHAMMER, T. H. Impact of static dry-hopping rate on the sensory and analytical profiles of beer. **Journal of the Institute of Brewing**, 124, n. 4, p. 434-442, 2018.

LAFONTAINE, S.; THOMSON, D.; SCHUBERT, C.; MÜLLER, I. *et al.* How deviations in the elemental profile of *Humulus lupulus* grown throughout the U.S. and Germany influence hop and beer quality. **Food Chemistry**, 395, p. 133543, 2022.

- LAMBERTI, L.; BOFFA, L.; GRILLO, G.; CONCARI, S. *et al.* Industrial Multiple-Effect Fractional Condensation under Vacuum for the Recovery of Hop Terpene Fractions in Water. **Foods**, v.12, n. 8, 2023.
- LEBANOV, L.; TEDONE, L.; KAYKHAI, M.; LINFORD, M. R. *et al.* Multidimensional Gas Chromatography in Essential Oil Analysis. Part 2: Application to Characterisation and Identification. **Chromatographia**, 82, n. 1, p. 399-414, 2019.
- LUBES, G.; GOODARZI, M. Analysis of Volatile Compounds by Advanced Analytical Techniques and Multivariate Chemometrics. *Chemical Reviews*, 117, n. 9, p. 6399-6422, 2017.
- MARQUES, S. P. D.; TREVISAN, M. T. S.; OWEN, R. W.; SILVA, A. M. A. *et al.* Avaliação quantitativa de ácidos amargos, xanthohumol e óleos essenciais presentes em flores de diferentes cultivares de *Humulus lupulus* L. produzidas na região nordeste do Brasil. **Química Nova**, 47, 2024.
- MARTINS, C.; BRANDÃO, T.; ALMEIDA, A.; ROCHA, S. M. Unveiling the lager beer volatile terpenic compounds. **Food Research International**, 114, p. 199-207, 2018.
- MIKYŠKA, A.; DUŠEK, M.; SLABÝ, M. Effects of the mashing process on polyphenols and antiradical activity of beer. **European Food Research and Technology**, 249, n. 1, p. 71-80, 2023.
- MIKYŠKA, A.; JURKOVÁ, M.; HORÁK, T.; SLABÝ, M. Study of the influence of hop polyphenols on the sensory stability of lager beer. **European Food Research and Technology**, 248, n. 2, p. 533-542, 2022.
- MIKYŠKA, A.; SLABÝ, M.; ŠTĚRBA, K.; VRZAL, T. Static or dynamic dry-hopping of beer: a comparison of analytical and sensory beer profiles. **European Food Research and Technology**, 2023.
- MONACCI, E.; BARIS, F.; BIANCHI, A.; VEZZULLI, F. *et al.* Influence of the drying process of Cascade hop and the dry-hopping technique on the chemical, aromatic and sensory quality of the beer. **Food Chemistry**, 460, p. 140594, 2024.
- MOURA-NUNES, N.; BRITO, T. C.; FONSECA, N. D. D.; DE AGUIAR, P. F. *et al.* Phenolic compounds of Brazilian beers from different types and styles and application of chemometrics for modeling antioxidant capacity. **Food Chemistry**, 199, p. 105-113, 2016.
- MÜLLER, M.; GASTL, M.; BECKER, T. Key constituents, flavour profiles and specific sensory evaluation of wheat style non-alcoholic beers depending on their production method. **Journal of the Institute of Brewing**, 127, n. 3, p. 262-272, 2021.
- MUTZ, Y. S.; ROSARIO, D. D.; SILVA, L. R. G.; SANTOS, F. D. *et al.* Portable electronic tongue based on screen-printed electrodes coupled with chemometrics for rapid differentiation of Brazilian lager beer. **Food Control**, 127, p. 108163, 2021.

OCVIRK, M.; GRDADOLNIK, J.; KOŠIR, I. J. Determination of the botanical origin of hops (*Humulus lupulus* L.) using different analytical techniques in combination with statistical methods. **Journal of the Institute of Brewing**, 122, n. 3, p. 452-461, 2016.

OMAR, J.; ALONSO, I.; OLIVARES, M.; VALLEJO, A. *et al.* Optimization of comprehensive two-dimensional gas-chromatography (GC×GC) mass spectrometry for the determination of essential oils. **Talanta**, 88, p. 145-151, 2012.

OMS, O. M. D. S. Global status report on alcohol and health 2018: executive summary. World Health Organization **WHO**. 2018.

OPSTAELE, F.; DE ROUCK, G.; JANSSENS, P.; MONTANDON, G. An exploratory study on the impact of the yeast strain on hop flavour expressions in heavily hopped beers: New England IPA. *BrewingScience*, 73, p. 26, 2020.

PEARSON, B. J.; SMITH, R. M.; CHEN, J. Growth, Strobile Yield, and Quality of Four *Humulus lupulus* Varieties Cultivated in a Protected Open-sided Greenhouse Structure. *HortScience*, 51, n. 7, p. 838-842, 2016.

PEDROSO, M. P.; GODOY, L. A. F. D.; FIDÉLIS, C. H. D. V.; FERREIRA, E. C. *et al.* Cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC × GC). **Química Nova**, 32, p. 422-430, 2009.

PILON, A. C.; SELEGATO, D. M.; FERNANDES, R. P.; BUENO, P. C. P. *et al.* Metabolômica de plantas: métodos e desafios. **Química Nova**, 43, 2020.

PURDY, V.; KEBEDE, B.; BEATSON, R.; TEMPLETON, K. *et al.* Differences in New Zealand Hop Cultivars Based on Their Unique Volatile Compounds: An Integrated Fingerprinting and Chemometrics Approach. **Foods**, v.10, n. 2, 2021.

RASHEED, D. M.; SERAG, A.; ABDEL SHAKOUR, Z. T.; FARAG, M. Novel trends and applications of multidimensional chromatography in the analysis of food, cosmetics and medicine bearing essential oils. **Talanta**, 223, p. 121710, 2021.

RENDALL, R.; REIS, M. S.; PEREIRA, A. C.; PESTANA, C. *et al.* Chemometric analysis of the volatile fraction evolution of Portuguese beer under shelf storage conditions. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, 142, p. 131-142, 2015.

RETTBERG, N.; BIENDL, M.; GARBE, L. A. Hop Aroma and Hoppy Beer Flavor: Chemical Backgrounds and Analytical Tools—A Review. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 76, n. 1, p. 1-20, 2018.

RUTNIK, K.; KNEZ HRNČIČ, M.; JOŽE KOŠIR, I. Hop Essential Oil: Chemical Composition, Extraction, Analysis, and Applications. **Food Reviews International**, p. 1-23, 2021.

RUTNIK, K.; OCVIRK, M.; KOŠIR, I. J. Changes in Hop (*Humulus lupulus* L.) Oil Content and Composition during Long-Term Storage under Different Conditions. **Foods**, v.11, n. 19, 2022a.

RUTNIK, K.; OCVIRK, M.; KOŠIR, I. J. Impact of Hop Freshness on Dry Hopped Beer Quality. **Foods**, v.11, n. 9, 2022b.

RUTNIK, K.; OCVIRK, M.; KOŠIR, I. J. The Stability of Hop (*Humulus lupulus* L.) Resins during Long-Period Storage. **Plants**, v.12, n. 4, 2023.

SALAMON, R. V.; DABIJA, A.; FERENCZ, Á.; TANKÓ, G. *et al.* The Effect of Dry Hopping Efficiency on β -Myrcene Dissolution into Beer. **Plants**, v.11, n. 8, 2022.

SANZ, V.; TORRES, M. D.; LÓPEZ VILARIÑO, J. M.; DOMÍNGUEZ, H. What is new on the hop extraction? **Trends in Food Science & Technology**, 93, p. 12-22, 2019.

SCHABO, D. C.; FREIRE, L.; SANT'ANA, A. S.; SCHAFFNER, D. W. *et al.* Mycotoxins in artisanal beers: An overview of relevant aspects of the raw material, manufacturing steps and regulatory issues involved. **Food Research International**, 141, p. 110114, 2021.

SGORBINI, B.; CAGLIERO, C.; BOGGIA, L.; LIBERTO, E. *et al.* Parallel dual secondary-column-dual detection comprehensive two-dimensional gas chromatography: a flexible and reliable analytical tool for essential oils quantitative profiling. **Flavour and Fragrance Journal**, 30, n. 5, p. 366-380, 2015.

SILVA, K. F.; STRIEDER, M. M.; PINTO, M. B.; ROSTAGNO, M. A. *et al.* Processing Strategies for Extraction and Concentration of Bitter Acids and Polyphenols from Brewing By-Products: A Comprehensive Review. **Processes**, v.11, n. 3, 2023.

SREČEC, S.; REZIĆ, T.; ŠANTEK, B.; MARIĆ, V. Influence of Hops Pellets Age on α -acids Utilization and Organoleptic Quality of Beer. **Agriculturae Conspectus Scientificus**. 73: 103 p. 2008.

SU, X.; YIN, Y. Aroma characterization of regional Cascade and Chinook hops (*Humulus lupulus* L.). **Food Chemistry**, 364, p. 130410, 2021.

TISSOT, E.; ROCHAT, S.; DEBONNEVILLE, C.; CHAINTREAU, A. Rapid GC-FID quantification technique without authentic samples using predicted response factors. **Flavour and Fragrance Journal**, 27, n. 4, p. 290-296, 2012.

TITUS, B. M.; LERNO, L. A.; BEAVER, J. W.; BYRNES, N. K. *et al.* Impact of Dry Hopping on Beer Flavor Stability. **Foods**, 10, n. 6, 2021.

TRANCHIDA, P. Q.; ZOCCALI, M.; BONACCORSI, I.; DUGO, P. *et al.* The off-line combination of high performance liquid chromatography and comprehensive two-dimensional gas chromatography–mass spectrometry: A powerful approach for highly detailed essential oil analysis. **Journal of Chromatography A**, 1305, p. 276-284, 2013.

VAN HOLLE, A.; MUYLLE, H.; HAESAERT, G.; NAUDTS, D. *et al.* Relevance of hop terroir for beer flavour. **Journal of the Institute of Brewing**, 127, n. 3, p. 238-247, 2021.

VAN OPSTAELE, F.; DE CAUSMAECKER, B.; AERTS, G.; DE COOMAN, L. Characterization of Novel Varietal Floral Hop Aromas by Headspace Solid Phase

Microextraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry/Olfactometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 60, n. 50, p. 12270-12281, 2012.

VAN SIMAEYS, K. R.; FÉCHIR, M.; GALLAGHER, A.; STOKHOLM, A. *et al.* Examining Chemical and Sensory Differences of New American Aroma Hops Grown in the Willamette Valley, Oregon. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 80, n. 4, p. 370-378, 2022.

VARELA, P.; ARES, G. Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization. **Food Research International**, 48, n. 2, p. 893-908, 2012.

VILLACRECES, S.; BLANCO, C. A.; CABALLERO, I. Developments and characteristics of craft beer production processes. **Food Bioscience**, 45, p. 101495, 2022.

VON MÜHLEN, C.; MARRIOTT, P. J. Retention indices in comprehensive two-dimensional gas chromatography. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 401, n. 8, p. 2351-2360, 2011.

WANG, X.; SUN, S.; XU, H.; LIU, J. *et al.* Study on the Composition of Hop Terpenes and Terpenoids by Steam Distillation and Effects on Beer Flavor by an Ale Yeast. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 81, n. 3, p. 448-465, 2023.

YAN, D.; WONG, Y. F.; SHELLIE, R. A.; MARRIOTT, P. J. *et al.* Assessment of the phytochemical profiles of novel hop (*Humulus lupulus* L.) cultivars: A potential route to beer crafting. **Food Chemistry**, 275, p. 15-23, 2019.

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

YOON, G.; KWAK, H. S.; HEO, J.; LEE, Y. Comparison of conventional and consumer-based sensory profiling methods for ready-to-drink coffee beverages. **Journal of Sensory Studies**, 38, n. 4, p. e12839, 2023.

ZANETTA, L. D. A.; UMEBARA, M. T. C.; COSTA, J. P.; TAKEDA, D. K. *et al.* Hedonic, emotional and willingness-to-pay response to beers of a different type in Brazil. **British Food Journal**, 123, n. 1, p. 87-107, 2021.

SEGUNDA PARTE - Artigos

Artigo 1 – Comparative Assessment of the Chemical Composition of Locally Cultivated and Imported Hops in Brazil using Chemometrics

Submetido à ACS Food Science and Technology

Letícia Fagundes Pereira^a, Stanislau Bogusz Júnior^b, Leandro Wang Hantao^c, Gabriela Aguiar Campolina^d, Amanda Francine Minetto^b, Andre Luis Carvalho Souza^b, Lucas Barboza de Mori^b, Maria das Graças Cardoso^a, Cleiton Antônio Nunes^d, Marcio Pozzobon Pedroso^{a*}

^aDepartamento de Química, Insituto de Ciências Naturais, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil

^bInstituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil

^cInstituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil

^dDepartamento de Ciências dos Alimentos, Escola de Ciências Agrárias de Lavras, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil

*Corresponding author.

E-mail:

marciopedroso@ufla.br

ABSTRACT

The appreciation for beers with intense hop flavor and aroma has been increasing, leading to a higher demand for hops and spurring the expansion of hop cultivation to non-traditional regions, including Brazil. Despite this, there are still few studies on the chemical quality of Brazilian hops. This study aims to compare three varieties of Brazilian hops with those from two major foreign brands. Key factors for comparison included essential oil content and composition, as well as α -acids and β -acids. Two-dimensional gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC $\times$ GC-MS) analysis revealed that the essential oil composition of Brazilian hops was generally similar to that of imported hops within the same variety, although with lower essential oil content. Similarities between the same variety were also observed for α -acids and β -acids. Hierarchical Cluster Analysis (HCA) and heat maps showed that Brazilian hops shared comparable characteristics with imported ones, clustering the samples by variety. This suggests that Brazilian hops have equivalence with imported hops. Partial Least Squares-Discriminant Analysis (PLS-DA) identified higher concentrations of myrcene and β -pinene in imported hops, whereas Brazilian hops had higher levels of methyl (Z)-4-decenoate, α -selinene, β -selinene, selina-3,7(11)-diene, and β -cadinene, indicating specific characteristics of Brazilian hops that could benefit the brewing industry.

Keywords: Brazilian hops; *Humulus lupulus*; essential oil; GC $\times$ GC; PLS-DA.

1 INTRODUCTION

Hops, responsible for imparting bitterness, flavor, and characteristic aroma to beer, have gained increased prominence in recent years, driven by changes in consumer preferences and the growing appreciation for beverages with differentiated sensory attributes (Tirado-Kulieva et al., 2023). In this context, hops have come to be used in much larger quantities than in traditional brewing methods, aiming to produce beers with more intense flavors and aromas. This increase in usage, along with the adoption of irrigation methods, genetic improvements, and the development of more efficient pesticides and fertilizers, has contributed to the global expansion of hop cultivation (Kubeš, 2021; Lafontaine et al., 2022; Legun et al., 2022).

Hops are originally cultivated in temperate regions, with the United States and Germany being the largest producers, accounting for approximately 77% of global production. As cultivation has expanded, hop-growing regions have spread to various parts of the world, including Australia, New Zealand, South Africa, and Brazil. In Brazil, the rising number of breweries has led to increased hop consumption. Furthermore, as one of the world's largest beer producers, the country must import a significant quantity of hops. Brazilian hop imports amounted to approximately 57 million USD in 2020. Therefore, the high demand for beer and the desire to reduce production costs have encouraged domestic hop cultivation (Jastrombek et al., 2022; Karabin et al., 2015).

The first hop harvests in Brazil date back to 2017, and the crop has been expanding nationwide. In 2023, hop cultivation areas increased by 113% compared to 2022, totaling approximately 112 hectares, with a focus on the southern and southeastern regions (Fortuna et al., 2023; Ruggeri et al., 2024). This new scenario demands studies that evaluate everything from the genetic conditions of hop seedlings to the characteristics of hops used in brewing.

The quality and characteristics of hops can be influenced by several factors. Among the most relevant are the degree of ripeness at harvest, processing and pelletization methods, moisture control, and storage conditions. Additionally, chemical properties such as the content and composition of essential oils, as well as levels of α -acids and β -acids, are highly relevant to the aroma and bitterness attributes (Rubottom et al., 2021). These characteristics are directly related to hop quality and the attributes they confer to beer, with an intrinsic relationship between chemical composition and sensory properties. Thus, the use of techniques to determine chemical characteristics is a valuable parameter for evaluating hop

quality, highlighting the importance of understanding their chemical composition (Durello et al., 2019; Lafontaine et al., 2019; Nasiatka et al., 2023).

Resins make up about 10 to 30% of hop dry matter and contain α - and β -acids that contribute to beer bitterness (Duarte et al., 2022; Kobus-Cisowska et al., 2019). On the other hand, essential oil imparts the characteristic hop aroma and flavor to beer and is composed mainly of hydrocarbons (50 to 80%) and oxygenated compounds (up to 30%) (Almaguer et al., 2014; Astray et al., 2020; Rutnik et al., 2021).

Considering the importance of hop chemical composition, hop quality can be comparatively assessed. The quality of Cascade hops grown in Sardinia was evaluated in comparison with hops cultivated in the United States and New Zealand. The levels of α - and β -acids and essential oil composition were assessed, and compatible proportions of these acids and oil compounds were found across the different samples (Forteschi et al., 2019). Hops from different varieties cultivated organically and conventionally in Brazil were also compared in terms of essential oil composition and α - and β -acid levels. Minor chemical composition variations were observed among the different varieties and within the same variety across the two cultivation methods (Fortuna et al., 2023). The essential oil composition of Cascade hops cultivated in Brazil was compared with samples of the same variety grown in the United States. The essential oils of the Brazilian samples showed lower levels of myrcene, humulene, and caryophyllene, and higher levels of trans- β -farnesene, β -selinene, and α -selinene than those from the U.S. samples (Almeida et al., 2021). Additionally, the adaptation of some hop varieties to the northeastern region of Brazil has been evaluated. When comparing bitter acids, xanthohumol, and essential oils from hop flowers to commercial hop pellets, a similar profile was observed among samples from different growing locations, despite being in different hop forms (Marques et al., 2024). Comparisons between hops grown in Brazil and imported varieties have also been conducted using extracts obtained with dichloromethane (Dias, Gallon, Gobbo-Neto, 2024) and through the volatile profile of the samples (Herkenhoff; Brödel; Frohme, 2024b). In both cases, differences were observed between Brazilian and imported samples, with compounds identified as being distinct among hops grown in different regions.

These findings demonstrate that hops of the same variety may exhibit different chemical characteristics depending on the cultivation region, resulting in site-specific properties and generating a regional identity (Fécher et al., 2022). However, considering the expansion of hop cultivation in Brazil, there are still few studies involving Brazilian hops and the evaluation of their chemical characteristics. Furthermore, there is a lack of studies

assessing bitter acids and essential oils obtained through official methods, and comparing different hop varieties cultivated and marketed in Brazil with the same imported varieties, which are currently the most commonly used in beer production. Therefore, this study investigates the chemical characteristics of three hop varieties (Cascade, Comet, and Sorachi Ace) produced and marketed in Brazil, comparing them with imported hops of the same varieties.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Samples

Samples of pelletized hops from the Comet, Cascade, and Sorachi Ace varieties, harvested between 2021 and 2022, were acquired. At the time this study was conducted, hop cultivation in Brazil was still in an early stage, and few producers pelletized and commercialized their hops. Therefore, aiming to compare the same varieties in the form most commonly used in beer production, the pellets, the study was limited to two Brazilian brands for each variety. Thus, for each variety, two samples of hops grown in Brazil and two samples of imported hops were obtained, totaling twelve samples. The hops grown in Brazil were purchased directly from producers and were cultivated in the state of São Paulo (SP), specifically in the cities of Fartura, Taguaí, and Juquiá. The imported samples were from the brands BarthHaas (Nürnberg, Germany) and Yakima Chief (Yakima, USA), and were purchased from beer product websites. All samples were shipped by carriers in light-impermeable packaging, either vacuum-sealed or in a modified atmosphere. Upon reception, the samples were stored under refrigeration until analysis, which was conducted immediately after opening the packages. The details of all hops acquired, according to origin and variety, are shown in Table 1.

Table 1 Description of hops samples.

Variety	Brand	Abbreviation	Origin	Harvest
Cascade	B1	cB1	Juquiá (SP, Brazil)	2021
	B3	cB3	Taguaí (SP, Brazil)	2022
	I1	cI1	United States	2022
	I2	cI2	United States	2021
Comet	B1	cmB1	Juquiá (SP, Brazil)	2022
	B2	cmB2	Fartura (SP, Brazil)	2022
	I1	cmI1	Germany	2021
	I2	cmI2	United States	2021
Sorachi Ace	B2	sB2	Fartura (SP, Brazil)	2022
	B3	sB3	Taguaí (SP, Brazil)	2022
	I1	sI1	Japan	2021
	I2	sI2	United States	2021

2.2 Determination of moisture, α - and β -acids content

The moisture content, α - and β -acid contents were determined for each sample. Hop samples were analyzed in duplicate according to the official methods of the American Society of Brewing Chemists. To determine the moisture content, the Hop 4 method was used, and for α - and β -acid contents, the Hop 6 method was used (ASBC, 2024).

2.3 Obtaining and quantifying essential oils

The essential oils were obtained by steam distillation as described in ASBC Hops 13 (ASBC, 2024). The hydrolate obtained was centrifuged (Fanem Baby I Model 260 BL, São Paulo, Brazil) at 965g for 15 minutes, and the essential oil was removed with the aid of a Pasteur micropipette and packed with magnesium sulfate in an amber vial sealed atmosphere of $N_{2(g)}$, which was stored under refrigeration until analysis.

The hop weight used in the hydrodistillation process was corrected according to the moisture content, and the calculation of the essential oil content of each sample was performed considering the volume of essential oil extracted.

2.4 GC×GC–MS and GC×GC–FID analyses

To perform chromatographic analyses, essential oil samples were diluted to obtain 5% (v/v) solutions in hexane and were analyzed in triplicate. A GC×GC system was a TRACE 1300 chromatograph equipped with an FID and a transmission quadrupole mass spectrometer

(QMS) (Thermo Fisher Scientific – Waltham, MA, USA). Samples were introduced using the TriPlus RSH autosampler, into which 1 μL of sample was injected. The injector was operated at 250°C with a split ratio of 1:10. The oven temperature program started at 60°C, which was maintained for 3 min, and then the temperature was increased at 3°C min⁻¹ to 210°C. Helium was used as the carrier gas at a constant flow rate of 0.5 mL min⁻¹. The auxiliary gas was maintained at 20 mL min⁻¹. Flow modulation was performed using an INSIGHT modulator (SepSolve Analytical – Waterloo, Canada). The modulation period was 5 seconds. The columns used in the first and second dimensions were Rxi-5 ms of 30 m $\times$ 0.25 mm (0.25 μm) and Rxi-17 ms of 5 m $\times$ 0.25 mm (0.25 μm) columns, respectively. Further analytical details are provided in our previous papers (Dias et al., 2023; Facanali et al., 2020). The FID temperature was 250°C. For the mass spectrometer, the transfer line and ion source temperatures were 260 and 250°C, respectively. Electron ionization (EI) was used to acquire the mass spectra in the m/z range of 50 to 350.

For data acquisition, Xcalibur software (Thermo Fisher Scientific – Waltham, MA, USA) was used, and the data were processed with GC Image software (GCI, TX, USA), allowing for the integration of the chromatographic peaks to obtain the peak areas. To identify the essential oil compounds, the mass spectra of each compound were compared with those contained in the NIST database, with a minimum similarity of 80% between the spectra required for compound identification. Furthermore, by injecting a homologous series of *n*-alkanes from C₈ to C₂₀, the linear retention indices (LTPRI) of the compounds were calculated using the van den Dool and Kratz equation (van Den Dool & Kratz, 1963). The calculated LTPRI were then compared with those reported in the literature (NIST and Adams), with tolerated deviations of up to ± 10 between the theoretical and experimental values (Adams, 2007).

2.5 Data analysis

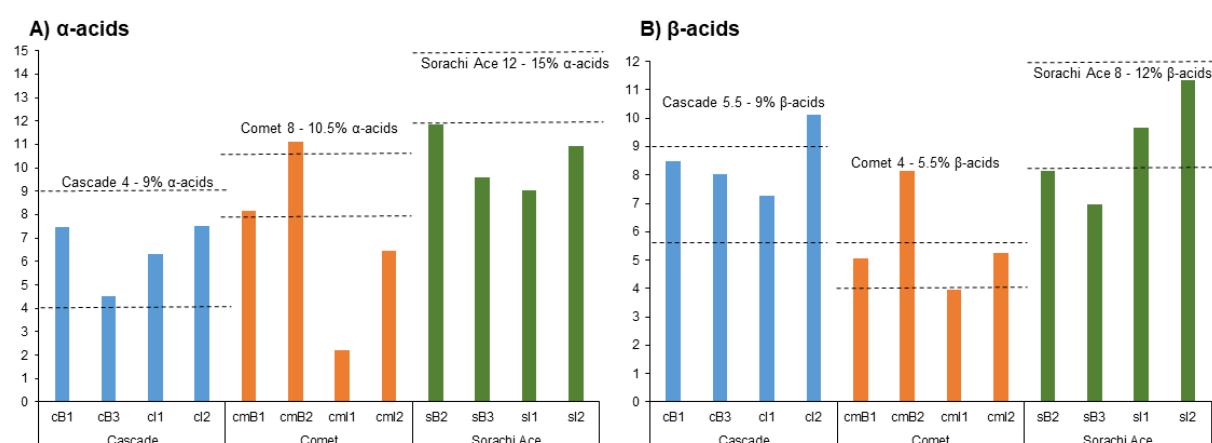
The composition of essential oils and the content of α and β acids were evaluated using analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test. The analysis was performed using the Python programming environment in Google Colab, utilizing libraries such as *scipy.stats* and *statsmodels*. For each compound, when a significant difference was detected by ANOVA ($p < 0.05$), the means were compared using Tukey's test, and the results were represented by distinct letters. The results for the compounds identified in the essential oils are presented in Table S1 in the supplemental material.

For chemometric analyses, the absolute areas obtained by GC×GC–FID for the identified compounds, the α - and β -acid contents, and the essential oil contents of the samples were used. The data were then organized into a matrix with 36 rows (12 triplicate samples) and 24 columns (areas of the 21 selected peaks and other chemical results). Based on the data, MetaboAnalyst 6.0 (MetaboAnalyst 6.0, 2024) was used to perform Hierarchical Cluster Analysis (HCA) with a heat map and Partial Least Squares-Discriminant Analysis (PLS-DA). For this, the data underwent a preprocessing stage in which they were autoscaled so that all variables had equal weights and contributed equally to the model fit. To evaluate the predictive capacity and robustness of the PLS-DA model, cross-validation was performed using the Leave-One-Out Cross-Validation (LOOCV) method. For the first five latent variables, the accuracy, R^2 and Q^2 were obtained, with Q^2 being used to estimate the predictive capacity of the model based on cross-validation.

3 Results and discussion

Hop pellets were analyzed in triplicate, and the mean α - and β -acid contents are presented in Figure 1, along with the reference values reported by commercial brands of imported hops. The data were also subjected to statistical tests, and the results are shown in Table S1.

Figure 1 α -acids e β -acids of hop samples.



Based on the results presented in Figure 1, all Cascade variety samples showed experimental α - and β -acid values within the reference range, which represents a medium range over the last 4 years and can vary widely depending on the crop year (BarthHaas, 2024;

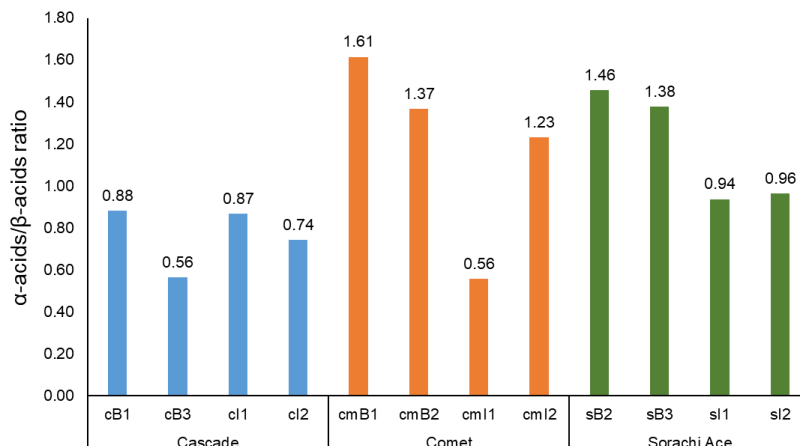
Yakima Chief Hops, 2024). For Comet hops, the Brazilian samples had α - and β -acid values above the minimum, while imported samples cmI1 and cmI2 had α -acid values below the reference, with cmI1 also showing lower β -acid values. In the Sorachi Ace variety, all samples presented α -acid values below the reference, and the Brazilian sample sB3 also showed reduced β -acid values. To better evaluate these results, statistical tests were applied, according to the results of Table S1. When applying ANOVA to the Cascade hops data, a significant difference was observed in the α -acid and β -acid contents. This may be related to variations between harvests, considering that all of them present values above the reference values of international brands. Tukey's test revealed that sample cB3 differed significantly from the others about α -acid content. For β -acids, samples cI1 and cI2 differed from each other but were equivalent to the other samples. In Comet hops, significant differences were observed for both α -acids and β -acids, and Tukey's test indicated that all samples differed from each other, except cmB1 and cmI2, which did not present significant differences in β -acid content. For the Sorachi Ace variety, no significant differences were observed between the samples in α -acid content. However, for β -acids, a significant difference was observed between the imported sample sI2 and the two Brazilian samples, which can be explained by the higher content of these acids in the sI2 sample.

Based on these results and the reference values, despite the significant statistical differences observed, no clear trends were identified that distinguish Brazilian hops from imported ones. Brazilian Cascade and Comet hops showed α - and β -acid values within the expected ranges according to the reference. For Sorachi Ace, although the Brazilian samples did not meet the reference values, they still presented higher α -acid levels than the imported samples. Therefore, based on these parameters, hops grown in Brazil meet the standards expected for commercialization, since they are compatible with imported hops.

To evaluate the bitterness characteristics that hops are expected to impart to beer, the ratio between α -acids and β -acids in the samples was also analyzed, as shown in Figure 2. Regarding the values, ratios close to 1 are typical of aroma hops, whereas higher ratios are characteristic of bittering hops (Rutnik, Ocvirk, Košir, 2023). Among the varieties analyzed, Cascade exhibited the lowest α -acid/ β -acid ratios, indicating less pronounced bitterness characteristics compared to the other two. In contrast, the Comet and Sorachi Ace varieties showed α -acid/ β -acid ratios close to or greater than 1. For the Brazilian samples of these two varieties, this ratio was higher than that of their imported counterparts, which may suggest more intense bitterness characteristics. Samples cB3 and cmI1 showed the lowest ratio (0.56) among all those analyzed. These samples also had the lowest α -acid contents, which

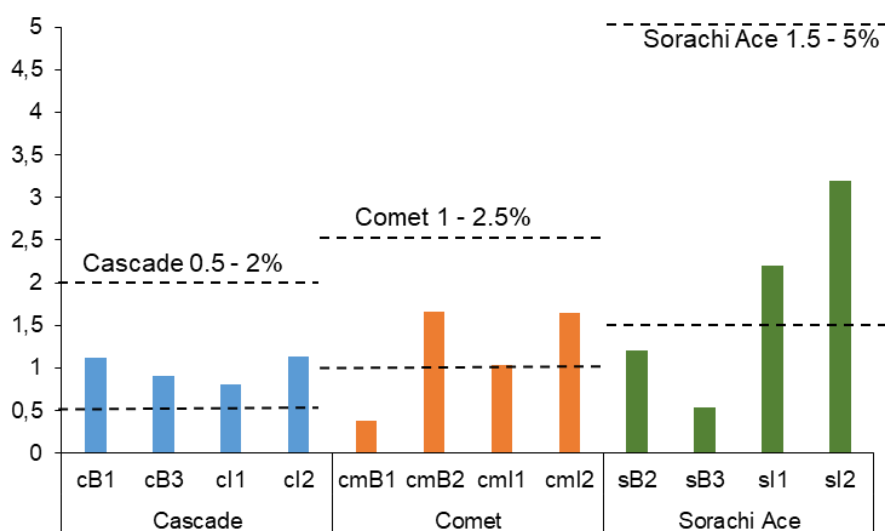
contributes to the lower ratio and may be associated with processing and storage conditions that favored the oxidation of these acids.

Figure 2 Ratio between α -acids and β -acids.



In addition to α - and β -acids, essential oils are another parameter of great importance for hop quality, and their composition should be evaluated. Thus, the results of the essential oils of hops are displayed in Figure 3, as well as the reference values for each variety reported by imported brands. The data were also subjected to ANOVA and Tukey's test and the results are presented in Table S2.

Figure 3 Essential oil content of hop samples.



When comparing the obtained levels of essential oils with those expected according to the range reported by reference brands (Yakima Chief Hops, 2024), Brazilian hops Comet cmB1, Sorachi Ace sB2 and sB3 presented values below expectations, while imported hops presented levels compatible. The I1 brand packaging specified that the yields considered the

average of the last harvests, and variations may occur. Lower essential oil contents in Brazilian hops could be due harvest variation, but this information was not available to the consumer. In addition, lower values can be also associated with factors related to the processing steps of Brazilian hops. After harvesting, several factors contribute to the reduction of the amount of essential oil in hops, such as the drying and pelletizing processes and storage conditions, especially when there is no control of temperature, since high temperatures contribute to the volatilization and loss of essential oil (Lafontaine et al., 2019; Rutnik et al., 2021).

Finally, when comparing the essential oil content for each variety, it can be observed that the Brazilian Cascade hops presented levels equivalent to their imported counterparts and to values reported in the literature (Almeida et al., 2021; Forteschi et al., 2019; Gonçalves et al., 2012). When applying ANOVA and the Tukey test (Table S2), it is noted that the two Brazilian samples are equivalent to the imported sample cI2, while the imported sample cI1, which presented a lower essential oil content, differs significantly from the samples cI2 and cB1. For the Comet variety, only the B2 brand was comparable to the imported samples, presenting essential oil content equivalent to that of the imported sample cmI2. For Sorachi Ace, none of the Brazilian samples matched the essential oil content of the imported ones and all samples presented essential oil contents that differed significantly from each other. Given that Brazilian hops had α -acid levels compatible with the imported varieties but some exhibited lower essential oil content, it was essential to evaluate the composition of these oils to determine if the chemical profile of Brazilian hops was comparable to that of imported hops. Additionally, it was important to investigate whether there was a trend toward the production of specific compounds that might differentiate Brazilian hops from imported ones.

To evaluate the composition of essential oils, a GC–MS is typically applied. However, the possibility of coelution of various isomers in essential oils emphasizes the need for greater separation capacity, which can be achieved with GC $\times$ GC. Therefore, analyses of the essential oils were performed in triplicate using two-dimensional chromatography and representative GC $\times$ GC–MS chromatograms comparing Comet cmB1 sample grown in Brazil and Comet cmI1 imported sample, with the name of the main compounds identified in each sample, are shown in Figure S1 (Supplementary material). A summary of all identified compounds and their average relative areas is provided in Table 2 (mean values and standard deviations detailed in Table S3 - Supplementary material).

Regarding the Comet hop variety, the four main compounds were myrcene, caryophyllene, α -selinene and β -selinene, which accounted for between 66 and 83% of the

composition of these oils (highlighted in Table 2). For the Brazilian Comet samples, cmB1 and cmB2, the fifth most abundant compound was (Z)- β -ocimene (4.19 and 1.83%, respectively). For the imported samples, the fifth most abundant compound was α -humulene for sample cmI1 (4.96%), and β -Cadinene for sample cmI2 (1.69%). For these compounds, similarities were observed between samples cmB2 and cmI2, which exhibited statistically equal values for myrcene, (Z)- β -ocimene and α -humulene. For the cmB1 sample, myrcene was the second most abundant compound, presenting a lower amount when compared to the other samples, for which this compound was the most abundant. In addition, this was the hop with the lowest yield, which possibly may be directly related to its processing and storage conditions, as these conditions can contribute both to the loss of essential oil and to changes in its composition (Rutnik et al., 2022). Hydrocarbons are the main compounds with reduced concentrations in the essential oil, either by volatilization or oxidation. Among the hydrocarbons are monoterpenes, such as myrcene, which, in addition to being very volatile, can easily oxidize into more than 40 different compounds, including perylene, linalool and geraniol (Dietz et al., 2020; Rutnik et al., 2021). However, in the Comet cmB1 sample, no high concentrations of oxygenated compounds were found, which suggests that the low essential oil yield and low myrcene content arise from the loss of the most volatile compounds of the essential oil due to high temperatures in the process. Notably, when performing the analyses of the cmB1 sample, it was found that its pellets were less uniform, with a less intense green color than the other hops.

The Cascade variety is referred to as the “myrcene hop”, as myrcene constitutes 40-70% of the essential oil composition of this hop variety (Forteschi et al., 2019). Both Brazilian and imported hops exhibited similar myrcene contents, varying between 44.43% and 51.82%. Additionally, the four hop brands displayed myrcene, humulene, β -farnesene, and caryophyllene as the main compounds (highlighted in Table 2), collectively representing more than 80% of their essential oil compositions. For samples cB1, cI1 and cI2 the fifth most abundant compound was α -Selinene, while for sample cB3 it was 2-methylbutyl 2-methylpropanoate. Similarities can also be observed between the samples, with compatible levels of some compounds. This similarity was confirmed for samples cB3 and cI1, which presented statistically equal values for myrcene and humulene. Furthermore, equivalent levels were also noted between Brazilian and imported samples for δ -Cadinene, β -Pinene, β -Selinene, Selina-3,7(11)-diene, Linalool, and β -Cadinene. These results indicate that the observed similarities and differences in the main compounds of these essential oils were not

related to the origin of the hops, and that the Brazilian Cascade variety had a chemical composition similar to that of the imported hops.

The essential oils of the Sorachi Ace variety showed myrcene as the main compound, followed by α -humulene and caryophyllene in both Brazilian and imported hops. When β -farnesene and α -selinene, which were also present in all samples, were included, the sum of these compounds (highlighted in Table 2) accounted for 71-88% of the essential oil. These similarities between Brazilian and imported hops of the Sorachi Ace variety are notable. Based on ANOVA and Tukey's test, it was observed that, for some compounds, Brazilian hops had equivalent levels to imported hops, such as for caryophyllene, γ -cadinene, and 2-methylbutyl 2-methylpropanoate. Thus, considering all the evaluated essential oils, except for the Comet cmB1 sample, which had a low myrcene content, Brazilian hops demonstrated a chemical composition similar to imported hops, both in terms of compound composition and concentration of major compounds present.

Table 2 Compounds identified their average relative areas (N = 3) for essential oils from Brazilian and imported hops.

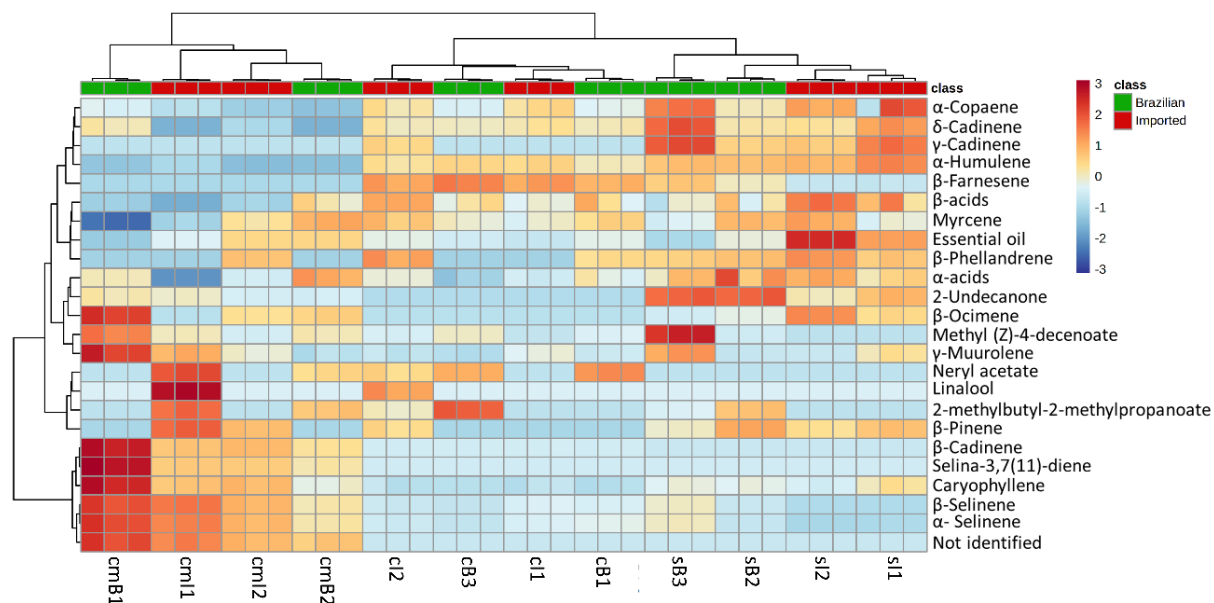
	Compound	CAS-number	Lit. RI*	Exp. RI**	cB1	cB3	cI1	cI2	cmB1	cmB2	cmI1	cmI2	sB2	sB3	sI1	sI2
1	Myrcene	123-35-3	991	985	50.62	44.58	44.43	51.86	19.44	58.90	34.64	52.34	50.60	36.80	43.48	55.58
2	α -Humulene	6753-98-6	1452	1457	14.37	18.10	18.47	15.72	2.19	1.27	4.96	1.01	19.19	18.72	26.80	21.29
3	Caryophyllene	87-44-5	1419	1421	7.54	7.69	8.15	7.66	23.64	11.15	14.75	16.06	9.37	9.31	12.25	8.92
4	δ -Cadinene	483-76-1	1522	1516	1.14	1.08	1.26	1.11	1.24	0.31	0.69	0.50	1.10	2.04	1.86	1.22
5	(E)- β -Farnesene	18794-84-8	1454	1449	8.18	10.43	9.34	8.65	0.00	1.27	0.00	1.01	4.21	6.33	1.65	1.66
6	(Z)- β -Ocimene	3338-55-4	1038	1038	0.40	0.23	0.12	0.15	4.19	1.83	0.63	1.61	0.77	0.40	1.63	2.73
7	γ -Muurolene	30021-74-0	1478	1472	0.89	0.74	1.10	0.81	2.44	0.77	1.71	1.22	0.78	1.57	1.29	0.84
8	γ -Cadinene	39029-41-9	1513	1508	0.64	0.60	0.78	0.61	0.56	0.15	0.38	0.25	0.61	1.16	1.13	0.69
9	2-Undecanone	112-12-9	1293	1275	0.14	0.26	0.20	0.17	0.54	0.24	0.45	0.26	1.14	1.10	0.83	0.47
10	α -Selinene	473-13-2	1498	1495	3.08	1.57	2.61	1.94	12.18	4.82	9.45	7.67	1.52	3.68	0.72	0.46
11	β -Pinene	127-91-3	974	972	0.59	0.53	0.59	0.46	0.23	0.77	0.92	0.65	0.62	0.32	0.59	0.44
12	β -Phellandrene	555-10-2	1025	1022	0.48	0.39	0.51	0.66	0.29	0.60	0.41	0.62	0.53	0.46	0.56	0.69
13	α -Copaene	3856-25-5	1374	1377	0.24	0.22	0.35	0.31	0.24	0.08	0.16	0.11	0.27	0.48	0.58	0.44
14	β -Selinene	17066-67-0	1489	1484	1.81	0.97	1.40	1.20	10.98	3.95	8.97	6.87	1.12	2.96	0.38	0.23
15	2-methylbutyl 2-methylpropanoate	2445-69-4	1002	1002	0.91	1.81	1.11	0.57	0.07	1.10	1.78	0.48	0.98	0.28	0.24	0.15
16	Methyl (Z)-4-decenoate	7367-83-1	1289	1291	0.31	0.58	0.06	0.24	1.89	0.80	0.67	0.25	0.17	2.24	0.00	0.00
17	Selina-3,7(11)-diene	6813-21-4	1545	1542	0.18	0.35	0.20	0.17	4.09	0.94	1.49	1.52	0.25	0.22	0.00	0.00
18	Linalool	78-70-6	1095	1084	0.59	0.40	0.53	0.59	0.36	0.62	1.18	0.57	0.51	0.93	0.39	0.30
19	β -Cadinene	523-47-7	1529	1532	0.13	0.13	0.15	0.13	3.73	1.01	1.48	1.69	0.36	0.41	0.20	0.12
20	Neryl acetate	141-12-8	1359	1361	1.69	1.45	0.00	1.01	0.19	1.07	2.29	0.14	0.16	0.08	0.00	0.00
21	Unidentified	-	-	1639	0.38	0.75	0.61	0.61	1.46	0.73	1.10	0.87	0.39	0.61	0.15	0.00
sum of % peak areas					94.28	92.86	91.97	94.64	89.95	92.38	88.11	95.70	94.65	90.13	94.74	96.23

In bold the major compounds of each hop variety. * Literature retention index; ** Experimental retention index.

In addition to the main compounds identified for each variety, other compounds were present in lower concentrations, showing variations both between samples of the same variety and across different varieties. Thiols, which significantly influence flavor and are associated with characteristic aromas of blackcurrant, passion fruit, and grapefruit, have been reported at levels of $\mu\text{g kg}^{-1}$ in Cascade and Comet hops (BarthHaas, 2024). Their detection via GC typically requires specific detectors or alternative sample preparation methods to hydrodistillation (Liu et al., 2024). Consequently, none of the analyzed hop samples revealed the presence of thiols. In total, 21 compounds were identified across all hop essential oil samples. Through ANOVA and Tukey's test, it was observed that there is no clear trend of differentiation between Brazilian and imported samples, as some compounds show no significant differences between these samples, while others display significant differences even among imported samples.

To gain a deeper understanding of these differences, an exploratory data analysis was conducted using HCA and heat map construction. This analysis aimed to identify clusters among the samples. The HCA shown in Figure 4 reveals clustering based on hop variety, without distinctions related to sample origin. Additionally, it was possible to identify the most prominent variables for each variety, with a consistent pattern observed in samples of the same variety, regardless of their origin. Another notable finding is the clustering of both imported and Brazilian samples, observed in the I2 and B2 brand samples of the Comet variety, as well as in the I1 and B1 brand samples of the Cascade variety. For the Sorachi Ace variety, it is observed that the sB2 sample is grouped with the imported samples sI1 and sI2, indicating a greater similarity between their characteristics than the sB3 sample. Similarly, for the Comet variety, the B2 brand sample also grouped with the imported ones, which may be evidence of the greater proximity of the samples of this brand with the imported hops. It is also possible to observe the clustering between the Sorachi Ace and Cascade samples, suggesting similarities between these two varieties. Both have an aroma profile in which the sweet fruity and citrus characteristics stand out, which should contribute to this clustering (BarthHaas, 2024).

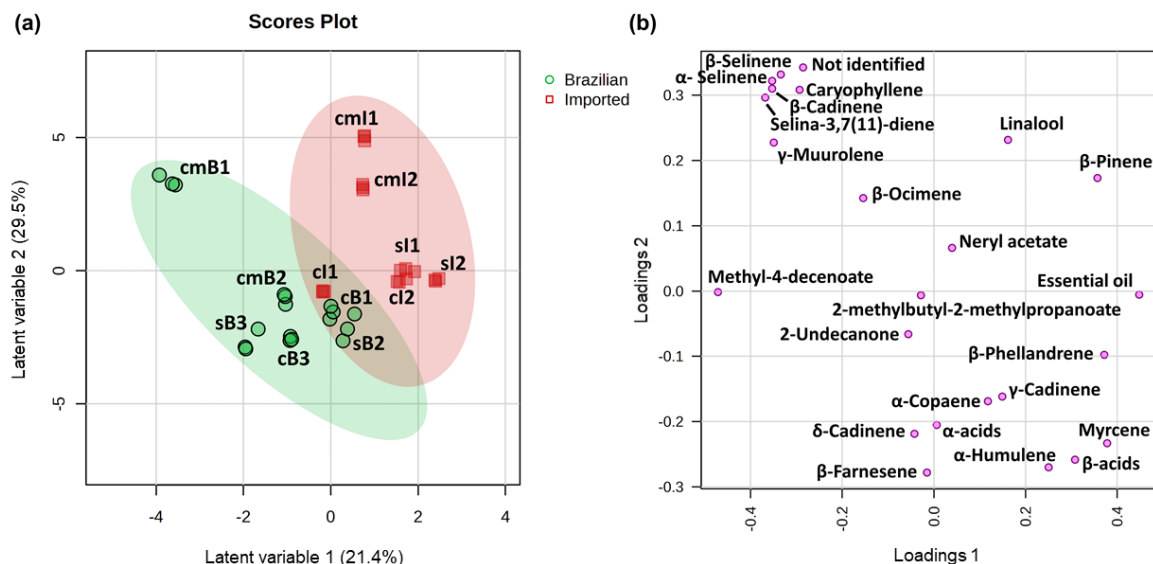
Figure 4 Heat map of the triplicate of hop essential oil of cascade (c), comet (cm) and sorachi ace (s) samples, and HCA of samples and compounds.



The clustering of samples using HCA and the similar color patterns in the heat map indicates that, in general, Brazilian-produced hops are comparable to imported hops. Although a limited number of samples and hop varieties were analyzed, and further studies are necessary in this area, these findings suggest that Brazil has the potential to produce hops main compounds similar to those of the major international producers.

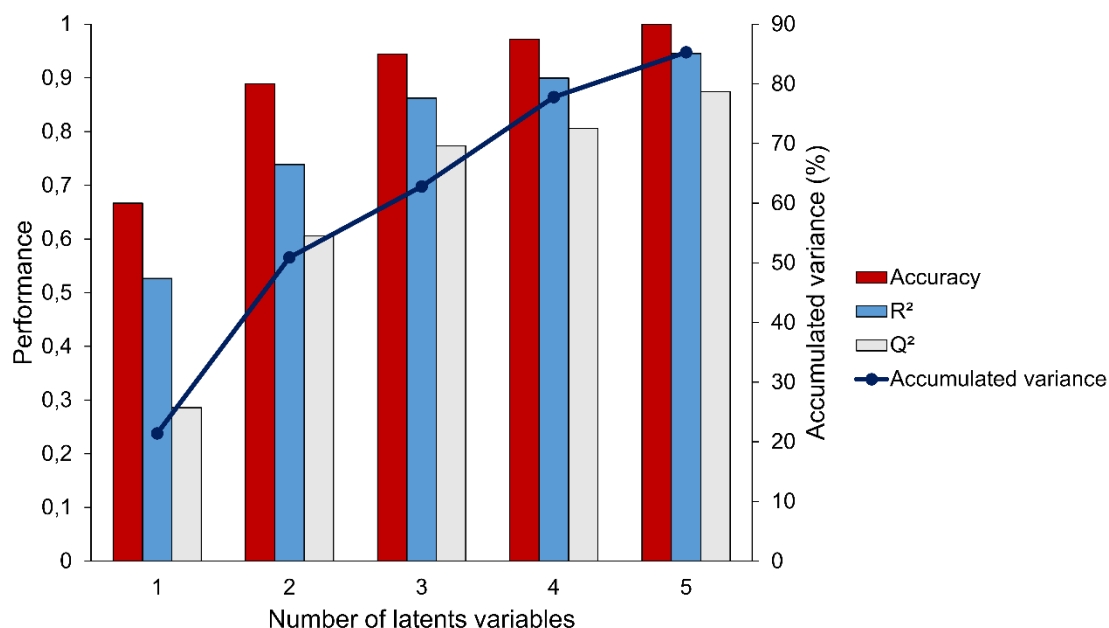
Despite the similarities observed, there is the possibility that hops grown in Brazil produce unique minority compounds, which could confer a terroir to the national hops. To verify whether there were specific characteristics of hops produced in Brazil that distinguish them from imported hops, PLS-DA, a classification analysis, was performed. Although PLS-DA is originally a classificatory technique, in this study it was applied with an exploratory character, aiming to identify possible separations between classes. For this reason, the samples were not divided into training and test sets. The 36 samples were separated into Brazilian and imported groups, and the model was obtained, represented by two latent variables, according to the score chart illustrated in Figure 5a. Considering the region of the ellipses, which show 95% confidence, there is an overlap between the region represented by the imported samples and the region of the Brazilian samples, mainly due to the imported sample c11 of the Cascade variety, which is placed within the confidence area of Brazilian samples. However, the other samples were separated according to their origin, making it possible to investigate specific characteristics of hops cultivated in Brazil. For this, in the graph in Figure 5b, it is possible to observe which variables contributed to this separation.

Figure 5 PLS-DA scores of Brazilian (green circles) and imported (red square) samples (a), and influence of the compounds in loadings graph (b).



With the PLS-DA model obtained, we aimed to establish a relationship between the hop composition data and its origin. For this purpose, the first two latent variables were selected, presenting 50.9% of the accumulated variance, as shown in Figure 6. Thus, with these two variables, there must be significant discrimination between classes based on the variables used to construct the model (Szymańska et al., 2012). Therefore, to assess whether the data are suitable for discriminating between Brazilian and imported hops, the PLS-DA model was validated using leave-one-out cross-validation. As shown in Figure 6, the PLS-DA model with 2 latent variables — the number selected for the final model — yielded an accuracy of approximately 0.9, an R^2 of 0.74, and a Q^2 of 0.60. Although increasing the number of latent variables could raise these values and potentially improve the model's predictive capacity, it might also lead to overfitting and complicate the model's interpretation. Thus, the two components were deemed adequate for achieving good separation between hop classes, ensuring a good predictive capacity while minimizing complexity, and allowing for meaningful relationships to be established between the variables and sample classification.

Figure 6 Accumulated variance and leave-one-out cross-validation for the PLS-DA model.



By a combined analysis of scores and loadings plots (Figure 5a and 5b), i.e., considering the spatial distribution of samples and variables on components 1 and 2, the imported hops were related to essential oil contents, β -pinene (piney, woody aroma), myrcene (herbaceous aroma, of fresh hops), β -phellandrene (mint aroma), α -humulene (woody aroma), γ -cadinene (herbal, thyme and woody aroma), α -copaene (woody aroma), linalool (floral-fruity aroma) and β -acids (Durello et al., 2019; Opstaele et al., 2013; Xu et al., 2024). Some imported hops showed a more intense peak area of these compounds, according to the analyses of essential oils by GC $\times$ GC, and had higher essential oil contents, justifying their contribution.

Among these compounds, considerable focus is directed towards linalool, which belongs to the terpene alcohol class, containing a hydroxyl group in its structure. This feature enhances its solubility in wort and beer, making linalool is of great importance to beer's flavor, characterized by fruity and floral aroma (Durello et al., 2019). β -pinene, another compound contributing to the differentiation of imported samples, is a monoterpene renowned for its herbal aroma. It can be naturally present in essential oils and can also be formed through the auto-oxidation process of myrcene (Nagybákay et al., 2021; Rettberg et al., 2018).

In a similar way, the Brazilian hops were related to methyl (Z)-4-decenoate, caryophyllene (spicy aroma), γ -muurolene (woody aroma), α -selinene (pepper and orange aroma), β -selinene (herbal aroma), seline-3,7(11)-diene, β -cadinene (green and woody

aroma), (E)- β -farnesene (woody aroma), (Z)- β -ocymene, 2-undecanone (fruity aroma), and an unidentified compound (Martins et al., 2020). Methyl (Z)-4-decenoate, which is described with fruity characteristics and reported as an important marker to distinguish bitter hops from aromatic hops, presented the highest concentration in Brazilian hops (the greatest negative weight in loadings 1) (Martins et al., 2020; Purdy et al., 2021).

The isomers α -selinene, characterized by its pepper and orange aroma; β -selinene, with an herbal aroma (Nagybákay et al., 2021); and selinene-3,7(11)-diene also showed an important contribution to discriminating the samples cultivated in Brazil. These compounds have already been identified in high concentrations in other studies of Brazilian hops, which may reveal a unique quality of these hops when compared to imported hops (Almeida et al., 2021; Fortuna et al., 2023). However, no information on the odor threshold of selinene isomers has been obtained to determine whether their concentrations in hops could significantly impact the aroma of both hops and beer. In addition to the selinene isomers, β -cadinene and an unidentified compound showed higher concentrations in the essential oils of Brazilian hops (0.13 – 3.73% and 0.38 – 1.46%, respectively). When analyzing the chromatogram, compound unidentified, with a retention index of 1639, is actually the coelution of two compounds that were partially separated by two-dimensional chromatography. This coelution probably occurs recurrently in conventional GC. However, as GC $\times$ GC has peaks on the order of milliseconds, the number of spectra obtained was insufficient to perform the appropriate spectral deconvolution to individually identify the two coeluted compounds. One of the peaks could be tentatively identified as an isomer of eudesmol (contributes to the spicy character of hops) (Kishimoto et al., 2005).

In view of the results presented, there are similarities between hops grown in Brazil and their imported counterparts, which demonstrate great potential for Brazilian production. Nevertheless, there is a need for greater attention to the postharvest processing steps to ensure the integrity of essential oils and mitigate losses. Regarding the aromatic characteristics of hops, PLS-DA analysis revealed some differences for those grown in Brazil, with a higher concentration of some essential oil compounds, such as selinene isomers, than in imported hops, which may indicate specific characteristics of hops grown in Brazil. However, this conclusion cannot be definitively drawn due to the limited number of hop samples and varieties evaluated. While future analyses involving a larger number of hops and varieties may support these findings, this study should be regarded as an initial assessment of the quality of Brazilian hops. Future research should also include a more thorough evaluation of the chemical and sensory characteristics of hops, along with sensory analysis of the beers

produced with these hops, to determine whether these compounds contribute unique attributes to Brazilian hops.

4 Conclusion

A comparison of two Brazilian and two imported hop samples from the Cascade, Comet, and Sorachi Ace varieties evaluated in this study revealed no trends in their contents of α - and β -acids, demonstrating a resemblance between Brazilian and equivalent imported hops. Considering the composition of the essential oils, similarities were observed between different samples of the same variety, especially for the five most abundant compounds in each oil. However, Brazilian samples showed lower essential oil content compared with imported same varieties, which may be related to the need for improvements in the post-harvest and hop pelletization processing and storage, indicating that these steps require more attention in national production.

HCA analysis did not group samples according to their origin, but there was separation according to the varieties. These results show that hops grown in Brazil could be equivalent to imported hops, indicating great potential for hops Brazilian production. With PLS-DA analysis it was possible to observe that Myrcene, β -pinene and humulene were notable compounds in the imported hops. Regarding the hops grown in Brazil, some compounds stood out, including methyl (Z)-4-decenoate, the isomers α -selinene, β -selinene and selinene-3,7(11)-diene, β -cadinene, and one compound that could not be identified. These results indicate the great potential of the chemical composition of Brazilian hops, which may have some specific characteristics, especially regarding the essential oil composition. Further analysis involving a larger group of samples and additional hop varieties, as well as sensory evaluations, are crucial steps to determine whether Brazilian hops exhibit unique aromatic characteristics.

Acknowledgments

The authors thank the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Coordination for the Improvement of Higher Education (CAPES) for the scholarships of LF Pereira. The authors also thank the Research Foundation of the State of Minas Gerais (FAPEMIG – CAG Grant - APQ-02532-17, RED-00045-23) for financial support. The authors acknowledge the Center for Chemical Analysis and Prospection (CAPQ)

of the Federal University of Lavras (UFLA) and the LC-GC of the Institute of Chemistry, Department of Analytical Chemistry of the State University of Campinas (IQ-UNICAMP), for the transfer of facilities and equipment for the accomplishment of this work.

Author contributions

Conceptualization: MPP, SBJ, LWH; Methodology: MPP, SBJ, LWH, MGC, CAN; Formal analysis and investigation: LFP, GAC, AFM, ALCS, LBM; Writing - original draft preparation: LFP; Writing - review and editing: MPP, SBJ, LWH, MGC, CAN; Funding acquisition: MPP; Resources: MPP, SBJ, LWH, MGC; Supervision: MPP

Declarations

Ethical Approval

Not Applicable.

Funding

The authors thank the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Coordination for the Improvement of Higher Education (CAPES) for the scholarships of LF Pereira. The authors also thank the Research Foundation of the State of Minas Gerais (FAPEMIG – CAG Grant numbers APQ-02532-17, RED-00045-23) for financial support.

Conflict of Interest

The authors declare they have no financial interests.

Consent to Publish

All authors consented to the publication of the Research Project.

Competing Interests

The authors declare no competing interests.

Availability of data and materials

Data and material are available upon request to the corresponding author.

References

- Adams, R. P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry* (Vol. 456). Allured publishing corporation Carol Stream, IL.
- Almaguer, C., Schönberger, C., Gastl, M., Arendt, E. K., & Becker, T. (2014). Humulus lupulus – a story that begs to be told. A review. *Journal of the Institute of Brewing*, 120(4), 289-314. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jib.160>
- ASBC (American Society of Brewing Chemists) (2024) Hops methods. Retrieved from <https://www.asbcnet.org/Methods/HopsMethods/Pages/default.aspx>. Accessed June 13, 2024.
- Astray, G., Gullón, P., Gullón, B., Munekata, P. E. S., & Lorenzo, J. M. (2020). Humulus lupulus L. as a Natural Source of Functional Biomolecules. *Applied Sciences*, 10(15), 5074. <https://doi.org/10.3390/app10155074>
- Almeida, A. R., Maciel, M. V. O. B., Gandolpho, B. C. G., Machado, M. H., Teixeira, G. L., Bertoldi, F. C., & Barreto, P. L. M. (2021). Brazilian Grown Cascade Hop (*Humulus lupulus* L.): LC-ESI-MS-MS and GC-MS Analysis of Chemical Composition and Antioxidant Activity of Extracts and Essential Oils. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 79(2), 156-166. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1795586>
- BarthHaas. (2024). Hop Varieties Overview. Retrieved from <https://www.barthhaas.com/hops-and-products/hop-varieties-overview>. Accessed March 17, 2024.
- Dias, F. F. G., Bogusz, S., Silva, R. S., Fronza, M., & Hantao, L. W. (2023). Leveraging the use of ionic liquid capillary columns and GC×GC-MS for fatty acid profiling in human colostrum samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 416, 191–201. <https://doi.org/10.1007/s00216-023-05006-w>
- Dias, G. S., Gallon, M. E., Gobbo-Neto, L. (2024). Comparative analysis of four hop cultivars grown in Brazil and the USA by GC-MS-based metabolomics. *Journal of the Institute of Brewing*, 130(4), 238–249. <https://doi.org/10.58430/jib.v130i4.62>
- Dietz, C., Cook, D., Huismann, M., Wilson, C., & Ford, R. (2020). The multisensory perception of hop essential oil: a review. *Journal of the Institute of Brewing*, 126(4), 320-342. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jib.622>
- Duarte, L. M., Aredes, R. S., Amorim, T. L., de Carvalho Marques, F. F., & de Oliveira, M. A. L. (2022). Determination of α - and β -acids in hops by liquid chromatography or

- electromigration techniques: A critical review. *Food Chemistry*, 397, 133671. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133671>
- Durello, R. S., Silva, L. M., & Bogusz, S. (2019). Química do lúpulo. *Química Nova*, 42, 900-919. <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170412>
- Facanali, R., Marques, M. O., & Hantao, L. W. (2020). Metabolic Profiling of *Varronia curassavica* Jacq. Terpenoids by Flow Modulated Two-Dimensional Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry. *Separations*, 7(1). <https://doi.org/10.3390/separations7010018>
- Fécher, M., Weaver, G., Roy, C., & Shellhammer, T. H. (2022). Exploring the Regional Identity of Cascade and Mosaic® Hops Grown at Different Locations in Oregon and Washington. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 81(3), 480–492. <https://doi.org/10.1080/03610470.2022.2089010>
- Forteschi, M., Porcu, M. C., Fanari, M., Zinellu, M., Secchi, N., Buiatti, S., Passaghe, P., Bertoli, S., & Pretti, L. (2019). Quality assessment of Cascade Hop (*Humulus lupulus* L.) grown in Sardinia. *European Food Research and Technology*, 245(4), 863-871. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3215-0>
- Fortuna, G. C., Gomes, J. A. d. O., Campos, O. P., Neves, C. S., & Bonfim, F. P. G. (2023). Agronomic performance of *Humulus lupulus* L. varieties cultivated in organic and conventional systems in São Paulo center-west, Brazil. *Ciência Rural*, 53. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210704>
- Fortuna, G. C., Neves, C. S., Campos, O. P., Gomes, J. A., Silva, J. C., Souza, A. A., Funari, C. S.; Marques, M. O. M., & Bonfim, F. P. G. (2023). Hop Tropicalization: Chemical Compositions of Varieties Grown under Organic and Conventional Systems in Subtropical Conditions. *Horticulturae*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/horticulturae9080855>
- Gonçalves, J., Figueira, J., Rodrigues, F., & Câmara, J. S. (2012). Headspace solid-phase microextraction combined with mass spectrometry as a powerful analytical tool for profiling the terpenoid metabolomic pattern of hop-essential oil derived from Saaz variety. *Journal of Separation Science*, 35(17), 2282-2296. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jssc.201200244>
- Herkenhoff, M. E., Brödel, O., & Frohme, M. (2024). Hops across continents: Exploring how terroir transforms the aromatic profiles of five hop (*Humulus lupulus*) varieties grown in their countries of origin and in Brazil. *Plants*, 13(19), 2675. <https://doi.org/10.3390/plants13192675>

- Jastrombek, J. M., Faguerazzi, M. M., Pierezan, H. C., Rufato, L., Sato, A. J., Ricce, W. S., Marques, V. V., Leles, N. R., & Roberto, S. R. (2022). Hop: An Emerging Crop in Subtropical Areas in Brazil. *Horticulturae*, 8(5). <https://doi.org/10.3390/horticulturae8050393>
- Karabin, M., Hudcova, T., Jelinek, L., & Dostalek, P. (2015). Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. *Biotechnology Advances*, 33(6, Part 2), 1063-1090. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.02.009>
- Kishimoto, T., Wanikawa, A., Kagami, N., & Kawatsura, K. (2005). Analysis of Hop-Derived Terpenoids in Beer and Evaluation of Their Behavior Using the Stir Bar–Sorptive Extraction Method with GC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(12), 4701–4707. <https://doi.org/10.1021/jf050072f>.
- Kobus-Cisowska, J., Szymanowska-Powłowska, D., Szczepaniak, O., Kmiecik, D., Przeor, M., Gramza-Michałowska, A., Cielecka-Piontek, J., Smuga-Kogut, M., & Szulc, P. (2019). Composition and In Vitro Effects of Cultivars of *Humulus lupulus* L. Hops on Cholinesterase Activity and Microbial Growth. *Nutrients*, 11(6). <https://doi.org/10.3390/nu11061377>
- Kubeš, J. (2021). Geography of World Hop Production 1990–2019. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 80(1), 84–91. <https://doi.org/10.1080/03610470.2021.1880754>
- Lafontaine, S., Varnum, S., Roland, A., Delpech, S., Dagan, L., Vollmer, D., Kishimoto, T., & Shellhammer, T. (2019). Impact of harvest maturity on the aroma characteristics and chemistry of Cascade hops used for dry-hopping. *Food Chemistry*, 278, 228-239. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.148>
- Lafontaine, S., Thomson, D., Schubert, C., Müller, I., Kyle, M., Biendl, M., Conn, S., Schüll, F., Lutz, A., Ligare, M., Hale, A., Thörner, S., & Rettberg, N. (2022). How deviations in the elemental profile of *Humulus lupulus* grown throughout the U.S. and Germany influence hop and beer quality. *Food Chemistry*, 395, 133543. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133543>
- Legun, K., Comi, M., & Vicol, M. (2022). New aesthetic regimes: The shifting global political ecology of aroma hops. *Geoforum*, 128, 148-157. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.geoforum.2021.12.004>
- Liu, Y., Dancker, P., Biendl, M., Coelhan, M. (2024). Comparison of polyfunctional thiol, element, and total essential oil contents in 32 hop varieties from different countries.

- Food Chemistry*, 455, 139855, ISSN 0308-8146.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139855>
- Martins, Z. E., Machado Jr., J. C., Cunha, S. C., Barata, A. M., & Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2020). A chemometric approach to compare Portuguese native hops with worldwide commercial varieties. *Journal of Chemometrics*, 34(9), e3285.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cem.3285>
- Marques, S. P. D., Trevisan, M. T. S., Owen, R. W., Silva, A. M. A., et al. (2024). Avaliação quantitativa de ácidos amargos, xanthohumol e óleos essenciais presentes em flores de diferentes cultivares de *Humulus lupulus* L. produzidas na região nordeste do Brasil. *Química Nova*, 47(2). <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20230092>
- MetaboAnalyst 6.0 (2024). Retrieved from <https://www.metaboanalyst.ca/>. Accessed June 10, 2024.
- Nagybákay, N. E., Syrpas, M., Vilimaitė, V., Tamkutė, L., Pukalskas, A., Venskutonis, P. R., & Kitrytė, V. (2021). Optimized Supercritical CO₂ Extraction Enhances the Recovery of Valuable Lipophilic Antioxidants and Other Constituents from Dual-Purpose Hop (*Humulus lupulus* L.) Variety Ella. *Antioxidants*, 10(6).
<https://doi.org/10.3390/antiox10060918>
- Nasiatka, K. J., Bettenhausen, H. M., Chaparro, J. M., Heuberger, A. L., & Prenni, J. E. (2023). Rapid Characterization of Hops (*Humulus lupulus*) Using DART-MS and Chemometrics. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 82(2), 134–140. <https://doi.org/10.1080/03610470.2023.2213238>
- Opstaele, F. V., Praet, T., Aerts, G., & De Cooman, L. (2013). Characterization of Novel Single-Variety Oxygenated Sesquiterpenoid Hop Oil Fractions via Headspace Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry/Olfactometry. *J. Agric. Food Chem*, 61, 44, 10555–10564. <https://doi.org/10.1021/jf402496t>
- Purdy, V., Kebede, B., Beatson, R., Templeton, K., Silcock, P., & Eyres, G. T. (2021). Differences in New Zealand Hop Cultivars Based on Their Unique Volatile Compounds: An Integrated Fingerprinting and Chemometrics Approach. *Foods*, 10(2).
<https://doi.org/10.3390/foods10020414>
- Rettberg, N., Biendl, M., & Garbe, L.-A. (2018). Hop Aroma and Hoppy Beer Flavor: Chemical Backgrounds and Analytical Tools—A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 76(1), 1-20.
<https://doi.org/10.1080/03610470.2017.1402574>

- Rubottom, L. N., Lafontaine, S. R., Hauser, D. G., Pereira, C., & Shellhammer, T. H. (2021). Hop Kilning Temperature Sensitivity of Dextrin-Reducing Enzymes in Hops. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 80(1), 75–83. <https://doi.org/10.1080/03610470.2021.1903290>
- Ruggeri, R., Rossini, F., Roberto, S. R., Sato, A. J., et al. (2024). Development of hop cultivation in new growing areas: The state of the art and the way forward. *European Journal of Agronomy*, 161, 127335. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2024.127335>
- Rutnik, K., Knez Hrnčič, M., & Jože Košir, I. (2021). Hop Essential Oil: Chemical Composition, Extraction, Analysis, and Applications. *Food Reviews International*, 1-23. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1874413>
- Rutnik, K., Ocvirk, M., & Košir, I. J. (2022). Changes in Hop (*Humulus lupulus* L.) Oil Content and Composition during Long-Term Storage under Different Conditions. *Foods*, 11(19). <https://doi.org/10.3390/foods11193089>
- Rutnik, K., Ocvirk, M., & Košir, I. J. (2023). The stability of hop (*Humulus lupulus* L.) resins during long-period storage. *Plants*, 12(4), 936. <https://doi.org/10.3390/plants12040936>
- Szymańska, E., Saccenti, E., Smilde, A. K., & Westerhuis, J. A. (2012). Double-check: validation of diagnostic statistics for PLS-DA models in metabolomics studies. *Metabolomics: Official journal of the Metabolomic Society*, 8(Suppl 1), 3–16. <https://doi.org/10.1007/s11306-011-0330-3>
- Tirado-Kulieva, V. A., Hernández-Martínez, E., Minchán-Velayarce, H. H., Pasapera-Campos, S. E., & Luque-Vilca, O. M. (2023). A comprehensive review of the benefits of drinking craft beer: Role of phenolic content in health and possible potential of the alcoholic fraction. *Current Research in Food Science*, 6, 100477. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100477>
- van Den Dool, H., & Kratz, P. D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A*, 11, 463-471. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)80947-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)80947-X)
- Xu, Y., Yao, L., Wang, Y., Shen, J., Chen, D., & Feng, T. (2024). Comparative analysis of the aromatic profiles of citri sarcodactylis fructus from various geographical regions using GC-IMS, GC-MS, and sensory evaluation. *Food Bioscience*, 58, 103752, 2212-4292. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.103752>

Yakima Chief Hops. (2024). Hop Varieties: Premium Quality Hops. Retrieved from <https://www.yakimachief.com/commercial/hop-varieties.html>. Accessed March 17, 2024.

Supplementary Material

Table S1 Results for α -acids e β -acids (N = 3) and reference values.

Hop	% α -acids	% α -acids reference	% β -acids	% β -acids reference
cB1	7.49 $\pm$ 0.26a	4.0 - 9.0	8.50 $\pm$ 0.43b	5.5 - 9.0
cB3	4.53 $\pm$ 0.12b		8.03 $\pm$ 0.28b	
cI1	6.32 $\pm$ 0.20a		7.28 $\pm$ 0.11bc	
cI2	7.53 $\pm$ 0.35a		10.14 $\pm$ 0.42ab	
cmB1	8.15 $\pm$ 0.07b	8.0 - 10.5	5.05 $\pm$ 0.21b	4.0 - 5.5
cmB2	11.11 $\pm$ 0.53a		8.13 $\pm$ 0.24a	
cmI1	2.20 $\pm$ 0.61d		3.95 $\pm$ 0.35c	
cmI2	6.46 $\pm$ 0.18c		5.25 $\pm$ 0.21b	
sB2	11.83 $\pm$ 0.59a	12.0 - 15.0	8.13 $\pm$ 0.32b	8.0 - 12.0
sB3	9.58 $\pm$ 0.43a		6.95 $\pm$ 0.45b	
sI1	9.06 $\pm$ 0.25a		9.67 $\pm$ 0.19ab	
sI2	10.93 $\pm$ 0.28a		11.33 $\pm$ 0.17a	

*for each variety (c, cm, and s), different letters in the lines indicate samples that differ from each other in terms of α -acid or β -acid content.

Table S2 Essential oil content of hop samples and reference values.

Hop	Essential oil content (mL/100 g)	Reference Essential oil content (mL/100 g)
cB1	1.12 $\pm$ 0.17a	0.50 - 2.00
cB3	0.90 $\pm$ 0.14ab	
cI1	0.80 $\pm$ 0.07b	
cI2	1.14 $\pm$ 0.15a	
cmB1	0.38 $\pm$ 0.03c	1.00 - 2.50
cmB2	1.66 $\pm$ 0.24a	
cmI1	1.04 $\pm$ 0.20b	
cmI2	1.64 $\pm$ 0.26a	
sB2	1.20 $\pm$ 0.20c	1.50 - 5.00
sB3	0.53 $\pm$ 0.05d	
sI1	2.20 $\pm$ 0.32b	
sI2	3.19 $\pm$ 0.29a	

*for each variety (c, cm, and s), different letters in the lines indicate samples that differ from each other in terms of essential oil content.

Figure S1 GC×GC-MS chromatograms of essential oils from the Comet hop variety (a) cmB1, cultivated in Brazil, and (b) cmI1, imported.

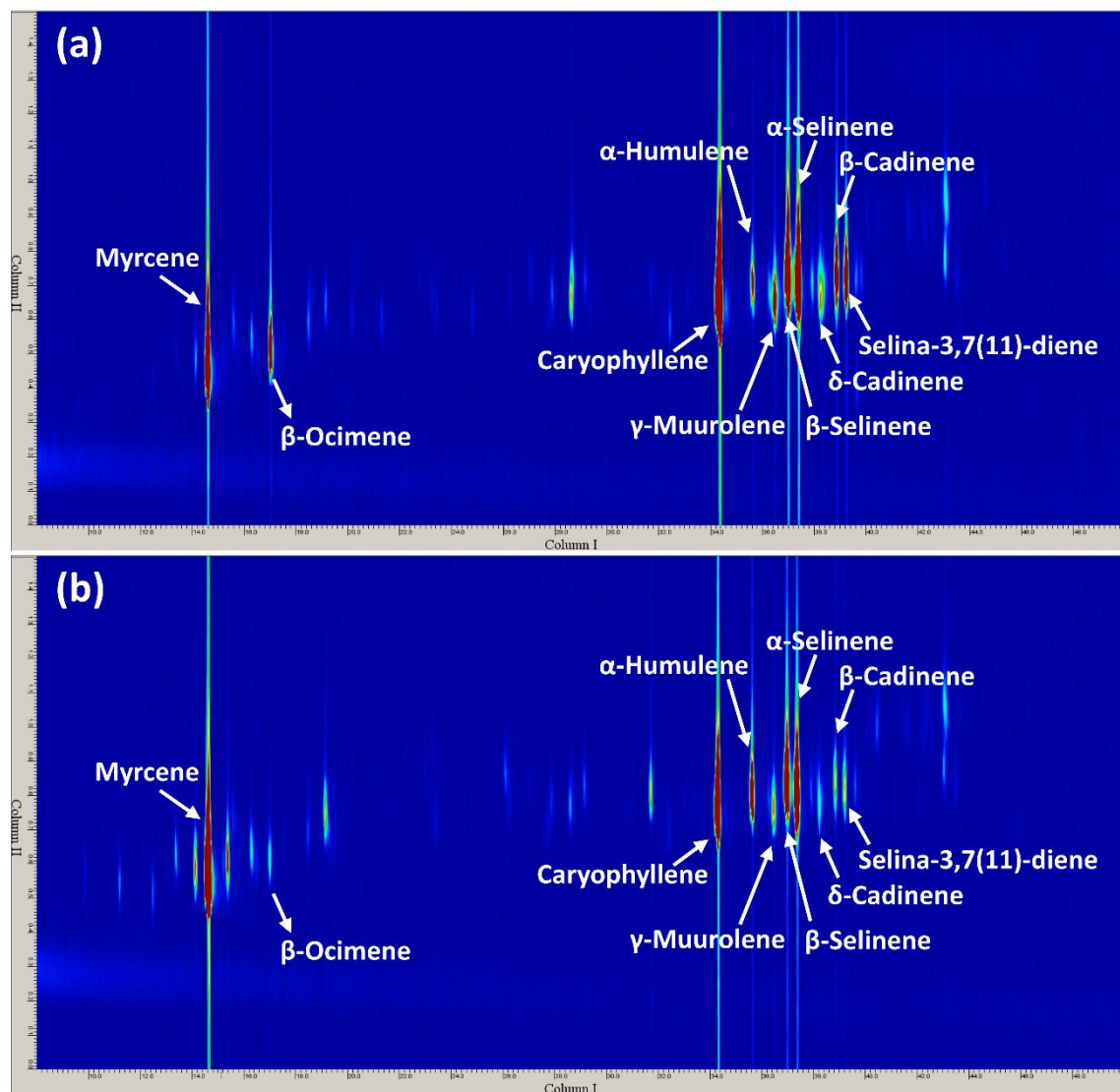


Table S3 Average relative areas of compounds identified in hop essential oils, along with Tukey's test results for each compound in each hop variety.

Compound	cB1	cB3	cI1	cI2	cmB1	cmB2	cmI1	cmI2	sB2	sB3	sI1	sI2
Myrcene	50.62 ± 0.23b	44.58 ± 0.33c	44.43 ± 0.45c	51.86 ± 0.48a	19.44 ± 0.2c	58.9 ± 8.32a	34.64 ± 0.34b	52.34 ± 0.44a	50.6 ± 0.44b	36.8 ± 0.26d	43.48 ± 0.37c	55.58 ± 0.46a
α-Humulene	14.37 ± 0.19c	18.1 ± 0.26a	18.47 ± 0.2a	15.72 ± 0.1b	2.19 ± 0.03b	1.27 ± 0.15c	4.96 ± 0.04a	1.01 ± 0.01c	19.19 ± 0.26c	18.72 ± 0.09c	26.8 ± 0.78a	21.29 ± 0.15b
Caryophyllene	7.54 ± 0.17b	7.69 ± 0.09b	8.15 ± 0.09a	7.66 ± 0.13b	23.64 ± 0.2a	11.15 ± 0.12d	14.75 ± 0.12c	16.06 ± 0.04b	9.37 ± 0.16b	9.31 ± 0.14b	12.25 ± 0.1a	8.92 ± 0.15b
δ-Cadinene	1.14 ± 0.03b	1.08 ± 0.01b	1.26 ± 0.01a	1.11 ± 0.02b	1.24 ± 0.01a	0.31 ± 0.04d	0.69 ± 0.01b	0.5 ± 0.01c	1.1 ± 0.01d	2.04 ± 0.03a	1.86 ± 0.01b	1.22 ± 0.02c
(E)-β-Farnesene	8.18 ± 0.23d	10.43 ± 0.08a	9.34 ± 0.12b	8.65 ± 0.1c	0 ± 0b	1.27 ± 0.15a	0 ± 0b	1.01 ± 0.01a	4.21 ± 0.13b	6.33 ± 0.08a	1.65 ± 0.03c	1.66 ± 0c
(Z)-β-Ocimene	0.4 ± 0a	0.23 ± 0b	0.12 ± 0d	0.15 ± 0c	4.19 ± 0.02a	1.83 ± 0.24b	0.63 ± 0.01b	1.61 ± 0.02b	0.77 ± 0.02c	0.4 ± 0.01d	1.63 ± 0.02b	2.73 ± 0.02a
γ-Murolene	0.89 ± 0.02b	0.74 ± 0.01d	1.1 ± 0.02a	0.81 ± 0c	2.44 ± 0.02a	0.77 ± 0.13d	1.71 ± 0.02b	1.22 ± 0.02c	0.78 ± 0.01d	1.57 ± 0.02a	1.29 ± 0.01b	0.84 ± 0.01c
γ-Cadinene	0.64 ± 0b	0.6 ± 0c	0.78 ± 0.01a	0.61 ± 0c	0.56 ± 0a	0.15 ± 0.02d	0.38 ± 0.01b	0.25 ± 0c	0.61 ± 0.01c	1.16 ± 0.01a	1.13 ± 0.02a	0.69 ± 0.01b
2-Undecanone	0.14 ± 0d	0.26 ± 0a	0.2 ± 0.01b	0.17 ± 0.01c	0.54 ± 0.01a	0.24 ± 0.03c	0.45 ± 0.01b	0.26 ± 0c	1.14 ± 0.03a	1.1 ± 0.02a	0.83 ± 0.01b	0.47 ± 0.01c
α-Selinene	3.08 ± 0.08a	1.57 ± 0.01d	2.61 ± 0.03b	1.94 ± 0c	12.18 ± 0.12a	4.82 ± 0.72d	9.45 ± 0.08b	7.67 ± 0.06c	1.52 ± 0.02b	3.68 ± 0.02a	0.72 ± 0c	0.46 ± 0d
β-Pinene	0.59 ± 0.01a	0.53 ± 0b	0.59 ± 0.01a	0.46 ± 0.01c	0.23 ± 0d	0.77 ± 0.12b	0.92 ± 0.01a	0.65 ± 0b	0.62 ± 0.01a	0.32 ± 0d	0.59 ± 0.01b	0.44 ± 0.01c
β-Phellandrene	0.48 ± 0.01c	0.39 ± 0.01d	0.51 ± 0b	0.66 ± 0.01a	0.29 ± 0b	0.6 ± 0.08a	0.41 ± 0.01b	0.62 ± 0.01a	0.53 ± 0.01c	0.46 ± 0d	0.56 ± 0b	0.69 ± 0a
α-Copaene	0.24 ± 0c	0.22 ± 0d	0.35 ± 0a	0.31 ± 0.01b	0.24 ± 0a	0.08 ± 0.01d	0.16 ± 0b	0.11 ± 0c	0.27 ± 0d	0.48 ± 0b	0.58 ± 0a	0.44 ± 0c
β-Selinene	1.81 ± 0.03a	0.97 ± 0.01a	1.4 ± 0.89a	1.2 ± 0.04a	10.98 ± 0.1a	3.95 ± 0.54d	8.97 ± 0.01b	6.87 ± 0.08c	1.12 ± 0.02b	2.96 ± 0.05a	0.38 ± 0.01c	0.23 ± 0d
2-methylbutyl 2-methylpropanoate	0.91 ± 0c	1.81 ± 0.01a	1.11 ± 0.01b	0.57 ± 0.01d	0.07 ± 0d	1.1 ± 0.17b	1.78 ± 0.04a	0.48 ± 0.01c	0.98 ± 0.03a	0.28 ± 0.01b	0.24 ± 0b	0.15 ± 0d
Methyl (Z)-4-decenoate	0.31 ± 0.01b	0.58 ± 0.01a	0.06 ± 0d	0.24 ± 0.01c	1.89 ± 0.02a	0.8 ± 0.11b	0.67 ± 0b	0.25 ± 0.01c	0.17 ± 0.01b	2.24 ± 0.04a	0 ± 0c	0 ± 0c
Selina-3,7(11)-diene	0.18 ± 0c	0.35 ± 0a	0.2 ± 0b	0.17 ± 0c	4.09 ± 0.03a	0.94 ± 0.1d	1.49 ± 0.02b	1.52 ± 0.01b	0.25 ± 0a	0.22 ± 0b	0 ± 0c	0 ± 0c
Linalool	0.59 ± 0.01a	0.4 ± 0.01c	0.53 ± 0.01b	0.59 ± 0.02a	0.36 ± 0d	0.62 ± 0.09b	1.18 ± 0.01a	0.57 ± 0.01b	0.51 ± 0b	0.93 ± 0.01a	0.39 ± 0c	0.3 ± 0d
β-Cadinene	0.13 ± 0b	0.13 ± 0b	0.15 ± 0a	0.13 ± 0b	3.73 ± 0.02a	1.01 ± 0.14d	1.48 ± 0.02b	1.69 ± 0.02b	0.36 ± 0.01b	0.41 ± 0.01a	0.2 ± 0c	0.12 ± 0d
Neryl acetate	1.69 ± 0.01a	1.45 ± 0.02b	0 ± 0d	1.01 ± 0.03c	0.19 ± 0c	1.07 ± 0.14b	2.29 ± 0.03a	0.14 ± 0a	0.16 ± 0.01a	0.08 ± 0b	0 ± 0c	0 ± 0c
Unidentified	0.38 ± 0.01d	0.75 ± 0.01a	0.61 ± 0.01b	0.61 ± 0.02b	1.46 ± 0.02a	0.73 ± 0.26c	1.1 ± 0.02ab	0.87 ± 0.02b	0.39 ± 0.01b	0.61 ± 0a	0.15 ± 0c	0 ± 0d

*The values presented are the average of three replicates. For each variety (c, cm and s) and each compound, different letters in the columns indicate samples that differ from one another.

Artigo 2 – Óleo essencial de lúpulo na produção de cerveja: uma abordagem química e sensorial

Letícia Fagundes Pereira^a, Katiúcia Alves Amorim^b, Maria Laura Silva Galdino^b, Ana Carla Marques Pinheiro^b, Maria das Graças Cardoso^a, Stanislaw Bogusz Junior^c, Marcio Pozzobon Pedroso^{a*}

^aDepartamento de Química, Instituto de Ciências Naturais, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil

^bDepartamento de Ciências dos Alimentos, Escola de Ciências Agrárias de Lavras, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil

^cInstituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil

RESUMO

Os compostos do óleo essencial (OE) do lúpulo são os principais responsáveis pelo aroma e sabor das cervejas com perfil lupulado. O processo de *dry hopping* (DH) consiste na adição do lúpulo à cerveja após etapa de fermentação, quando as temperaturas estão mais baixas, com o objetivo conferir aroma de lúpulo mais intenso à cerveja por minimizar a volatilização dos compostos do OE. Apesar disso, com a baixa temperatura a extração dos compostos do lúpulo não é favorecida, de forma que o lúpulo utilizado no DH ainda contenha cerca de 50% do conteúdo inicial de OE após o uso. Nesse sentido, uma extração prévia do OE e sua utilização direta na cerveja poderia garantir o uso mais eficiente do lúpulo, além de facilitar a filtração e a separação dos sólidos da cerveja. Assim, buscou-se avaliar cervejas com o DH tradicional e cervejas preparadas com a adição direta de OE em substituição ao lúpulo em *pellet* no DH. Foram preparadas cervejas com duas variedades de lúpulo e duas concentrações distintas, sendo o lúpulo Cascade na concentração de 1 g L⁻¹ e o lúpulo Comet na concentração de 2 g L⁻¹. A concentração OE na cerveja foi determinada a partir do teor de OE do lúpulo, de forma as concentrações de OE nas cervejas fossem equivalentes. O perfil volátil das cervejas foi determinado a partir de análises por microextração em fase sólida no *headspace* e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (HS-SPME-GC-MS) e os dados foram avaliados utilizando análise de componentes principais (PCA) e mapa de calor. As cervejas também foram avaliadas sensorialmente empregando o *free listing* para levantar atributos e o método *rate-all-that-apply* (RATA) para avaliar a presença e intensidade desses atributos e a aceitação das amostras. A avaliação do perfil volátil revelou alterações entre a concentração dos compostos nas cervejas com DH tradicional e nas cervejas com OE. Para as amostras preparadas com o lúpulo cascade não foi observada uma tendência entre as diferentes classes de compostos. Já para as cervejas com lúpulo comet verificou-se que os mono e sesquiterpenos foram mais intensos na cerveja com lúpulo em *pellet* e os ésteres mais pesados e tioésteres mais intensos na cerveja com OE. Essas diferenças foram associadas ao fato dos mono e sesquiterpenos serem voláteis e pouco solúveis na cerveja, fazendo com que ocorra perdas por volatilização quando se utiliza OE, enquanto para o uso do lúpulo em *pellet*, eles são extraídos aos poucos, evitando que se volatilizem. Já ésteres e tioésteres são mais solúveis e menos voláteis, estando mais disponíveis para se solubilizarem na cerveja no OE do que quando se utiliza o lúpulo em *pellet*. Apesar das diferenças observadas entre as concentrações dos compostos, as análises sensoriais revelaram que não houveram diferenças significativas para a maioria dos atributos avaliados e para a aceitação das cervejas. O amargor foi um dos únicos atributos que apresentou diferença significativa, sendo mais intenso para a cerveja do DH com lúpulo em *pellet*, o que pode ser resultado da extração de humulinonas do lúpulo, o que não ocorre quando se utiliza o OE. Considerando a aceitação e a ausência de diferenças significativas para a maioria dos atributos, verifica-se que há possibilidade de se utilizar o OE em substituição ao lúpulo em *pellet* na etapa do DH.

Palavras-chave: *Dry hopping*; perfil volátil; análise sensorial; HS-SPME-GC-MS; RATA.

1 INTRODUÇÃO

A popularização das cervejas artesanais e especiais, aliada a maior valorização da qualidade dessas bebidas pelos consumidores, trouxe grande destaque ao lúpulo na produção de cervejas, podendo ser utilizado em etapas distintas da produção como fonte de sabor, aroma e amargor (Dietz *et al.*, 2021; Lamberti *et al.*, 2021).

A constituição do lúpulo inclui as frações volátil e não volátil. A fração não volátil, composta por ácidos carboxílicos, resinas, aminoácidos, carboidratos e polifenóis, contribui para o sabor e amargor da cerveja. Já a fração volátil, formada pelos compostos do óleo essencial (OE) do lúpulo, contribui para o aroma e sabor (Dietz *et al.*, 2020a; Dietz *et al.*, 2020b). O OE pode representar até 4,0% do peso do lúpulo seco e é constituído por hidrocarbonetos (hidrocarbonetos alifáticos, monoterpenos e sesquiterpenos), compostos oxigenados (álcoois terpênicos, sesquiterpenos oxigenados, ésteres, cetonas, álcoois e outros) e compostos sulfurados. Sua composição se diferencia conforme a variedade do lúpulo, mas, de forma geral, mirceno, humuleno e cariofileno estão entre os compostos majoritários. Conforme os compostos que estão presentes e suas concentrações, o OE do lúpulo pode conferir à cerveja uma diversidade de aromas, tais como cítrico, herbal, floral, frutado, além do aroma característico do próprio lúpulo (Lafontaine *et al.*, 2019; Rutnik, Hrnčič, Košir, 2021; Wang *et al.*, 2023).

Além da composição do lúpulo, o momento em que ele é adicionado durante a produção da cerveja também influencia as características que são conferidas à bebida. Para conferir o amargor, o lúpulo é adicionado na etapa de fervura, mas isso é desfavorável para conferir à cerveja o aroma de lúpulo devido à evaporação dos compostos aromáticos do OE (Schnaitter *et al.*, 2016). Para minimizar a perda desses compostos e conferir mais aroma à cerveja, o lúpulo pode ser adicionado no fim do processo de fervura. Já para conferir aromas ainda mais intensos, uma adição extra de lúpulo em *pellet* é feita após a etapa de fermentação, quando a temperatura do mosto está mais baixa, processo denominado *dry hopping* (DH). O DH confere aroma de lúpulo mais intenso à cerveja, pois a baixa temperatura diminui a evaporação dos compostos voláteis, embora essa temperatura também minimize a extração dos compostos do lúpulo. Em complemento, praticamente não há alteração no amargor da cerveja, pois não há isomerização de ácidos amargos, embora possa ocorrer a transferência de humulinonas do lúpulo para a cerveja, as quais contribuem para o amargor (Brendel *et al.*, 2019; Titus *et al.*, 2021).

Apesar dos benefícios sensoriais que o DH pode proporcionar, é necessário considerar que o lúpulo utilizado no DH leva a um aumento de material sólido, o que contribui para perdas de um maior volume de cerveja quando ocorre a filtração, ou da turvação da cerveja quando ela não é filtrada. Outro ponto é que apenas uma parte do OE do lúpulo é extraída ao longo do DH, de forma que o lúpulo descartado após o processo ainda contém OE. A depender do modo de produção e da variedade, foi verificado que o lúpulo utilizado no DH ainda possui entre 33 e 51% do conteúdo inicial de OE após o processo (Hauser, Lafontaine, Shellhammer, 2019). Quantidades relevantes de humulonas e outros compostos também foram encontrados no lúpulo após o DH. Esse conteúdo residual significativo sugere o potencial de reutilização desse lúpulo, sendo aplicado, por exemplo, como fonte de amargor para produção de outras cervejas. Assim, busca-se aproveitar todo conteúdo do lúpulo, contribuindo para redução dos custos da produção, já que ele representa uma parcela significativa das despesas na produção de cerveja (Schricket *et al.*, 2024).

Buscando ainda o máximo aproveitamento dos compostos voláteis do lúpulo, que estão associadas ao DH, uma alternativa ao DH tradicional seria a adição do próprio OE do lúpulo, extraído previamente, em vez da adição dele na forma de *pellet*. Em nenhum estudo essa substituição foi avaliada, embora tenham sido encontrados poucos trabalhos que avaliaram a adição de extratos específicos do OE à cerveja. Com isso, puderam verificar, por exemplo, que cervejas com extratos contendo geraniol foram caracterizadas por aromas e sabores cítricos, além de ser mais doces quando comparadas a cervejas com outros extratos (Dietz *et al.*, 2020b; Dietz *et al.*, 2021). A substituição do lúpulo em *pellet* pelo OE seria relevante uma vez que manteria os objetivos do DH, intensificando o aroma do lúpulo na cerveja, além de evitar os problemas de separação e ineficiência de extração dos compostos, contribuindo para tornar o processo mais eficiente.

Assim, para avaliar quimicamente a cerveja preparada com a adição do OE e comparar com o DH tradicional, técnicas como a microextração em fase sólida no modo *headspace* e a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (HS-SPME-GC-MS) são as mais empregadas. Essas técnicas permitem identificar e quantificar compostos voláteis da cerveja, os quais podem ser relacionados a forma de adição de lúpulo (Herkenhoff, Brödel, Frohme, 2024; Giannetti *et al.*, 2019). O uso das técnicas HS-SPME-GC-MS foi relatado em diversos estudos para determinação dos voláteis de cerveja. Dentre eles, para avaliar as diferenças do perfil volátil de cervejas preparadas com malte de cevada e de sorgo, para identificar compostos específicos de diferentes estilos de cervejas, para verificar alterações dos compostos de aroma de cervejas preparadas com diferentes leveduras e para analisar a

biotransformação de compostos do lúpulo com a fermentação (Budner *et al.*, 2024; Cao; Wu *et al.*, 2024; Herkenhoff, Brödel, Frohme, 2024; Roberts *et al.*, 2024).

Já para a avaliação sensorial dessas cervejas, dentre os diversos métodos sensoriais que podem ser empregados, o *free listing* é um método simples, que consiste nos consumidores listarem livremente as características do produto após o consumo, possibilitando a identificação dos atributos mais relevantes (Yoon *et al.*, 2023). Com esses atributos, pode-se aplicar o método *rate-all-that-apply* (RATA) para identificar quais atributos se aplicam a cada amostra e a intensidade dos mesmos (Ares *et al.*, 2014). O uso do RATA para cervejas foi relatado para avaliar atributos relacionados ao corpo de cervejas preparadas com três níveis diferentes de teor alcoólico e para avaliar a aceitação e a percepção de consumidores a respeito de cervejas de trigo (Byeon *et al.*, 2023; Ivanova *et al.*, 2023). Essas técnicas podem ser aplicadas com provadores não treinados, permitindo avaliar quais atributos se diferenciam em presença e intensidade nas cervejas preparadas com OE ou com lúpulo adicionados na etapa de DH.

Nesse sentido, o objetivo deste estudo é investigar as diferenças químicas e sensoriais das cervejas conforme a forma de adição do lúpulo. Para isso, cervejas preparadas com OE de lúpulo na etapa de DH e com DH tradicional foram avaliadas quimicamente por HS-SPME-GC-MS, e sensorialmente, a partir do *free listing* e do método RATA.

2 METODOLOGIA

O presente projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisas (CEP) da Universidade Federal de Lavras – UFLA e aprovado para execução (CAAE: 80332824.1.0000.5148), atendendo às exigências legais preconizadas pela Resolução CNS nº 466/2012, do Conselho Nacional de Saúde, que regulamenta a pesquisa com seres humanos (Brasil, 2012).

2.1 Lúpulo e obtenção do óleo essencial

Foram utilizados lúpulos em *pellet* das variedades Cascade e Comet, ambos do produtor Uai Hops, cultivados na cidade de Andrelândia, Minas Gerais. As amostras foram recebidas em embalagem impermeável a luz, em atmosfera modificada, sendo mantidas refrigeradas até o momento do uso.

Para obtenção do OE, cerca de 100 g de lúpulo foi submetido ao processo de hidrodestilação, conforme descrito pela ASBC Hops 13 (ASBC, 2010). Para isso, o lúpulo foi pesado e transferido para um balão de fundo redondo de 2 L, o qual foi preenchido com água destilada até a metade e ligado ao aparelho de Clevenger. Iniciou-se então o aquecimento do balão, mantendo por 3h. Após o processo, o volume de OE coletado foi aferido e o hidrolato obtido foi centrifugado (Fanem Baby I Model 260 BL, São Paulo, Brazil) por 15 minutos a 965g. O OE foi então separado com o auxílio de uma micropipeta de Pasteur e transferido para um vial âmbar, com atmosfera de $N_{2(g)}$, o qual foi selado e armazenado sob refrigeração até o momento do uso.

A determinação de umidade dos lúpulos foi realizada por destilação com solvente imiscível em água (tolueno) utilizando um aparelho de Dean-Stark. A água presente no lúpulo foi coletada no braço graduado do aparelho e o volume foi lido após o término da destilação. A umidade foi calculada com base no volume de água coletado em relação à massa inicial da amostra. A partir do volume de OE obtido pelo processo de hidrodestilação e do teor de umidade, foi calculado o teor de OE no lúpulo.

2.2 Preparo das cervejas

Uma cerveja *lager* em fase final da fermentação foi retirada diretamente do tanque de fermentação da cervejaria Joia Mesquita (Lavras/MG), e duas frações de 4,5 L foram transferidas para fermentadores de 5 L previamente purgados com CO_2 para evitar o contato da cerveja com O_2 . Em um dos fermentadores foi adicionado o lúpulo em *pellet* para realização do DH tradicional. No outro fermentador foi adicionado OE de lúpulo em quantidade equivalente à contida na massa de lúpulo usada no DH. Essa quantidade foi determinada considerando teor de OE do lúpulo. A cerveja do mesmo lote, que não teve essa etapa extra de adição de lúpulo e que teve o preparo finalizado na cervejaria, também foi adquirida para fins de comparação. As cervejas que tiveram adição do lúpulo e do OE, foram mantidas a 15°C por 5 dias e, posteriormente, a temperatura foi reduzida para 1°C, a qual foi mantida por 7 dias para decantação e separação de sólidos (lúpulo e leveduras da fermentação), processo idêntico ao realizado na cervejaria. Após esse tempo, as cervejas foram envasadas em barris do tipo *postmix*, os quais foram carbonatados com CO_2 à 1,3 bar, sendo armazenados a 1 °C por 7 dias. Imagens dos fermentadores e *postmix* utilizados na produção das cervejas podem ser visualizados na Figura 1. Por fim, as amostras foram envasadas em *growlers* de 1L, os quais foram mantidos refrigerados até o momento das

análises sensoriais e cromatográficas, que ocorreram nos três dias subsequentes ao envase. Esse procedimento foi realizado em dois estudos diferentes, alterando a variedade e a quantidade do lúpulo utilizado.

Figura 1 – A) Fermentadores e B) Barris *postmix* utilizados na produção das cervejas.



No primeiro estudo foi utilizado o lúpulo Cascade na concentração de 1 g L^{-1} para o *pellet* e quantidade equivalente de OE, o que foi definido a partir do teor de OE desse lúpulo. Assim, no barril com 4,5 L de cerveja foram adicionados 4,5 g de lúpulo em *pellet*, resultando na cerveja denominada 1DH. No outro barril, foram adicionados 33 μL do OE desse lúpulo, e a cerveja final foi denominada 1OE. Para o segundo estudo foi utilizado o lúpulo Comet na concentração de 2 g L^{-1} de lúpulo e o equivalente de OE. Dessa forma, foram adicionados 9,0 g de lúpulo em *pellet* na cerveja que foi denominada 2DH e 181 μL do OE na cerveja denominada 2OE. A relação das cervejas preparadas pode ser observada na Tabela 1, juntamente com os nomes que serão utilizados para nomeá-las ao longo desse trabalho.

Tabela 1 – Amostras de cervejas.

Amostra	Lúpulo adicionado	Quantidade de lúpulo (<i>pellet</i> ou OE)	Concentração de lúpulo e equivalente de OE
Estudo 1			
1DH	<i>Pellet</i> Cascade	4,5 g	1 g L^{-1}
1OE	OE Cascade	33 μL	1 g L^{-1}
Pura	-	-	-
Estudo 2			
2DH	<i>Pellet</i> Comet	9,0 g	2 g L^{-1}
2OE	OE Comet	181 μL	2 g L^{-1}
Pura	-	-	-

2.3 Análises cromatográficas

Para as análises cromatográficas foram utilizados cromatógrafos a gás disponíveis no Centro de Análises de Prospecção Química da UFLA (CAPQ/UFLA). Para as análises por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) foi utilizado o equipamento Shimadzu QP-2010 Plus, equipado com o sistema AOC-5000 auto injector para extrações e injeções automáticas. As análises por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID) foram conduzidas utilizando o equipamento Shimadzu GC2010 com auto amostrador AOC-20i.

Os OEs foram caracterizados a partir de análises por GC-MS e GC-FID para identificação e quantificação dos compostos, respectivamente. Para as análises, os OEs foram diluídos para soluções 1% (v/v) em hexano, sendo feita a injeção de 1 µL dessa solução nos cromatógrafos. Para ambas análises, a temperatura do injetor foi de 220°C e a coluna utilizada foi uma SLB-5ms (5% fenil e 95% polisilfenileno siloxano). A temperatura do forno da coluna foi ajustada a 60 °C, sendo acrescida a 3 °C/min até 240 °C e, então, a 10 °C/min até 300 °C, sendo mantida nesta temperatura por 7 min, totalizando 73 min de corrida. Para as análises por GC-MS as injeções ocorreram no modo *Split* e o espectrômetro de massas operou no modo *scan*, monitorando a faixa razões massa/carga de 45 a 500 m/z. Para as análises por GC-FID a temperatura do detector foi de 300°C.

Para as análises das cervejas preparadas para os dois estudos, foram realizadas extrações por HS-SPME e, em seguida, análises por GC-MS para separação e identificação dos compostos (Nešpor *et al.*, 2019). Para as extrações foram utilizados 5 mL de cerveja, sem nenhum processo de degaseificação para evitar a perda dos compostos voláteis, sendo esse volume transferido para um vial de vidro de 20 mL, o qual foi selado com tampa contendo septo de silicone. As extrações ocorreram a partir de uma fibra de SPME com revestimento das fases polidimetilsiloxano/divinilbenzeno/carboxen (PDMS/DVB/CAR), a uma temperatura de 35°C por 40 min.

Após as extrações, as análises por GC-MS foram realizadas. A temperatura do injetor foi de 250°C, ocorrendo a dessorção dos analitos da fibra por 1 minuto, com as injeções no modo *splitless*. A coluna utilizada também foi a SLB-5ms e a temperatura do forno da coluna foi programada para 40°C, aquecendo a uma taxa de 3°C/min até 160°C, com uma segunda etapa de aquecimento a 20°C/min até 260°C, sendo mantida nesta temperatura por 2 min, totalizando 47 minutos de corrida. O espectrômetro de massas operou no modo *scan*, monitorando a faixa razões massa/carga de 40 a 350 m/z.

Tanto para os OEs quanto para as cervejas, os compostos foram identificados a partir das análises por GC-MS com a comparação dos espectros de massas obtidos com os da biblioteca NIST (do inglês, *National Institute of Standards and Technology*), considerando correspondência mínima de 80%. Para confirmar as identificações, foram utilizados os índices de retenção com programação linear de temperatura (LTPRI), considerando os tempos de retenção de uma mistura de n-alcenos como referência, sendo aceitas variação de ± 10 unidades nos LTPRI (Adams, 2007; Van den Dool, Kratz, 1963). Para os OEs, os compostos identificados por GC-MS tiveram a área integrada a partir dos cromatogramas obtidos por GC-FID. Para as análises dos voláteis de cerveja as áreas dos picos foram integradas diretamente a partir dos cromatogramas obtidos por GC-MS.

2.3.1 Análise dos dados cromatográficos

Para explorar as modificações no perfil volátil das cervejas foi realizada a análise de componentes principais (PCA) e o mapa de calor utilizando a ferramenta de processamento de dados metabolômicos disponível na internet MetaboAnalyst 6.0 (MetaboAnalyst 6.0, 2024). Para isso, as áreas absolutas dos compostos identificados em cada cerveja foram organizadas em uma matriz onde cada linha corresponde a um composto e cada coluna a uma amostra. Os dados foram autoescalados para garantir que todas as variáveis contribuíssem igualmente para o modelo.

2.4 Análises sensoriais

As características sensoriais das cervejas foram avaliadas por meio de testes sensoriais, com consumidores de cervejas maiores de 18 anos, os quais foram convidados a participar de forma voluntária, sem qualquer tipo de recompensa. As análises foram conduzidas em parceria com o laboratório de Análises Sensoriais do Departamento de Ciências dos Alimentos da UFLA. O convite para participação foi realizado pelos colaboradores do projeto, por meio de divulgação direcionada aos consumidores. Antes das análises, todos os participantes leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Os testes sensoriais ocorreram separadamente para as cervejas produzidas com lúpulo Cascade e com o lúpulo Comet. Para as cervejas preparadas por cada um dos lúpulos, as análises sensoriais ocorrem em duas etapas, em sessões distintas, com a avaliação de duas

amostras por sessão. As amostras foram codificadas com números de 3 dígitos e servidas uma por vez, de forma aleatória. Cada cerveja foi oferecida em taças ISO, em porções de 30 mL e temperatura próxima a 5°C. A avaliação foi feita em cabines individuais, com iluminação padronizada. Os participantes avaliaram uma amostra antes de receber a próxima, sendo oferecida água para limpar o paladar entre as degustações.

Na primeira etapa, foi realizada a listagem livre (*free listing*), onde os avaliadores provaram as cervejas e listaram todos os atributos sensoriais que foram identificados em cada amostra, sem limitação de tempo e de número de atributos para a listagem. Para essa etapa, foram recrutados 30 consumidores (Yoon *et al.*, 2023). Com base nos atributos mais citados, foi feita uma seleção para a segunda etapa, que consistiu na aplicação do método RATA.

No RATA, cada cerveja foi avaliada individualmente, e os consumidores foram solicitados a identificar quais dos atributos previamente selecionados estavam presentes na amostra, classificando sua intensidade em uma escala de cinco pontos, além de avaliarem a aceitação de cada amostra (Rabitti *et al.*, 2022). Para essa etapa, foram recrutados 90 participantes, consumidores de cerveja.

2.4.1 Análise dos dados sensoriais

Para explorar os dados coletados por meio do método RATA, duas abordagens distintas foram empregadas. A primeira abordagem considerou as intensidades reportadas no RATA, enquanto a segunda, de caráter exploratório, avaliou as frequências de citação dos atributos, convertendo os dados do RATA em uma estrutura comparável ao método *Check-All-That-Apply* (CATA). Essa dupla abordagem permitiu uma análise mais abrangente da capacidade discriminativa de cada metodologia. Inicialmente, um teste t foi aplicado às médias das intensidades reportadas para comparar os tratamentos. Posteriormente, os dados de RATA foram transformados em formato binário para análise em estilo CATA: respostas com intensidade maior que 0 foram registradas como 1, e respostas com intensidade igual a 0 foram registradas como 0. Com isso, foi construída uma tabela de contingência baseada na frequência de seleção de atributos, calculada pelo número de vezes que cada característica foi mencionada pelos participantes (Oppermann *et al.*, 2017).

Para avaliar diferenças significativas na frequência de menções entre as amostras, foi aplicado o teste Q de Cochran, seguindo a metodologia descrita por Meyners *et al.* (2013). Essa análise visou identificar atributos sensoriais que diferenciaram significativamente as amostras. Além disso, a relação entre os atributos sensoriais e as avaliações hedônicas

(pontuações de gosto) foi investigada utilizando a análise de coordenadas principais (Principal Coordinates Analysis, PCoA). Essa técnica permitiu a visualização da distribuição dos atributos sensoriais em relação às preferências dos consumidores, fornecendo reflexões sobre padrões perceptuais e preferências. Para quantificar o impacto individual dos atributos sensoriais nas pontuações hedônicas, foi conduzida a análise de *penalty-lift*. Essa abordagem avaliou a influência positiva ou negativa de cada atributo nas respostas de aceitação, com significância estatística definida em $p < 0,05$, conforme Ares *et al.* (2014) e Salgado *et al.* (2024).

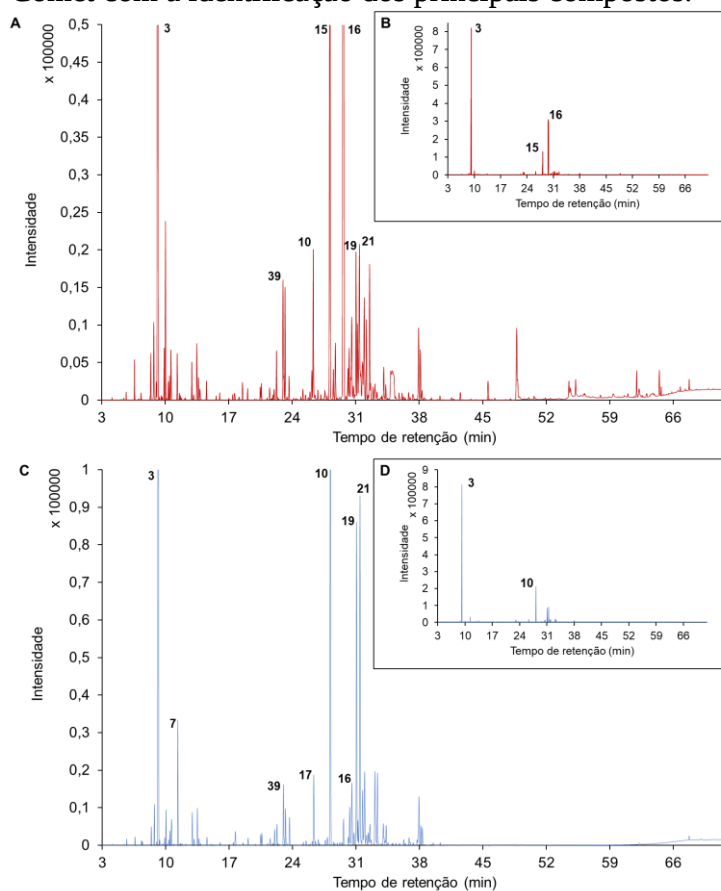
Todas as análises estatísticas e visuais foram realizadas utilizando o software XLStat 2022 (Addinsoft, Paris, França).

3 RESULTADOS

Com a extração dos OE dos lúpulos Cascade e Comet, foi obtido inicialmente o teor de óleo, sendo que para o Cascade foi de 0,74 mL por 100 g de lúpulo e para o Comet foi de 2,01 mL por 100 g. A composição desses OE foi determinada com as análises por GC-MS e GC-FID para identificação dos compostos e obtenção do teor de cada um nas amostras, respectivamente. Os resultados são exibidos na

Tabela 2 e os cromatogramas obtidos por GC-FID para os OE são apresentados na Figura 2, na qual os cromatogramas ampliados são os representados pelas letras A e C, e os cromatogramas completos pelas letras B e D.

Figura 2 – Cromatogramas completos e ampliados dos óleos essenciais dos lúpulos (A e B) Cascade e (C e D) Comet com a identificação dos principais compostos.



Legenda: Os números nos cromatogramas indicam os principais compostos conforme numeração da Tabela 2.

Tabela 2 – Composição do OE dos lúpulos Cascade e Comet (N = 2).

(Continua)

(Continuação)						
Nome	Tempo de Ret. (min)	IR Exp.	IR	% área		
				Cascade	Comet	
Monoterpenos e sesquiterpenos						
1	α -Pineno	6.61	933	932	-	0.05
2	β -Pineno	8.74	979	974	0.42	0.50
3	Mirceno	9.19	988	988	41.16	47.68
4	α -Felandreno	9.68	1007	1002	-	0.03
5	Limoneno	10.46	1029	1024	0.37	0.19
6	β -Felandreno	10.64	1030	1025	-	0.45
7	(E)- β -Ocimeno	11.33	1044	1044	0.26	1.58
8	γ -Terpineno	11.65	1057	1054	-	0.03
9	α -Copaeno	26.17	1369	1374	0.21	-
10	β -Cariofileno	28.16	1420	1417	7.35	14.81
11	Isogermacreno D	28.51	1430	1439	-	0.06
12	β -Copaeno	28.53	1430	1430	0.23	0.06
13	α -trans-Bergamoteno	28.76	1433	1432	0.42	-

Tabela 2 – Composição do óleo essencial dos lúpulos Cascade e Comet (N = 2).

(Conclusão)

	Nome	Tempo de Ret. (min)	IR Exp.	IR	% área	
					Cascade	Comet
14	Aromandendreno	29.42	1449	1440	-	0.06
15	trans- β -Farneseno	29.69	1452	1454	12.57	-
16	α -Humuleno	29.63	1456	1452	18.53	0.49
17	γ -Gurjuneno	30.53	1473	1475	-	1.35
18	γ -Muuroleno	30.57	1475	1478	0.75	-
19	β -Selineno	31.04	1489	1489	1.13	6.04
20	Germacreno D	31.20	1492	1480	0.53	-
21	α -Selineno	31.41	1496	1498	1.62	6.64
22	(E,E)- α -Farneseno	31.77	1503	1505	0.45	-
23	γ -Cadineno	32.17	1513	1513	0.60	0.24
24	δ -Cadineno	32.53	1525	1524	1.00	0.50
25	Selina-3,7(11)-dieno	33.35	1542	1545	-	1.29
26	Germacreno B	34.00	1559	1559	-	0.4
Álcool						
27	Linalol	13.48	1101	1095	0.36	0.53
Ésteres						
28	Acetato de 2-metilbutila	5.69	872	875	-	0.06
29	Isobutirato de isobutila	6.61	910	908	0.18	0.10
30	Propanoato de 2-metilbutila	8.40	966	960	0.24	0.22
31	Isobutirato de 3-metilbutila	9.88	1010	1007	0.27	0.1
32	Isobutirato de 2-metilbutila	10.02	1013	1014	0.91	0.43
33	Heptanoato de metila	10.33	1021	1021	-	0.07
34	6-Metilheptanoato de metila	12.93	1084	1068	0.22	0.44
35	Octanoato de metila	14.55	1122	1123	0.12	0.12
36	6-Metiloctanoato de metila	17.64	1191	1189	-	0.27
37	Nonanoato de metila	19.08	1222	1123	-	0.05
38	Geranato de metila	23.65	1320	1321	0.16	0.46
39	Acetato de geranila	26.32	1377	1379	1.04	1.24
40	Propanoato de geranila	30.14	1468	1475	0.22	0.69
41	Isobutirato de geranila	31.94	1506	1515	0.94	1.59
Tioésteres						
42	S-metil tiopentanoato	7.42	938	942	-	0.04
43	S-metil tiohexanoato	11.57	1055	1063	-	0.02
Cetona						
44	2-Undecanona	22.27	1291	1293	0.32	0.32
Aldeído						
45	n-Nonanal	13.66	1104	1100	0.17	0.11
% Total Identificada					92.75	89.31

No lúpulo Cascade, os compostos majoritários do óleo essencial são os mono e sesquiterpenos Mirceno, α -Humuleno, trans- β -Farneseno, β -Cariofileno, α -Selineno e β -

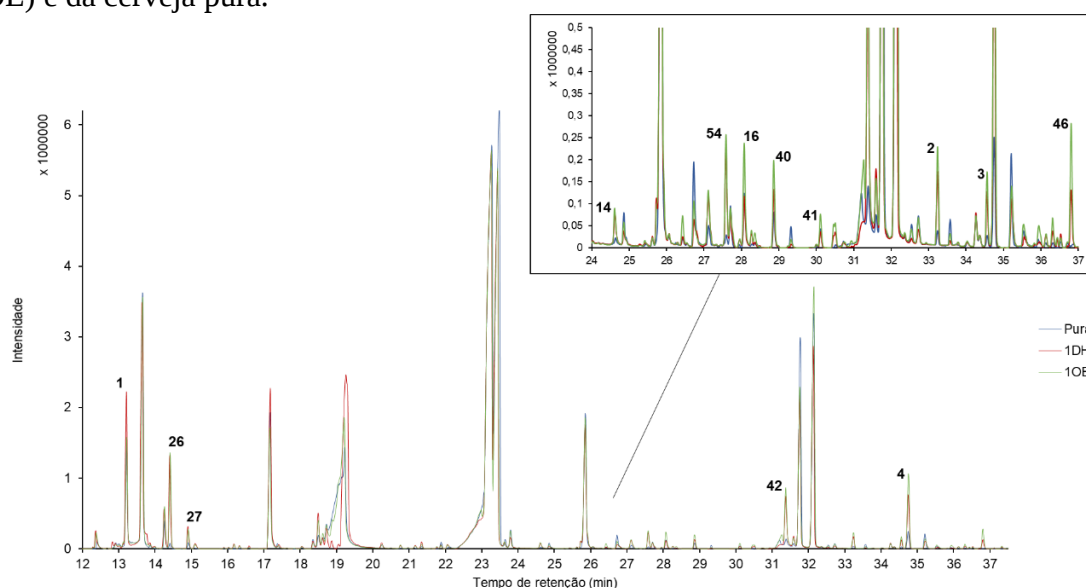
Selineno, os quais representam 82.34% da composição desse óleo. No óleo essencial do lúpulo Comet, destacam-se os mono e sesquiterpenos Mirceno, β -Cariofileno, α -Selineno, β -Selineno, (E)- β -Ocimeno, γ -Gurjuneno e Selina-3,7(11)-dieno, além dos ésteres Isobutirato de geranila e Acetato de geranila. Juntos, esses compostos somam 82.22% da composição do óleo essencial desse lúpulo.

A partir dos óleos essenciais e dos lúpulos em *pellets* foram preparadas as cervejas, as quais foram analisadas por HS-SPME-GC-MS. No estudo 1 foi utilizado o lúpulo Cascade, e no estudo 2 o lúpulo Comet.

3.1 Estudo 1 – Lúpulo Cascade

As cervejas do estudo 1, preparadas com o lúpulo Cascade, foram analisadas por HS-SPME-GC-MS e, na Figura 3 são apresentados cromatogramas sobrepostos de replicatas das cervejas 1DH, 1OE e pura. Para melhor visualização dos cromatogramas, a escala do tempo de retenção foi ajustada para ter início em 12 min. Os resultados obtidos a partir dessas análises podem ser observados na Tabela 3, onde constam os compostos identificados nas cervejas e a média de suas áreas relativas. Para melhor visualização dos dados, os valores de desvio padrão foram omitidos da Tabela 3, mas podem ser consultados na tabela completa no material suplementar (Tabela S1). Além dos compostos apresentados, o etanol também foi identificado, mas não foi apresentado.

Figura 3 – Cromatogramas sobrepostos das cervejas produzidas com o lúpulo Cascade (1DH e 1OE) e da cerveja pura.



Legenda: Os números indicam compostos do lúpulo conforme numeração da Tabela 3.

Tabela 3 – Média das áreas relativas dos compostos identificados nas cervejas pura, com DH com o lúpulo em *pellet* e com OE do lúpulo Cascade (N = 4).

(Continua)

	Nome	Tempo de Ret. (min)	IR Exp.	IR	% área		
					Pura	1DH	1OE
Monoterpenos e sesquiterpenos							
1	Mirceno	13.22	987	988	1.44	1.66	1.47
2	Cariofileno	33.24	1419	1408	0.03	0.16	0.26
3	trans-β-Farneseno	34.56	1451	1454	0.02	0.11	0.20
4	α-Humuleno	34.76	1456	1452	0.26	0.81	1.31
5	δ-Cadineno	37.33	1519	1522	-	0.02	0.04
Álcoois							
6	3-Metil 1-Butanol	4.49	733	730	3.80	4.30	4.39
7	2-Metil 1-Butanol*	4.55	736	736	1.23	1.67	1.15
8	2,3-Butanodiol*	6.20	807	802	0.08	0.13	0.09
9	2-Etil-1-hexanol	15.10	1027	1029	-	0.09	0.08
10	Linalol	18.50	1099	1095	0.18	0.54	0.44
11	Álcool feniletílico*	19.21	1113	1114	6.19	6.07	6.15
12	5-Metil-2-hexanol	21.76	1165		-	0.02	0.04
13	1-Nonanol	22.06	1171	1165	0.01	0.07	0.08
14	Citronelol	24.62	1223	1223	0.02	0.08	0.10
15	1-Decanol*	26.73	1267	1266	0.23	0.09	0.16
16	2-Undecanol	28.08	1294	1301	0.14	0.18	0.32
Ésteres							
17	Butanoato de etila	5.95	799	802	0.22	0.24	0.30
18	Acetato de 3-metil-1-butila	8.46	875	869	5.34	6.26	6.08
19	Acetato de 2-metil-1-butila*	8.51	876	877	0.70	0.93	0.86
20	Isobutirato de isobutila	9.89	913	908	0.03	0.29	0.13
21	Propionato de 3-metilbutila	12.30	967	969	-	0.03	0.02
22	Propanoato de pentila	12.38	969	972	0.10	0.33	0.30
23	Hexanoato de etila*	13.66	997	997	4.60	4.78	3.45
24	Isovalerato de isobutila	14.00	1004	1005	-	0.02	0.03
25	Isobutirato de 3-metilbutila	14.26	1010	1017	0.36	0.60	0.61
26	Isobutirato de 2-metilbutila	14.42	1013	1014	0.07	1.33	1.31
27	4-Metilenhexanoato de metila	14.91	1024		0.08	0.33	0.29
28	Isobutirato de pentila	16.03	1047	1057	-	0.02	0.02
29	Isobutirato de (E)-2-metilbuta-2-en-1-ila	16.18	1050	1059	-	0.08	0.07
30	5-Metilhexanoato de etila	16.59	1059	1064	-	0.04	0.03
32	2-Metilbutil 2-metilbutanoato	18.62	1101	1107	0.13	0.18	0.24
33	2-Metilbutil 3-metilbutanoato	18.88	1107	1110	0.02	0.12	0.51
34	Isobutirato de n-hexila	20.76	1145	1145	-	0.04	0.06
35	Octanoato de etila*	23.26	1196	1196	14.70	13.09	14.54
36	Acetato de octila*	23.79	1207	1211	0.26	0.14	0.28

Tabela 3 – Média das áreas relativas dos compostos identificados nas cervejas pura, com DH com o lúpulo em *pellet* e com OE do lúpulo Cascade (N = 4).

(Conclusão)							
	Nome	Tempo de Ret. (min)	IR Exp.	IR	% área		
					Pura	1DH	1OE
37	Acetato de nonan-2-il*	24.86	1228	1236	0.08	0.04	0.07
38	Acetato de 2-fenetil*	25.85	1249	1245	2.47	2.35	2.63
39	Nonanotato de etila*	27.71	1286	1294	0.11	0.10	0.14
40	trans-Geranato de metila	28.87	1309	1316	0.08	0.14	0.25
41	Acetato de citrionelol	30.11	1341	1354	0.05	0.04	0.10
42	Acetato de geranila	31.38	1373	1379	0.30	0.88	1.57
43	9-Decenoato de etila*	31.76	1382	1384	3.87	2.64	3.17
44	Decanoato de etila*	32.15	1392	1395	4.44	3.64	5.78
45	Octanoato de 3-metilbutila*	34.27	1444	1442	0.09	0.09	0.10
46	Isobutanoato de geranila	36.81	1505	1514	-	0.15	0.37
47	Dodecanoato de etila	40.23	1593	1594	0.89	1.56	2.11
48	Acetato de dodecila*	40.68	1605	1607	0.02	0.01	0.03
Ácidos							
49	Ácido acético*	3.33	661	665	0.12	0.17	0.12
50	Ácido octanoico*	22.99	1190	1167	2.38	2.70	2.58
51	Ácido decanóico*	31.26	1370	1373	0.23	0.13	0.27
Cetonas							
52	2-Nonanona	18.04	1089	1090	-	0.04	0.04
53	2-Decanona	21.17	1153	1190	-	0.05	0.05
54	2-Undecanona	27.59	1284	1293	0.03	0.25	0.35
55	2-Dodecanona	30.47	1350	1348	-	0.06	0.12
Aldeídos							
56	1-Octanal*	13.87	1002	998	0.02	0.02	0.03
57	Nonanal	18.72	1103	1100	0.27	0.29	0.39
Hidrocarboneto							
58	3-Metilundecano*	21.88	1168	1171	0.10	0.05	0.03

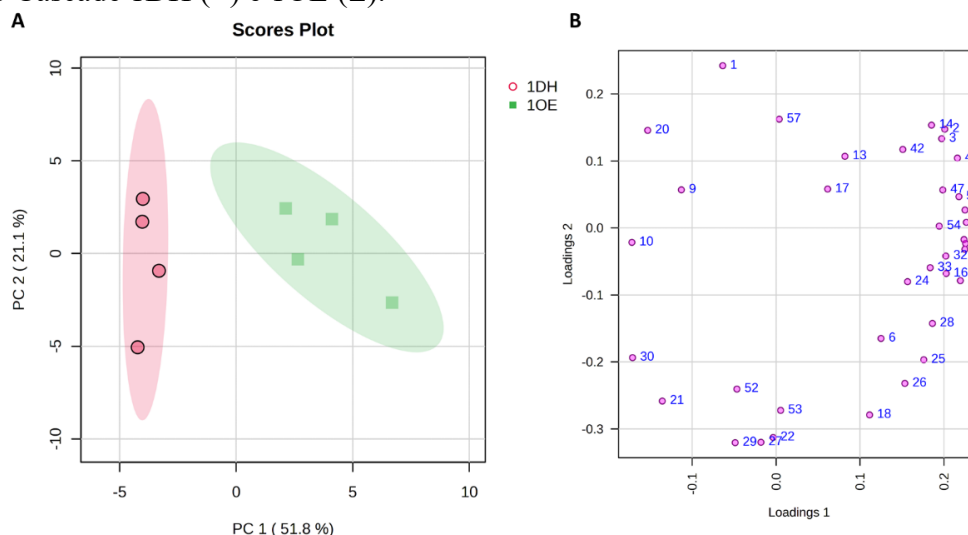
*Compostos não incluídos na PCA e mapa de calor.

A partir dos dados da Tabela 3 nota-se que todos os compostos identificados na cerveja 1DH também foram identificados na cerveja 1OE, enquanto na cerveja pura um número menor de compostos foi identificado. Quanto às cervejas 1DH e 1OE, para alguns compostos nota-se diferenças entre as áreas relativas, sendo a média das áreas de alguns compostos maiores nas amostras DH e outros nas amostras OE. Para entender melhor como esses compostos variam entre as duas formas de utilização do lúpulo, foi feita a PCA (Figura 4) e o mapa de calor (Figura 5) a partir dos dados de área dos compostos. Para isso, não foram incluídos os compostos que estavam presentes na cerveja pura que não são diretamente

relacionados ao lúpulo e que mantiveram áreas relativas próximas às das cervejas 1DH e 1OE (indicados na Tabela 3).

Com o gráfico de *scores* da PCA (Figura 4A), observa-se a separação entre as amostras 1OE e 1DH na PC1, a qual explica 51,8% dos dados. Com o gráfico de *loadings* (Figura 4B) pode-se verificar os compostos responsáveis pela diferenciação entre as duas cervejas. No gráfico de *loadings* é observado um maior número de compostos na região positiva da PC1, dentre eles está a maioria dos ésteres identificados nas cervejas, álcoois, cetonas e os quatro sesquiterpenos identificados, os quais também estão presentes no OE do lúpulo cascade, sendo eles o Cariofileno (2), o trans- β -Farneseno (3), o α -Humuleno (4) e o δ -Cadineno (5). Esses compostos apresentaram maior destaque na cerveja com OE, uma vez que, no gráfico de *scores*, essas cervejas se encontram na região positiva da PC1. Para região negativa da PC1, que corresponde a posição da cerveja com lúpulo em *pellet*, destacaram, principalmente, o 2-Etil-1-hexanol (9), o Linalool (10), e os ésteres Isobutirato de isobutila (20), Propionato de 3-metilbutila (21) e 5-Metilhexanoato de etila (30). Ainda na região entre -0,1 e +0,1, encontram-se compostos com pouca influência no modelo da PCA, dentre os quais está o Mirceno (1), composto majoritário do lúpulo cascade.

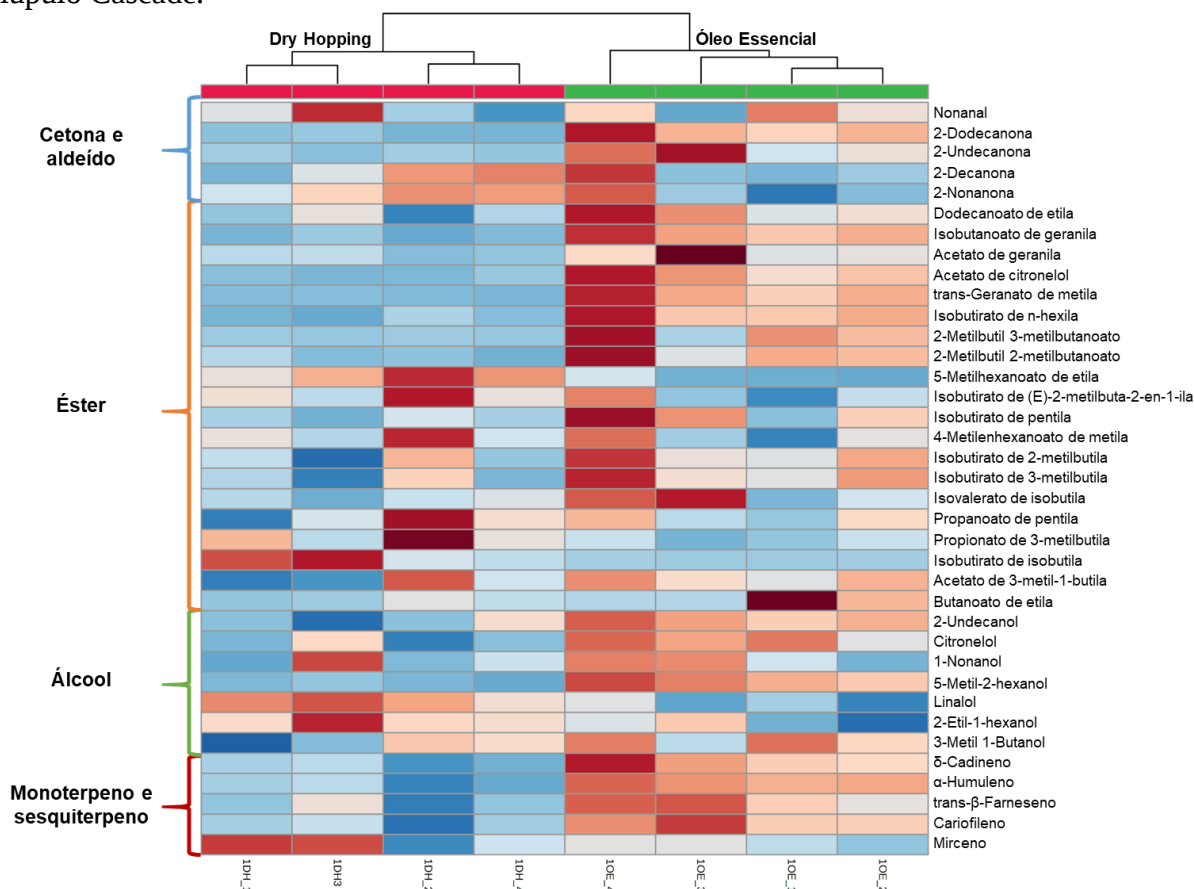
Figura 4 – Gráfico de (A) *scores* e (B) *loadings* para a PCA das cervejas preparadas com lúpulo Cascade 1DH (●) e 1OE (■).



Legenda: 1. Mirceno; 2. Cariofileno; 3. trans- β -Farneseno; 4. α -Humuleno; 5. δ -Cadineno; 6. 3-Metil-1-Butanol; 9. 2-Etil-1-hexanol; 10. Linalol; 12. 5-Metil-2-hexanol; 13. 1-Nonanol; 14. Citronelol; 16. 2-Undecanol; 17. Butanoato de etila; 18. Acetato de 3-metil-1-butila; 20. Isobutirato de isobutila; 21. Propionato de 3-metilbutila; 22. Propanoato de pentila; 24. Isovalerato de isobutila; 25. Isobutirato de 3-metilbutila; 26. Isobutirato de 2-metilbutila; 27. 4-Metilenhexanoato de metila; 28. Isobutirato de pentila; 29. Isobutirato de (E)-2-metilbuta-2-en-1-ila; 30. 5-Metilhexanoato de etila; 32. 2-Metilbutil-2-metilbutanoato; 33. 2-Metilbutil-3-metilbutanoato; 34. Isobutirato de n-hexila; 40. trans-Geranato de metila; 41. Acetato de citronelol; 42. Acetato de geranila; 46. Isobutanoato de geranila; 47. Dodecanoato de etila; 52. 2-Nonanona; 53. 2-Decanona; 54. 2-Undecanona; 55. 2-Dodecanona; 57. Nonanal.

Com os mesmos dados foi construído o mapa de calor (Figura 5) com o qual pode-se observar o padrão de distribuição dos compostos em cada replicata avaliada das cervejas, sendo os compostos em vermelho aqueles com maiores áreas de pico e em azul com menores áreas de pico, e a intensidade da cor referente à escala. Para as cervejas 1OE observa-se que os compostos que são que mais intensos quando comparados às cervejas 1DH são mesmos que também se destacaram na PCA para essas amostras.

Figura 5 – Mapa de calor dos compostos voláteis presentes nas cervejas preparadas com lúpulo Cascade.



No intuito de verificar se as diferenças nas concentrações dos compostos influenciaram nas características das cervejas, para as mesmas amostras, análises sensoriais foram realizadas simultaneamente às análises cromatográficas. Foram avaliados pelo método RATA os 27 atributos selecionados a partir do *free listing* e, apesar das diferenças observadas para os compostos voláteis, a maioria dos atributos não apresentou diferença significativa na frequência de citações e na intensidade. Os resultados obtidos para cada atributo são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Frequência de citações e intensidade RATA e análises de significância dos atributos avaliados para as cervejas preparadas com o lúpulo Cascade.

Atributos	Frequência de citações RATA (%)			Intensidade RATA		
	1DH	1OE	p-valor Q de Cochran	1DH	1OE	p-valor teste t
Cor amarelo característico de cerveja tipo pilsen	91,4	87,7	0,405	3,198	3,111	0,686
Limpidez/translucidez	51,9	50,6	0,827	1,901	1,827	0,807
Presença de espuma	66,7	70,4	0,467	1,531	1,506	0,908
Turbidez/Opaca	38,3	40,7	0,670	1,000	1,099	0,667
Transparente	28,4	25,9	0,564	1,123	1,136	0,957
Aroma de Malte/Cevada	45,7	59,3	0,028*	1,457	2,025	0,042*
Aroma de Floral	32,1	24,7	0,180	1,049	0,741	0,196
Aroma de Ervas/Herbáceo	28,4	23,5	0,371	0,914	0,679	0,303
Aroma de Doce	18,5	16,0	0,637	0,642	0,494	0,482
Aroma de Lúpulo	48,1	45,7	0,683	1,630	1,444	0,511
Aroma de Característico de cerveja tipo pilsen	51,9	50,6	0,841	1,963	1,901	0,845
Aroma de Fermentado/Levedura/Mosto	40,7	34,6	0,297	1,284	1,074	0,411
Aroma de Cítrico	28,4	24,7	0,577	0,802	0,654	0,484
Sabor Alcoólico	35,8	29,6	0,275	1,148	0,864	0,246
Sabor Frutado	28,4	24,7	0,467	0,914	0,802	0,643
Sabor Característico de cerveja tipo pilsen	38,3	50,6	0,025*	1,407	1,815	0,175
Sabor Fermentado/Levedura/Mosto	25,9	30,9	0,433	0,926	0,938	0,960
Sabor Doce	19,8	24,7	0,394	0,667	0,753	0,703
Sabor Lúpulo	44,4	44,4	1,000	1,568	1,481	0,763
Sabor Malte	38,3	40,7	0,695	1,309	1,370	0,824
Sabor Amargo	56,8	46,9	0,170	1,951	1,259	0,013*
Sabor Refrescante	49,4	58,0	0,144	1,926	2,222	0,359
Picância	14,8	11,1	0,467	0,457	0,333	0,490
Sabor Cítrico	28,4	19,8	0,144	0,914	0,728	0,449
Carbonatação	63,0	71,6	0,090	2,173	2,235	0,824
Encorpado	53,1	49,4	0,564	1,691	1,519	0,517

*Indica uma diferença significativa com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

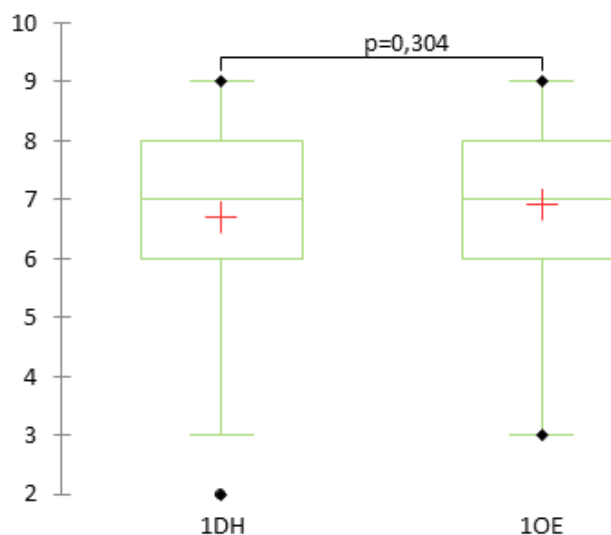
Conforme apresentado na Tabela 4, os avaliadores citaram 27 atributos diferentes relacionados ao aroma, sabor e outras características das cervejas. A frequência de citação dos atributos, analisada pelo teste Q de Cochran, indicou diferenças significativas apenas para os atributos "Aroma de Malte/Cevada" ($p = 0,028$) e "Sabor Característico de cerveja tipo pilsen" ($p = 0,025$). O atributo "Aroma de Malte/Cevada" foi mais frequentemente citado na cerveja 1OE, o que também foi corroborado pela intensidade média significativamente maior observada para este atributo (média = 2,025) em comparação à cerveja 1DH (média = 1,457).

O “Sabor Característico de cerveja tipo pilsen” apresentou maior frequência de citações na cerveja 1OE (média = 50,6), mas na intensidade não houve diferença significativa entre as amostras. Além disso, foi observada uma diferença significativa para intensidade do atributo “Sabor Amargo” ($p = 0,013$), sendo que a cerveja 1DH apresentou uma intensidade média significativamente mais elevada (média = 1,951) em relação à 1OE. Os demais atributos foram mencionados para as duas cervejas, mas não apresentaram diferenças estatisticamente significativas na frequência de citações nem na intensidade, o que sugere características comuns entre as cervejas.

De modo geral, os resultados do RATA indicam que a cerveja com OE se destacou em atributos associados ao aroma de malte/cevada e ao sabor característico da cerveja tipo *pilsen*, enquanto a cerveja com lúpulo em *pellet* apresentou maior intensidade de sabor amargo.

Com a avaliação da aceitação das cervejas, verificou-se que não houve diferença significativa entre a média das notas ($p = 0,304$), sendo de 6,70 para 1DH e de 6,92 para 1OE. A Figura 6 apresenta os *boxplots* das notas de aceitação, sendo a nota média representada pela cruz vermelha e as notas máximas e mínimas pelos pontos pretos.

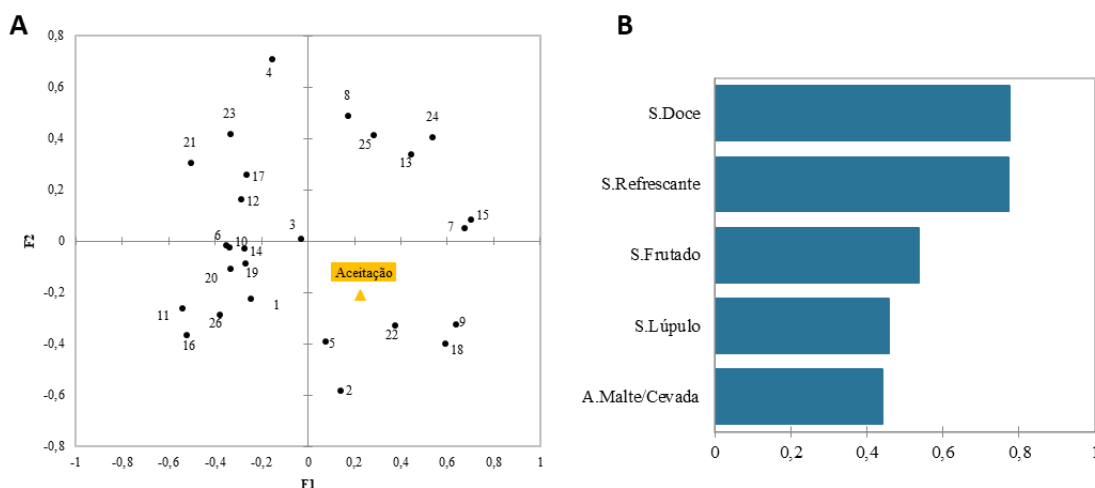
Figura 6 – *Boxplots* das notas de aceitação das amostras 1DH e 1OE.



Com os resultados da PCoA e da análise de *penalty-lift*, apresentadas na Figura 7, pode-se relacionar os atributos à aceitação das cervejas com lúpulo Cascade. Através da PCoA pode-se observar os atributos que contribuíram positivamente para a aceitação das cervejas, os quais se encontram mais próximos a ela no gráfico. Dentre esses atributos estão a “limpidez/translucidez” (2), “transparente” (5), “aroma doce” (9), “sabor doce” (18) e “sabor refrescante” (22). Com a análise de *penalty-lift*, o “sabor doce” e “sabor refrescante” também

apresentaram contribuição positiva, além do “sabor frutado”, “sabor de lúpulo” e “aroma malte/cevada”.

Figura 7 – (A) PCoA e (B) análise de *penalty-lift* do RATA realizado para as cervejas preparadas com lúpulo Cascade.

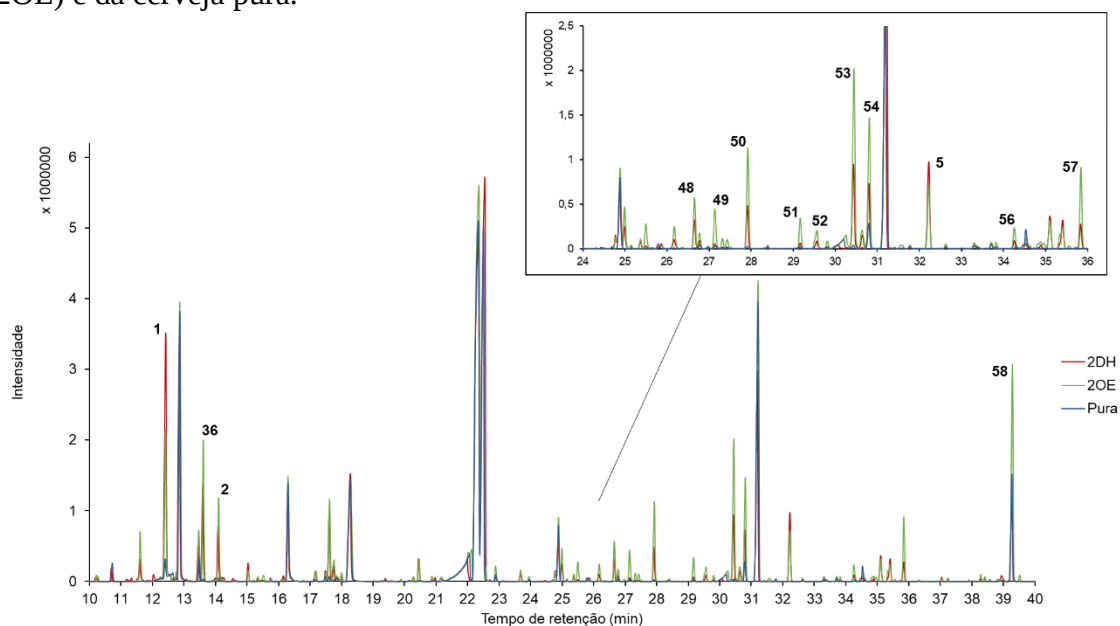


1- Cor amarelo característico de cerveja tipo pilsen; 2 - Limpidez/translucidez; 3 - Presença de espuma; 4 - Turbidez/Opaca; 5 - Transparente; 6 - Aroma de Malte/Cevada; 7 - Aroma de Floral; 8 - Aroma de Ervas/Herbáceo; 9 - Aroma de Doce; 10 - Aroma de Lúpulo; 11 - Aroma de Característico de cerveja tipo pilsen; 12 - Aroma de Fermentado/Levedura/Mosto; 13- Aroma de Cítrico; 14 - Sabor Alcoólico; 15 - Sabor Frutado; 16 - Sabor Característico de cerveja tipo pilsen; 17 - Sabor Fermentado/Levedura/Mosto; 18 - Sabor Doce; 19 - Sabor Lúpulo; 20 - Sabor de Malte; 21 - Sabor Amargo; 22 - Sabor Refreshcante; 23 - Picância; 24 - Sabor Cítrico; 25 - Carbonatação; 26 - Encorpado; 27 - Retrogosto; 28 - Sabor de Ervas/Herbáceo; 29 - Aroma Frutado.

3.2 Estudo 2 – Lúpulo Comet

Para as cervejas preparadas com o lúpulo Comet, também foi possível identificar as diferenças entre os cromatogramas, conforme pode ser observado nos cromatogramas sobrepostos da Figura 8, e nas áreas relativas médias dos compostos identificados que são apresentadas na Tabela 5. Assim como para o estudo 1, a escala de tempo de retenção dos cromatogramas da Figura 8 teve início em 10 min para melhor visualização e o etanol não foi apresentado nos compostos identificados da Tabela 5. Na cerveja pura, observa-se um número reduzido de picos, enquanto na cerveja que passou pelo DH com o lúpulo em *pellet* (2DH) e na cerveja com OE (2OE), com exceção de três compostos, é observada a presença dos mesmos picos, entretanto, com alterações na intensidade de alguns a depender da forma de adição do lúpulo. A tabela completa com as áreas relativas médias os valores de desvio padrão pode ser consultada no material suplementar (Tabela S2).

Figura 8 – Cromatogramas sobrepostos das cervejas produzidas com o lúpulo Comet (2DH e 2OE) e da cerveja pura.



Legenda: Os números indicam compostos do lúpulo conforme numeração da Tabela 5.

Tabela 5 – Média das áreas relativas dos compostos identificados nas cervejas pura, com DH com o lúpulo Comet em *pellet* e com OE do lúpulo Comet (N = 4).

(Continua)

Composto	Tempo de Ret. (min)	IR Exp.	IR	% área			
				Pura	2DH	2OE	
Monoterpenos e Sesquiterpenos							
1	Mirceno	12.42	989	988	0.48	4.77	2.04
2	Limoneno	14.21	1028	1024	-	0.04	0.02
3	β-Felandreno	14.26	1029	1025	-	0.05	0.02
4	(Z)-β-Ocimeno	15.03	1045	1032	-	0.27	0.12
5	β-Cariofileno	32.22	1419	1417	-	1.14	0.69
6	α-Humuleno	33.71	1454	1452	0.08	0.06	0.05
7	β-Selineno	35.11	1488	1489	-	0.44	0.32
8	α-Selineno	35.41	1495	1498	-	0.42	0.25
9	Selina-4(19),11-dieno	37.04	1536	-	-	0.06	0.04
10	Selina-3,7(11)-dieno	37.24	1542	1545	-	0.04	0.04
Álcoois							
11	3-Metil 1-Butanol*	4.00	721	731	4.18	3.33	3.12
12	2-Metil 1-Butanol*	4.06	723	724	1.38	1.03	0.97
13	1-Octeno-3-ol	12.03	980	981	-	0.11	-
14	Linalol	17.61	1100	1095	0.09	1.12	1.23
15	2-Decanol	17.74	1102	1198	-	0.35	0.34
16	Álcool feniletílico*	18.28	1114	1117	3.56	2.81	2.89

Tabela 5 – Média das áreas relativas dos compostos identificados nas cervejas pura, com DH com o lúpulo Comet em *pellet* e com OE do lúpulo Comet (N = 4).

(Continuação)							
Composto		Tempo de Ret. (min)	IR Exp.	IR	% área		
					Pura	2DH	2OE
Álcoois							
17	Citronelol	23.68	1227	1228	-	0.14	0.17
18	Geraniol	24.78	1251	1249	-	0.18	0.14
19	Isômero ramificado do 2-Undecanol	25.50	1266		-	0.04	0.26
20	2-Undecanol*	27.14	1301	1303	0.05	0.10	0.45
21	Dodecanol*	34.53	1474	1469	0.35	0.26	0.15
Ésteres							
22	Propanoato de etila*	3.53	702	711	0.04	0.03	-
23	1,1-Dietoxyetano*	3.80	713	725	3.29	2.69	2.95
24	Acetato de isobutila*	4.73	750	761	0.07	0.05	0.05
25	Butanoato de etila*	5.37	775	802	0.35	0.26	0.26
26	1,1-Dietoxy-2-metilpropano*	7.04	840	859	0.08	0.06	0.07
27	Acetato de isoamila*	7.76	867	869	6.76	5.24	5.11
28	Acetato de 2-metilbutila*	7.83	869	877	0.89	0.71	0.77
29	Pentanoato de etila*	8.63	900	901	0.11	0.10	0.10
30	Isobutirato de isobutila	9.16	912	908	-	0.18	0.19
31	1,1-Dietoxi-3-metilbutano*	10.70	948	955	0.23	0.21	0.23
32	4-Metilpentanoato de etila	11.33	963	969	-	0.04	-
33	Propionato de 2-metilbutila	11.59	969	969	-	0.31	0.54
34	Hexanoato de etila*	12.85	999	997	5.58	4.14	3.01
35	Isobutirato de 3-metilbutila	13.45	1012	1013	-	0.60	0.68
36	Isobutirato de 2-metilbutila	13.59	1015	1017	-	1.31	1.60
37	4-Metilenhexanoato de metila	14.08	1025		-	0.79	0.98
38	Isobutirato de (E)-2-metil-2-butenila	15.33	1052	1059	-	0.04	0.06
39	5-Metilhexanoato de etila	15.75	1060	1064	-	0.04	0.02
40	Isômero do heptanoato de etila	16.15	1069		-	0.07	0.05
41	Heptanoato de etila	17.49	1097	1097	-	0.19	0.11
42	Isômero do octanoato de etila	20.45	1159		-	0.37	0.25
43	Octanoato de etila	22.34	1199	1196	-	13.74	9.98
44	Acetato de octila*	22.89	1210	1211	0.12	0.08	0.18
45	Acetato de 2-nonanol	23.95	1233	1236	-	0.02	0.05
46	Acetato de β-feniletila*	24.88	1253	1256	1.15	0.82	1.04
47	Isômero do nonanoato de etila	25.37	1263		-	0.10	0.08
48	Nonanoato de etila	26.77	1293	1294	0.06	0.11	0.16
49	Acetato de n-nonila	27.43	1308	1309	-	0.01	0.08
50	Geranato de metila	27.91	1319	1322	0.04	0.58	1.09
51	Acetato de citronelol	29.17	1348	1354	0.02	0.08	0.30
52	Acetato de nerila	29.56	1357	1359	-	0.12	0.25
53	Acetato de geranila	30.43	1377	1379	-	1.24	2.26

Tabela 5 – Média das áreas relativas dos compostos identificados nas cervejas pura, com DH com o lúpulo Comet em *pellet* e com OE do lúpulo Comet (N = 4).

					(Conclusão)		
Composto		Tempo de Ret. (min)	IR Exp.	IR	% área		
					Pura	2DH	2OE
Ésteres							
54	9-Decenoato de etila	30.80	1385	1388	0.43	0.94	1.34
55	Decanoato de etila*	31.19	1394	1396	8.50	4.26	5.38
56	Propanoato de geranila	34.26	1468	1475	-	0.18	0.24
57	Isobutirato de geranila	35.84	1506	1514	-	0.35	0.81
58	Dodecanoato de etila	39.26	1593	1594	-	1.74	3.54
Tioésteres							
59	S-metil tiopentanoato	10.19	936	942	-	0.05	0.07
60	S-metil tio-3-metilbutanoato	10.25	938	938	-	0.03	0.05
61	S-metil tiohexanoato	15.52	1056	1063	-	-	0.10
Cetonas							
62	2-Nonanona	17.17	1090	1087	-	0.21	0.17
63	2-Decanona	20.28	1155		-	0.06	0.04
64	Isômero ramificado da 2-Undecanona	24.99	1255	1293	-	0.30	0.40
65	2-Undecanona	26.65	1291	1293	-	0.40	0.51

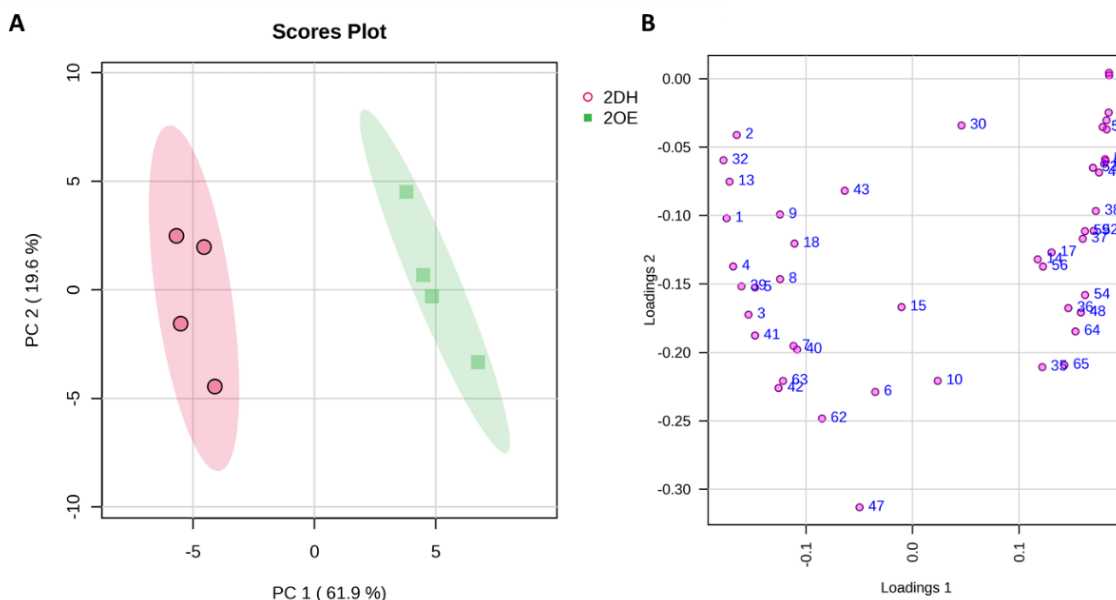
*Compostos não incluídos na PCA e mapa de calor.

Para melhor compreensão de como os compostos se diferenciam nas cervejas com DH e com OE, foi feita a PCA (Figura 9) e o mapa de calor (Figura 10) a partir dos dados de cada um dos compostos, excluindo aqueles que estão presentes na cerveja pura em quantidades próximas às cervejas com lúpulo e que não são compostos provenientes do lúpulo (destacados na Tabela 5).

Na PCA (Figura 9A), nota-se no gráfico de *scores* a separação entre as cervejas 2DH e 2OE na PC1, a qual explica 61,9% dos dados. Com o gráfico de *loadings* (Figura 9B) observa-se as variáveis que causaram essa separação. Na região negativa da PC1 no gráfico de *loadings*, que corresponde a região onde se concentra as amostras 2DH, estão os mono e sesquiterpenos Mirceno (1), Limoneno (2), β -Felandreno (3), (Z)- β -Ocimeno (4), β -Cariofileno (5), α -Humuleno (6), β -Selineno (7), α -Selineno (8) e Selina-4(19),11-dieno (9), o álcool terpênico Geraniol (18) e alguns ésteres mais leves. Na região positiva da PC1 estão localizados os compostos que se destacaram na cerveja 2OE, dentre eles os ésteres mais pesados, a partir do isômero do nonanotato de etila (47), como o Geranato de metila (50), o Acetato de citrionelol (51), o Acetato de nerila (52) e o Acetato de geranila (53). Os tioésteres (59, 60 e 61) também estão nessa região, além os demais álcoois, dentre eles o Linalol (14) e

Citronelol (17), e as demais cetonas que não foram identificadas na região correspondente a cerveja 2DH.

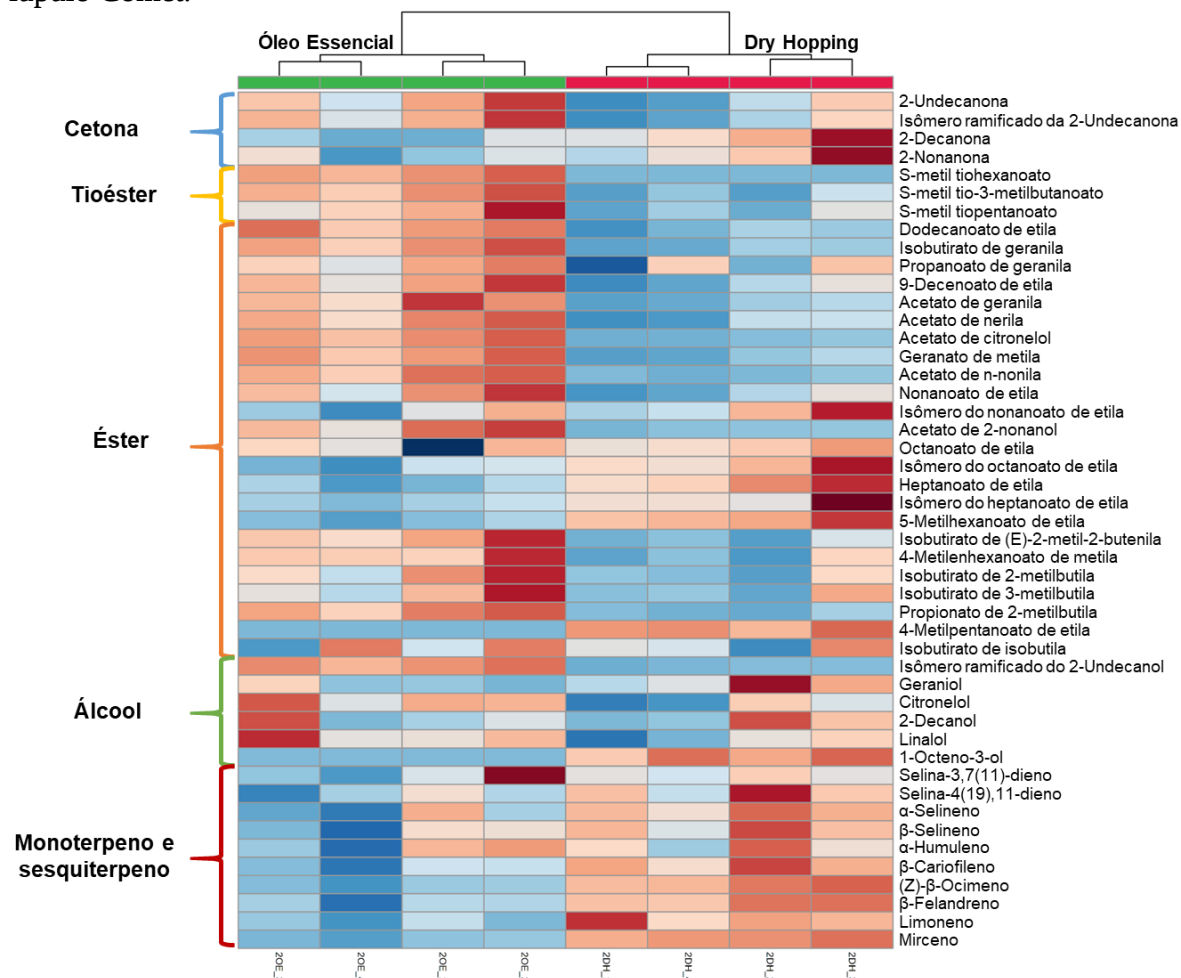
Figura 9 – Gráfico de (A) *scores* e (B) *loadings* para a PCA das cervejas preparadas com lúpulo Comet 2DH (●) e 2OE (■).



Legenda: 1. Mirceno; 2. Limoneno; 3. β -Felandreno; 4. (Z)- β -Ocimeno; 5. β -Cariofileno; 6. α -Humuleno; 7. β -Selineno; 8. α -Selineno; 9. Selina-4(19),11-dieno; 10. Selina-3,7(11)-dieno; 13. 1-Octeno-3-ol; 14. Linalol; 15. 2-Decanol; 17. Citronelol; 18. Geraniol; 19. Isômero ramificado do 2-Undecanol; 30. Isobutirato de isobutila; 32. 4-Metilpentanoato de etila; 33. Propionato de 2-metilbutila; 35. Isobutirato de 3-metilbutila; 36. Isobutirato de 2-metilbutila; 37. 4-Metilenhexanoato de metila; 38. Isobutirato de (E)-2-metil-2-butenila; 39. 5-Metilhexanoato de etila; 40. Isômero do heptanoato de etila; 41. Heptanoato de etila; 42. Isômero do octanoato de etila; 43. Octanoato de etila; 45. Acetato de 2-nonanol; 47. Isômero do nonanoato de etila; 48. Nonanoato de etila; 49. Acetato de n-nonila; 50. Geranato de metila; 51. Acetato de citronelol; 52. Acetato de nerila; 53. Acetato de geranila; 54. 9-Decenoato de etila; 56. Propanoato de geranila; 57. Isobutirato de geranila; 58. Dodecanoato de etila; 59. S-metil tiopentanoato; 60. S-metil tio-3-metilbutanoato; 61. S-metil tiohexanoato; 62. 2-Nonanona; 63. 2-Decanona; 64. Isômero ramificado da 2-Undecanona; 65. 2-Undecanona.

Com o mapa de calor (Figura 10) é observada a mesma tendência mencionada para PCA e para as áreas relativas. O vermelho mais intenso para os mono e sesquiterpenos na cerveja 2DH indica a maior presença deles quando o lúpulo em *pellet* é utilizado, enquanto para a cerveja com OE nota-se a maior presença dos ésteres mais pesados e dos tioésteres.

Figura 10 – Mapa de calor dos compostos voláteis presentes nas cervejas preparadas com lúpulo Comet.



Com os resultados de área relativa média, PCA e mapa de calor, nota-se que o mirceno se destaca mais na amostra 2DH. Essa mesma tendência pode ser observada para os demais monoterpenos e também os sesquiterpenos (compostos 1 a 10). Para os álcoois (compostos 11 a 21), nota-se que os compostos variam, sendo alguns mais intensos na amostra 2DH, como o Geraniol (18), e outros mais intensos na 2OE, como o Citrionelol (17). Para os ésteres (compostos 22 a 58), de forma geral, também observa-se uma variação para aquelas mais leves. Entretanto, a partir do acetato de octila (composto 44), verifica-se, em geral, maiores áreas para a cerveja 2OE, dentre os quais se destacam os ésteres derivados de terpenos, sendo eles o Geranato de metila (50), o Acetato de citrionelol (51), o Acetato de nerila (52), o Acetato de geranila (53), o Propanoato de geranila (56) e o Isobutirato de geranila (57). Três tioésteres foram identificados nas cervejas (compostos 59, 60 e 61), dos quais, o S-metil tiopentanoato e o S-metil tiohexanoato foram identificados no OE do lúpulo. Os três apresentaram maiores áreas relativas na cerveja 2OE, e o S-metil tiohexanoato não foi

identificado na cerveja 2DH. Quatro cetonas também foram identificadas nas cervejas, para as quais não foi observada uma distinção clara entre OE e DH.

Os impactos das diferenças observadas para os compostos foram avaliados com análises sensoriais, demonstrando que para a maioria dos atributos não houve diferença significativa entre o DH e o uso do OE. Os resultados para cada atributo avaliado com o método RATA são exibidos na Tabela 6. Para a frequência de citações, o atributo "Aroma de Malte/Cevada" ($p = 0,050$) apresentou diferença significativa, sendo mais citado na cerveja com OE (2OE), entretanto, para intensidade não houve diferença significativa entre as cervejas 2DH (média = 1,523) e 2OE (média = 1,920). Para o atributo "Sabor Amargo" também foi observada uma diferença significativa na frequência de citações ($p = 0,016$), o que também ocorreu para a intensidade deste atributo, apresentando uma média maior para a cerveja 2DH (média = 1,693) em comparação a 2OE (média = 1,000). Os demais atributos não apresentaram diferenças significativas na frequência de citações nem na intensidade para as duas formas de adição do lúpulo.

Tabela 6 – Frequência de citações e intensidade RATA e análises de significância dos atributos avaliados para as cervejas preparadas com o Comet.

(Continua)

Atributos	Frequência de citações RATA (%)			Intensidade RATA		
	2DH	2OE	p-valor	2DH	2OE	p-valor
Cor amarelo característico de cerveja tipo pilsen	90,9	90,9	1,000	3,330	3,114	0,297
Limpidez/translucidez	51,1	56,8	0,336	1,86	1,909	0,747
Presença de espuma	53,4	60,2	0,257	1,068	1,295	0,259
Turbidez/Opaca	50,0	45,5	0,433	1,716	1,455	0,335
Aroma de Malte/Cevada	46,6	56,8	0,050*	1,523	1,920	0,139
Aroma de Frutado	55,7	47,7	0,223	2,023	1,716	0,297
Aroma de Ervas/Herbáceo	31,8	26,1	0,251	1,102	0,864	0,342
Aroma de Doce	33,0	33,0	1,000	1,102	1,057	0,855
Aroma de Lúpulo	43,2	47,7	0,433	1,511	1,693	0,523
Aroma de Característico de cerveja tipo pilsen	38,6	38,6	1,000	1,466	1,557	0,764
Aroma de Fermentado/Levedura/Mosto	39,8	31,8	0,223	1,352	1,080	0,292
Aroma de Cítrico	38,6	43,2	0,505	1,261	1,466	0,435
Carbonatação	55,7	56,8	0,862	1,784	1,841	0,830
Encorpado	61,4	59,1	0,715	2,000	1,886	0,664
Sabor Alcoólico	26,1	23,9	0,655	0,795	0,670	0,542
Sabor Frutado	47,7	46,6	0,847	1,557	1,602	0,869
Sabor Característico de cerveja tipo pilsen	43,2	38,6	0,394	1,716	1,500	0,478

Tabela 6 – Frequência de citações e intensidade RATA e análises de significância dos atributos avaliados para as cervejas preparadas com o Comet.

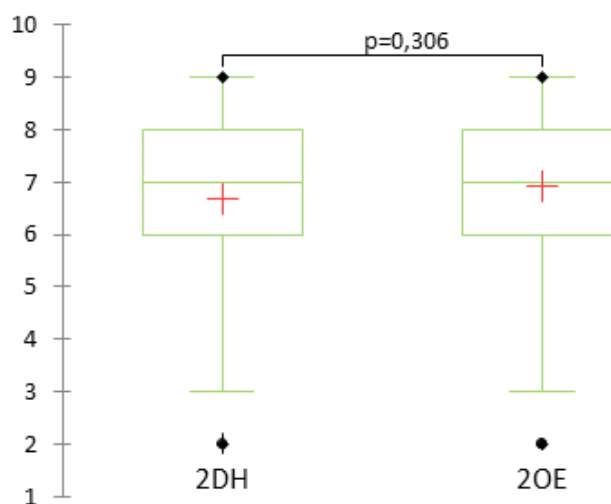
(Conclusão)

Atributos	Frequência de citações RATA (%)			Intensidade RATA		
	2DH	2OE	p-valor	2DH	2OE	p-valor
Sabor Fermentado/Levedura/Mosto	34,1	28,4	0,369	1,182	0,977	0,424
Sabor Doce	26,1	33,0	0,239	0,864	1,102	0,328
Sabor Lúpulo	39,8	43,2	0,564	1,250	1,386	0,591
Sabor Malte	42,0	39,8	0,617	1,409	1,375	0,898
Sabor Amargo	50,0	35,2	0,016*	1,693	1,000	0,008*
Sabor Refrescante	45,5	56,8	0,096	1,807	2,239	0,173
Sabor Ervas/Herbáceo	28,4	22,7	0,275	1,000	0,795	0,409
Sabor Cítrico	29,5	38,6	0,131	0,989	1,284	0,241
Retrogosto	18,2	21,6	0,467	0,591	0,568	0,904

*Indica uma diferença significativa com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

A aceitação geral das cervejas também foi avaliada, sendo os *boxplots* com as notas médias das cervejas apresentados na Figura 11. Para a cerveja as notas médias de aceitação, representadas pela cruz vermelha, foi de 6,67 para a 2DH e para 2OE de 6,92, as quais não apresentaram diferenças significativas ($p = 0,305$), demonstrando que também houve equivalência estatística na aceitação para cervejas produzidas com 2 g L⁻¹ de lúpulo Comet em *pellet* ou o equivalente de OE.

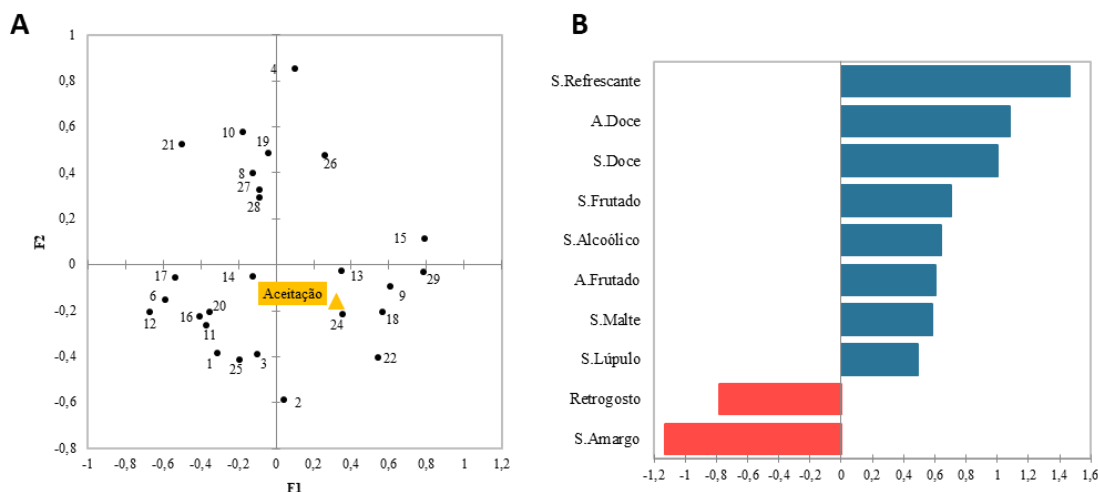
Figura 11 – *Boxplots* das notas de aceitação das amostras 2DH e 2OE.



Na Figura 12 são apresentados os resultados da PCoA e da análise de *Penalty-Lift* do RATA para as cervejas 2DH e 2OE. No PCoA observa-se que os principais atributos responsáveis pela aceitação das cervejas são aroma doce (9), aroma cítrico (13), sabor doce

(18), sabor refrescante (22), sabor cítrico (24) e aroma frutado (29). Na análise de *Penalty-Lift* nota-se que sabor refrescante, aroma e sabor doce, sabor e aroma frutado, e sabores alcoólico, de malte e de lúpulo foram os que causaram maior impacto positivo na aceitação, enquanto o retrogosto (27) e o sabor amargo (21) influenciaram negativamente na aceitação.

Figura 12 – (A) PCoA e (B) análise de *penalty-lift* do RATA realizado para as cervejas preparadas com lúpulo Comet.



1- Cor amarelo característico de cerveja tipo pilsen; 2 - Limpidez/translucidez; 3 - Presença de espuma; 4 - Turbidez/Opaca; 5 - Transparente; 6 - Aroma de Malte/Cevada; 7 - Aroma de Floral; 8 - Aroma de Ervas/Herbáceo; 9 - Aroma de Doce; 10 - Aroma de Lúpulo; 11 - Aroma de Característico de cerveja tipo pilsen; 12 - Aroma de Fermentado/Levedura/Mosto; 13- Aroma de Cítrico; 14 - Sabor Alcoólico; 15 - Sabor Frutado; 16 - Sabor Característico de cerveja tipo pilsen; 17 - Sabor Fermentado/Levedura/Mosto; 18 - Sabor Doce; 19 - Sabor Lúpulo; 20 - Sabor de Malte; 21 - Sabor Amargo; 22 - Sabor Refrescante; 23 - Picância; 24 - Sabor Cítrico; 25 - Carbonatação; 26 - Encorpado; 27 - Retrogosto; 28 - Sabor de Ervas/Herbáceo; 29 - Aroma Frutado.

4 DISCUSSÃO

Avaliando a composição dos OE nota-se que os compostos mais abundantes são hidrocarbonetos em ambos os casos, como esperado para as variedades estudadas. Para o lúpulo Cascade o composto majoritário é o monoterpeno Mirceno (41,16%), seguido pelos sesquiterpenos α -Humuleno (18,53%), trans- β -Farneseno (12,57%), β -Cariofileno (7,35%), α -Selineno (1,61%) e β -Selineno (1,13%). Para o lúpulo Comet, o Mirceno (47,68%) também é o composto majoritário, seguido por três sesquiterpenos, β -Cariofileno (14,81%), α -Selineno (6,64%) e β -Selineno (6,04%). Os hidrocarbonetos, tanto os mono quanto os sesquiterpenos, são compostos que apresentam como característica comum a alta volatilidade e a baixa solubilidade em água. Dentre eles, o mirceno é o composto mais abundante, o que, de forma geral, se repete para a maioria dos lúpulos. Ele se caracteriza por conferir o aroma

característico de lúpulo, sendo descrito pelos aromas herbáceo, resinoso, verde, balsâmico e de lúpulo fresco (Almaguer *et al.*, 2024). Por outro lado, há compostos minoritários que podem possuir aromas intensos e baixos limiares de percepção, resultando em um significativo impacto aromático mesmo em baixas concentrações. Entre eles estão os compostos contendo enxofre, como tióis e tioésteres, que representam uma fração menor que 1% dos OEs de lúpulo, mas inclui compostos com baixos limiares de percepção, alguns abaixo de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$, como é o caso do tiol 4-mercapto-4-metilpentan-2-ona, com limiar de $0,0015 \text{ ng L}^{-1}$, o qual não foi encontrado nos OEs analisados. No OE do Comet foram identificados dois tioésteres, o S-metil tiopentanoato (0,04%) e o S-metil tiohexanoato (0,02%). O S-metil tiohexanoato se destaca por apresentar grande contribuição para o aroma do lúpulo, apresentando características de aroma herbal e frutado, enquanto o S-metil tiopentanoato foi descrito com aroma de queijo, porém, os valores de limiar de percepção desses compostos não foram encontrados na literatura (Berger *et al.*, 1999; Durello, Silva, Bogusz, 2019; Hrnčič *et al.*, 2019).

4.1 Estudo 1 – Lúpulo Cascade

Ao adicionar o lúpulo Cascade na etapa de DH na produção das cervejas, pode-se observar as diferenças nas áreas relativas ao comparar a cerveja sem DH, com DH com lúpulo em *pellet* e a com OE. A ausência de compostos na cerveja pura é justificável devido ao lúpulo ser o responsável por grande parte dos voláteis da cerveja que conferem aroma e sabor às bebidas. Considerando os compostos do lúpulo, nota-se a presença na cerveja de alguns que não foram identificados no OE, mas que estão diretamente associados ao lúpulo. O citrônolol, por exemplo, foi identificado nas cervejas, mas foi não identificado nos óleos essenciais. Isso pode ocorrer devido à presença de levedura ativa após a adição do lúpulo e do OE na etapa de DH, podendo resultar na biotransformação de alguns compostos. Dentre as biotransformações que podem ocorrer, o citrônolol, o linalol, acetato geranila e acetato de citrônolila, podem ser formados a partir do geraniol. E para o linalol também é relatada sua formação a partir do nerol (Monacci *et al.*, 2024; Roberts *et al.*, 2024; Takoi *et al.*, 2010).

Quanto às cervejas 1DH e 1OE, as diferenças entre as áreas relativas de alguns compostos é resultado das diferenças nas concentrações dos mesmos nas bebidas. Isso indica que a transferência e retenção dos compostos do OE para a cerveja se diferencia ao usar o *pellet* do lúpulo ou OE. Isso é melhor observado graficamente através da PCA e do mapa de calor. Os resultados dos dois métodos indicam que a cerveja 1OE apresentou um maior

número de compostos com maior intensidade quando comparada a 1DH, o que pode ser associado à baixa taxa de transferência dos compostos do lúpulo para a cerveja quando se usa o lúpulo em *pellet*. Com relação a isso, com o uso do lúpulo no DH, é relatada uma taxa de transferência menor que 5% de alguns compostos que compõem o OE para a cerveja, devido à baixa polaridade dos mesmos (Hauser, Lafontaine, Shellhammer, 2019). Quando se usa o OE do lúpulo, esses compostos já foram extraídos previamente das glândulas de lupulina e encontram-se em contato direto com a cerveja. Em contrapartida, com o DH os compostos têm que ser extraídos antes de se solubilizar na cerveja. Ou seja, a totalidade do OE contido no *pellet* não está em contato direto com a cerveja. Já para o OE, todo o OE contida naquela massa de lúpulo está em contato direto com a cerveja. Essa maior disponibilidade do OE pode contribuir para que os compostos sejam melhor retidos na cerveja, considerando a dosagem de óleo e de lúpulo que foi utilizada. Apesar das diferenças observadas entre a concentração dos voláteis nas cervejas, nenhuma tendência clara entre as diferentes classes de compostos foi constatada.

Mesmo com as diferenças na concentração dos compostos, o que poderia resultar em cervejas com características sensoriais completamente diferentes, a avaliação da aceitação não apresentou diferença significativa para as duas formas de uso de lúpulo, o que indica a possibilidade de uso do OE na produção de cervejas nas quantidades usadas nesse estudo.

A aceitação semelhante entre as cervejas pode ser justificada pelo fato da maioria dos atributos sensoriais avaliados não apresentarem diferença significativa, com exceção do “sabor amargo”, do “sabor característico de cerveja *pilsen*” e do “aroma de Malte/Cevada”. O amargor se destacou mais na cerveja 1DH, o que pode ser explicado pela adição de lúpulo em *pellet*, o qual também contém compostos não voláteis secretados pelas glândulas de lupulina do lúpulo (como resinas, polifenóis, etc) que são transferidos para a cerveja. Já na adição de OE, apenas os compostos voláteis são adicionados à cerveja. Embora durante o processo de DH a cerveja seja mantida em baixas temperaturas, o que impede a isomerização de α -ácidos a iso- α -ácidos, pode ocorrer a extração das humulinonas presentes no *pellet*, que são α -ácidos oxidados que são solubilizados na cerveja e apresentam contribuição significativa para o amargor em cervejas submetidas ao DH (Durello, Silva, Bogusz, 2019; Machado *et al.*, 2019). Estudos sugerem que as humulinonas contribuem em até para 28% o amargor de cervejas que passaram pelo DH. Em uma cerveja que se utilizou o lúpulo Cascade no DH em concentração de 3,87 g L⁻¹, a concentração de humulinonas após 3 dias a 16 °C foi de 13 mg L⁻¹, o que resultou em um aumento do IBU de 40, antes do processo, para 49 (Klimczak, Cioch-Skoneczny, 2023). Portanto, a presença das humulinonas pode explicar o fato da cerveja 1DH

ter o amargor mais intenso que a 1OE. Além disso, como as cervejas não foram filtradas, pequenos fragmentos de lúpulo sólido podem ter ficado em suspensão, o que também pode contribuir para o amargor, embora atributos como “limpidez/translucidez”, “turbidez/opaca” e “transparente”, que poderiam também serem afetados, não apresentaram diferenças significativas. Em contrapartida, como na cerveja com OE não ocorre a extração das humulonas e não há a presença de lúpulo em suspensão, mantendo o amargor menos intenso, outras características se tornam mais evidentes, em especial para provadores comuns e sem treinamento. Isso pode ter contribuído para que os provadores tenham avaliado essa cerveja com maior presença do sabor característico de cerveja tipo *pilsen*.

Para a aceitação das cervejas, os atributos que contribuíram positivamente podem ser relacionados às características que o lúpulo Cascade confere à bebida, sendo relatadas contribuições para atributos cítricos, herbais/chá e frutados (Krofta, Mikyška, Vrzal, 2024). O sabor frutado foi mencionado como um dos fatores que contribuíram para a aceitação das cervejas, sendo um atributo característico do lúpulo Cascade e que pode ser associado a presença de álcoois monoterpênicos, como linalol, geraniol e citronelol, que estão relacionados a aromas floral e cítrico. Sabores frutados também são característicos dos compostos acetato de geranila, acetato de citronelol e geranato de metila (Paiva, Hantao, 2020; Takoi *et al.*, 2010). Dentre esses compostos, com exceção do geraniol, todos foram identificados nas cervejas 1DH e 1OE, contribuindo para as características frutadas dessas bebidas. O linalol foi mais intenso na 1DH, enquanto citronelol, acetato de geranila, acetato de citronelol e geranato de metila foram mais intensos na 1OE.

A contribuição positiva do aroma de malte/cevada para a aceitação das cervejas pode ser relacionada às características de aroma frutado e doce. Além disso, ao intensificar as características do lúpulo nas cervejas, as características relativas ao malte tendem a ser suprimidas (Dietz *et al.*, 2022). Assim, pelo fato dos provadores serem consumidores comuns, muitos deles podem não estar habituados com cervejas mais lupuladas. Isso pode ter contribuído para que, considerando as cervejas de forma geral, o aroma de malte/cevada seja um atributo que contribua positivamente para aceitação. Por fim, cabe destacar que a adição de OE também não causou impactos no atributo “presença de espuma”. A presença substâncias hidrofóbicas, como é o caso do OE, pode contribuir para a estabilidade e persistência da espuma da cerveja. Isso ocorre por apresentarem a tendência a deixarem o corpo da cerveja, constituído por substâncias polares, como o água e etanol, a se concentrarem na interface (Durello *et al.*, 2019). Entretanto, para as condições avaliadas, o OE adicionado não foi capaz de causar uma diferença significativa em relação do DH.

4.2 Estudo 2 – Lúpulo Comet

Para as cervejas preparadas na segunda etapa, com o lúpulo Comet, também é observado um maior número de compostos nas cervejas 2OE e 2DH em relação à cerveja pura, decorrente do lúpulo adicionado. Considerando a proporcionalidade entre as áreas dos picos e a concentração dos compostos, para as cervejas 2OE e 2DH nota-se diferenças entre a concentração dos compostos. Pelo que se pode notar, ao comparar as áreas relativas, as diferenças entre as amostras 2DH e 2OE ficaram mais evidentes para as cervejas com o lúpulo Comet do que para aquelas em que se usou o lúpulo Cascade. Isso deve estar diretamente relacionado a dosagem de lúpulo usada nos dois estudos, já que no primeiro foi usado 1 g L^{-1} (e o equivalente de OE), sendo a metade da quantidade usada para o lúpulo Comet. Além disso, o lúpulo Comet apresentou um teor de OE mais alto, sendo de 2,01 mL por 100 g, enquanto o Cascade apresentou um teor de 0,74 mL por 100 g. Isso implica em uma quantidade de OE adicionada diretamente na cerveja cerca de 4,5 vezes maior que no primeiro estudo. Essa diferença mais acentuada entre as duas formas de adição do lúpulo atende um dos objetivos dessa segunda etapa, que seria evidenciar o contraste entre as cervejas preparadas para tornar mais claro os efeitos sensoriais da adição do OE na cerveja.

Os resultados demonstram que os mono e sesquiterpenos são mais intensos na cerveja 2DH, o que pode ser explicado pela alta volatilidade e baixa solubilidade desses compostos. Uma possível explicação para o fato observado é que, quando o OE é colocado na cerveja esses compostos não devem ser totalmente solubilizados imediatamente, de modo que uma parte fique suspensa e imiscível na superfície da cerveja, podendo ser perdidos por volatilização. Essa perda pode ocorrer uma vez que o sistema de fermentação usado não é pressurizado e, para alguns compostos, o tempo de volatilização deve ser menor que o de solubilização na cerveja. Em contrapartida, no DH esses compostos estão retidos no *pellet* e a cinética de transferência de massa dos compostos do lúpulo para a cerveja deve ser baixa. Isso contribui para que eles não se volatilizem com tanta facilidade, pois devem ser liberados lentamente do lúpulo diretamente para a cerveja. Assim, a partir do *pellet*, os compostos devem ser transferidos para a cerveja mais lentamente, possibilitando mais tempo para solubilização e evitando que ocorra perdas por volatilização.

Nas cervejas produzidas com o lúpulo cascade o inverso ocorreu, sendo que a produzida com OE apresentou maior concentração de mono e sesquiterpenos. Isso pode estar relacionado a quantidade de OE e a solubilidade desses compostos. Como foi utilizada uma menor quantidade de OE do lúpulo cascade, os compostos devem ter apresentado uma

solubilização mais eficiente na cerveja, ou seja, a taxa de solubilização foi maior que a de volatilização, o que pode ser associado ao limite de solubilidade dos compostos. Quando se usa o *pellet*, o maior teor de OE do lúpulo deve possibilitar a transferência de uma maior concentração dos compostos para cerveja, assim a transferência dos compostos pode não ter sido tão eficiente para o cascade devido ao seu baixo teor de OE em comparação ao lúpulo comet. Em contrapartida, com o comet se usou uma maior quantidade de OE, o qual, ao ser adicionado na cerveja, pode ter ficado momentaneamente suspenso na superfície devido à baixa solubilidade, ocorrendo perdas dos compostos mais voláteis. Caso o OE fosse adicionado ao final da etapa de DH com o intuito de evitar perdas, talvez os resultados fossem mais favoráveis aos voláteis do OE. Contudo, as adições foram feitas no mesmo momento para ambos os estudos para melhor comparação dos resultados.

Por outro lado, como observado anteriormente pelas áreas relativas, observa-se no mapa de calor que os ésteres mais pesados e tioésteres se destacam nas cervejas com OE. Por serem mais polares que os alcanos e, em geral, apresentarem temperaturas de ebulição mais altas, esses compostos não se volatilizam com tanta facilidade quanto os mono e sesquiterpenos, além de serem mais solúveis na cerveja. Assim, como no OE eles estão mais disponíveis do que no *pellet*, as cervejas com OE devem ter maior concentração desses compostos. Com o lúpulo em *pellet*, esses compostos podem não ser totalmente transferidos para a cerveja, de modo que, após o processo de DH, o lúpulo ainda deve conter certa concentração dos mesmos (Hauser; Lafontaine, Shellhammer, 2019). Entretanto, não foi possível determinar a quantidade de OE remanescente nos lúpulos usados, pois os mesmos foram adicionados diretamente à cerveja e ficam misturados com as leveduras ao final do processo, sendo inviável a remoção apenas dos lúpulos para análise.

Quanto às características sensoriais, nota-se que o padrão se repete quando se usa o lúpulo em *pellet*, destacando o amargor, assim como aconteceu quando se usou o lúpulo Cascade, o que também pode ser associado a presença do lúpulo em *pellet* que possibilita a extração das humulinonas. Enquanto para a cerveja com OE, o amargor menos intenso possibilita que outras características se destaquem. Ainda assim, as diferenças observadas não causaram impacto na aceitação das cervejas, mesmo utilizando outra variedade de lúpulo e em uma dosagem maior. Isso pode ter ocorrido devido ao baixo impacto aromático dos compostos que apresentaram maior diferença de concentração entre as cervejas, uma vez que uma dosagem de 2 g L⁻¹ de DH é suficiente para aumentar o aroma de lúpulo da cerveja. O mirceno, por exemplo, teve, aproximadamente, o dobro da área relativa na cerveja 2DH. Apesar disso, esse composto, por si só, não apresenta grande impacto aromático, ainda que

seja precursor de compostos de grande impacto aromático, como linalol e geraniol (Hauser, Lafontaine, Shellhammer, 2019). Esses dois compostos, por sua vez, não apresentaram áreas relativas tão diferentes entre as cervejas 2DH e 2OE.

Observando os atributos que contribuíram positivamente para a aceitação, nota-se uma certa semelhança entre as cervejas preparadas com os dois lúpulos, com alguns atributos a mais nas cervejas com o lúpulo Comet. Dentre os atributos que contribuíram positivamente, as características de sabor e aroma cítrico, frutado, doce e refrescante podem ser diretamente relacionadas ao perfil aromático do lúpulo Comet, o qual é caracterizado, principalmente, pelo aroma cítrico, de frutas doces, frutas verdes e floral (BarthHaas, 2025).

Quanto às contribuições negativas, o retrogosto foi incluído no RATA a partir do *free listing*, e não apresentou uma especificação clara pelos provadores. Apesar disso, é relatado na literatura a associação entre alguns sesquiterpenos, em especial β -cariofileno e α -humuleno, e a sensação de um amargor persistente, que pode ser relacionado ao retrogosto relatado pelos provadores (Dietz *et al.*, 2021). O β -cariofileno se destacou principalmente na cerveja 2DH, o que pode ter contribuído para o retrogosto e também para serem classificadas como mais amargas. Para as cervejas com o lúpulo cascade o retrogosto não foi relatado, o que pode ser explicado pela menor concentração desse composto naquelas cervejas. Nesse contexto, considerando os atributos com impacto positivo, e o amargor e o retrogosto, que apresentaram impacto negativo na aceitação, pode-se fazer uma associação ao fato dos provadores serem consumidores comuns de cerveja, que não passaram por nenhum tipo de treinamento. Com isso, estando habituados a consumir cervejas com amargor e aroma de lúpulo menos acentuado, eles tendem a valorizar atributos relativos a sabor refrescante, sabores e aromas doces e frutados, enquanto avaliam como negativo o sabor amargo e retrogosto que podem estar associados aos compostos do lúpulo (Ivanova *et al.*, 2023). Além disso, o maior número de atributos relacionados a aceitação da cerveja com lúpulo Comet quando comparado as cervejas com lúpulo Cascade, também pode estar associado a maior concentração de lúpulo e de OE nas cervejas com o Comet, o que torna mais perceptível alguns aromas e sabores.

Por fim, pode-se dizer que as modificações aromáticas causadas pela forma de adição do lúpulo não resultaram em diferenças acentuadas a ponto de serem percebidas claramente pelos provadores. Além disso, ressalta-se que os provadores foram consumidores comuns, os quais podem não conseguir identificar individualmente algum aroma/sabor específico que pudesse diferenciar as formas de adição de lúpulo. Caso fossem provadores treinados essas diferenças, ainda que sutis, poderiam ser melhor percebidas. Contudo, o objetivo geral do

trabalho foi alcançado, sendo investigadas as diferenças entre o uso do lúpulo em *pellet* no DH e do OE para produção da cerveja. Assim, foi constatado que, para as condições avaliadas, há diferenças no perfil volátil das cervejas, ainda que essas diferenças não tenham causado alterações sensoriais significativas para consumidores comuns. Assim, o uso de OE otimiza a extração dos compostos do lúpulo e facilita o processo de filtração ou separação dos sólidos da cerveja, evitando que ocorra perdas de volumes maiores de cerveja. Esses dois fatores podem contribuir economicamente para a produção da cerveja, sem causar impactos sensoriais para atributos importantes para avaliação dessas bebidas, como espuma e turbidez/limpidez, os quais foram avaliados como equivalentes pelo RATA. Pode-se considerar ainda contribuições para redução dos custos de transporte, uma vez que o volume ocupado pelo OE é bem menor quando comparado ao volume de uma quantidade correspondente de lúpulo em *pellet*.

Com esses resultados, que demonstram a viabilidade de uso do OE, também é possível pensar na extração do OE a partir da flor do lúpulo. Durante a secagem e peletização da flor ocorre a perda de diversos compostos, para os OE é estimada uma redução de 30 a 40% quando comparado ao lúpulo fresco (Monacci *et al.*, 2024). Assim, com a extração do OE diretamente da flor, supostamente teria um maior aproveitamento desse componente do lúpulo. Além disso, haveria também contruições para a redução de custos do processo, uma vez que evitaria o processo de peletização. Outra possibilidade, seria avaliar o uso do OE em juntamente com o *pellet*, explorando os benefícios que cada um pode trazer a cerveja, contudo, esse caso demandaria provadores treinados. Nesse sentido, esse estudo se apresenta como um passo inicial, que demonstra a viabilidade de uso do OE de lúpulo na produção de cerveja, havendo ainda outras possibilidades que podem ser avaliadas para tornar a produção da cerveja mais eficiente e para obter bebidas com características sensoriais únicas.

5 CONCLUSÃO

Ao comparar o uso de lúpulo em *pellet* e de OE de lúpulo na etapa de DH para produção de cervejas, nota-se que há variações no perfil volátil das cervejas. Para as cervejas em o lúpulo cascade foi usado na concentração de 1 g L⁻¹ foram observadas modificações entre a concentração dos compostos para as duas formas de uso, entretanto, sem uma tendência clara entre as classes dos compostos. Já para as cervejas preparadas com o lúpulo comet, com a concentração de 2 g L⁻¹, foi observado que os mono e sesquiterpenos

apresentaram maiores áreas para as cervejas com lúpulo em *pellet*, enquanto as cervejas com OE apresentaram maiores áreas para ésteres mais pesados e tioésteres.

Apesar das modificações observadas no perfil volátil, ao comparar cervejas preparadas com o mesmo lúpulo feitas com OE e feitas com DH tradicional, as análises sensoriais indicaram que não há diferenças significativas entre as notas de aceitação. Ao avaliar atributos de forma individual, de forma geral, para os dois lúpulos, o amargor se destacou nas cervejas com lúpulo em *pellet*, o que pode ser atribuído a extração de humulinonas do lúpulo. Já para as cervejas com OE, o aroma de malte/cevada se destacou. Entretanto, outros atributos importantes para a cerveja, como a formação de espuma, não apresentaram diferença significativa entre OE e lúpulo em *pellet*.

Com esses resultados, destaca-se o potencial do OE de lúpulo para produção de cervejas, considerando as similaridades na aceitação e nas características sensoriais das cervejas com o *pellet* e com o OE. Assim, o uso do OE oferece vantagens para produção da cerveja, como maior eficiência na extração dos compostos do lúpulo, além de abrir possibilidades para outras formas de uso do lúpulo que tragam benefícios sensoriais para a cerveja.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Allured publishing corporation Carol Stream, IL, 2007.

ALMAGUER, C.; SCHÖNBERGER, C.; GASTL, M.; ARENDT, E. K. et al. Humulus lupulus – a story that begs to be told. A review. **Journal of the Institute of Brewing**, 120, n. 4, p. 289-314, 2014.

American Society of Brewing Chemists Methods of Analysis (ASBC); Hops 13: Total Essential Oils in Hops and Hop Pellets by Steam Distillation, ASBC, St. Paul, 2010. <https://www.asbcnet.org/Methods/HopsMethods/Pages/default.aspx>. Acesso em agosto 2024.

ARES, G.; DAUBER, C.; FERNÁNDEZ, E.; GIMÉNEZ, A. *et al.* Penalty analysis based on CATA questions to identify drivers of liking and directions for product reformulation. **Food Quality and Preference**, 32, p. 65-76, 2014.

AUNG, T.; KIM, B. R.; KIM, M. J. Check-all-that-apply (CATA)- and rate-all-that-apply (RATA)-based sensometric assessment of germinated-wheat beverages. **Journal of Food Science and Technology**, 61, n. 5, p. 897-906, 2024.

BarthHaas. <https://www.barthhaas.com/hops-and-products/hops/comet>, 2025. Acesso em janeiro 2025.

BERGER, C.; MARTIN, N.; COLLIN, S.; GIJS, L. *et al.* Combinatorial Approach to Flavor Analysis. 2. Olfactory Investigation of a Library of S-Methyl Thioesters and Sensory Evaluation of Selected Components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47, n. 8, p. 3274-3279, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. **Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012**. Estabelece diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 13 jun. 2013. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466_12_12_2012.html. Acesso em: 28 jan. 2025.

BRENDEL, S.; HOFMANN, T.; GRANVOGL, M. Characterization of Key Aroma Compounds in Pellets of Different Hop Varieties (*Humulus lupulus* L.) by Means of the Sensomics Approach. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 67, n. 43, p. 12044-12053, 2019.

BUDNER, D.; CARR, J.; SERAFINI, B.; TUCKER, S. *et al.* Targeted Study of the Effect of Yeast Strain on Volatile Compounds Produced in Sorghum Beer. **Foods**, v.13, n. 22, 2024.

BYEON, Y. S.; HEO, J.; KIM, M.-R.; KIM, S. S. Investigation on consumer perception and acceptance of wheat beer using sorted napping and rate-all-that-apply (RATA) questions. **International Journal of Food Science and Technology**, 58, n. 9, p. 4770-4779, 2023.

CAO, K.; WU, J.; WAN, X.; HOU, Y. *et al.* Impact of non-Saccharomyces yeasts derived from traditional fermented foods on beer aroma: Analysis based on HS-SPME-GC/MS combined with chemometrics. **Food Research International**, 187, p. 114366, 2024.

DIETZ, C.; COOK, D.; HUISMANN, M.; WILSON, C. *et al.* The multisensory perception of hop essential oil: a review. **Journal of the Institute of Brewing**, 126, n. 4, p. 320-342, 2020a.

DIETZ, C.; COOK, D.; WILSON, C.; MARRIOTT, R. *et al.* Sensory properties of supercritical CO₂ fractions extracted from Magnum hop essential oil. **Journal of the Institute of Brewing**, 126, n. 3, p. 263-279, 2020b.

DIETZ, C.; COOK, D.; WILSON, C.; OLIVEIRA, P. *et al.* Exploring the multisensory perception of terpene alcohol and sesquiterpene rich hop extracts in lager style beer. **Food Research International**, 148, p. 110598, 2021.

DIETZ, C.; COOK, D.; YANG, Q.; WILSON, C. *et al.* A TCATA by modality approach to study the multisensory temporal profile of hop bitter and flavour products applied in lager. **Food Quality and Preference**, 97, p. 104470, 2022.

DURELLO, R. S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ, S. Química do lúpulo. **Química Nova**, 42, p. 900-919, 2019.

FERREIRA, C. S.; COLLIN, S. Fate of Bitter Compounds through Dry-Hopped Beer Aging. Why cis-Humulonones Should be as Feared as trans-Isohumulones? **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 78, n. 2, p. 103-113, 2020.

GIANNETTI, V.; BOCCACCI MARIANI, M.; TORRELLI, P.; MARINI, F. Flavour component analysis by HS-SPME/GC–MS and chemometric modeling to characterize Pilsner-style Lager craft beers. **Microchemical Journal**, 149, p. 103991, 2019.

HAUSER, D. G.; LAFONTAINE, S. R.; SHELLHAMMER, T. H. Extraction Efficiency of Dry-Hopping. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 77, n. 3, p. 188-198, 2019.

HERKENHOFF, M. E.; BRÖDEL, O.; FROHME, M. Aroma component analysis by HS-SPME/GC–MS to characterize Lager, Ale, and sour beer styles. **Food Research International**, 194, p. 114763, 2024.

IVANOVA, N.; YANG, Q.; BASTIAN, S. E. P.; WILKINSON, K. L. *et al.* The impact of varying key sensory attributes on consumer perception of beer body. **Food Quality and Preference**, 112, p. 105004, 2023.

KLIMCZAK, K.; CIOCH-SKONECZNY, M. Changes in beer bitterness level during the beer production process. **European Food Research and Technology**, 249, n. 1, p. 13-22, 2023.

HRNČIČ, M. K.; ŠPANINGER, E.; KOŠIR, I. J.; KNEZ, Ž. *et al.* Hop Compounds: Extraction Techniques, Chemical Analyses, Antioxidative, Antimicrobial, and Anticarcinogenic Effects. **Nutrients**, v.11, n. 2, 2019.

KROFTA, K.; MIKYŠKA, A.; VRZAL, T. Comparison of phytochemical and brewing characteristics of Cascade and Kazbek hop cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis**, 135, p. 106680, 2024.

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

LAMBERTI, L.; GRILLO, G.; GALLINA, L.; CARNAROGLIO, D. *et al.* Microwave-Assisted Hydrodistillation of Hop (*Humulus lupulus* L.) Terpenes: A Pilot-Scale Study. **Foods**, 10, n. 11, p. 2726, 2021.

MACHADO, J. C.; FARIA, M. A.; MELO, A.; MARTINS, Z. E. *et al.* Modeling of α -acids and xanthohumol extraction in dry-hopped beers. **Food Chemistry**, 278, p. 216-222, 2019.

MetaboAnalyst 6.0. <https://www.metaboanalyst.ca/MetaboAnalyst/>, 2024. Acesso em dezembro de 2024.

MEYNNERS, M.; CASTURA, J. C.; CARR, B. T. Existing and new approaches for the analysis of CATA data. **Food Quality and Preference**, 30, n. 2, p. 309-319, 2013.

MONACCI, E.; BARIS, F.; BIANCHI, A.; VEZZULLI, F. *et al.* Influence of the drying process of Cascade hop and the dry-hopping technique on the chemical, aromatic and sensory quality of the beer. **Food Chemistry**, 460, p. 140594, 2024.

NEŠPOR, J.; ANDRÉS-IGLESIAS, C.; KARABÍN, M.; MONTERO, O. *et al.* Volatile Compound Profiling in Czech and Spanish Lager Beers in Relation to Used Production Technology. **Food Analytical Methods**, 12, n. 10, p. 2293-2305, 2019.

OPPERMANN, A. K. L.; DE GRAAF, C.; SCHOLTEN, E.; STIEGER, M. *et al.* Comparison of Rate-All-That-Apply (RATA) and Descriptive sensory Analysis (DA) of model double emulsions with subtle perceptual differences. **Food Quality and Preference**, 56, p. 55-68, 2017.

PAIVA, A. C.; HANTAO, L. W. Exploring a public database to evaluate consumer preference and aroma profile of lager beers by comprehensive two-dimensional gas chromatography and partial least squares regression discriminant analysis. **Journal of Chromatography A**, 1630, p. 461529, 2020.

RABITTI, N. S.; CATTANEO, C.; APPIANI, M.; PROSERPIO, C. *et al.* Describing the Sensory Complexity of Italian Wines: Application of the Rate-All-That-Apply (RATA) Method. **Foods**, v.11, n. 16, 2022.

ROBERTS, R.; SILCOCK, P.; LEUS, M.; BIASIOLI, F. *et al.* Analysis of terpenoid biotransformation in beer by commercial *Saccharomyces cerevisiae* yeast using headspace SPME-GC/MS. **Food Chemistry Advances**, 4, p. 100692, 2024.

RUTNIK, K.; HRNČIČ, M. K.; KOŠIR, I. J. Hop Essential Oil: Chemical Composition, Extraction, Analysis, and Applications. **Food Reviews International**, p. 1-23, 2021.

SALGADO, D. L.; AMORIM, K. A.; ANDRADE, L. A.; RODRIGUES, J. F. *et al.* Sensory approach to added sugar reduction in strawberry juices using fuyu persimmon. **Food Science and Technology**, 44, 2024.

SCHNAITTER, M.; KELL, A.; KOLLMANNNSBERGER, H.; SCHÜLL, F. *et al.* Scale-up of Dry Hopping Trials: Importance of Scale for Aroma and Taste Perceptions. **Chemie Ingenieur Technik**, 88, n. 12, p. 1955-1965, 2016.

SCHRICKEL, F.; BILGE, D.; PAHL, R.; RETTBERG, N. Valorization of Spent Hops from Dry Hopping for Bittering of Pilsener Style Beer. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, p. 1-13, 2024.

TAKOI, K.; KOIE, K.; ITOGA, Y.; KATAYAMA, Y. *et al.* Biotransformation of Hop-Derived Monoterpene Alcohols by Lager Yeast and Their Contribution to the Flavor of Hopped Beer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58, n. 8, p. 5050-5058, 2010.

TITUS, B. M.; LERNO, L. A.; BEAVER, J. W.; BYRNES, N. K. *et al.* Impact of Dry Hopping on Beer Flavor Stability. **Foods**, 10, n. 6, 2021.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, 11, p. 463-471, 1963.

WANG, X. *et al.* Study on the Composition of Hop Terpenes and Terpenoids by Steam Distillation and Effects on Beer Flavor by an Ale Yeast. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, 81, n. 3, p. 448-465, 2023/07/03 2023.

YOON, G.; KWAK, H. S.; HEO, J.; LEE, Y. Comparison of conventional and consumer-based sensory profiling methods for ready-to-drink coffee beverages. **Journal of Sensory Studies**, 38, n. 4, p. e12839, 2023.

Material suplementar

Tabela S1 – Áreas relativas médias com desvio padrão dos compostos identificados nas cervejas pura, com DH lúpulo Cascade em pellet e com OE do lúpulo Cascade.

(Continua)

	Nome	IR Exp.	IR	% área		
				Pura	1DH	1OE
1	Mirceno	987	988	1.44 ± 0.19	1.66 ± 0.44	1.47 ± 0.08
2	Cariofileno	1419	1408	0.03 ± 0	0.16 ± 0.03	0.26 ± 0.02
3	trans-β-Farneseno	1451	1454	0.02 ± 0	0.11 ± 0.03	0.20 ± 0.02
4	α-Humuleno	1456	1452	0.26 ± 0.01	0.81 ± 0.1	1.31 ± 0.04
5	δ-Cadineno	1519	1522	-	0.02 ± 0	0.04 ± 0.01
6	3-Metil 1-Butanol	733	730	3.8 ± 0.46	4.3 ± 0.56	4.39 ± 0.28
7	2-Metil 1-Butanol*	736	736	1.23 ± 0.2	1.67 ± 0.21	1.15 ± 0.19
8	2,3-Butanodiol*	807	802	0.08 ± 0.01	0.13 ± 0.05	0.09 ± 0.07
9	2-Etil-1-hexanol	1027	1029	-	0.09 ± 0.01	0.08 ± 0.01
10	Linalol	1099	1095	0.18 ± 0.03	0.54 ± 0.04	0.44 ± 0.02
11	Álcool feniletílico*	1113	1114	6.19 ± 0.56	6.07 ± 0.75	6.15 ± 0.9
12	5-Metil-2-hexanol	1165		-	0.02 ± 0	0.04 ± 0.01
13	1-Nonanol	1171	1165	0.01 ± 0	0.07 ± 0.01	0.08 ± 0.01
14	Citronelol	1223	1223	0.02 ± 0	0.08 ± 0.01	0.1 ± 0.01
15	1-Decanol*	1267	1266	0.23 ± 0.04	0.09 ± 0.01	0.16 ± 0.01
16	2-Undecanol	1294	1301	0.14 ± 0.01	0.18 ± 0.08	0.32 ± 0.04
17	Butanoato de etila	799	802	0.22 ± 0.01	0.24 ± 0.03	0.3 ± 0.09
18	Acetato de 3-metil-1-butila	875	869	5.34 ± 0.41	6.26 ± 0.74	6.08 ± 0.2
19	Acetato de 2-metil-1-butila*	876	877	0.26 ± 0.06	0.19 ± 0	0.19 ± 0.04
20	Isobutirato de isobutila	913	908	0.03 ± 0.01	0.29 ± 0.16	0.13 ± 0.01
21	Propionato de 3-metilbutila	967	969	-	0.03 ± 0	0.02 ± 0
22	Propanoato de pentila	969	972	0.1 ± 0.02	0.33 ± 0.05	0.3 ± 0.01
23	Hexanoato de etila*	997	997	4.6 ± 0.49	4.78 ± 0.52	3.45 ± 1.93
24	Isovalerato de isobutila	1004	1005	-	0.02 ± 0	0.03 ± 0.01
25	Isobutirato de 3-metilbutila	1010	1017	0.36 ± 0.04	0.6 ± 0.06	0.61 ± 0.03
26	Isobutirato de 2-metilbutila	1013	1014	0.07 ± 0	1.33 ± 0.12	1.31 ± 0.06
27	4-Metilenhexanoato de metila	1024		0.08 ± 0.01	0.33 ± 0.04	0.29 ± 0.02
28	Isobutirato de pentila	1047	1057	-	0.02 ± 0	0.02 ± 0
29	Isobutirato de (E)-2-metilbuta-2-en-1-ila	1050	1059	-	0.08 ± 0.01	0.07 ± 0.01
30	5-Metilhexanoato de etila	1059	1064	-	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0

Tabela S1 – Áreas relativas médias com desvio padrão dos compostos identificados nas cervejas pura, com DH lúpulo Cascade em *pellet* e com OE do lúpulo Cascade.

(Conclusão)

	Nome	IR Exp.	IR	% área		
				Pura	1DH	1OE
31	Heptanoato de etila*	1096	1098	0.14 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.11 ± 0.01
32	2-Metilbutil 2-metilbutanoato	1101	1107	0.13 ± 0.06	0.18 ± 0.01	0.24 ± 0.03
33	2-Metilbutil 3-metilbutanoato	1107	1110	0.02 ± 0	0.12 ± 0.01	0.51 ± 0.24
34	Isobutirato de n-hexila	1145	1145	-	0.04 ± 0	0.06 ± 0.01
35	Octanoato de etila*	1196	1196	14.7 ± 0.49	13.09 ± 0.85	14.54 ± 1.05
36	Acetato de octila*	1207	1211	0.26 ± 0.01	0.14 ± 0	0.28 ± 0.04
37	Acetato de nonan-2-il*	1228	1236	0.08 ± 0	0.04 ± 0.01	0.07 ± 0.01
38	Acetato de 2-fenetil*	1249	1245	2.47 ± 0.16	2.35 ± 0.13	2.63 ± 0.11
39	Nonanotato de etila*	1286	1294	0.11 ± 0.02	0.1 ± 0.01	0.14 ± 0.02
40	trans-Geranato de metila	1309	1316	0.08 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.25 ± 0.03
41	Acetato de citrionelol	1341	1354	0.05 ± 0	0.04 ± 0	0.1 ± 0.02
42	Acetato de geranila	1373	1379	0.3 ± 0.04	0.88 ± 0.11	1.57 ± 0.55
43	9-Decenoato de etila*	1382	1384	3.87 ± 0.31	2.64 ± 0.04	3.17 ± 0.27
44	Decanoato de etila*	1392	1395	4.44 ± 0.11	3.64 ± 0.18	5.78 ± 0.47
45	Octanoato de 3-metilbutila*	1444	1442	0.09 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.1 ± 0.02
46	Isobutanoato de geranila	1505	1514	-	0.15 ± 0.02	0.37 ± 0.05
47	Dodecanoato de etila	1593	1594	0.89 ± 0.03	1.56 ± 0.19	2.11 ± 0.25
48	Acetato de dodecila*	1605	1607	0.02 ± 0	0.01 ± 0.01	0.03 ± 0.01
49	Ácido acético*	661	665	0.12 ± 0.04	0.17 ± 0.02	0.12 ± 0.05
50	Ácido octanoico*	1190	1167	2.38 ± 0.08	2.7 ± 0.29	2.58 ± 0.33
51	Ácido decanoico*	1370	1373	0.23 ± 0.07	0.13 ± 0	0.27 ± 0.17
52	2-Nonanona	1089	1090	-	0.04 ± 0	0.04 ± 0.01
53	2-Decanona	1153	1190	-	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01
54	2-Undecanona	1284	1293	0.03 ± 0	0.25 ± 0.02	0.35 ± 0.06
55	2-Dodecanona	1350	1348	-	0.06 ± 0	0.12 ± 0.02
56	1-Octanal*	1002	998	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.03	0.03 ± 0.01
57	Nonanal	1103	1100	0.27 ± 0.16	0.29 ± 0.18	0.39 ± 0.12
58	3-Metilundecano*	1168	1171	0.1 ± 0.03	0.05 ± 0	0.03 ± 0.01

*Compostos não incluídos na PCA e mapa de calor.

Tabela S2 – Áreas relativas médias com desvio padrão dos compostos identificados nas cervejas pura, com DH lúpulo Comet em pellet e com OE do lúpulo Comet.

(Continua)

	Composto	IR Exp.	IR	% área		
				Pura	2DH	2OE
1	Mirceno	989	988	0.48 ± 0.08	4.77 ± 0.08	2.04 ± 0.19
2	Limoneno	1028	1024	-	0.04 ± 0.01	0.02 ± 0.01
3	β-Felandreno	1029	1025	-	0.05 ± 0.00	0.02 ± 0.01
4	(Z)-β-Ocimeno	1045	1032	-	0.27 ± 0.01	0.12 ± 0.02
5	β-Cariofileno	1419	1417	-	1.14 ± 0.12	0.69 ± 0.13
6	α-Humuleno	1454	1452	0.08 ± 0.02	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.02
7	β-Selineno	1488	1489	-	0.44 ± 0.05	0.32 ± 0.06
8	α-Selineno	1495	1498	-	0.42 ± 0.05	0.25 ± 0.10
9	Selina-4(19),11-dieno	1536	-	-	0.06 ± 0.01	0.04 ± 0.01
10	Selina-3,7(11)-dieno	1542	1545	-	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.03
11	3-Metil 1-Butanol*	721	731	4.18 ± 0.88	3.33 ± 0.32	3.12 ± 0.38
12	2-Metil 1-Butanol*	723	724	1.38 ± 0.27	1.03 ± 0.42	0.97 ± 0.31
13	1-Octeno-3-ol	980	981	-	0.11 ± 0.02	-
14	Linalol	1100	1095	0.09 ± 0.01	1.12 ± 0.02	1.23 ± 0.06
15	2-Decanol	1102	1198	-	0.35 ± 0.05	0.34 ± 0.05
16	Álcool feniletílico*	1114	1117	3.56 ± 0.30	2.81 ± 0.14	2.89 ± 0.52
17	Citronelol	1227	1228	-	0.14 ± 0.01	0.17 ± 0.01
18	Geraniol	1251	1249	-	0.18 ± 0.03	0.14 ± 0.01
19	Isômero ramificado do 2-Undecanol	1266		-	0.04 ± 0.00	0.26 ± 0.01
20	2-Undecanol*	1301	1303	0.05 ± 0	0.10 ± 0.02	0.45 ± 0.02
21	Dodecanol*	1474	1469	0.35 ± 0.26	0.26 ± 0.21	0.15 ± 0.05
22	Propanoato de etila*	702	711	0.04 ± 0.02	0.03 ± 0.01	-
23	1,1-Dietoxyetano*	713	725	3.29 ± 0.27	2.69 ± 0.28	2.95 ± 0.58
24	Acetato de isobutila*	750	761	0.07 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01
25	Butanoato de etila*	775	802	0.35 ± 0.04	0.26 ± 0.03	0.26 ± 0.02
26	1,1-Dietoxy-2-metilpropano*	840	859	0.08 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.07 ± 0.01
27	Acetato de isoamila*	867	869	6.76 ± 0.7	5.24 ± 0.52	5.11 ± 0.31
28	Acetato de 2-metilbutila*	869	877	0.89 ± 0.07	0.71 ± 0.07	0.77 ± 0.06
29	Pentanoato de etila*	900	901	0.11 ± 0.01	0.1 ± 0.02	0.1 ± 0.02
30	Isobutirato de isobutila	912	908	-	0.18 ± 0.02	0.19 ± 0.03

Tabela S2 - Áreas relativas médias com desvio padrão dos compostos identificados nas cervejas pura, com DH lúpulo Comet em *pellet* e com OE do lúpulo Comet.

(Continuação)

	Composto	IR Exp.	IR	% área		
				Pura	2DH	2OE
31	1,1-Dietoxi-3-metilbutano*	948	955	0.23 ± 0	0.21 ± 0.03	0.23 ± 0.05
32	4-Metilpentanoato de etila	963	969	-	0.04 ± 0	-
33	Propionato de 2-metilbutila	969	969	-	0.31 ± 0.02	0.54 ± 0.03
34	Hexanoato de etila*	999	997	5.58 ± 0.37	4.14 ± 0.24	3.01 ± 1.65
35	Isobutirato de 3-metilbutila	1012	1013	-	0.6 ± 0.05	0.68 ± 0.06
36	Isobutirato de 2-metilbutila	1015	1017	-	1.31 ± 0.11	1.60 ± 0.13
37	4-Metilenhexanoato de metila	1025		-	0.79 ± 0.06	0.98 ± 0.06
38	Isobutirato de (E)-2-metil-2-butenila	1052	1059	-	0.04 ± 0.00	0.06 ± 0.01
39	5-Metilhexanoato de etila	1060	1064	-	0.04 ± 0.00	0.02 ± 0.01
40	Isômero do heptanoato de etila	1069		-	0.07 ± 0.02	0.05 ± 0.00
41	Heptanoato de etila	1097	1097	-	0.19 ± 0.02	0.11 ± 0.01
42	Isômero do octanoato de etila	1159		-	0.37 ± 0.04	0.25 ± 0.04
43	Octanoato de etila	1199	1196	-	13.74 ± 0.79	9.98 ± 5.62
44	Acetato de octila*	1210	1211	0.12 ± 0.00	0.08 ± 0.01	0.18 ± 0.02
45	Acetato de 2-nonanol	1233	1236	-	0.02 ± 0.00	0.05 ± 0.01
46	Acetato de β-feniletila*	1253	1256	1.15 ± 0.07	0.82 ± 0.04	1.04 ± 0.05
47	Isômero do nonanoato de etila	1263		-	0.10 ± 0.01	0.08 ± 0.01
48	Nonanoato de etila	1293	1294	0.06 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.16 ± 0.02
49	Acetato de n-nonila	1308	1309	-	0.01 ± 0.00	0.08 ± 0.01
50	Geranato de metila	1319	1322	0.04 ± 0.01	0.58 ± 0.05	1.09 ± 0.04
51	Acetato de citrionelol	1348	1354	0.02 ± 0	0.08 ± 0.01	0.3 ± 0.02
52	Acetato de nerila	1357	1359	-	0.12 ± 0.03	0.25 ± 0.02
53	Acetato de geranila	1377	1379	-	1.24 ± 0.10	2.26 ± 0.30
54	9-Decenoato de etila	1385	1388	0.43 ± 0.04	0.94 ± 0.09	1.34 ± 0.10
55	Decanoato de etila*	1394	1396	8.5 ± 0.76	4.26 ± 0.26	5.38 ± 0.41

Tabela S2 - Áreas relativas médias com desvio padrão dos compostos identificados nas cervejas pura, com DH lúpulo Comet em *pellet* e com OE do lúpulo Comet.

(Conclusão)

Composto		IR Exp.	IR	% área		
				Pura	2DH	2OE
56	Propanoato de geranila	1468	1475	-	0.18 ± 0.06	0.24 ± 0.02
57	Isobutirato de geranila	1506	1514	-	0.35 ± 0.04	0.81 ± 0.07
58	Dodecanoato de etila	1593	1594	-	1.74 ± 0.20	3.54 ± 0.15
59	S-metil tiopentanoato	936	942	-	0.05 ± 0	0.07 ± 0.01
60	S-metil tio-3-metilbutanoato	938	938	-	0.03 ± 0	0.05 ± 0
61	S-metil tiohexanoato	1056	1063	-	-	0.10 ± 0.01
62	2-Nonanona	1090	1087	-	0.21 ± 0.02	0.17 ± 0.01
63	2-Decanona	1155		-	0.06 ± 0.00	0.04 ± 0.00
64	Isômero ramificado da 2-Undecanona	1255	1293	-	0.30 ± 0.03	0.40 ± 0.03
65	2-Undecanona	1291	1293	-	0.4 ± 0.05	0.51 ± 0.04

*Compostos não incluídos na PCA e mapa de calor.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do recente cenário de expansão da cultura de lúpulo no Brasil e da crescente valorização desse insumo na produção de cervejas especiais, buscou-se avaliar a qualidade e as características do lúpulo nacional. Os resultados obtidos a partir das análises químicas permitiram concluir que os lúpulos cultivados no Brasil são compatíveis com os importados quanto à composição dos OEs e aos teores de α e β -ácidos, ainda que algumas amostras brasileiras tenham apresentado menor teor de OE, apontando para a necessidade de cuidados adicionais no processamento e armazenamento do lúpulo pós colheita. Comparando lúpulos cultivados no Brasil e seus correspondentes importados, a PCA revelou que as amostras não se agruparam conforme a origem, mas com a PLS-DA pode-se identificar compostos que se destacaram nos óleos essenciais das amostras brasileiras.

Na produção de cervejas, o uso de OE de lúpulo resultou em bebidas com perfis voláteis e sensoriais similares às cervejas preparadas com DH com lúpulo em *pellet*, sendo identificadas apenas algumas variações na concentração de compostos como mirceno, β -cariofileno e geranato de metila. No entanto, tais diferenças não influenciaram de forma significativa na aceitação das cervejas pelos consumidores. Assim, o uso do OE de lúpulo apresenta-se como uma alternativa na produção de cervejas, com potencial para otimizar processo, reduzir perdas de cerveja e do conteúdo do lúpulo, ampliar as possibilidades sensoriais no desenvolvimento de novas cervejas, além de contribuir para redução de custos.

Assim, este trabalho demonstra a viabilidade de cultivo do lúpulo no Brasil, além de propor modificações no processo de produção da cerveja, o que pode trazer contribuições para avanços na produção nacional de lúpulo e no desenvolvimento de cervejas.

Anexo I – Trabalhos desenvolvidos

Durante o doutorado, além dos estudos apresentados nessa tese, foram realizadas parcerias com outros pesquisadores que resultaram em alguns trabalhos. Dentre esses trabalhos, houve publicação do capítulo de livro *Solid Phase Microextraction (SPME) Applied to the Characterization of Beer, Hop and Related Samples* (Augusto *et al.*, 2023), em março de 2023 no livro *Evolution of Solid Phase Microextraction Technology*, editado por Janusz Pawliszyn e publicado pela *Royal Society of Chemistry (RSC)*.

Foram realizadas também parcerias com pesquisadores do Departamento de Fitopatologia (UFLA). Nesses trabalhos foi empregada a HS-SPME-GC-MS para determinar e identificar compostos orgânicos voláteis produzidos por fungos, e aplicada a PCA para associar os compostos aos resultados de ensaios biológicos. Um desses trabalhos resultou na publicação do artigo *Bacillus amyloliquefaciens* strain BaNCT02: An antagonist with multiple mechanisms of action against *Meloidogyne incógnita* (Moreira *et al.*, 2025).

Colaborações com outros alunos do grupo também resultaram em alguns trabalhos, dentre os quais um deles, intitulado *Validation of an HS-SPME-GC-MS method for the quantification of nine off-flavors in commercial, craft, and homebrewed beers*, está em processo de revisão na revista *Food Analytical Methods*. Há também um segundo trabalho, que tem como título *Otimização e validação de metodologia para determinação de ftalatos por HS-SPME-GC-MS em cervejas caseiras e industriais*, que também foi concluído e será submetido.

Em parceria com outros pesquisadores da UFLA, foram avaliados os compostos voláteis de lúpulos cultivados em casa de vegetação com diferentes tratamentos que buscam melhorar a produtividade das plantas. Para isso, foi aplicada uma metodologia com HS-SPME-GC-MS e métodos quimiométricos para verificar modificações nos voláteis do lúpulo com os tratamentos realizados. Esse trabalho foi concluído e está em processo da escrita para submissão do artigo e também para compor uma tese de doutorado.

Além das atividades mencionadas referentes à pesquisa, em agosto de 2021 ocorreu a nomeação em um cargo de técnica de laboratório na UFLA. A partir de então, as atividades do doutorado passaram a ser conciliadas com o cargo de 40 horas semanais.

Referências

AUGUSTO, F.; PEDROSO, M. P.; PEREIRA, L. F.; CUNHA, I. C. M. Solid Phase Microextraction (SPME) Applied to the Characterization of Beer, Hop and Related Samples. *In: PAWLISZYN, J. (Ed.). Evolution of Solid Phase Microextraction Technology: The Royal Society of Chemistry, 2023.*

MOREIRA, A. C. S.; LOPES, E. A.; VISÔTTO, L. E.; SOARES, M. S. *et al.* Bacillus amyloliquefaciens strain BaNCT02: An antagonist with multiple mechanisms of action against Meloidogyne incognita. **Plant Pathology**, 74, n. 2, p. 320-329, 2025.