

## Avaliação da composição química e da Atividade Antioxidante do *Humulus lupulus L. Columbus* Brasileiro e Americano

Vanessa Neres Santana<sup>1</sup>  
Dhiéssica do Santos Ribeiro<sup>2</sup>  
Romário Alves Santana<sup>3</sup>  
Baraquizio Braga do Nascimento Junior<sup>4</sup>

### RESUMO

Os cones de lúpulo da planta fêmea da espécie do lúpulo comum *Humulus lupulus L.*, apresenta propriedades antioxidantes devido aos compostos presentes na glândula lupulina, dentre eles temos os polifenóis que é um grupo composto por flavonoides, ácidos carboxílicos fenólicos, prenilflavonóides, entre outros, que são de grande interesse da indústria farmacêutica graças aos seus benefícios para a saúde. Foi devido aos inúmeros benefícios biológicos e químicos encontrados no lúpulo e a escassez de estudos sobre o lúpulo cultivado ainda em estágio experimental no Brasil que o presente trabalho teve como propósito traçar um breve perfil cromatográfico e realizar uma avaliação da capacidade antioxidante do óleo essencial do *Humulus lupulus* da espécie *Columbus* cultivado no Brasil e compará-lo com o lúpulo industrializado americano de mesma espécie, sendo possível nota que embora sejam cultivados em condições climáticas e de solo diferentes, não apresentaram diferenças significativas nas análises realizadas, o que indica um alto potencial do Lúpulo produzido no Brasil ser equiparado com o americano industrializado, podendo então com o aumento da produção ser comercializado em escala industrial.

**Palavras Chave:** *Humulus lupulus L.*, óleo essencial, columbus, atividade antioxidante.

### INTRODUÇÃO

O lúpulo é uma trepadeira, nativa de regiões temperadas do hemisfério norte. O gênero *Humulus* inclui três espécies, *Humulus lupulus*, *scandens Humulus*, e *Humulus yunnanensis*, porém apenas *Humulus lupulus* produz cones resinosos e é usado na fabricação de cerveja (ALMAGUERetal, 2014, p. 289-314). *Humulus* pertence à família Cannabaceae, que também inclui *Cannabis* (cânhamo e maconha), possuindo também propriedades relaxantes, sendo utilizado em alguns países como relaxante para o sono. Assim como a *Cannabis*, apenas as flores das plantas femininas apresentam valor comercial, já que elas apresentam nos

<sup>1</sup>Mestrando de Química da Universidade Estadual do sudoeste da Bahia - UESB, [nsnessa@hotmail.com](mailto:nsnessa@hotmail.com);

<sup>2</sup>Mestrando de Química da Universidade Estadual do sudoeste da Bahia - UESB, [dhiessicaquimica@gmail.com](mailto:dhiessicaquimica@gmail.com);

<sup>3</sup>Mestrando de Química da Universidade Estadual do sudoeste da Bahia - UESB, [romario13mv@hotmail.com](mailto:romario13mv@hotmail.com);

<sup>4</sup> Docente do Programa de Pós – Graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, [baraquizio@gmail.com](mailto:baraquizio@gmail.com);

"cones" grande número de glândulas de lupulin, enquanto as flores masculinas muito poucos desenvolvem-se (MARCOS et al, 2011).

**Figura 1** - Flor fêmea de lúpulo em corte transversal



Fonte –MONTEIRO, 2016 *apud*GARRIS, 2011.

As flores femininas (fig.1) produzem uma grande variedade de óleos essenciais e resinas. Dentre os compostos estão o mirceno, humuleno, mircenol, linalool e taninos. O aparecimento em inflorescências das plantas femininas forma os cones da planta onde se produzem glândulas secretoras de lupulina, capazes de sintetizar e armazenar resinas com ácido amargo e óleos essenciais ricos em terpenos fenólicos e polifenóis, que são considerados os componentes mais importantes, agregando importância biológica aos produtos que os utilizam (MARCOS et al, 2011; CLARK et al, 2013). A composição química média típica de cones frescos e secos do lúpulo é apresentada na tabela 1.

**Figura 2** – Tabela da composição química média típica de cones frescos e secos do lúpulo

<b>Constituinte</b>	<b>Quantidade (%)</b>
<i>Resina Total</i>	15-30
<i>Óleo essencial</i>	0.5-3
<i>Proteínas</i>	15
<i>Monossacarídeos</i>	2
<i>Polifenóis (Taninos)</i>	4
<i>Pectina</i>	2
<i>Aminoácidos</i>	0.1
<i>Ceras e esteróides</i>	Vestígios-25
<i>Cinza</i>	8
<i>Humidade</i>	10
<i>Celulose, outros</i>	43

Fonte - ALMAGUER et al., 2014

O lúpulo hoje ainda é visto na maioria das vezes apenas como um dos componentes da cerveja artesanal, mas o mesmo é utilizado desde a antiguidade como planta medicinal. Ainda existem poucos estudos de cunho científico acerca do lúpulo, e principalmente do lúpulo brasileiro devido ao clima não propício para o cultivo, no entanto algumas variedades já começaram a se adaptar ao clima e solo de regiões frias do Brasil (sul e sudeste), ainda em fase experimental.

Devido às substâncias presentes no cone da flor do lúpulo, como resinas, ácidos amargos, óleos essenciais, flavonoides prenilados e outros polifenóis, que é atribuída à planta um grande valor biológico, no entanto para que um indivíduo possa se beneficiar das propriedades presentes do lúpulo na cerveja, o mesmo deveria consumir por dia uma média de 30 litros. Foi em busca de poder se beneficiar de uma forma eficaz de tais propriedades que a indústria alimentícia, de fármacos e fitoterápicos, vêm se interessando cada vez mais.

Os flavonoides presentes no lúpulo apresentam uma variedade de ações na fisiologia vegetal, atuando como antioxidantes, antimicrobianos, fotorreceptores que incluem características de coloração, protetores UV, importante auxiliador na fixação de nitrogênio e no crescimento e desenvolvimento de plantas. Além disso, os flavonóides atuam como agentes promotores da saúde com comprovados efeitos biológicos *in vitro* e *in vivo*, na eliminação de radicais livres, modulação da atividade enzimática, inibição da proliferação celular, anticarcinogênico, antiinflamatório e agentes estrogênicos (HAVSTEEN, 2002; PIETTA,

2000; WINKEL-SHIRLEY, 2001; DAS & ROSAZZA, 2006; FRAGA et al, 2010; MIRANDA et al, 1999; RAMOS, 2007; FERRANDIZ & ALCARAZ, 1991; CHADWICK et al, 2006).

É devido a esses fatores que o estudo do lúpulo (*Humulus lupulus L*) brasileiros e faz importante, podendo realizar uma avaliação química e biológica do óleo essencial do lúpulo em função dos estudos que estão sendo e que já foram realizados com a planta em outros países. Dessa forma as novas condições de cultivo, como solo, clima e a somatório do excesso hídrico, podem originar novas propriedades, potencializar ou até mesmo diminuir/extinguir. Desse modo o estudo do lúpulo brasileiro se encontra em fase inicial e vem se mostrando promissor para fins químicos, sendo esta uma planta rica em substâncias de alto valor para a saúde humana, com poucos estudos desenvolvidos na área comprovando a sua eficácia, devido à dificuldade de se conhecer e isolar alguns de seus componentes.

Existem mais de 100 variedades de lúpulo, tendo como característica, mais ou menos amargor, sabores e aromas cítrico, frutal ou herbal. Dentre essas variedades existem 5 espécies mais populares, a *Saaz*, *Citra*, *Sorachi*, *Centennial*, *Cascade* e *Columbus*. A *Cascade*, *Columbus*, *chinook* e *hallertau* foram às espécies que hoje se adaptaram melhor ao clima brasileiro. O lúpulo da espécie *Columbus* é oriundo do EUA e apresenta 14-16,5% de alfa ácidos presentes na resina, 2-3% total de óleo essencial e é utilizado na indústria cervejeira para o amargor EUA (Hieronymus, 2012; Daniels, 2000).

Desse modo o presente trabalho busca realizar uma avaliação química e biológica do óleo essencial do *Humulus lupulus* da espécie *Columbus* cultivado no Brasil e compará-lo com o lúpulo industrializado americano de mesma espécie. Sendo analisada a composição química majoritária do óleo essencial e determinar os fenólicos totais e a capacidade antioxidante do óleo essencial do lúpulo *in natura* da espécie *Columbus* e comparar com o lúpulo industrializado americano (pellets) de mesma espécie.

## **METODOLOGIA**

### **- Escolha dos Lúpulos**

Os experimentos foram realizados com a variedade de lúpulos *Columbus* cultivado no Brasil em comparativo com o lúpulo industrializado americano de mesma espécie.

#### **- Coleta**

Os lúpulos foram adquiridos em flor diretamente com o produtor da cidade de Campo Largo-PR, região metropolitana de Curitiba, que se encontra a cerca de 30 km da capital. Os lúpulos foram colhidos em abril de 2018, no período da primavera, onde a temperatura máxima era de 22,3 °C e mínima de 13,7 °C. Os mesmos foram secos com ventilação forçada até eliminar 75% de água e posteriormente foram embalados a vácuo, encaminhados via sedex ao laboratório e mantidos refrigerados até posterior utilização.

#### **- Extração dos OEs**

A obtenção dos óleos essenciais das amostras foi realizada pelo método de hidrodestilação, utilizando o aparelho de Clevenger modificado. As amostras secas da flor de lúpulos *Columbus* foram pesadas, aproximadamente 300 g, e colocadas em um balão de fundo redondo com capacidade de 5000mL, e adicionado 2000 mL de água destilada. A extração teve um tempo mínimo de 2 horas de duração. Após a obtenção do óleo, o mesmo foi coletado com auxílio de pipeta de Pasteur, tratado com sulfato de sódio anidro, sendo então filtrada em algodão para a retirada de possíveis sólidos e transferido para *vials* de capacidade de 1.5 mL para facilitar as injeções no Cromatógrafo Gasoso acoplado ao Espectrômetro de Massas e as demais análises. O mesmo procedimento era realizado para a extração do óleo essencial do lúpulo industrializado (pellets) americano.

#### **- Análise Cromatográfica dos OEs**

A caracterização dos principais componentes dos óleos essenciais do lúpulo foram identificados por cromatografia gasosa, com uma amostra do óleo essencial diluída a 10% (v/v) em diclorometano. A injeção foi feita em um cromatógrafo a gás GC-MS Shimadzu modelo GC-QP2010 acoplado a um espectrômetro de massas quadrupolar (Shimadzu, Kyoto, Japão). Os analitos foram separados em coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,32 mm d.i. x 0,32 µm). As condições cromatográficas utilizadas foram: injetor a 220 °C e razão de split 1:40 (1,0 min), gás de arraste Hélio a 0,6 mL/min, rampa de temperatura do forno: 50

°C (1 min), com incremento de 2 °C/min até 150 °C e 10 °C/min até 180 °C, detector a 260 °C. As análises foram realizadas em triplicata e a identificação dos compostos realizada através de comparações entre os espectros de massa obtidos a partir das amostras e os espectros da NIST 2014, obtendo-se similaridade mínima de 90 %.

#### **- Determinação do teor de fenólicos totais**

A quantificação de compostos fenólicos totais do óleo e essencial do lúpulo foi realizada em triplicata de acordo com o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton et al. (1999) e modificado por Bezerra (2012). Volume de 100 µL da amostra e 100 µL do reativo Folin-Ciocalteu foram misturados, e posteriormente diluído em água destilada na proporção de 1:10 (v/v). A mistura permanece em repouso por 5 minutos.

Em seguida foram adicionados 200 µL de carbonato de cálcio 7,5% e os tubos deixados em repouso por 1 hora, na ausência de luz. A absorbância é medida em um espectrofotômetro com comprimento de onda de 740 nm. Os experimentos serão conduzidos em triplicata e os resultados expressos em mg de EAG (miligramas de equivalente do ácido gálico) por grama de óleo (mg EAG/g)<sup>18, 19</sup>.

#### **- Determinação da atividade antioxidante:**

##### **Método DPPH (2,2- difenil-1-picrilhidrazilo)**

Desenvolvido por Brand-William et al. (1995) o método DPPH, com modificações de Kim et al., tem como base a redução da absorbância na região visível de comprimento de onda de 515 nm do radical DPPH<sup>•</sup> por antioxidantes. A solução do radical de DPPH<sup>•</sup> 100 M (3,9 mL) dissolvido em metanol a 80%, foi preparada de forma a apresentar absorbância em 515 nm. Ao adicionar 100 µL da amostra, se homogeneizou cuidadosamente e as manteve em local escuro, à temperatura ambiente, por 30 minutos. A medida de absorbância foi realizada no comprimento de onda de 515nm do radical, antes de adicionar a amostra (A0) e depois de adicionar amostra a 30 e 60 minutos de reação (Af). O monitoramento da diminuição da absorbância da reação entre a solução de DPPH<sup>•</sup> e a amostra foi determinada como porcentagem de inibição, sequestro ou eliminação do radical DPPH<sup>•</sup>, que pode ser obtido pela fórmula:

$$\% \text{ de inibição do radical DPPH} = [(A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}) / A_{\text{controle}} \times 100]$$

### **Método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)6-ácido sulfônico)**

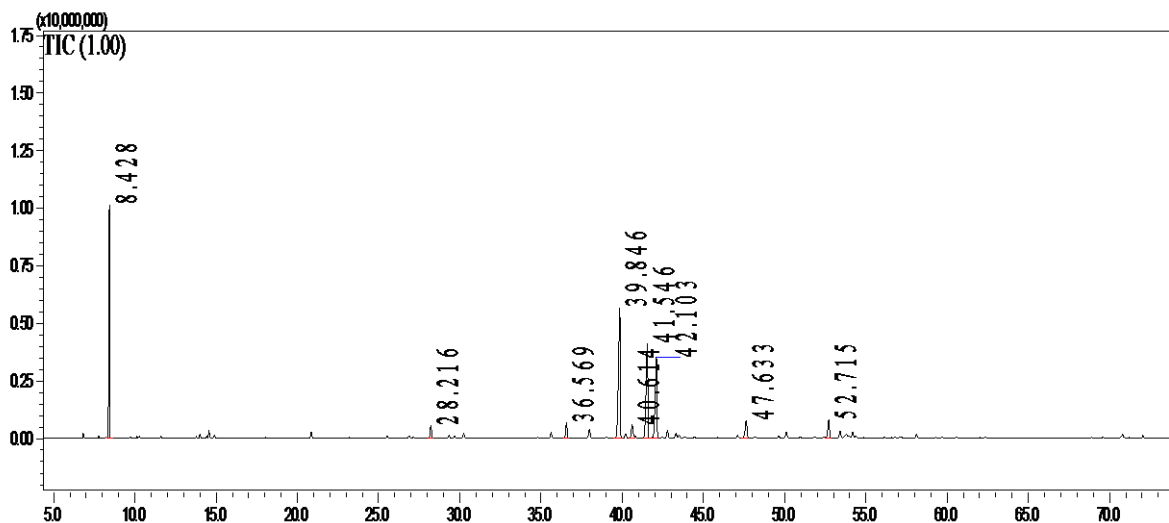
O método ABTS utilizado foi o método descrito por Re et al. (1999) e modificado por Kuskoski et al.<sup>14</sup> O radical ABTS<sup>•+</sup> é formado por uma reação química com persulfato de potássio em uma relação estequiométrica de 1: 0,5. Uma vez formado, o radical ABTS<sup>•+</sup> foi diluído em etanol até obter-se uma medida de absorvância de 0,70 (± 0,02) a um comprimento de onda de 754 nm. Alíquota de 3,0mL do radical diluído foi transferido para cubeta e 30 uL da amostra foi adicionada. A absorvância foi medida em espectrofotômetro, nos tempos 1, 4 e 7 minutos após a adição da amostra. Preparou-se uma curva padrão com soluções de Trolox (antioxidante sintético similar à vitamina E) e vitamina C (ácido ascórbico). Os resultados foram expressos em TEAC, atividade antioxidante equivalente ao Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) em mol TEAC/L de amostra.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

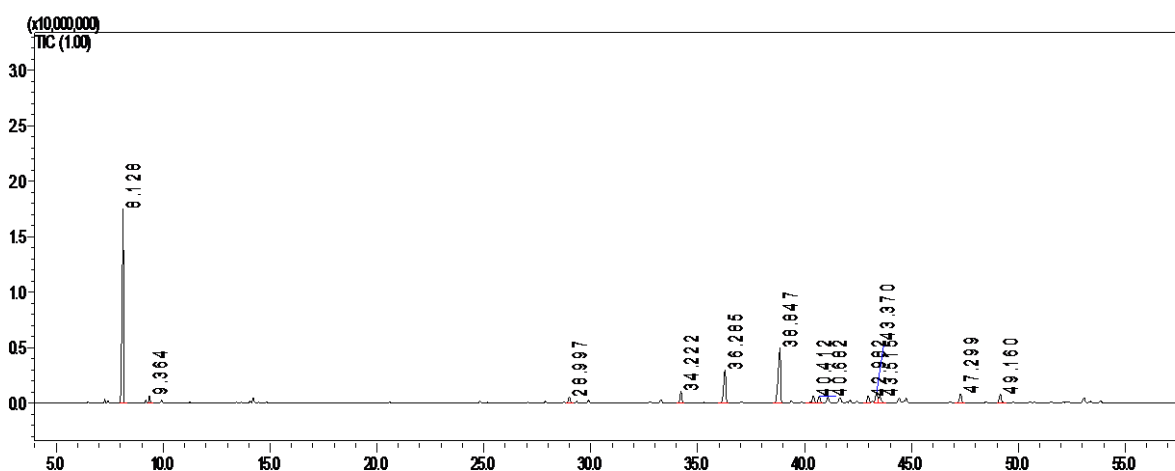
### **- Análise Cromatográfica dos OEs**

Com o objetivo de apenas traçar um perfil cromatográfico prévio a partir das análises por cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas, pôde-se verificar a separação de, aproximadamente, mais 100 constituintes em cada amostra de óleo essencial, como pode ser observado nas fig. 2 e 3.

**Figura 3**—Cromatograma do óleo essencial do Lúpulo *Columbus* brasileiro



**Figura 4** - Cromatograma do óleo essencial do Lúpulo *Columbus* americano



No entanto, analisou-se, pela similaridade da biblioteca Nist (2014) apenas 8 compostos presentes no óleo essencial do Lúpulo brasileiro e 10 compostos presentes no americano, apresentados nas tab. 2 e 3.

**Tabela 1**- Compostos presentes no óleo essencial Lúpulo *Columbus* brasileiro

	Compostos Presentes	Área (CG)%	Tempo de Retenção
1	beta-Myrcene	23,31	8.428
2	2-undecanona	2,00	28.216



3	Isocaryophyllene	2,59	36.569
4	(E)-.beta.-Famesene	27,15	39.846
5	4a,8-Dimethyl-2-(prop-1-en-2-yl)-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene	2,66	40.614
6	$\beta$ -Selinene	15,82	42.103
7	Caryophyllene oxide	3,83	47.633
8	Globulol	3,48	52.715

**Tabela 2** - Compostos presentes no óleo essencial do Lúpulo Columbus americano

	Compostos Presentes	Área (CG)%	Tempo de Retenção
1	beta-Myrcene	42.68	8.128
2	Nerol acetate	3.45	34.222
3	Isocaryophyllene	11.12	36.285
4	Humulene	20.55	38.847
5	.gamma.-Muurolene	2.53	40.412
6	$\gamma$ -Cadinene	2.35	42.982
7	Geranylisobutyrate	3.52	43.370
8	(+)- $\delta$ -Cadinene	2.58	43.515
9	Caryophyllene oxide	3.03	47.299
10	Humuleneepoxide II	2.97	49.160

Dentre os compostos identificados o beta-Myrcene, Isocaryophyllene e o Caryophyllene oxide, foram encontrados tanto no óleo de Lúpulo brasileiro quanto no americano. Da fração de hidrocarbonetos que podem estar presentes do óleo essencial do lúpulo, o mais importante e abundante monoterpeneo é o beta-Myrcene que pode ser responsável por 30 a 60% do teor total de óleo, ele é o principal componente responsável por transmitir o cheiro forte ao lúpulo fresco (ALMAGUER et al, 2014, p. 289-314).

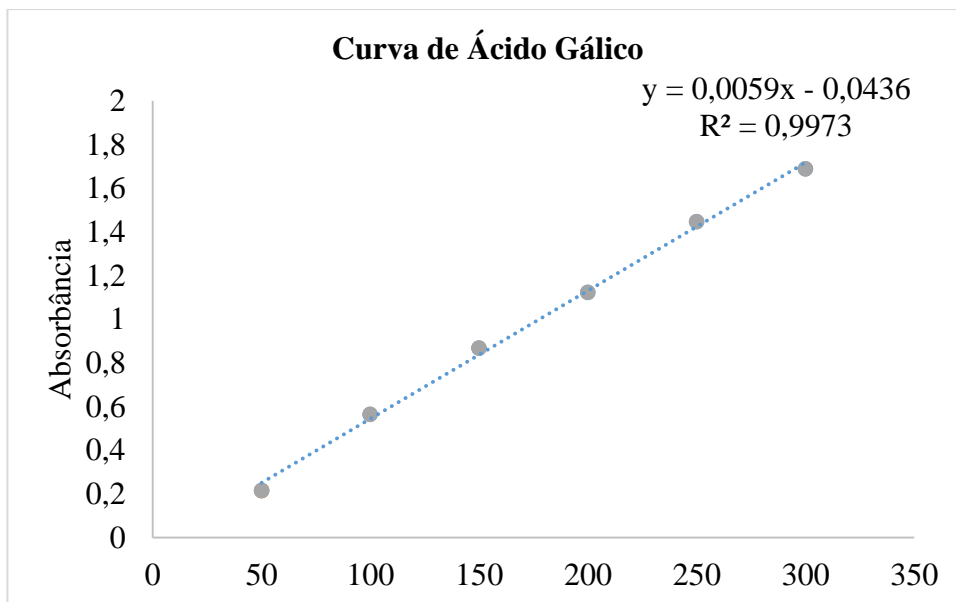
A diferença dos demais compostos identificados pode estar associado a forma de cultivo, clima, solo e também pela forma em que o Lúpulo americano é comercializado, na forma de pellets, isso porque o composto presentes do Lúpulo apresentabaixa estabilidade logo após a colheita e o processo de secagem, sendo assim hoje apenas 5 % da colheita das inflorescências total anual são comercializadas e utilizadas sem nenhum processamento anterior, enquanto cerca de 60 % é comercializada na forma pelletizada, sendo essa a melhor

forma de reter o maior nível da atividade original do lúpulo (BEATSON & INGLIS, 1999, p. 382-385; KOETTER & BIENDL, 2010).

### - Determinação do teor de fenólicos totais

Para a quantificação dos fenólicos utilizou-se os valores de absorbância encontrados para as diferentes concentrações do padrão de ácido gálico para a construção da curva analítica. A equação encontrada foi  $Y = 0,0059x + 0,0436$  tendo  $R^2 = 0,9973$ .

**Gráfico 1** - Curva analítica de ácido gálico para determinação do teor de fenólicos dos óleos de *Humulus lupulus L. columbus*



A partir disso o valor de concentração média para o óleo do lúpulo americano industrializado (pellets) foi de  $96,11 \pm 3,31$  mg EAG/g de amostra, já para o brasileiro (*in natura*) foi de  $102,86 \pm 0,56$  mg EAG/g de amostra.

**Tabela 3** - Relação do teor de fenólicos totais do lúpulo brasileiro e americano

Amostra (Lúpulo <i>Colombus</i> )	Abs			Fenólicos totais (mg EAG/g)
Óleo Americano	0,5150	0,5510	0,5050	$96,11 \pm 3,31$
Óleo Brasileiro	0,5640	0,5590	0,5670	$102,86 \pm 0,56$

Nota-se que o teor de fenólicos totais do óleo de lúpulo brasileiro foi de 6,56 % maior que o óleo americano, essa diferença pode estar relacionada tanto a forma de cultivo, etapas de colheita (solo e condições climáticas), armazenagem e processo de pelletização, uma vez também que a amostra de lúpulo brasileiro utilizada para a extração foi em sua forma *in natura*. Segundo CEH et al. (2007), tem sido comprovado que os diferentes cultivares, ambientes, parâmetros agrotécnicos podem afetar o acúmulo de compostos fenólicos em plantas de lúpulo.

#### - Determinação da atividade antioxidante

A capacidade antioxidante das duas amostras (óleo brasileiro e americano) foi realizada por métodos espectrofotométricos (DPPH e ABTS), e os resultados são apresentados na tab. 5. Dos ensaios de eliminação de radicais foram obtidos a capacidade oxidante, os resultados foram expressos em percentagem de inibição de oxidação, ou seja, a porcentagem de atividade antioxidante é correspondente à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante. Quanto maior o consumo de DPPH pela amostra, maior é sua atividade antioxidante (AA%) (ALVES et al., 2007, p. 7- 8).

O método do ABTS (2,2-azino-bis(ethylbenzo-thiazoline6-sulfonic acid) diammoniumsalt) está baseado na habilidade dos antioxidantes em capturar o cátion  $ABTS^{\bullet+}$ . Esta captura provoca um decréscimo na absorvância, que é lida a partir da mistura do radical com o antioxidante, sendo os seus resultados expressos em TEAC.

**Tabela 4** - Relação da capacidade antioxidante do lúpulo brasileiro e americano

Amostra (Lúpulo <i>Colombus</i> )	ABTS - TEAC ( $\mu\text{Mol/L}$ )	DPPH (AA%)
Óleo Americano	2807 $\pm$ 10,5	84,88 % $\pm$ 0,48
Óleo Brasileiro	3252 $\pm$ 7,64	84,62 % $\pm$ 0,27

A capacidade antioxidante das duas amostras frente o método utilizando DPPH não apresentou diferença significativa, já no método ABTS foi observado uma diferença de 18,68 % maior da capacidade antioxidante do óleo de lúpulo brasileiro em relação ao americano. Essa diferença pode estar relacionada com o radical utilizado em cada método, sendo que o

ABTS<sup>•+</sup> apresenta excelente estabilidade, sendo um dos testes mais rápidos e que oferece resultados reprodutíveis, e uma boa solubilidade, permitindo análises de compostos tanto de natureza lipofílica como hidrofílica. Já O método DPPH tem sido muito utilizado para avaliar a capacidade antioxidante de frutas, apresentando vantagens quando os antioxidantes analisados são mais solúveis em solventes orgânicos (KUSKOSKI et al, 2005, p. 726-32; LIMA, 2008).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que o método de hidrodestilação foi apropriado para a obtenção dos óleos essenciais de Lúpulo (*Humulus lupulus*L.) em flor da espécie Columbus, tanto na sua forma de *pellets* (americano), quanto *in natura* (brasileiro).

A técnica de cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas possibilitou a separação de, cerca de mais de 100 diferentes substâncias em cada amostra, sendo possível traçar um perfil cromatográfico prévio dos óleos, podendo já observar as suas semelhanças e diferenças em relação à composição química.

A determinação de fenólicos totais, a capacidade da atividade antioxidante dos óleos não apresentou diferença significativa, onde tanto o brasileiro e o americano demonstraram um ter uma boa propriedade antioxidante. No entanto ao comparar os polifenóis do lúpulo, as propriedades antioxidantes dos óleos essenciais e outros constituintes são muito mais complexos, uma vez que a maioria dos polifenóis do Lúpulo exibe atividades mais baixas ou mais altas independentemente dos métodos analíticos utilizados. Em contraste, as propriedades antioxidantes dos compostos de terpeno podem variar, o mesmo composto pode se comportar de maneira neutra, exibir propriedades antioxidantes relativamente fortes, ou, em muitos casos, também pode atuar como um pró-oxidante, o que pode ter acontecido quando foi realizada a determinação da atividade antioxidante com o ABTS, mostrando uma diferença maior entre a capacidade antioxidante do óleo brasileiro e americano em relação ao DPPH (KARABÍNet al, 2016).

Por exemplo, em estudos realizados o linalol foi capaz de reduzir o estresse oxidativo, realizando uma oxidação lipídica induzida por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no cérebro de cobaias (CELIK & OZKAYA, 2002). Já em estudos em que foi utilizado o radical 2,2-difenilpicrilidrazil (DPPH), os resultados se apresentaram de forma contraditória. Hussain et al. (2008), mostrou propriedades antioxidantes relativamente fortes (IC<sub>50</sub> = 16,4 µg / mL) linalol, enquanto que em outros estudos o linalol e o terpineol, não mostrou propriedades de eliminação de radicais DPPH, mesmo uma concentração de 500 µg / mL. Em estudos utilizando o geraniol e terpineol, os efeitos pró-oxidantes não foram comprovados e o farnesol álcool sesquiterpênico se mostrou com moderada propriedade antioxidante (RUBERTO & BARATTA, 2000).

Embora a produção de Lúpulo seja quase exclusiva para fins cervejeiros, há uma perspectiva de uso de compostos biologicamente ativos, de compostos já identificados e de outros que vem sendo identificados na planta com tal propriedade. Até nosso conhecimento sobre compostos ativos sensoriais que estão se transferindo do lúpulo à cerveja ainda não é suficiente (DRESEL et al., 2015). Apenas uma pequena parte do lúpulo é usada atualmente para fins que não sejam da indústria cervejeira, mas eles ainda estão em expansão, tanto para fins medicinais, quanto na indústria de alimentos, higiene pessoal e agrotécnica (GATICA-ARIAS et al., 2013; KAVALIER et al., 2014).

## REFERÊNCIAS

ALMAGUER, C.; SCHÖNBERGER, C.; GASTL, M.; ARENDT, E.K.; BECKER, T. Humulus lupulus—a story that begs to be told. **A review. Journal of the Institute of Brewing.** 120(4):289-314, 2014.

ALVES, C. Q., BRANDÃO, H. N., DAVID, J. M., DAVID, J. P., LIMA, L. S. Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides. Diálogos e ciência – **Revista da rede ensino FTC**, v. 5(12), p. 7- 8, 2007.

BEATSON, R.A. & INGLIS, T.E. “Development of Aroma Hop Cultivars in New Zealand,” **Journal of the Institute of Brewing** 105, no. 5, 382-385, 1999.

BEZERRA, A. S. Avaliação de compostos funcionais de grãos e extrato concentrado de cevada visando aplicações nutricionais. 2012. 108 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Centro de Ciências Rurais, **Universidade Federal de Santa Maria**, Santa Maria, 2012.

Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Sci. Technol.** 28: 25- 30, 1995.

CEH, B.; KAČ, M.; KOŠIR, I. J.; ABRAM, V. Relationships between xanthohumol and polyphenol content in hop leaves and hop cones with regard to water supply and cultivar. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 8, p. 989-1000, 2007.

Celik, S.; Ozkaya, A. Effects of intraperitoneally administered lipoic acid, vitamin E, and linalool on the level of total lipid and fatty acids in guinea pig brain with oxidative stress induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **J Biochem Mol Biol** 35(6):547-52, 2002.

CHADWICK, L. R.; PAULI, G. F.; FARNSWORTH, N. R. The pharmacognosy of *Humulus lupulus* L. (hops) with an emphasis on estrogenic properties. **Phytomedicine**, 13:119-31; 2006.

CLARK, S.M.; VAITHEESWARAN, V.; AMBROSE, S.J.; PURVES, R.W.; PAGE, J.E. Transcriptome analysis of bitter acid biosynthesis and precursor pathways in hop (*Humulus lupulus*). **BMC plant biology**. 13:12, 2013.

DANIELS, R. Designing Great Beers. Boulder: **Brewers Publications**, 2000.

DAS, S.; ROSAZZA, J. P. N. Microbial and enzymatic transformations of flavonoids. **J Nat Prod**, 69:499-508; 2006.

FERRANDIZ, M. L.; ALCARAZ, M. J. Antiinflammatory Activity and Inhibition of Arachidonic-Acid Metabolism by Flavonoids. **Agents Actions**, 32:283-8; 1991.

FRAGA, C. G.; GALLEANO, M.; VERSTRAETEN, S. V.; OTEIZA, P. I. Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. **Mol Aspects Med**, 31:435-45; 2010.

MONTEIRO, A. DE P. Produção De Cervejas Especiais Adicionadas De Extratos Solúveis De Ervas Nativas Com Propriedades Antioxidantes. Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Setor de Tecnologia, **Universidade Federal do Paraná**, CURITIBA 2016; *Apud*. Garris, A., 2011. Cornell University. [Online] Available at: <http://www.news.cornell.edu/stories/2011/06/states-first-hops-specialist-tap> [Accessed 22 04 2016].

GATICA-ARIAS, A.; STANKE, M.; HANTZSCHEL, K.R.; MATOUSEK, J.; WEBER, G. Over-expression of the transcription factor HIMYB3 in transgenic hop (*Humulus lupulus* L. cv. Tettmanger) modulates the expression of genes involved in the biosynthesis of flavonoids and phloroglucins. **Plant Cell Tiss Org** 113(2):279-89, 2013.

HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacol Therapeut**, 96:67-202; 2002.

HIERONYMUS, S. For the love of Hops. Boulder: **Brewers Publications**, 2012.

HUSSAIN, A.I.; ANWAR, F.; SHERAZI, S.T.H.; PRZYBYLSKI, R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chem** 108(3):986-95, 2008.

KARABIN, M.; HUDCOVA, T.; JELINEK, L.; DOSTALEK, P. Biologically Active Compounds from Hops and Prospects for Their Use. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. Vol.15, 2016.

KAVALIER, A.R.; MA, C.H.; FIGUEROA, M.; KINCAID, D.; MATTHEWS, P.D.; KENNELLY, E.J. Targeted analysis of polyphenol metabolism during development of hop (*Humulus lupulus*L) cones following treatment with prohexadione-calcium. **Food Chem** 145:254–63, 2014.

KOETTER, U.; BIENDL, M. Humulus lupulus. A Review of its Historic and Medicinal Uses. **Herbal Gram**, 2010.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI FILHO J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Cien Tecnol Aliment**, 25(4):726-32, 2005.

LIMA, A. Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (caryocar brasiliense, camb.). Tese. [Doutorado em Bromatologia] - **Universidade de São Paulo**; 2008.

MARCOS, J. A. M.; NADAL, J. L. O.; ANDIÓN, J. P.; ALONSO, J. V.; PEDREIRA, T. J. M. G.; PAZ, J. F. Guia del cultivo del lúpulo. [ **Galícia**]: :[ s.n.], 2011.

MIRANDA, C. L.; STEVENS, J. F.; HELMRICH, A.; HENDERSON, M. C.; RODRIGUEZ, R. J.; YANG, Y. H. Antiproliferative and cytotoxic effects of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus*) in human cancer cell lines. **Food Chem Toxicol**, 37:271–85; 1999.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **J Nat Prod**, 63:1035–42; 2000.

RAMOS, S. Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. **J Nutr Biochem**, 18:427–42; 2007.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Rad. Biol. Med.**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

RUBERTO, G.; BARATTA, M.T. Antioxidant activity of selected essential oil components in 2 lipid model systems. **Food Chem** 69(2):167–74, 2000.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods of Enzymology**, v. 299, p.152-178, 1999.

WINKEL-SHIRLEY, B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. **Plant Physiol**, 126:485–93; 2001.