

## COMPOSTOS BIOATIVOS DO LÚPULO, VARIEDADE “COMET”, CULTIVADO EM BOTUCATU, SÃO PAULO, BRASIL, SOB SUPLEMENTAÇÃO LUMINOSA

Gustavo do Carmo Fernandes<sup>1</sup>, Vinicius Fernandes Araujo<sup>2</sup>, Caio Scardini Neves<sup>3</sup>, Barbara Sabino Claro<sup>4</sup>, Olivia Pak Campos<sup>5</sup> e Filipe Pereira Giardini Bonfim<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Graduando em Engenharia Agrônômica na Universidade Estadual Paulista – FCA/Unesp. Email: gc.fernandes@unesp.br

<sup>2</sup>Graduando em Engenharia Agrônômica na Universidade Estadual Paulista – FCA/Unesp.

<sup>3</sup>Doutorando pela Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu (FCA-Unesp).

<sup>4</sup>Mestranda pela Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu (FCA-Unesp).

<sup>5</sup>Doutoranda pela Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu (FCA-Unesp).

<sup>6</sup>Professor Assistente Doutor da Faculdade de Ciências Agrônômicas Botucatu (FCA-Unesp).

### RESUMO

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é cultivado mundialmente com destinação principal à indústria cervejeira. A importância desta planta decorre das suas inflorescências femininas serem ricas em óleos essenciais, resinas e compostos fenólicos, que são responsáveis pelas propriedades bioativas. O objetivo deste trabalho foi avaliar os compostos bioativos de lúpulo da variedade “Comet” na cidade de Botucatu - SP, sob efeito de suplementação luminosa. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, formados por dois tratamentos, com suplementação luminosa e sem, com 9 blocos e uma planta por parcela, totalizando 18 unidades experimentais. Foram avaliados os seguintes compostos: teor de óleo essencial, teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante. Os resultados obtidos mostraram que na ausência de luz, obteve-se maiores teores de compostos bioativos, com exceção dos compostos fenólicos, que não houve diferença significativa. O aumento de substâncias bioativas é uma resposta de defesa da planta à falta de luminosidade adequada, que causa um aumento de compostos no metabolismo secundário. O tratamento com luz apresentou médias superiores em relação à produção de cones. Portanto, a suplementação luminosa na produção tropical da cultura é imprescindível para uma produção de alta qualidade.

**Palavras-chave:** Atividade antioxidante; Compostos fenólicos; Luminosidade; Óleo essencial.

### 1 INTRODUÇÃO

O Lúpulo (*Humulus lupulus* L.), é uma cultura perene, que pertence à ordem Rosales e à família Cannabaceae. É proveniente de regiões com clima temperado do hemisfério norte (AQUINO et al., 2019). O interesse comercial de lúpulo advém principalmente da planta feminina, pois a masculina não apresenta quantidades

satisfatórias dos compostos de interesse, servindo apenas para o melhoramento genético (CERENAK et al., 2019).

Nas inflorescências femininas, também chamadas de cones estão presentes as glândulas de lupulina, responsáveis pela secreção de um pó amarelo (resina), que contém as substâncias químicas de interesse, isto é, resinas, polifenóis e óleos essenciais (DURELLO, 2019). Além disso, nessas resinas são encontrados alfa e beta ácidos, que conferem o amargor e aroma na cerveja.

A cultura é originária do hemisfério norte, apresentando melhores respostas de crescimento e produção em regiões entre as latitudes de 35° a 50° do hemisfério norte e sul (KNEEN, 2003). De acordo com Brits (2008), para um bom desenvolvimento da cultura em regiões de baixa latitude e com temperaturas elevadas, é recomendado fornecer luz artificial (acima de 15 horas) e selecionar cultivares com um longo período vegetativo.

O fotoperíodo ideal para a floração do lúpulo é discutível, pois o comprimento do dia exato é variável e geralmente específico do cultivar (CRAIN, 2011). Segundo Spósito et al. (2019), a indução floral pode ocorrer em um “comprimento mínimo diurno” entre 8 e 10 horas, mas também podem ser efetivos fotoperíodos de 10 a 16 horas de luz.

Botucatu está localizada na latitude 22°50’ a sul da linha do Equador e o fotoperíodo varia de aproximadamente 10 horas no dia mais curto do ano a 13 horas no dia mais longo do ano, não alcançando o fotoperíodo ideal de 16 horas para o desenvolvimento da cultura e promovendo a indução floral precocemente, explicando-se assim a necessidade de suplementação luminosa. (NEVES, 2022).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os compostos bioativos de lúpulo da variedade Comet sob efeito de suplementação luminosa, em manejo convencional na cidade de Botucatu - São Paulo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi implantado em campo, no Pomar Didático do Departamento de Horticultura da FCA – UNESP, Botucatu – SP utilizando a variedade de lúpulo Comet.

Utilizou-se o delineamento em blocos casualizados, formado por dois tratamentos, COM SUPLEMENTAÇÃO LUMINOSA e SEM, composto por 9 blocos, totalizando 18 unidades experimentais. Para separar os tratamentos, a área experimental foi dividida em três partes, compondo os tratamentos, que correspondem ao cultivo sem suplementação luminosa, bordadura (área de isolamento) e com suplementação luminosa.

O sistema de irrigação foi montado por gotejamento com fitas duplas, no qual é composto por um acionador automático de baixo custo. Na primeira parte da área foram instalados dois refletores de 50 w com luz branca, sendo fixados nos postes (um em cada poste), posicionados voltados para as plantas. Já na segunda (bordadura) e terceira parte da área, não há a presença suplementação luminosa.

A colheita foi realizada de acordo com o ponto de maturação das inflorescências, logo, as plantas foram colhidas em momentos diferentes. A determinação do ponto ideal de colheita foi feita seguindo os parâmetros sensoriais qualitativos (aroma e textura dos cones) somados ao parâmetro quantitativo, é verificado a determinação do ponto ideal de colheita, foi colhida amostra de 4 a 6 cones da parte inferior, média e apical da planta, reservando-os em um saco fechado. Em seguida, esses cones são pesados na balança digital de duas casas decimais, resultando no peso fresco do cone. Depois os cones são colocados no micro-ondas por 1 minuto, e pesados novamente. Esse processo é repetido algumas vezes até o peso dos cones estabilizar, determinando assim, o peso seco do cone. É obtida a porcentagem de matéria seca do cone dividindo o peso seco do cone em razão do peso fresco e multiplicando por 100.

Para chegar no ponto de maturação, o valor deve estar entre 20 a 23% de matéria seca, podendo esse valor variar de acordo com as variedades. Por fim, a colheita é realizada retirando os ramos inteiros da planta, separando as inflorescências e em seguida levando para a secagem

O material foi seco em estufa a 35°C, posteriormente armazenado em sacos plásticos à vácuo e mantidos em freezer até o momento da extração. A extração dos óleos essenciais foi realizada no Laboratório de Plantas Medicinais do departamento de Horticultura da FCA/Botucatu-SP. Utilizou-se o método de hidrodestilação com aparato tipo Clevenger durante três horas.

Os compostos bioativos analisados foram: compostos fenólicos, pigmentos fotossintetizantes (antocianina e carotenoides), atividade antioxidante e rendimento de óleo essencial.

Para a análise de pigmentos fotossintetizantes, o material foi moído em moinho de facas do tipo Willey. Em seguida, realizou-se a pesagem do material em tubos Falcon, com 0,05 gramas de cones. Foram adicionados 3 mL de acetona tamponada. A mistura foi levada ao banho ultrassônico por 15 minutos e posteriormente a centrífuga a 4000 rpm por 30 minutos. Realizou-se leitura de absorbância no espectrofotômetro nos

comprimentos de ondas de 663 (clorofila A), 647 (Clorofila B), 537 (antocianina) e 470 (carotenoide) nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Para a determinação dos pigmentos fotossintetizantes utilizou-se da seguinte fórmula:

Antocianina:  $0,08173 A_{537} - 0,00697 A_{647} - 0,002228 A_{663}$

Carotenoides:  $(A_{470} - (17,1 \times (\text{Clorofila a} + \text{Clorofila b}) - 9,479 \times \text{Antocianina}))$

---

119,26

Para a quantificação de Compostos Fenólicos, adotou-se o método de Folin-Ciocalteu, descrito por Swain e Hillis (1959). Em tubo falcon, o material foi pesado, 0,2 g de cones moídos de cada tratamento. Em seguida, adicionou-se 10 mL de metanol a 80%. A mistura foi levada ao banho ultrassônico por 15 minutos e posteriormente para a centrífuga por 20 minutos. Foi transferido 0,05 mL do extrato para o tubo de ensaio em triplicata, ao qual adicionou-se 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu (1:10) e 2 mL de solução de carbonato de sódio a 4% e agitou-se a amostra. Após esse procedimento as amostras ficaram em repouso no escuro por duas horas.

Realizou-se a leitura utilizando o espectrofotômetro no comprimento de onda de 725 nm. A determinação da concentração dos compostos fenólicos totais foi obtida pela plotagem das absorbâncias das amostras na equação da curva de calibração confeccionada utilizando como padrão sintético o ácido gálico nas concentrações de 0,05 a 0,8 mg/mL. Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de extrato (mgEAG.g-1).

Na avaliação da atividade antioxidante foi utilizado o método sequestrador de radicais livres DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila) descrito por Yepez et al. (2002) com pequenas modificações. Em tubo falcon foram pesados 0,20 g de cones moídos de cada um dos tratamentos, em seguida adicionou-se 10 mL de metanol a 80%. A mistura foi levada ao banho ultrassônico por 15 minutos e posteriormente a centrífuga a 4000 rpm por 30 minutos. Retirou-se 0,3 mL do extrato onde foi transferido para tubo de ensaio aos quais adicionou-se 2,7 mL do radical DPPH com posterior homogeneização das amostras. Realizou-se leitura de absorbância no espectrofotômetro no comprimento de onda de 517 nm.

A capacidade de sequestrar o radical livre foi calculada e expressa como % de inibição de oxidação, conforme a equação:

$$\text{DDPH reduzido} = \text{Abs branco} - \text{abs da amostra} / \text{dAbs branco} \times 100$$

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos dados de processamento foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, através do programa computacional SISVAR (FERREIRA, 2011) e análise multivariada de componentes principais (PCA) por meio do software estatístico MINITAB (versão 19.2).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na safra obtida no ano de 2022, na cidade de Botucatu-SP, observou-se que o tratamento com suplementação luminosa teve maior destaque produtivo, com produção de 35,6 g de massa seca por planta, em relação ao tratamento sem suplementação luminosa, que apresentou 9,83 g de MS. A produção de lúpulo não foi alvo direto da pesquisa, porém foi preciso estimá-la para dar suporte aos dados de compostos bioativos que serão apresentados, evidenciando que a suplementação luminosa proporciona plantas menos estressantes quanto à condição luminosa. Segundo Rossini (2021), para atingir altas produtividades, é necessário que a planta tenha a luminosidade adequada (15-16 horas) e complete o seu período vegetativo corretamente (5 a 6 metros), para assim, iniciar o período reprodutivo no tempo adequado e obter altos rendimentos.

Por intermédio da análise de variância, observou-se que os compostos bioativos de cones de lúpulo com e sem suplementação de luz artificial, apresentaram diferenças significativas, exceto para o teor de compostos fenólicos (Tabela 1).

Tabela 1. Análise de variância de compostos fenólicos (CF), atividade antioxidante (AA), carotenoides (CAROT), antocianinas (ANT) e rendimento de óleo essencial (RO) de cones de lúpulo com e sem suplementação luminosa, Botucatu-SP, 2023

	Quadrados médios					
	GL	CF	AA	CAROT	ANT	RO
<b>Tratamento</b>	<b>1</b>	661272,1871 <sup>ns</sup>	3,8682**	0,000080**	0,0008**	0,4238**
<b>Resíduo</b>	<b>16</b>	224793,6607	0,8527	0,000002	0,0001	00008,67
<b>Total</b>	<b>17</b>					
<b>C.V(%)</b>		<b>14,56</b>	<b>1,06</b>	<b>22,22</b>	<b>56,77</b>	<b>0,00</b>

\*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F. <sup>ns</sup> Não significativo.

O tratamento com suplementação luminosa apresentou médias inferiores quanto aos compostos bioativos, que por sua vez, são compostos mediados por estresses bióticos e abióticos.

Já o tratamento sem luz apresentou um maior acúmulo de compostos bioativos (Tabela 2), pois sem a suplementação luminosa a planta não tem condições ideais de fotoperíodo, ou seja, a planta tende a acumular mais metabólitos de defesa, em razão do estresse luminoso. Os compostos fenólicos, por exemplo, evidenciam uma resposta de estresse da planta ao meio ambiente. Segundo Simões *et al.* (2017), os compostos fenólicos desempenham papel fundamental em funções como: proteção dos vegetais contra incidência de raios ultravioleta e visível, além de proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias, inibidores de enzimas, antioxidantes, controle de ação de hormônios vegetais dentre outras.

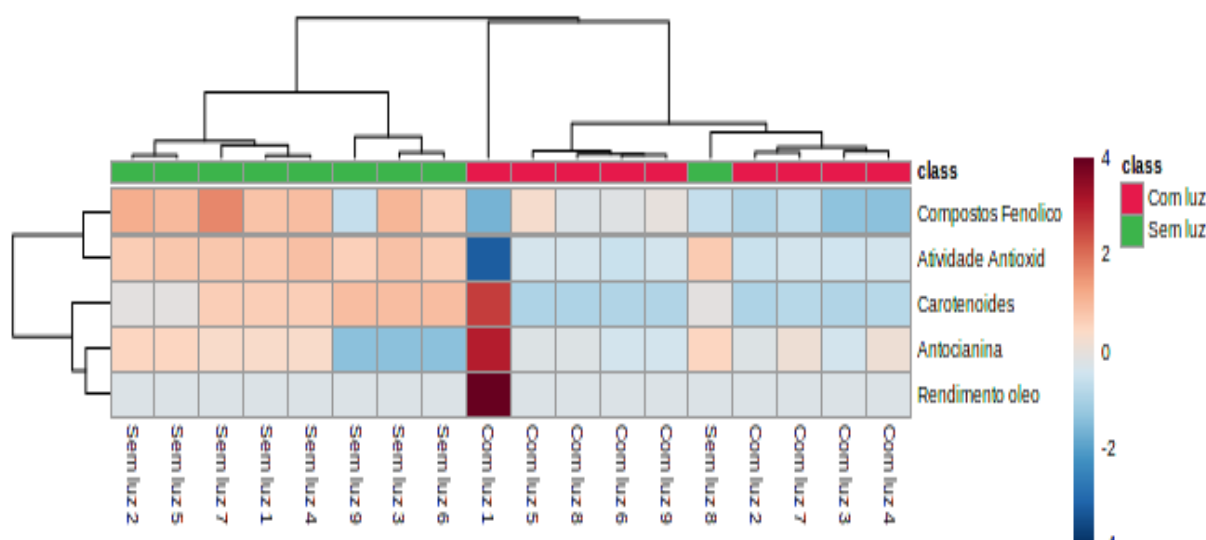
Tabela 2. Valores médios de compostos fenólicos (CF), atividade antioxidante (AA), carotenoides (CAROT), antocianinas (ANT) e rendimento de óleo essencial (RO) de cones de lúpulo com e sem suplementação luminosa, Botucatu-SP, 2023

Tratamento	CF	AA	CAROT	ANTOC	RO
Com LUZ	3063,7055 a	86,6372 b	0,0044 b	0,01242 b	2,0716 b
Sem LUZ	3447,0453 a	87,5643 a	0,0086 a	0,02628 a	2,3785 a

- As médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

No mapa de calor (*heatmap*) apresentado na Figura 1, foi possível perceber a diferença dos tratamentos, baseado em suas correlações com os compostos indicados.

Figura 1. Mapa de calor (*Heatmap*) com base nos diferentes tipos de compostos bioativos de lúpulo: Compostos fenólicos, atividade antioxidante, carotenoides, antocianina e rendimento de óleo



É possível notar que o tratamento sem luz apresenta um acúmulo maior de compostos bioativos, pois sem a suplementação luminosa a planta não tem condições ideais de fotoperíodo, como citado anteriormente, ou seja, a planta tende a acumular mais metabólitos de defesa, em razão do estresse luminoso. Os compostos fenólicos, por exemplo, evidenciam uma resposta de estresse da planta ao meio ambiente. Segundo Simões *et al.* (2017), os compostos fenólicos desempenham papel fundamental em funções como: proteção dos vegetais contra incidência de raios ultravioleta e visível, além de proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias, inibidores de enzimas, antioxidantes, controle de ação de hormônios vegetais dentre outras.

Observou-se uma correlação proporcional direta ou indireta dos compostos bioativos. Os compostos fenólicos (antocianinas) conferem a atividade antioxidante. Os Carotenoides são diretamente proporcionais ao rendimento de óleo, pois ambos são pertencentes às classes dos terpenos, apresentando mesma rota metabólica.

#### 4 CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho com os compostos bioativos de lúpulo sob influência de luz artificial revelam que a ausência de suplementação luminosa gera maiores teores de compostos bioativos, com exceção aos compostos fenólicos, que não se diferiram. Esse aumento de substâncias bioativas, é uma resposta de defesa da planta à falta de luminosidade adequada, que causa um aumento de compostos no metabolismo secundário. Em paralelo, para alcançar altas produtividades, a suplementação luminosa é necessária, uma vez que, para a planta alcançar o crescimento vegetativo completo e assim, entrar no período reprodutivo são necessários de 15 a 16 horas de luz durante o dia. A suplementação luminosa na produção tropical da cultura é imprescindível para uma produção de alta qualidade.

#### 5 REFERÊNCIAS

AQUINO, A. M.; TEIXEIRA, A. J.; ASSIS, R. L. (Org.). Referencial Técnico de Atratividade Agropecuária – Lúpulo. Nova Friburgo, RJ: Embrapa, 2019.

BRITS G. Breeding strategy for the hop industry. South African Breweries Hop Farms, George. 2008.

ČERENAK, Andreja et al. New male specific markers for hop and application in breeding program. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2019.

CRAIN, M.N. Factors controlling hop flowering and their potential and their potential for use in the brewing and pharmaceutical industries. Honors Program Theses. 33p., 2011. <https://scholarworks.uni.edu/hpt/10>

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

FERREIRA, Daniel Furtado. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

KNEEN, R., 2003. Small scale and organic hops production. [Online] Available at: <http://www.crannogales.com/HopsManual>. Pdf. Acesso em 22 março 2023.

NEVES, Caio Scardini. Desempenho ecofisiológico e produtivo de variedades de lúpulo cultivadas em Botucatu, São Paulo, Brasil. 2022.

ROSSINI, Francesco et al. Hops (*Humulus lupulus* L.) as a novel multipurpose crop for the Mediterranean region of Europe: Challenges and opportunities of their cultivation. **Agriculture**, v. 11, n. 6, p. 484, 2021.

SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed, 2017. 486p.

SPÓSITO, Marcel Bellato et al. A cultura do lúpulo. **Série Produtor Rural**, v. 68, 2019.