

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA**

GEÓRGIA ALVIM COELHO ZANGARO

**PERFIL QUÍMICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE LÚPULO EM
FLOR E SUAS CLASSIFICAÇÕES POR QUIMIOMETRIA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PATO BRANCO

2014

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANA
CAMPUS PATO BRANCO
CURSO DE QUÍMICA BACHARELADO

GEÓRGIA ALVIM COELHO ZANGARO

**PERFIL QUÍMICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE LÚPULO EM FLOR E SUAS
CLASSIFICAÇÕES POR QUIMIOMETRIA**

Pato Branco – PR
2014

GEÓRGIA ALVIM COELHO ZANGARO

**PERFIL QUÍMICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE LÚPULO EM FLOR E SUAS
CLASSIFICAÇÕES POR QUIMIOMETRIA**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à Comissão de Diplomação do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador: Dr. Vanderlei Aparecido de Lima

Co-orientador: Dra. Sirlei Dias Teixeira

TERMO DE APROVAÇÃO

O trabalho de diplomação intitulado **PERFIL QUÍMICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE LÚPULO EM FLOR E SUAS CLASSIFICAÇÕES POR QUIMIOMETRIA** foi considerado **APROVADO** de acordo com a ata da banca examinadora N° **6.2.2014-B** de 2014.

Fizeram parte da banca os professores.

Vanderlei Aparecido de Lima

Sirlei Dias Teixeira

Guilherme José Turcatel Alves

Aos meus guerreiros, minha
família que tanto amo. Mauro, Ana Lúcia e Liz.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, aos meus pais, Mauro e Ana Lúcia, por todo apoio que recebi em minhas mais difíceis decisões. Não bastando isso, deram-me o amor mais puro e sincero, incentivando-me a voar com minhas próprias asas.

À minha amada irmã Liz que, com seu enorme sofrimento, permitiu-me seguir minha paixão pela Química. Nosso amor é o maior existente e, independente de nossos corpos estarem separados, nossos corações estarão sempre juntos.

Ao meu companheiro Fabrício que, apesar de nossas diferenças, sempre esteve ao meu lado nos momentos mais felizes e difíceis.

Aos meus amigos, que ficaram em São Paulo, e sempre torceram pela minha vitória.

Aos meus amigos Rafael, Midiã, Aline, Thaís e José Felipe por serem minha família patobranquense e terem me apoiado no momento mais intenso de minha vida.

Ao meu orientador Dr. Vanderlei Aparecido de Lima por confiar seu trabalho em minhas mãos e, acima de tudo, ajudar-me sempre quando necessário.

À minha co-orientadora Dra. Sirlei Dias Teixeira por todo apoio necessário em minhas pesquisas, auxiliando-me sempre com seu vasto conhecimento em óleos essenciais.

Ao professor Dr. Guilherme José Turcatel Alves por se disponibilizar para participar como avaliador deste trabalho e, também, pelo auxílio na estruturação do mesmo.

À Central de Análises, ambiente no qual foi possível à realização das análises essenciais para a conclusão deste trabalho.

Agradeço imensamente à todos!

“Stands at the sea, wonders at wondering: I, a universe of atoms, an atom in the universe.”

Richard P. Feynman

RESUMO

ZANGARO, Geórgia Alvim Coelho. Perfil Químico de Óleos Essenciais de Lúpulo em Flor e suas Classificações por Quimiometria. 2014. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Bacharelado em Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2014.

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é uma planta utilizada em larga escala na produção de cervejas, sendo bastante reconhecido pelos seus aromas. Os compostos relacionados a estes aromas são encontrados nos óleos essenciais das plantas, sendo que, estes óleos, possuem constituintes de natureza variada. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo analisar a composição química dos óleos essenciais de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em flor, adquiridos na cidade de Pato Branco - PR, com posterior classificação por quimiometria. Para a obtenção e análise dos produtos, em triplicatas, utilizou-se os métodos de hidrodestilação e Cromatografia Gasosa associada à Espectrometria de Massas (CG/EM). Obteve-se, como resultado, 46 compostos diferentes, sendo que os majoritários eram da classe dos sesquiterpenos. Por fim, a Análise de Coordenadas Principais (ACoP) mostrou que as triplicatas não eram homogêneas, indicando diferenças significativas nos compostos identificados em cada amostra.

Palavras-chave: Voláteis, Terpenos, Cromatografia Gasosa, Espectrometria de Massas.

ABSTRACTS

ZANGARO, Geórgia Alvim Coelho. Chemical Profile of Flower Hop Essential Oils and its Chemometric Classifications. 2014. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Bacharelado em Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2014.

The hop (*Humulus lupulus* L.) is a crop used in large-scale beer production and well known for its aroma. Compounds related to its aromas are found in essential oils, which have varied nature constituents. Thus, the aim of this study is to analyze the chemical composition of the essential oils of flower hop (*Humulus lupulus* L.) acquired in city of Pato Branco – PR, and classify it with chemometrics. Hydrodistillation technique was used for the extraction of the products in triplicate and Gas Chromatography with Mass Spectrometry (GC/MS) for analysis. The results showed, as expected, 46 different compounds where sesquiterpenes were the majority. At last, the Principal Coordinate Analysis (PCoA) showed that the triplicates were not homogeneous, which mean relevant differences in each sample, compounds.

Keywords: Volatile, Terpenes, Gas Chromatography, Mass Spectrometry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema da flor fêmea do lúpulo (<i>Humulus lupulus</i> L.)	16
Figura 2 – Molécula de Isopreno	17
Figura 3 – Esquema de obtenção de óleos essenciais com Clevenger	23
Figura 4 - Amostra seca de lúpulos em flor	24
Figura 5 - Óleo essencial de lúpulo obtido por hidrodestilação	24
Figura 6 - Cromatograma referente à amostra de lúpulo (<i>Humulus lupulus</i> L.) BR01	26
Figura 7 - Cromatograma referente à amostra de lúpulo (<i>Humulus lupulus</i> L.) BR02	27
Figura 8 - Cromatograma referente à amostra de lúpulo (<i>Humulus lupulus</i> L.) BR03	28
Figura 9 - Espectro de Massas referente ao <i>Humulene epoxide II</i>	33
Figura 10 - Espectro de Massas referente ao <i>Selinene</i> < β ->	34
Figura 11 - Espectro de Massas referente ao <i>Aromadendrene epoxide</i> < <i>allo</i> ->	34
Figura 12 - Espectro de Massas referente ao <i>Muurolol</i> < <i>epi</i> - α ->	35
Figura 13 - Espectro de Massas referente ao <i>Selinene</i> < β ->	35
Figura 14 - Espectro de Massas referente ao <i>Cubenol</i> < <i>1-epi</i> ->.....	35
Figura 15 - Espectro de Massas referente ao <i>Muurolol</i> < <i>epi</i> - α ->	36
Figura 16 - Espectro de Massas referente ao <i>Selinene</i> < β ->	36
Figura 17 - Espectro de Massas referente ao <i>Cubenol</i> < <i>1-epi</i> ->.....	36
Figura 18 - Estrutura Molecular do <i>Humulene epoxide II</i>	37
Figura 19 - Estrutura Molecular do <i>Selinene</i> < β ->.....	37
Figura 20 - Estrutura Molecular do <i>Aromadendrene epoxide</i> < <i>allo</i> ->	37
Figura 21 - Estrutura Molecular do <i>Muurolol</i> < <i>epi</i> - α ->.....	38
Figura 22 - Estrutura Molecular do <i>Cubenol</i> < <i>1-epi</i> ->	38
Figura 23 - Gráfico gerado a partir da Análise de Coordenadas Principais das amostras de lúpulo (<i>Humulus lupulus</i> L.) em flor	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação dos Terpenos por unidades de Isopreno	18
Tabela 2 - Teor (%) de compostos presentes nos óleos essenciais extraídos da Amostra BR01 de lúpulo (<i>Humulus lupulus</i> L.) em flor.....	28
Tabela 3 - Teor (%) de compostos presentes nos óleos essenciais extraídos da Amostra BR02 de lúpulo (<i>Humulus lupulus</i> L.) em flor.....	30
Tabela 4 - Teor (%) de compostos presentes nos óleos essenciais extraídos da Amostra BR03 de lúpulo (<i>Humulus lupulus</i> L.) em flor.....	31
Tabela 5 – Presença (1) e Ausência (0) dos componentes nos óleos essenciais de lúpulo (<i>Humulus lupulus</i> L.) em flor	40

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1 LÚPULO (<i>HUMULUS LUPULUS</i> L.)	15
3.2 ÓLEOS ESSENCIAIS.....	16
3.2.1 Terpenos	17
3.4 ESPECTROMETRIA DE MASSAS	20
3.5 QUIMIOMETRIA.....	21
3.5.1 Análise de Componentes Principais (ACP)	21
4 MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS.....	22
4.2 EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	22
4.3 ANÁLISE E IDENTIFICAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS POR CROMATOGRAFIA GASOSA E MASSAS (CG/MS).....	24
4.4 CLASSIFICAÇÃO POR QUIMIOMETRIA	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1. ANÁLISE DOS PRINCIPAIS CONSTITUINTES DO ÓLEO ESSENCIAL DE LÚPULO EM FLORES	26
5.2. CLASSIFICAÇÃO POR QUIMIOMETRIA	39
6 CONCLUSÃO	43
7 REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

O Lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é uma planta pertencente à família botânica Cannabaceae e, desde os primórdios até hoje, possui grande importância na produção de cerveja (BERNOTIENĖ; NIVINSKIENĖ; BUTKIENĖ, 2004). Antigos constataram que a cerveja era conservada por um maior período de tempo após a introdução do Lúpulo em sua fabricação e, simultaneamente, dava aroma e amargor característicos ao produto, garantindo-lhe reconhecimento em diversos países (BERNOTIENĖ; NIVINSKIENĖ; BUTKIENĖ, 2004).

O seu amargor e aroma são devidos à existência de resinas e óleos essenciais em seu interior e, por possuírem maiores teores desses compostos em sua estrutura, apenas as flores fêmeas são utilizadas na produção da cerveja. As flores podem ser comercializadas secas e trituradas ou, também, podem ser comprimidas, formando os *pellets*, também utilizados pelos cervejeiros (BERNOTIENĖ; NIVINSKIENĖ; BUTKIENĖ, 2004).

Os óleos essenciais são substâncias voláteis e apolares que muitas vezes são utilizadas pelas indústrias de cosméticos, alimentos e fármacos (SANTOS et al., 2004). Estes óleos podem ser extraídos de diversas formas, porém as mais usuais são a hidrodestilação, destilação a vapor, extração por solvente orgânico e extração por CO₂ supercrítico (OKOH; SADIMENKO; AFOLAYAN, 2009). No entanto, o uso de diferentes métodos de extração pode resultar em óleos essenciais com diferentes composições químicas (OKOH; SADIMENKO; AFOLAYAN, 2009). A análise desta diversidade química pode ser feita por cromatografia gasosa, processo no qual há a separação dos constituintes voláteis pela diferença de afinidade existente entre a fase estacionária e as moléculas existentes na amostra (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000). Para a detecção dos constituintes na cromatografia gasosa, pode-se utilizar o detector de massas (CG/EM), gerando o espectro de massas dos compostos e, simultaneamente, seus tempos de retenção, fator que permite a comparação dos resultados obtidos em banco de dados (LEITE, 2009). A análise por cromatografia gasosa é indicada para compostos voláteis e com certa estabilidade térmica (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2007), quesitos estes que os óleos essenciais possuem.

Sabe-se que o Lúpulo (*Humulus lupulus* L.) contém quantidade considerável de óleos essenciais em seu interior, gerando a necessidade do estudo dos seus componentes. Desta maneira, o objetivo deste trabalho é analisar o perfil químico dos óleos essenciais do lúpulo em flores, por meio de cromatografia gasosa e espectrometria de massas, procurando os seus principais componentes e classificando-os por quimiometria.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Obter os óleos essenciais do lúpulo *Humulus lupulus* L. em flor pelo processo de hidrodestilação e analisá-los por meio de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas para, posteriormente, classificá-los por quimiometria.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter lúpulos em flor provenientes das cidades de Pato Branco-PR.
- Obter os óleos essenciais das amostras de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em flor por meio de hidrodestilação.
- Analisar os óleos essenciais de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) por cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas, identificando os seus componentes.
- Classificar os óleos essenciais de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) por meio de quimiometria.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 LÚPULO (*HUMULUS LUPULUS* L.)

De acordo com Farag e Wessjohann (2012, p. 417), “o lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é uma planta de grande importância econômica e cultivada em zonas temperadas do planeta.” Apesar de suas primeiras colheitas datarem de 200 d.C., esta planta foi utilizada para a fabricação da cerveja apenas no ano de 1079 (MOIR, 2000). No entanto, por volta de 1516, a Alemanha decretou que o lúpulo seria o único ingrediente utilizado pelas cervejarias com o intuito de conferir amargor ao produto (BERNOTIENÉ; NIVINSKIENÉ; BUTKIENÉ, 2004).

Suas flores podem se apresentar na forma macho ou fêmea, sendo a reprodução a principal função exercida pelas flores macho. Já as flores fêmeas são utilizadas pela indústria cervejeira, afinal possuem glândulas, cujo nome é lupulina (Figura 1), que armazenam grandes quantidades de resinas e óleos essenciais (FARAG; WESSJOHANN, 2012). Estas substâncias conferem à planta diversas propriedades, tais como: anti-inflamatórias, anti-bacterianas e organolépticas (LEITE, 2009) e, além disso, são importantes indicadores da qualidade do lúpulo (KRALJ et al., 1991).

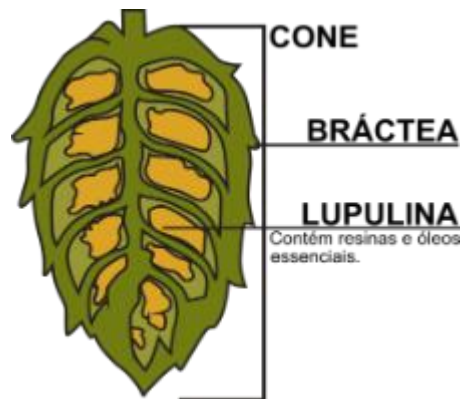


Figura 1 – Esquema da flor fêmea do lúpulo (*Humulus lupulus* L.)

Fonte: Condado da Cerveja (2014).

Sabe-se que suas resinas são responsáveis pelo amargor característico, sendo compostas de α -ácidos e β -ácidos (CANBAŞ; ERTEN; ÖZŞAHIN, 2001). Os α -ácidos, ao serem aquecidos, sofrem reações de isomerização e se transformam em iso- α -ácidos, compostos muito mais solúveis e amargos que seus precedentes (BERNOTIENĖ; NIVINSKIENĖ; BUTKIENĖ, 2004). Por suas características, as resinas possuem elevada importância na indústria cervejeira e, como consequência, dá-se maior atenção às pesquisas com relação a estes compostos (ĈERENAK et al., 2011). Por outro lado, há poucos estudos sobre os óleos essenciais do lúpulo, determinando-se apenas que ele é responsável pelo seu aroma (SHARPE; LAWS, 1981).

3.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são substâncias voláteis em temperatura ambiente e que possuem um grande número de constituintes com baixa massa molecular (LEITE, 2009). Em sua composição, podem estar presentes ésteres, aldeídos, fenilpropanonas e hidrocarbonetos alifáticos, porém a classe mais comumente encontrada é a dos terpenos (SANTOS et al., 2004). A composição dos óleos essenciais pode divergir por diversos motivos, citando-se época de colheita, solo, espécie e, até mesmo, estágio da planta na colheita (GAMA, 2011). Apesar destas divergências, os óleos essenciais podem ter propriedades físicas semelhantes, tais como seus índices de refração e o fato de serem opticamente ativos (LEITE, 2009).

Diante dos vários métodos de obtenção de óleos essenciais, o mais comumente utilizado é o método de hidrodestilação, também conhecido como destilação por vapor d'água (LEITE, 2009). Este método consiste na liberação dos óleos essenciais da planta pelo vapor d' água e, a partir da diferente tensão de vapor existente entre ambos, os óleos são arrastados pelo vapor e, posteriormente, passam por um sistema de resfriamento (LEITE, 2009). Após a separação das fases, coleta-se o óleo por decantação (LEITE, 2009).

3.2.1 Terpenos

Os terpenos são pequenas moléculas de origem vegetal, sendo que a quantidade de unidades de isopreno (C_5H_8) (Figura 2), presentes em suas estruturas, ditam a classificação destes constituintes (BERGAMASCHI, 2014). Estes compostos são metabólitos secundários, formados a partir do Pirofosfato de Isopentenilo (IPP) e Pirofosfato de Dimetilalilo (DMAPP), ambos produtos da Via do Mevalonato (EISENREICH, 1998).

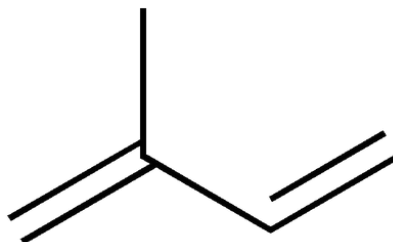


Figura 2 – Molécula de Isopreno

Fonte: Vasconcellos (2014).

Os terpenos são essenciais na fisiologia e nas membranas celulares, participando de forma ativa no crescimento das plantas. Pode-se classificá-los, de acordo com o número de moléculas de isopreno em sua composição, em hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesterpenos e triterpenos (Tabela 1) (BERGAMASCHI, 2014).

Tabela 1 – Classificação dos Terpenos por unidades de Isopreno

Terpenos	Unidades de Isopreno
Hemiterpeno	uma
Monoterpeno	duas
Sesquiterpeno	três
Diterpeno	quatro
Sesterpeno	cinco
Triterpeno	seis

Fonte: Bergamaschi (2014, p.3).

Dentre as classes de terpenos existentes, cita-se os monoterpenos e sesquiterpenos como as mais comumente encontradas nos óleos essenciais (BERGAMASCHI, 2014).

3.3 CROMATOGRAFIA GASOSA

A cromatografia gasosa é uma técnica instrumental que consiste na separação de constituintes por migração diferencial (LEITE, 2009). Substâncias presentes na amostra eluem em uma fase móvel gasosa e, dependendo de sua afinidade com a fase estacionária existente, podem reter-se na coluna, resultando em um maior tempo de eluição. Por fim, após a separação das moléculas, o detector do equipamento gera um sinal elétrico que, posteriormente, é transformado em um cromatograma, indicando as substâncias contidas na fase móvel (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000). Esta técnica é utilizada para a identificação de compostos voláteis e termicamente estáveis, possuindo ótima resolução e analisando um

grande número de substâncias em uma única amostra (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2007). O seu baixo limite de detecção permite o uso de pouca amostra e, simultaneamente, a análise qualitativa de constituintes em escala micro (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2007).

O equipamento de cromatografia gasosa possui seis partes fundamentais para seu funcionamento, sendo elas: gás de arraste, medidor de escoamento, injetor, forno com coluna, detector e registrador (EWING, 1969). O gás de arraste, também chamado de fase móvel, deve ter elevada pureza e ser inerte, impedindo que haja a degradação da fase estacionária e que haja interação com a amostra injetada. O controlador de vazão e pressão faz com que a análise seja feita em uma vazão constante de gás (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2007). O injetor é a parte do equipamento que permite a volatilização da amostra, misturando-a com a fase móvel e a introduzindo na coluna (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000). Existem diversos modos de injeção e, dependendo da concentração do analito, da reprodutibilidade desejada e o tipo de resultados que se quer obter, deve-se escolher o método mais adequado. A coluna com o forno é a parte do equipamento que abriga a fase estacionária e faz com que a temperatura da análise seja controlada. As colunas podem ser do tipo capilar ou empacotada, sendo que as capilares possuem um comprimento maior do que as empacotadas e, assim como as empacotadas, podem possuir fases estacionárias sólidas ou líquidas (GRANDE, 2014). No entanto, as colunas capilares possuem um maior número de pratos teóricos do que as empacotadas, garantindo assim maior resolução à análise (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000). As substâncias previamente separadas na coluna passam pelo detector, parte que gera um sinal elétrico para cada composto separado (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000). Os detectores possuem algumas características importantes, tais como seletividade, sensibilidade, ruído, quantidade mínima detectável, entre outras (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2007). Nenhum detector possui todos esses atributos juntos, logo, deve-se escolher de acordo com a análise utilizada (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2007). Por fim, os sinais gerados pelo detector são registrados graficamente por microcomputadores ou integradores, gerando os cromatogramas, podendo informar os tempos de retenção, áreas e intensidades dos sinais e cálculos de concentração (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2007). De acordo com Collins, Braga e Bonato

A cromatografia gasosa está sendo usada nas mais diversas áreas, como na análise ambiental, nas indústrias químicas e farmacêuticas, na análise de alimentos e de produtos petroquímicos, na medicina, na pesquisa e em outras (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2007, p. 262 – 263)

Apesar de ser uma técnica de separação e quantificação, acoplada ao espectrômetro de massas, torna possível a identificação de compostos (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2007).

3.4 ESPECTROMETRIA DE MASSAS

A espectrometria de massas é uma técnica muito utilizada em conjunto com a cromatografia a gás (CG-EM) ou cromatografia líquida (CL-EM), onde o espectrômetro de massas é um detector de alta seletividade e sensibilidade para o cromatógrafo (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000). Nesta técnica, um composto é ionizado, separado pela razão massa/carga (m/z) e, posteriormente, forma-se um espectro de massas com os fragmentos separados (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

Em geral, um espectrômetro de massas possui três partes principais: fonte, analisador de massas e detector de íons (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000). A fonte faz com que o analito seja ionizado, podendo ser de fase gasosa ou de dessorção (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005). No primeiro caso, a amostra a ser ionizada é previamente vaporizada e, no segundo caso, a amostra sólida ou líquida é imediatamente convertida em íons gasosos (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005). O analisador de massas faz com que os íons previamente formados sejam separados de acordo com as suas respectivas massas (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000). Há uma diversidade muito grande de analisadores de massa no mercado e a escolha do equipamento deve ser feita com base nos tipos de análises a serem realizadas, afinal cada um possui características próprias (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005). Por fim, o detector faz com que os íons separados por suas razões massa/carga sejam transformados em sinais elétricos, gerando assim um gráfico, chamado também de espectro de massas (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000).

A espectrometria de massas é uma técnica muito útil em análises nas quais os espectros de massas já são conhecidos ou, até mesmo, quando não se conhece a estrutura do composto, podendo levar inclusive à identificação dos mesmos quando associada a outras técnicas espectrométricas (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005). Esta técnica é bem versátil e amplamente utilizada em diversas áreas, incluindo a farmacêutica, geológica e ambiental (BUZALAF, 2009).

3.5 QUIMIOMETRIA

A quimiometria é uma disciplina que une ferramentas matemáticas, estatísticas e computacionais com a finalidade de resolver problemas provenientes da química (FERREIRA et al., 1999). Além disso, é relacionada à análise de dados de natureza multivariada (FERREIRA et al., 1999). Dentre os métodos de análise multivariada, pode-se citar o Método de Análise de Componentes Principais (ALMEIDA, 2009). Este método é de grande importância para se obter uma boa resposta em estudos que contenham um grande número de variáveis (ALMEIDA, 2009).

3.5.1 Análise de Componentes Principais (ACP)

A Análise de Componentes Principais é uma técnica estatística que permite a substituição de um conjunto original de variáveis por um conjunto novo e denominado de componentes principais (SABIN; FERRÃO; FURTADO, 2004). Os componentes principais são calculados a partir de combinações lineares de cada variável original, sendo que todos são independentes entre si (VARELLA, 2008). Com este tipo de análise, diminui-se a dimensão dos dados e não se perde muita informação (SABIN; FERRÃO; FURTADO, 2004). Apesar desta redução, a Análise de Componentes Principais permite que apenas os dados com elevada relevância sejam utilizados, sendo muito útil para pesquisas que geram um grande número de resultados (ALMEIDA, 2009).

3.5.1.1 Análise de Coordenadas Principais

A análise de coordenadas principais (ACoP) é uma variação da análise de componentes principais (ACP), sendo utilizada quando o conjunto de dados é do tipo de ausência e presença. Neste tipo de tratamento, ordena-se os dados multivariados quantitativos utilizando medidas de distância (GOTELLI; ELLISON, 2011). Os dados que estão presentes no estudo são representados, em uma matriz, pelo número um e, os que são ausentes, pelo número zero (GOTELLI; ELLISON, 2011)

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Comprou-se três amostras de Lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em flor em comércio da cidade de Pato Branco, no estado do Paraná. As amostras foram armazenadas em local protegido da luz solar.

4.2 OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

A obtenção dos óleos essenciais das amostras foi realizada pelo método de hidrodestilação, utilizando-se o aparelho de Clevenger (Figura 3).

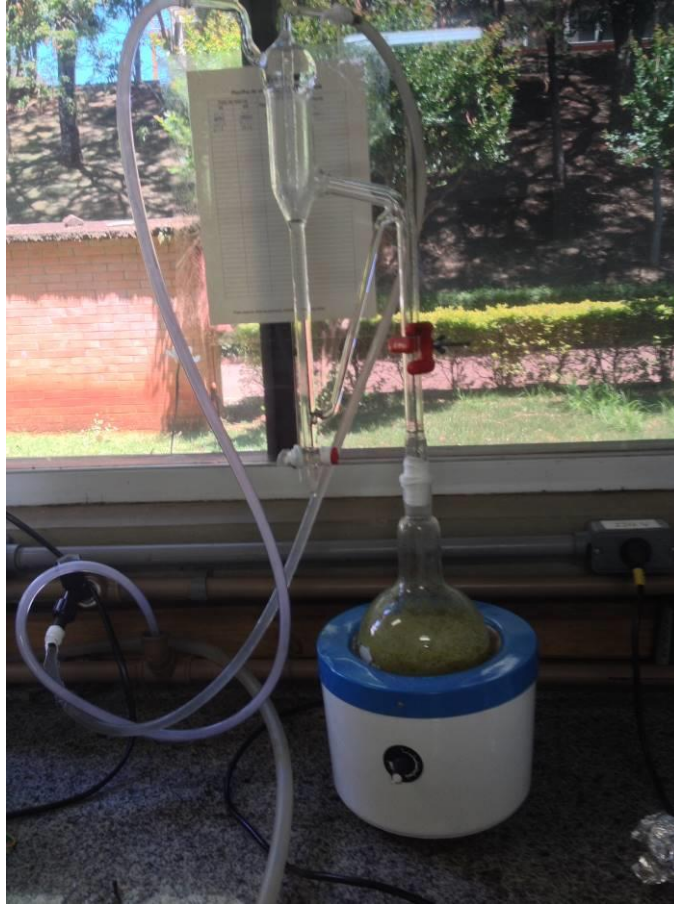


Figura 3 – Esquema de obtenção de óleos essenciais com Clevenger

Foram pesadas, aproximadamente 30 g de amostra seca (Figura 4) e colocadas em um balão de fundo redondo de 1 L, completando-se com água destilada até o nível da manta térmica. O tempo de extração foi de 4 horas e o óleo essencial obtido (Figura 5), foi coletado, utilizando-se uma pequena quantidade de éter etílico. Para garantir que não houvesse água e sólidos na amostra coletada, utilizou-se o sulfato de sódio anidro para secagem e filtrou-se o óleo em algodão. O armazenamento do produto foi feito em *vials*, facilitando as injeções no cromatógrafo gasoso.



Figura 4 - Amostra seca de lúpulos em flor

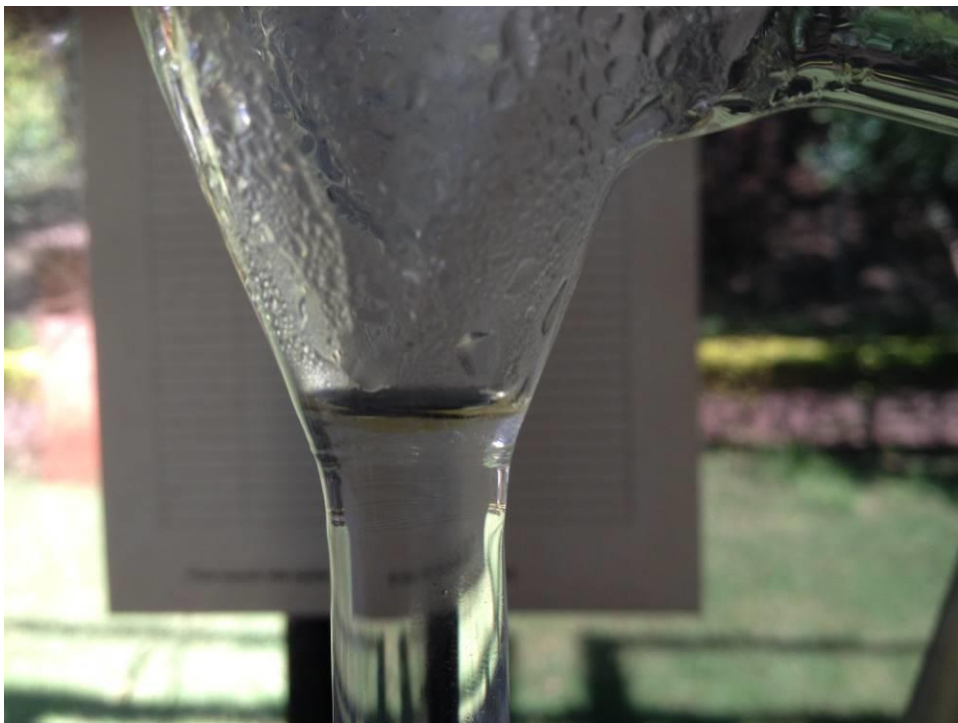


Figura 5 - Óleo essencial de lúpulo obtido por hidrodestilação

4.3 ANÁLISE E IDENTIFICAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS POR CROMATOGRAFIA GASOSA E MASSAS (CG/MS)

A análise dos óleos essenciais obtidos anteriormente foi feita em um cromatógrafo gasoso GC-431 associado ao espectrômetro de massas MS-210, ambos da marca VARIAN®. Injetou-se 1,0 µL de amostra a uma temperatura de 250 °C e com fluxo da coluna de 1,2 mL/min. Durante o primeiro minuto, a temperatura do forno da coluna era de 50 °C, porém, no restante da análise, a temperatura era programada para subir de 60 °C a 240 °C, com uma taxa de aquecimento de 3,0 °C/min nos quatro minutos iniciais e 3,5 °C/min no tempo restante. A temperatura final foi mantida nos últimos 14,5 minutos de análise. Programou-se o espectrômetro de massas para mostrar razões massa/carga de 50 m/z a 250 m/z, resultando em um tempo total da análise de 70 minutos.

. A identificação dos constituintes foi realizada com base nos índices de retenção (ADAMS, 2007), obtidos da co-injeção de uma mistura de *n*-alcanos, e por comparação de seus espectros de massas.

4.4 CLASSIFICAÇÃO POR QUIMIOMETRIA

Os resultados obtidos foram classificados pela Análise de Coordenadas Principais (ACoP), sendo utilizado, para este fim, o *software* PAST (HAMMER et. al., 2001).

A matriz, utilizada no teste estatístico, foi realizada com base na Tabela 05. As linhas desta tabela indicam os compostos orgânicos encontrados nos óleos essenciais de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) e, suas colunas, se estes compostos estão ausentes ou presentes nos mesmos. Por exemplo, quando um composto representa 0,2% da composição do óleo essencial da amostra de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) BR01, o mesmo será representado pelo número um na matriz. No entanto, se este composto não representar porcentagem nenhuma nesta composição, ele será representado por zero.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ANÁLISE DOS PRINCIPAIS CONSTITUINTES DO ÓLEO ESSENCIAL DE LÚPULO EM FLORES

A partir das análises por cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas, pôde-se verificar a separação de, aproximadamente, 140 constituintes em cada amostra de óleo essencial. No entanto, analisou-se, pelos índices de retenção (ADAMS, 2007), cerca de 50 compostos de cada amostra e, dentre este número, identificou-se uma média de 28 compostos.

De acordo com os resultados obtidos a partir das análises dos índices de retenção (ADAMS, 2007) dos óleos essenciais do lúpulo (*Humulus lupulus* L.), foi comprovada a presença de 45 diferentes componentes. Os cromatogramas abaixo (Figuras 6, 7 e 8) mostram os sinais obtidos, a partir da cromatografia gasosa, para amostras BR01, BR02 e BR03.

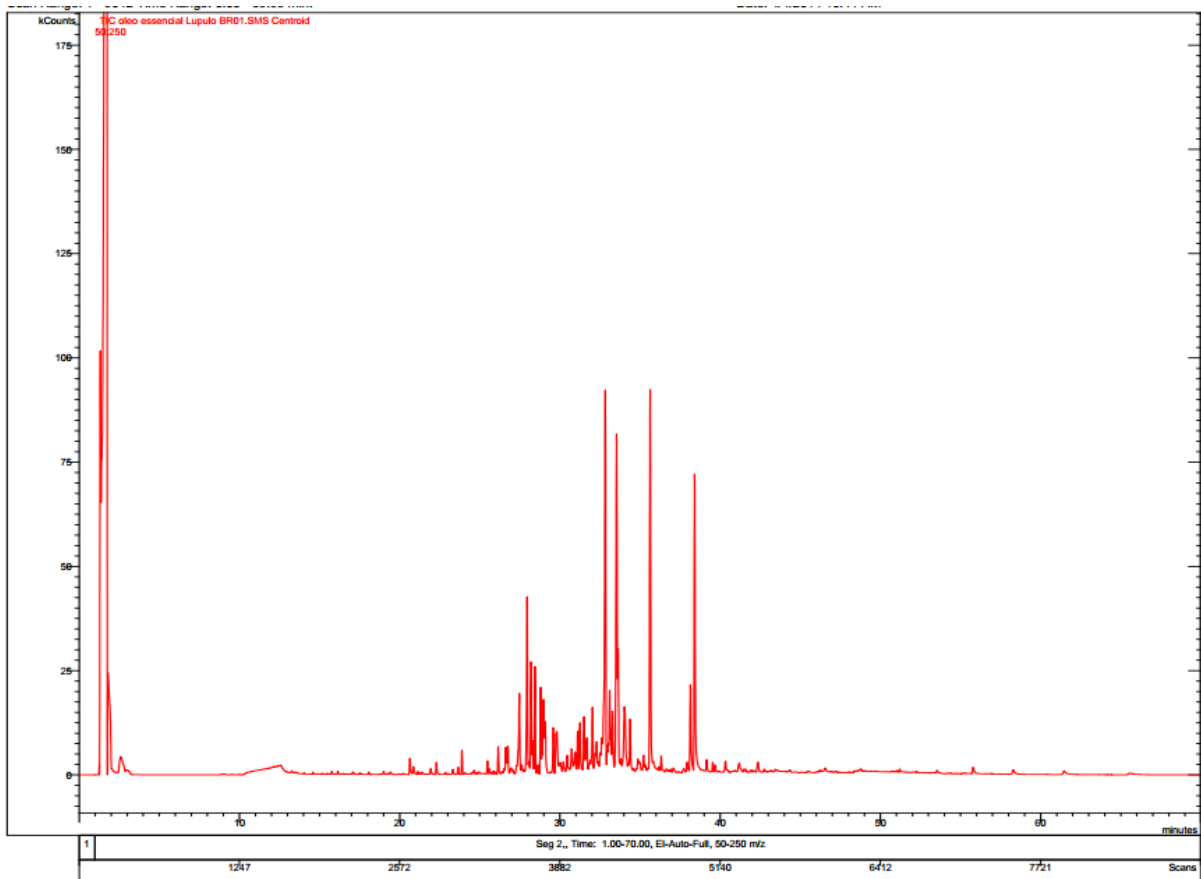


Figura 6 - Cromatograma referente à amostra de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) BR01

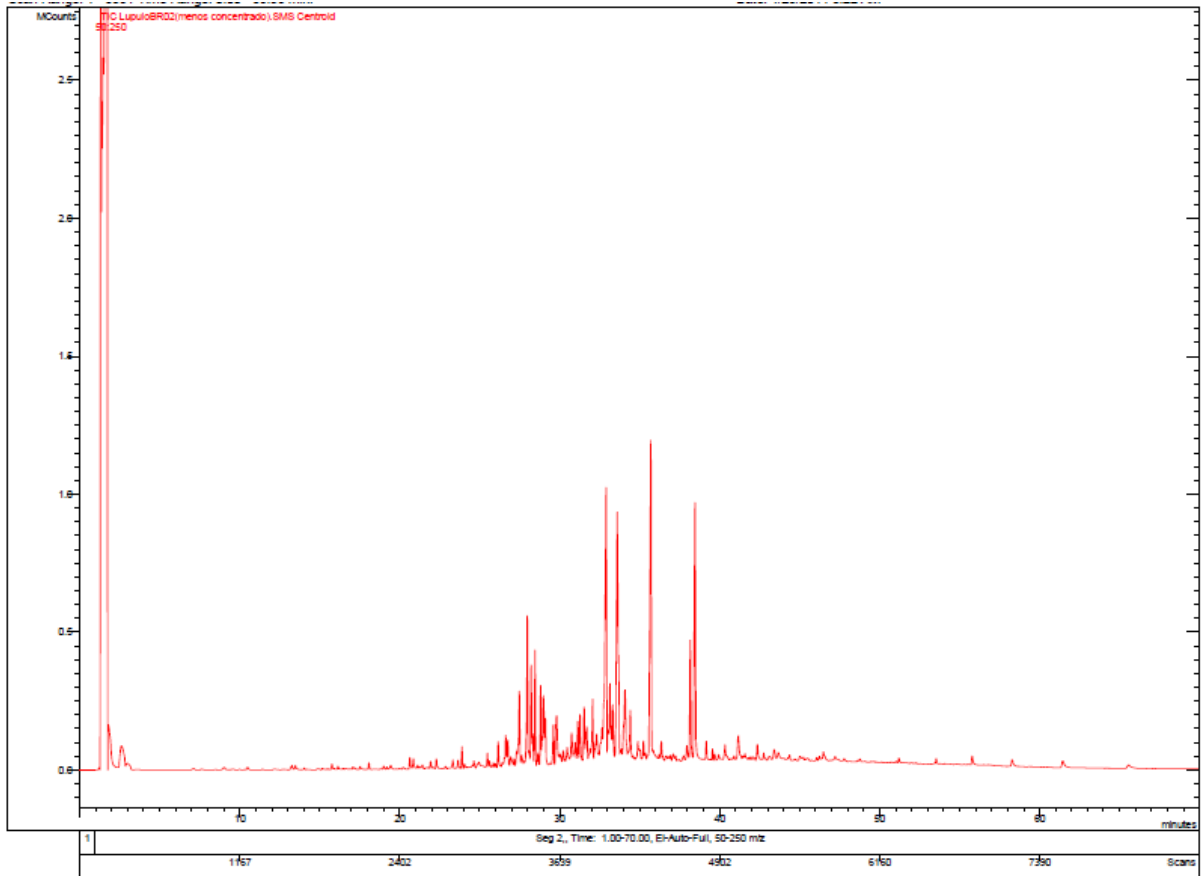


Figura 7 - Cromatograma referente à amostra de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) BR02

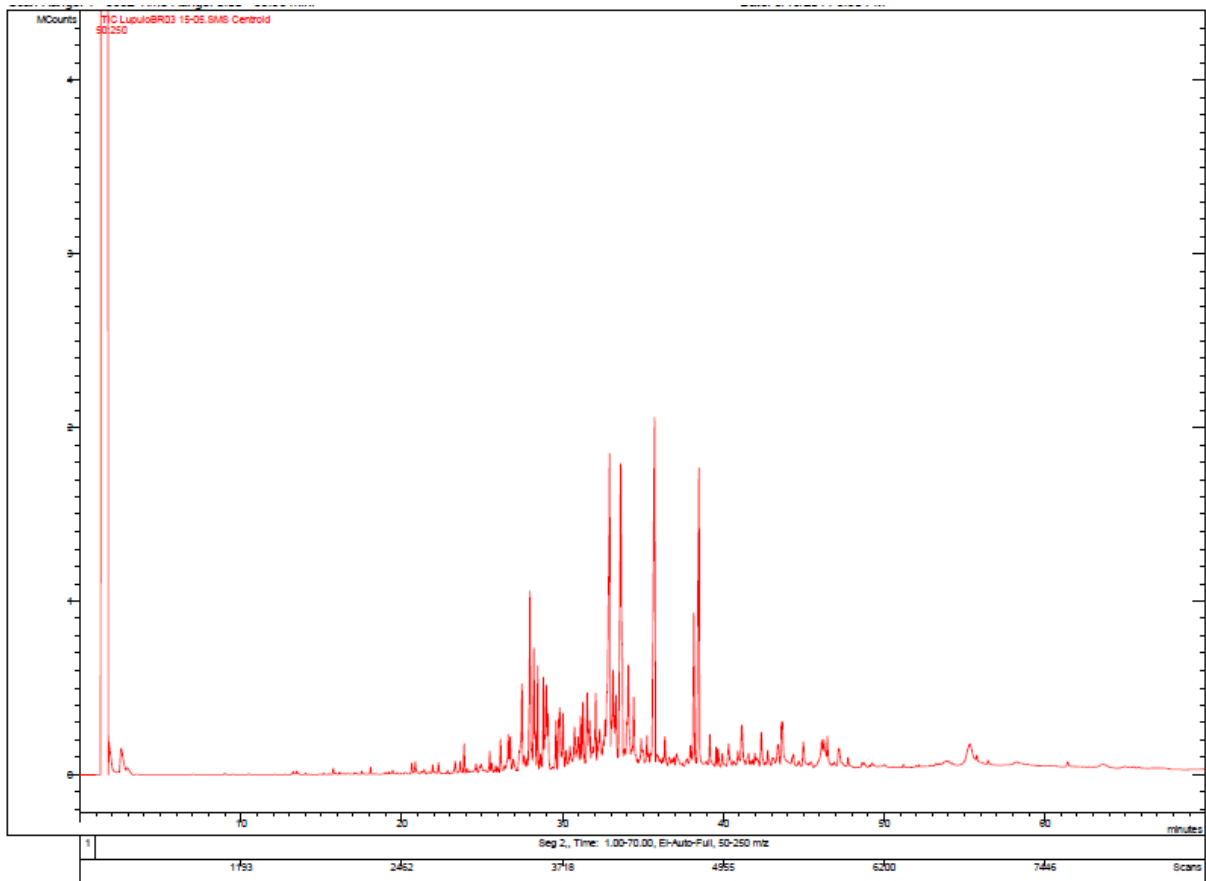


Figura 8 - Cromatograma referente à amostra de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) BR03

Com base nos cromatogramas acima, pode-se afirmar que os compostos, com maior percentual nas amostras, eluem em tempo superior a 25 minutos. Isto significa que os óleos essenciais analisados possuem, em sua grande maioria, terpenos de massa molecular elevada.

Nas tabelas 2, 3 e 4 são apresentados os constituintes identificados, seus teores (%), índices de retenção calculados (IRC) e índices de retenção da literatura (IRL) (ADAMS, 2007) dos óleos essenciais das amostras BR01, BR02 e BR03, respectivamente.

Tabela 2 - Teor (%) de compostos presentes nos óleos essenciais extraídos da Amostra BR01 de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em flor

Compostos Presentes	Teor dos Compostos (%)	Índice de Retenção Calculado (IRC)	Índice de Retenção da Literatura (IRL)
<i>Sabina ketone</i> <dihydro>	0,014	1126	1120

<i>Myrcenol</i>	Traço	1132	1122
<i>Thujanol <neo-3-></i>	Traço	1147	1153
<i>Octanoic Acid</i>	0,015	1162	1171
<i>Pinocampheol</i>	Traço	1179	1170
<i>Acetophenone <p-methyl-></i>	Traço	1187	1182
<i>Verbenone</i>	0,022	1195	1205
<i>Ascaridole</i>	0,019	1226	1237
<i>Carvacrol, methyl ether</i>	0,019	1250	1244
<i>Perilla aldehyde</i>	0,030	1272	1271
<i>Menthyl acetate <neo-></i>	0,022	1283	1273
<i>Trimethyl benzaldehyde <2,3,4-></i>	0,150	1311	1314
<i>Methyl decanoate</i>	0,015	1322	1325
<i>Menth-1-em-7-al <3-oxo-p></i>	0,064	1341	1333
<i>Cubebene <β-></i>	0,172	1387	1388
<i>Aromadendrene</i>	0,229	1443	1441
<i>Humulene <α-></i>	0,255	1458	1454
<i>Cadina-1(6),4-diene <trans-></i>	0,934	1476	1476
<i>Selinene <β-></i>	1,661	1489	1490
<i>Selinene <α-></i>	0,962	1494	1498
<i>Dihydro agarofuran <β-></i>	0,853	1501	1503
<i>Amorphene <δ-></i>	0,809	1513	1512
<i>Calamenene <trans-></i>	0,517	1517	1522
<i>Cadinene <δ-></i>	0,369	1529	1523
<i>Himachalene</i>	0,529	1577	1579

<i>epoxide</i>			
<i>Amorph-4-ene</i>	0,354	1567	1572
<i><1α,10α-epoxy-></i>			
<i>Muurool-5-en-4-α-ol</i>	0,512	1571	1561
<i><cis-></i>			
<i>Humulene epoxide</i>	4,540	1611	1608
<i>II</i>			
<i>Aromadendrene</i>	1,216	1643	1641
<i>epoxide <allo-></i>			
<i>Selina-3,11-dien-6-α-ol</i>	0,506	1653	1644
<i>Bancroftinone</i>	0,830	1758	1769

Tabela 3 - Teor (%) de compostos presentes nos óleos essenciais extraídos da Amostra BR02 de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em flor

Compostos Presentes	Teor dos Compostos (%)	Índice de Retenção Calculado (IRC)	Índice de Retenção da Literatura (IRL)
<i>Mentha-1(7),8-diene <meta-></i>	Traço	1008	1000
<i>Ocimene <(E)-β-></i>	0,038	1049	1050
<i>Sabina Ketone <dihydro-></i>	0,058	1125	1120
<i>Myrcenol</i>	0,030	1132	1122
<i>Thujanol <neoiso-3-></i>	Traço	1156	1151
<i>Isoamyl acetoacetate</i>	0,014	1179	1178
<i>Acetophenone <p-methyl-></i>	0,09	1187	1182
<i>Verbenone</i>	0,048	1194	1205
<i>Ascaridole</i>	0,018	1227	1237

<i>Carvacrol, methyl ether</i>	0,052	1250	1244
<i>Perilla aldehyde</i>	0,034	1272	1271
<i>Terpinen-7-al <α-></i>	0,067	1282	1285
<i>Trimethyl benzaldehyde <2,3,4-></i>	0,117	1311	1314
<i>Methyl decanoate</i>	0,024	1322	1325
<i>Menth-1-em-7-al <3-oxo-p></i>	0,083	1342	1333
<i>Humulene <α-></i>	0,265	1458	1454
<i>Cadina-1(6),4-diene <trans-></i>	0,680	1476	1476
<i>Selinene <β-></i>	1,487	1489	1490
<i>Selinene <α-></i>	0,928	1496	1498
<i>Dihydro agarofuran <β-></i>	0,925	1501	1503
<i>Amorphene <δ-></i>	0,763	1514	1512
<i>Calamenene <trans-></i>	0,486	1517	1522
<i>Cadinene <δ-></i>	0,356	1530	1523
<i>Silphiperfol-5-em-3-ol B</i>	0,123	1541	1535
<i>Palustrol</i>	0,533	1572	1568
<i>Cubenol <1-epi-></i>	1,140	1620	1628
<i>Muurolol<epi-α-></i>	3,414	1632	1642
<i>Selina-3,11-dien-6-α-ol</i>	0,544	1655	1644

Tabela 4 - Teor (%) de compostos presentes nos óleos essenciais extraídos da Amostra BR03 de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em flor

Compostos Presentes	Teor dos Compostos (%)	Índice de Retenção Calculado (IRC)	Índice de Retenção da Literatura (IRL)
---------------------	------------------------	------------------------------------	----------------------------------------

<i>Ocimene <(E)-beta-></i>	Traço	1049	1050
<i>Thujanol <iso-3-></i>	0,030	1131	1138
<i>Thujanol <neo-3-></i>	Traço	1146	1153
<i>Thujanol <neoiso-3-></i>	Traço	1156	1151
<i>Isoamyl acetoacetate</i>	Traço	1178	1178
<i>Acetophenone <p-methyl-></i>	Traço	1187	1182
<i>Verbenone</i>	0,038	1195	1205
<i>Dihydro carveol <neoiso-></i>	Traço	1226	1228
<i>Carvacrol, methyl ether</i>	0,041	1250	1244
<i>Perilla aldehyde</i>	Traço	1272	1271
<i>Trimethyl benzaldehyde <2,3,4-></i>	0,085	1311	1314
<i>Humulene <α-></i>	0,273	1458	1454
<i>Cadina-1(6),4-diene <trans-></i>	0,769	1476	1476
<i>Selinene <β-></i>	1,465	1489	1490
<i>Selinene <α-></i>	0,904	1495	1498
<i>Butylated hydroxytoluene</i>	0,657	1501	1515
<i>Amorphene <δ-></i>	0,715	1514	1512
<i>Calamenene <trans-></i>	0,442	1517	1522
<i>Selinene <7-epi-α-></i>	0,341	1529	1522
<i>Dracunculifoliol <10-epi-cis-></i>	0,487	1540	1541

<i>Palustrol</i>	0,576	1572	1568
<i>Cubenol <1-epi-></i>	1,068	1620	1628
<i>Muurolol <epi-α-></i>	3,624	1633	1642
<i>Selina-3,11-dien-6-α-ol</i>	0,582	1655	1644

Com base nas tabelas acima, pode-se afirmar que dentre os 45 constituintes identificados nas três amostras de lúpulo em flores, 12 estavam presentes em todas elas, sendo eles: *Acetophenone <p-methyl->*, *Verbenone*, *Carvacrol (methyl ether)*, *Perilla aldehyde*, *Trimethyl benzaldehyde <2,3,4->*, *Humulene < α ->*, *Cadina-1(6),4-diene <trans->*, *Selinene < β ->*, *Selinene < α ->*, *Amorphene < δ ->*, *Calamenene <trans->* e *Selina-3,11-dien-6- α -ol*.

Na amostra BR01, pode-se afirmar que o componente com maior percentual é o *Humulene epoxide II* (4,540%). O segundo componente identificado de maior percentual é o *Selinene < β ->* (1,661%), seguido do *Aromadendrene epoxide <allo->* (1,216%). Os espectros de massas dos três compostos de maior percentual estão representados nas figuras 09, 10 e 11.

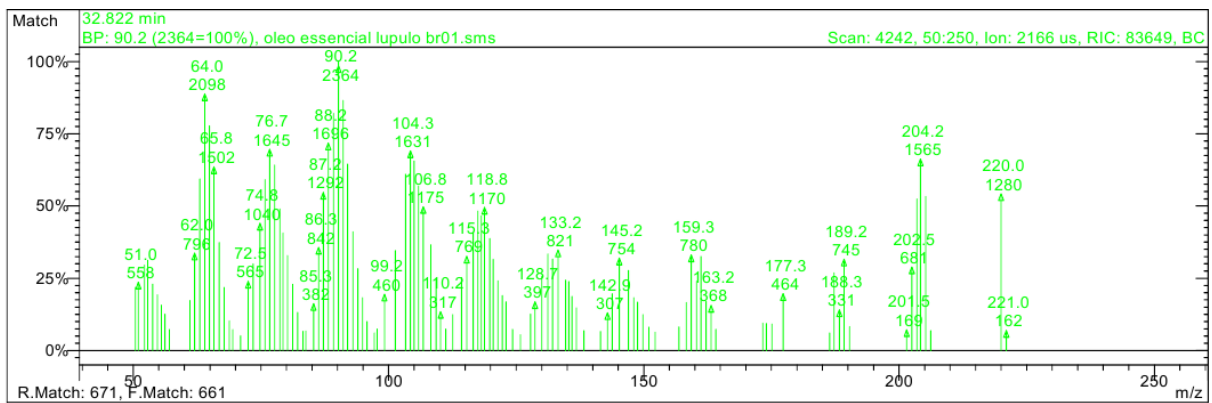


Figura 9 - Espectro de Massas referente ao *Humulene epoxide II*

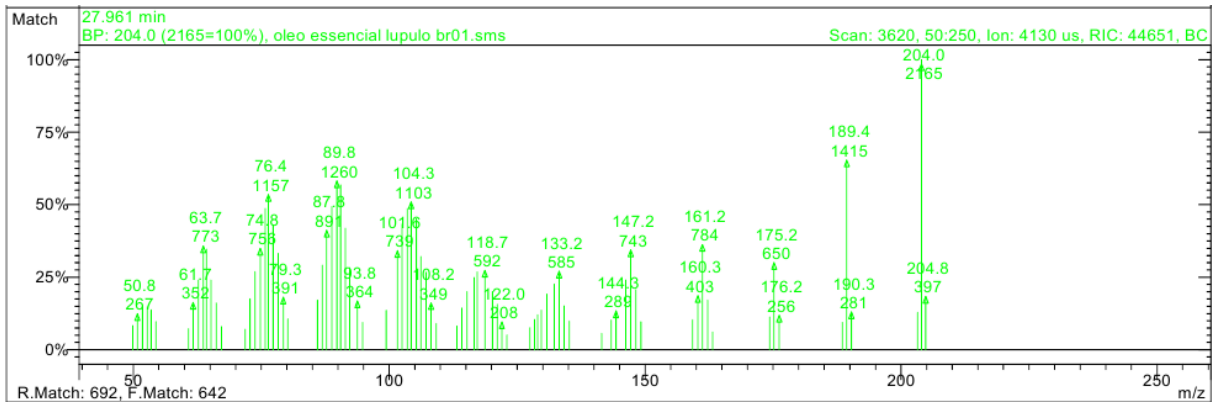


Figura 10 - Espectro de Massas referente ao *Selinene* β ->

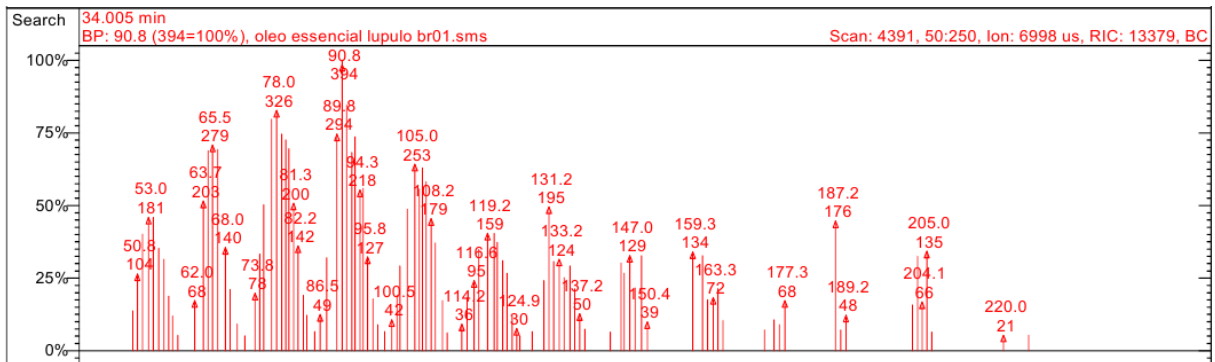


Figura 11 - Espectro de Massas referente ao *Aromadendrene epoxide* $allo$ ->

Na amostra BR02, pode-se afirmar que o componente com maior percentual é o *Muurolol* α -> (3,414%). O segundo componente identificado de maior percentual é o *Selinene* β -> (1,487%), seguido do *Cubenol* 1 -> (1,140%). Os espectros de massas dos três compostos de maior percentual estão representados nas figuras 12, 13 e 14.

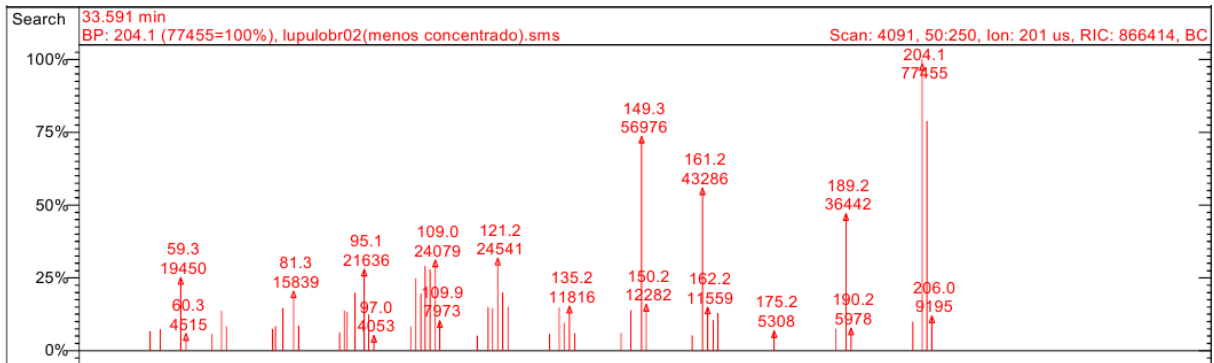


Figura 12 - Espectro de Massas referente ao *Muurolol* α -epi->

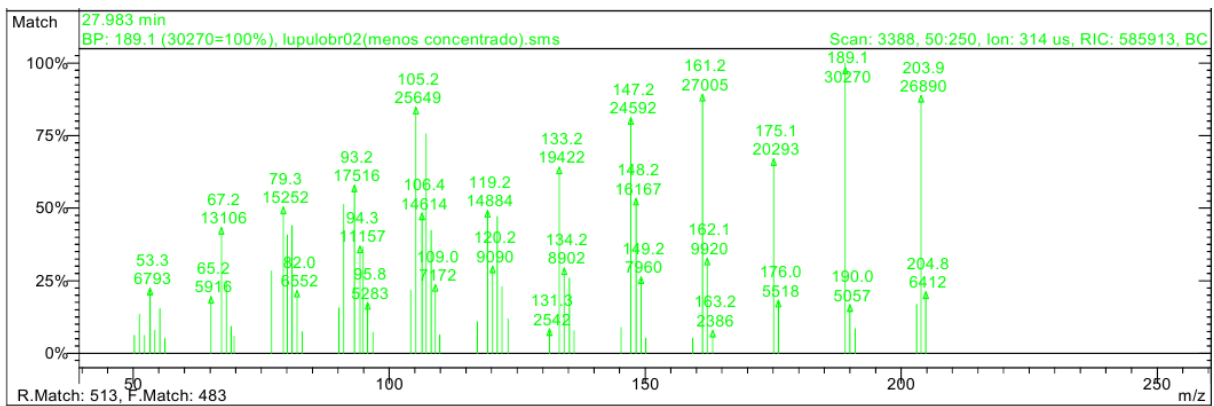


Figura 13 - Espectro de Massas referente ao *Selinene* β -epi->

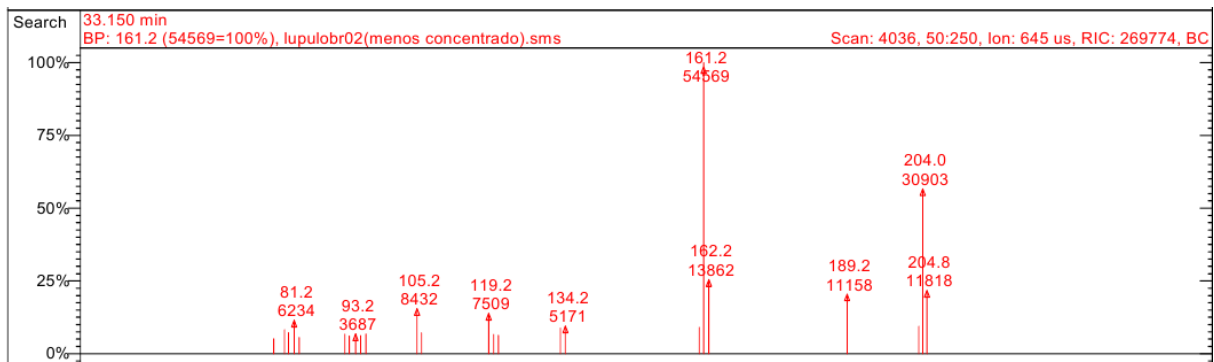


Figura 14 - Espectro de Massas referente ao *Cubenol* 1 -epi->

Na amostra BR03, pode-se afirmar que o componente com maior percentual é o *Muurolol* α -epi-> (3,624%). O segundo componente identificado de maior percentual é o *Selinene* β -epi-> (1,465%), seguido do *Cubenol* 1 -epi-> (1,068%). Os espectros de massas dos três compostos de maior percentual estão representados nas figuras 15, 16 e 17.

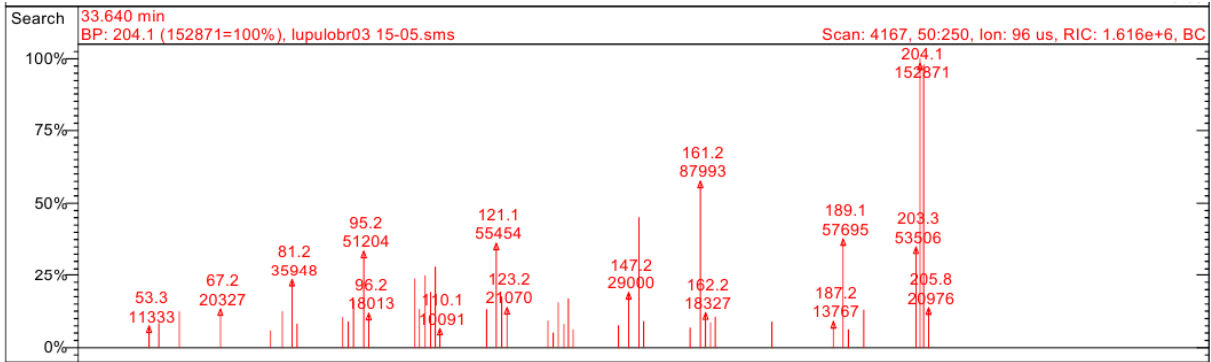


Figura 15 - Espectro de Massas referente ao *Muurolol* α->

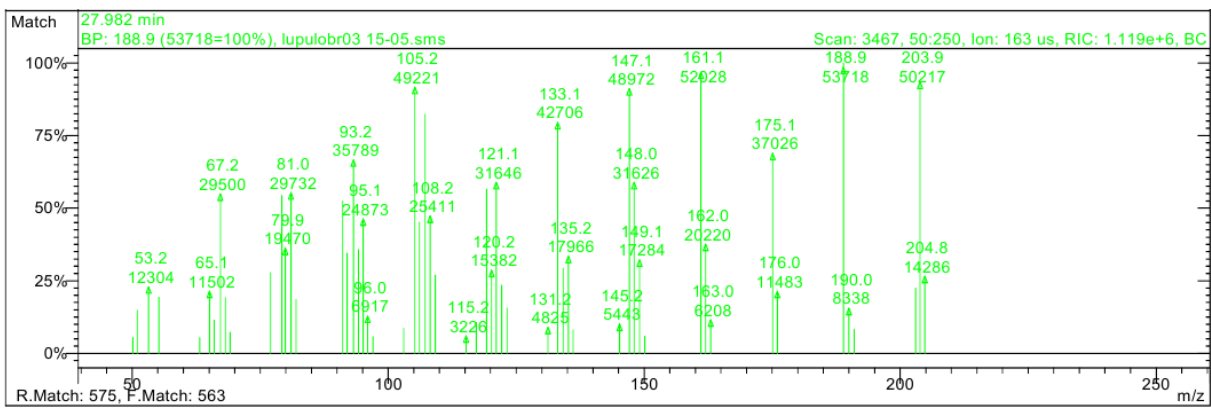


Figura 16 - Espectro de Massas referente ao *Selinene* β->

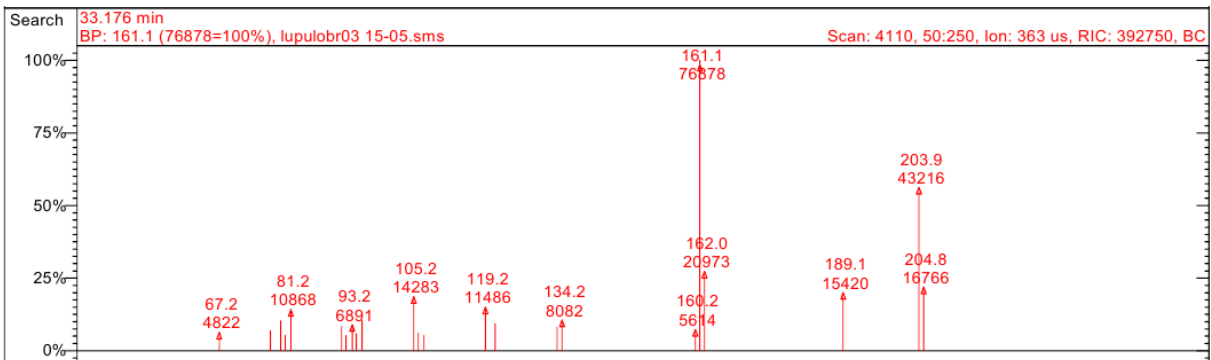


Figura 17 - Espectro de Massas referente ao *Cubenol* 1->

Os compostos majoritários das três amostras de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em flor são da classe dos sesquiterpenos. Suas estruturas moleculares estão representadas nas figuras 18, 19, 20, 21 e 22.

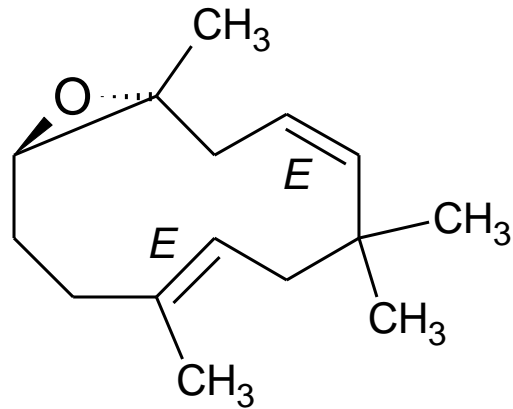


Figura 18 - Estrutura Molecular do *Humulene epoxide II*

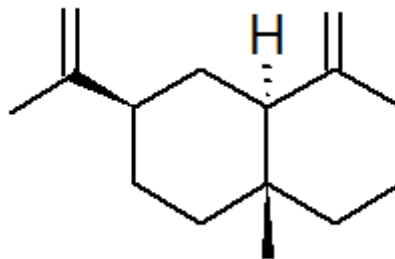


Figura 19 - Estrutura Molecular do *Selinene β->*

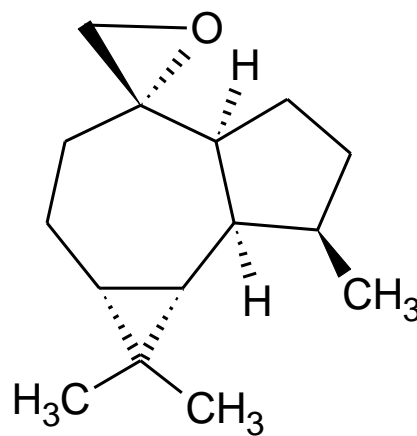


Figura 20 - Estrutura Molecular do *Aromadendrene epoxide allo->*

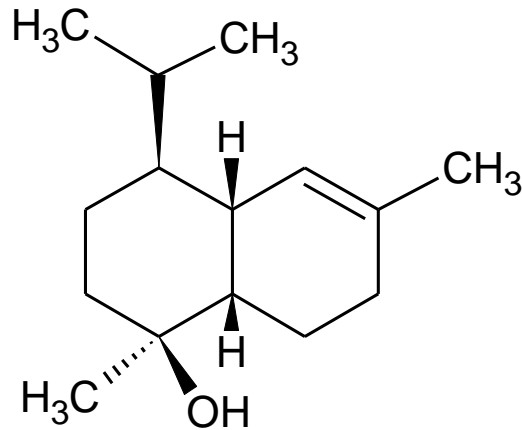


Figura 21 - Estrutura Molecular do *Muurolol* <epi- α ->

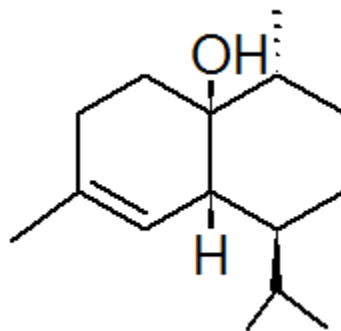


Figura 22 - Estrutura Molecular do *Cubenol* <1-epi->

Os compostos *Ocimene* <(E)- β ->, *Humulene* < α ->, *Selinene* < β ->, *Selinene* <7-epi- α ->, *Cadinene* < δ -> e *Humulene epoxide II* foram identificados nas amostras de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em flor, analisadas neste trabalho. De acordo com Bernotienė et. al. (2004), estes mesmos compostos foram identificados em amostras de lúpulos colhidas em diferentes regiões de *Aukštaitija*. Desta forma, pode-se afirmar que parte dos compostos identificados neste trabalho corrobora com os resultados obtidos nesta literatura.

Os compostos *Myrcenol*, *Methyl decanoate*, *Aromadendrene*, *Selinene* < α -> e *Cadinene* < δ -> também foram identificados nas amostras de óleos essenciais de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em flor. De acordo com Kralj et. al. (1990), estes mesmos compostos foram identificados em amostras de lúpulo (*Humulus lupulus* L.)

coletadas em diversas regiões da Ásia, Oceania, África, Europa e América do Norte, fator que contribui para a veracidade da pesquisa realizada.

5.2. CLASSIFICAÇÃO POR QUIMIOMETRIA

A partir da análise do gráfico abaixo (Figura 18), pode-se afirmar que as três amostras de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em flor não são homogêneas, pois suas representações se apresentaram em diferentes quadrantes.

A ausência de homogeneidade entre os óleos essenciais das três amostras de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) pode ser atribuída à perda de compostos voláteis, durante a execução do método de obtenção e, também, pela não identificação de todos os sinais gerados no cromatograma. Desta forma, os números totais de compostos presentes em cada amostra, diferiram entre si.

Dentre as três amostras analisadas, a com maior variação de constituintes foi a Amostra 01, indicada pelo sinal vermelho do gráfico.

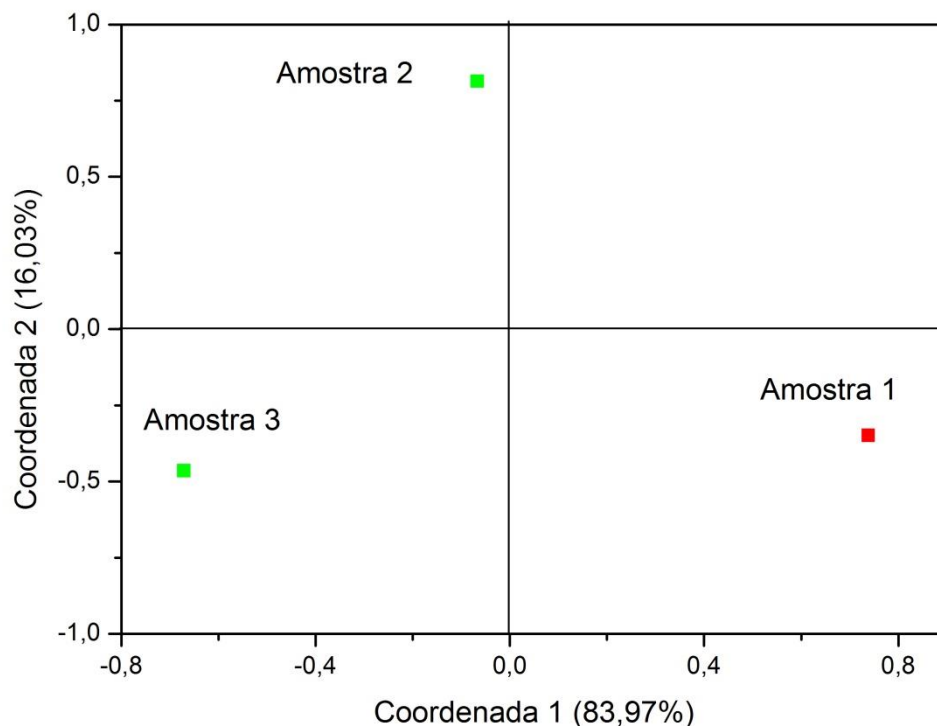


Figura 23 - Gráfico gerado a partir da Análise de Coordenadas Principais das amostras de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em flor

A tabela abaixo (Tabela 05) indica a presença e a ausência dos compostos, encontrados nos óleos essenciais do lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em flor, e o somatório de cada amostra.

Tabela 5 – Presença (1) e Ausência (0) dos componentes nos óleos essenciais de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em flor

Nome dos Compostos	Amostra 01	Amostra 02	Amostra 03
Sabina ketone <dehydro>	1	1	0
Myrcenol	1	1	0
Thujanol <neo-3->	1	0	1
Octanoic acid	1	0	0
Pinocampheol	1	0	0
Acetophenone <p-methyl->	1	1	1
Verbenone	1	1	1
Ascaridole	1	1	0
Carvacrol, methyl ether	1	1	1
Perilla aldehyde	1	1	1
Menthyl acetate <neo->	1	0	0
Trimethyl benzaldehyde <2,3,4->	1	1	1
Methyl decanoate	1	1	0
Menth-1-em-7-al <3-oxo-p>	1	1	0
Cubebene <-β>	1	0	0
Aromadendrene	1	0	0
Humulene <α->	1	1	1
Cadina-1(6),4-diene <trans->	1	1	1

Selinene <β->	1	1	1
Selinene <α->	1	1	1
Dihydro agarofuran <β->	1	1	0
Amorphene <δ->	1	1	1
Calamenene <trans->	1	1	1
Cadinene <δ->	1	1	0
Himachalene epoxide	1	0	0
Amorph-4-ene <1α,10α-epoxy->	1	0	0
Muurool-5-en-4-α-ol <cis->	1	0	0
Humulene epoxide II	1	0	0
Aromadendrene epoxide <allo->	1	0	0
Selina-3,11-dien-6- α-ol	1	1	1
Bancroftinone	1	0	0
Mentha-1(7),8- diene <meta->	0	1	0
Ocimene <(E)-β->	0	1	1
Thujanol <neoiso- 3->	0	1	1
Isoamyl acetoacetate	0	1	1
Terpinen-7-al <α->	0	1	0
Silphiperfol-5-em- 3-ol B	0	1	0
Palustrol	0	1	1
Cubenol <1-epi->	0	1	1

Muurolol <epi- α ->	0	1	1
Thujanol <iso-3->	0	0	1
Dihydro carveol <neoiso->	0	0	1
Butylated hydroxytoluene	0	0	1
Selinene <7-epi- α ->	0	0	1
Dracunculifolol <10-epi-cis->0	0	0	1
SOMA:	31	28	24

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados acima, pode-se concluir que o método de hidrodestilação foi apropriado para a obtenção dos óleos essenciais de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em flor.

A técnica de cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas possibilitou a separação de, aproximadamente, 140 diferentes substâncias em cada amostra. A partir dos índices de retenção (ADAMS, 2007), identificou-se, em média, 28 compostos por óleo essencial. Dentre estes compostos, os majoritários eram da classe dos sesquiterpenos, sendo eles: *Humulene epoxide II*, *Selinene β-*, *Aromadendrene epoxide α-*, *Muurolol α-*, *Cubenol β-*.

A partir da identificação dos compostos, encontrados nas amostras, realizou-se a análise por coordenadas principais (ACoP) e, obteve-se como resposta, ausência de homogeneidade na triplicata. Isso se deve ao fato de que as amostras possuíam números divergentes de constituintes, fenômeno este que pode ter ocorrido pela elevada volatilidade destes compostos e, também, pela não identificação de todos os sinais obtidos por cromatografia.

Os óleos essenciais do lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em flor apresentaram uma diversidade de substâncias muito grande em sua composição, inclusive, alguns compostos identificados neste trabalho, corroboraram com a literatura.

Com o intuito de enriquecer este trabalho, pode-se complementar o estudo com a análise de todos os constituintes destes óleos, obtendo-se, desta forma, uma maior gama de resultados.

7 REFERÊNCIAS

ADAMS, Robert P. **Identification of Essential Oil Components By Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. 4.ed. Illinois: Allured Publishing Corporation, 2007.

ALMEIDA, Filipa Margarida Neves. **Espectroscopia de Infravermelho Próximo com Transformada de Fourier (FT-NIR) na Caracterização de Farinhas para Alimentação Pueril**. 2009. 73 f. Dissertação - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.

BERGAMASCHI, Jonathan. M. Terpenos. Terpenoil – Tecnologia Orgânica. Jundiaí, p. 1–7, 2014. Disponível em: <<http://www.terpenoil.com.br/tecnologia/terpenos.pdf>>. Acesso em: 20 Jun. 2014.

BERNOTIENĖ, Genovaitė.; NIVINSKIENĖ, Ona.; BUTKIENĖ, Rita; MOCKUTĖ, Danutė. Chemical composition of essential oils of hops (*Humulus lupulus* L .) growing wild in Aukštaitija. **Chemija**, Vilnius, n.2, p. 31-36, 2004.

BUZALAF, Marília Afonso Rabelo. Aquisição de um Espectrômetro de Massas Híbrido com Analisadores dos tipos Quádruplo e *Time of Flight* para Identificação de Peptídeos, Proteínas e Produtos do Metabolismo. 2009. Disponível em: <http://media.fapesp.br/bv/uploads/publicacoes/emu_saude_69.pdf>. Acesso em: 31 Jul. 2014.

CANBAŞ, A; ERTEN, H.; ÖZŞAHİN, F. The effects of storage temperature on the chemical composition of hop pellets. **Process Biochemistry**, Adana, v. 36, n. 11, p. 1053–1058, 2001.

ČERENAK, Andreja; PAVLOVIČ, Martin.; LUSKAR, Monika. O.; KOŠIR, Iztok J. Characterisation of Slovenian Hop (*Humulus lupulus* L.) Varieties by Analysis of Essential Oil. **Hop Bulletin**, Žalec, v. 18, p. 27–32, 2011.

CIENFUEGOS, Freddy; VAITSMAN, Delmo. **Análise Instrumental**. 1.ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2000.

COLLINS, Carol H.; BRAGA, Gilberto L.; BONATO, Pierina S. **Fundamentos de Cromatografia**. 1. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2006.

CONDADO DA CERVEJA. Lúpulo o Tempero da Cerveja. 2014. Disponível em: <<http://www.condadodacerveja.com.br/lupulo-o-tempero-da-cerveja/>>.

Acesso em: 18 Jun. 2014.

EISENREICH, Wolfgang; SCHWARZ, Matthias; CARTAYRADE, Alain; ARIGONI, Duilio; ZENK, Meinhart H.; BACHER, Adelbert. The deoxyxylulose phosphate pathway of terpenoid biosynthesis in plants and microorganisms. **Chemistry & Biology**, München/Zürich, p 221-233, 1998.

EWING, Galen W. **Métodos Instrumentais de Análise Química**. 1. ed. v. 2. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 1972.

FARAG, Mohamed. A.; WESSJOHANN, Ludger. A. Cytotoxic effect of commercial *Humulus lupulus* L. (hop) preparations – In comparison to its metabolomic fingerprint. **Journal of Advanced Research**, Cairo, v. 4, n. 4, p. 417–421, 2012.

FERREIRA, Márcia M. C.; ANTUNES, Alexandre M.; MELGO, Marisa S.; VOLPE, Pedro L.O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 5, 1999.

Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40421999000500016&lng=en&nrm=iso>.

Acesso em: 25 Jul. 2014.

GAMA, Erasto Viana Silva. **Biomassa, Óleo Essencial e Nutrição de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br. em Função da Adubação com Compostos Orgânicos Inoculados e sem Inoculação de Actinomicetos**. 2011. 92 f. Dissertação - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2011.

GOTELLI, Nicholas J.; ELLISON, Aaron M. **Princípios de Estatística em Ecologia**. 1. ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2011.

GRANDE, Marcelo Del. Cromatografia Gasosa Princípios Básicos. SINC do Brasil. 2014. Disponível

em:<<http://www.cpatc.embrapa.br/eventos/seminariodequimica/1%B0%20Minicurso%20Produ%E7%E3o%20e%20Qualidade%20de%20Biodiesel/cromatografiagasosa.pdf>>

Acesso em: 31 Jul. 2014.

Hammer, Øyvind.; Harper, David .A.T.; Ryan, Paul D. PAST: Paleontological Statistics, 2001.

KRALJ, D.; ZUPANEC, J; VASILJ, D.; KRALJ, S.; PŠENIČNIK, J.Variability of Essential Oils of Hops, *Humulus lupulus L.***Journal of the Institute of Brewing**, Zalec v. 97, p. 197–206, 1991.

LEITE, João P. V (editor). **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas**. 1.ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2009.

MOIR, Michael. Hops: A millennium review. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 58, n. 4, p. 131–146, 2000.

OKOH, O. O.; SADIMENKO, A P.; AFOLAYAN, A J. Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. **Food Chemistry**, v. 120, n. 1, p. 308–312, 2009

SABIN, Janusa G.; FERRÃO, Marco F.; FURTADO, João C. Análise multivariada aplicada na identificação de fármacos antidepressivos. Parte II: Análise por componentes principais (PCA) e o método de classificação SIMCA. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, p 387-396, 2004.

SANTOS, Alberdan S.; ALVES, Sérgio M.; FIGUEIRÊDO, Francisco J. C.; NETO, Olinto G. R. Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, n. 99, p. 1–6, 2004.

SILVERSTEIN, Robert M.; WEBSTER, Francis X.; KIEMLE, David J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2007.

SHARPE, B. F. R.; LAWS, D. R. J.; The Essential Oil of Hops a Riview. **Journal of the Institute of Brewing**. Redhill, v. 87, p. 96–107, 1981.

VARELLA, Carlos A. A. Análise de Componentes Principais. UFRRJ. 2008.

Disponível em:

<<http://www.ufrrj.br/institutos/it/deng/varella/Downloads/multivariada%20aplicada%20as%20ciencias%20agrarias/Aulas/analise%20de%20componentes%20principais.pdf>

>.

Acesso em: 28 Jul. 2014

VASCONCELLOS, F. Estructura molecular simplicada del isopreno. Wikipedia.

2014. Disponível em:

<<http://es.wikipedia.org/wiki/Terpeno#mediaviewer/Archivo:Isoprene.svg> >.

Acesso em: 20 Jun. 2014.