

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

KARINE GUEDES NAVA

**ASPECTOS AGRONÔMICOS EM RESPOSTA À ADUBAÇÃO ORGÂNICA E
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE CONES DE LÚPULO (*Humulus lupulus*)
PRODUZIDO NO SUL DO BRASIL**

DOIS VIZINHOS

2023

KARINE GUEDES NAVA

**ASPECTOS AGRONÔMICOS EM RESPOSTA À ADUBAÇÃO ORGÂNICA E
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE CONES DE LÚPULO (*Humulus lupulus*)
PRODUZIDO NO SUL DO BRASIL**

**AGRONOMIC ASPECTS IN RESPONSE TO ORGANIC FERTILIZATION AND
CHEMICAL CHARACTERIZATION OF HOP CONES (*Humulus lupulus*)
PRODUCED IN SOUTHERN BRAZIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias.

Orientador: Prof. Dr. Gilmar Antônio Nava
Co-orientador: Prof. Dr. Dalva Paulus

DOIS VIZINHOS

2023



Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Dois Vizinhos



KARINE GUEDES NAVA

**ASPECTOS AGRONÔMICOS EM RESPOSTA À ADUBAÇÃO ORGÂNICA E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA
DE CONES DE LÚPULO (*HUMULUS LUPULUS*) PRODUZIDO NO SUL DO BRASIL**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Ciências Agrárias da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Agroecossistemas.

Data de aprovação: 25 de Setembro de 2023

Dr. Gilmar Antonio Nava, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Dalva Paulus, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Gisele Louro Peres, Doutorado - Universidade Federal da Fronteira Sul (Uffs)

Dra. Paula Fernandes Montanher, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 25/09/2023.

Dedico este trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela força, discernimento e fé.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Gilmar Antônio Nava, pela sabedoria com que me guiou nesta trajetória.

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, por todo conhecimento, dedicação e paciência.

Ao Prof. Dr. Edgar de Souza Vismara, pela ajuda na estatística multivariada.

Ao LabAna, da UTFPR de Francisco Beltrão, por todo suporte na realização das análises em HPLC.

A Fazenda Santa Catarina de Lages (SC) pelo fornecimento das cultivares de lúpulo, em especial a Mariana Mendes Fagherazzi.

Aos produtores de lúpulo da região Sul do Brasil.

Aos meus colegas do PPGSIS.

A Secretaria do Curso, pela cooperação.

Gostaria de deixar registrado também, o meu reconhecimento à minha família, pois acredito que sem o apoio deles seria muito difícil vencer esse desafio. Em especial ao meu marido, Fabiano Romani, pelos momentos de ausência e paciência. Aos meus pais pelas palavras de força e acolhimento.

A UTFPR, pela oportunidade de atuar no Laboratório Central de Análises como bolsista-técnica projeto número 88887.669809/2022-00 e CAPES pela bolsa de fomento à pesquisa, projeto número 001.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização desta pesquisa.

Sou grata por tudo e todos!

“Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, participar da responsabilidade coletiva por toda a humanidade” (Marie Curie).

RESUMO

A avaliação de plantas de *Humulus lupulus* a campo é importante para verificar a sua adaptação climática e capacidade produtiva. A análise química das flores permite determinar suas características químicas e sensoriais, sendo estas as principais exigências para a atribuição de seu valor de mercado. No primeiro capítulo, teve-se como objetivo avaliar aspectos agrônômicos em resposta a adubos orgânicos de lúpulo cultivadas no município de Dois Vizinhos, Sudoeste do Paraná. Para este experimento foram utilizadas duas variedades, Cascade e Chinook, e três adubos orgânicos (esterco de bovino, esterco de ovinos e cama de aves), cultivadas em dois anos consecutivos. As variáveis analisadas foram: número de cones; tamanho dos cones (mm); altura das plantas (m); altura de inserção do primeiro ramo lateral com cone (m); produção por planta (g); análise de clorofila e; análise química, através da quantificação dos óleos essenciais ($\text{mL } 100 \text{ g}^{-1}$), e α e β -ácidos ($\% 100 \text{ g}^{-1}$). Com base nas condições edafoclimáticas em que o experimento foi realizado, conclui-se que a cultivar Cascade foi mais produtiva (maior número e maior biomassa fresca de cones por planta) que a cultivar Chinook, em ambos os anos. A variedade Chinook apresentou maior teor de óleo essencial com a adubação de cama de aves, em ambos os anos. Na análise multivariada dos componentes principais (PCA), as variáveis avaliadas (de campo e químicas) permitiram discriminar as correlações, mas não permitiram discriminar bem as diferenças entre variedades, anos e adubos. No segundo ciclo de produção, ambas as cultivares produziram maiores teores de alfa e beta-ácidos. No segundo capítulo, teve-se como objetivo avaliar flores de lúpulo cultivados no Sul do Brasil nas colheitas de 2021 e 2022. Os tratamentos foram constituídos de amostras de lúpulo cultivados no Sul do Brasil, em análise experimental completamente aleatória, com três repetições. Todas as amostras estavam em sua forma natural, desidratadas, embaladas a vácuo e conservadas em ultra freezer sob temperatura abaixo de 0°C . A avaliação química dos cones de lúpulo foi composta de duas variáveis: rendimento total de óleo essencial ($\text{mL } 100 \text{ g}^{-1}$), o qual foi extraído do aparelho Clevenger e; determinação de α e β -ácidos ($\% 100 \text{ g}^{-1}$) por cromatografia líquida (HPLC). Com base nos resultados discutidos, observa-se que para o ciclo agrícola de 2020/2021, as variedades de *H. lupulus* que mais renderam óleo essencial são oriundas do estado do Rio Grande do Sul. A variedade Comet apresentou nos dois ciclos de cultivo o maior rendimento de óleo essencial, bem como de α -ácidos no primeiro ciclo. A variedade Nuget, apresentou o maior teor de α -ácidos no segundo ciclo. A variedade Mitelfrueh, apresentou o maior teor de β -ácidos no segundo ciclo. Na análise multivariada dos componentes principais (PCA), o fator “ano” apresentou maior contribuição do que o fator “cultivar” para a variabilidade dos dados.

Palavras-chave: *Humulus lupulus*; adubação orgânica; óleo essencial; alfa e beta-ácidos.

ABSTRACT

The evaluation of plants of *Humulus lupulus* in the field is important to verify their climatic adaptation and productive capacity. The chemical analysis of the flowers allows to determine their chemical and sensory characteristics, which are the main requirements for the attribution of their market value. In the first chapter, the objective was to evaluate agronomic aspects in response to organic fertilizers of hops grown in the municipality of Dois Vizinhos, Southwest of Paraná. For this experiment were used two varieties, Cascade and Chinook, and three organic fertilizers (cattle manure, sheep manure and poultry litter), grown in two consecutive years. The variables analyzed were: number of cones; size of cones (mm); plant height (m); insertion height of the first lateral branch with cone (m); production per plant (g); chlorophyll analysis and; chemical analysis, through the quantification of essential oils (mL 100 g⁻¹) and α and β -acids (% 100 g⁻¹). Based on the edaphoclimatic conditions in which the experiment was conducted, it was concluded that the cultivar Cascade was more productive (greater number and greater fresh biomass of cones per plant) than the cultivar Chinook in both years. The Chinook variety presented higher content of essential oil with poultry litter fertilization in both years. In the multivariate principal component analysis (PCA), the variables evaluated (field and chemical) allowed to discriminate the correlations, but did not allow to discriminate well the differences between varieties, years and fertilizers. In the second production cycle, both cultivars produced higher levels of alpha and beta-acids. In the second chapter, the objective was to evaluate hop flowers grown in southern Brazil in the 2021 and 2022 harvests. The treatments consisted of hop samples grown in southern Brazil, in a completely random experimental analysis, with three replications. All samples were in their natural form, dehydrated, vacuum packed and stored in ultra-freezer under temperature below 0 and c. The chemical evaluation of hop cones was composed of two variables: total yield of essential oil (mL 100 g⁻¹) which was extracted from the Clevenger apparatus and determination of α and β -acids (% 100 g⁻¹) by liquid chromatography (HPLC). Based on the results discussed, it is observed that for the agricultural cycle of 2020/2021, the varieties of *H. lupulus* that yielded the most essential oil come from the state of Rio Grande do Sul. The Comet variety presented in both cycles of cultivation the highest yield of essential oil, as well as α -acids in the first cycle. The variety Nuget, presented the highest content of α -acids in the second cycle. The variety Mitelfrueh, presented the highest content of β -acids in the second cycle. In the multivariate principal component analysis (PCA), the factor "year" showed greater contribution than the factor "cultivar" for data variability.

Keywords: *Humulus lupulus*; organic fertilization; essential oil; alpha and beta-acids.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Localização geográfica dos principais polos de produção de lúpulo no Brasil.	17
Figura 2 Inflorescência feminina e masculina de planta de lúpulo.	21
Figura 3 Código dos diferentes estádios de crescimento da planta de lúpulo segundo a escala fenológica BBCH para lúpulo.	23
Figura 4 Transplântio das mudas da variedade Cascade (A) e da variedade Chinook (B).	34
Figura 5 Campo experimental do Departamento de Unep de olericultura pertencente à Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos – Paraná	35
Figura 6 Largura em milímetros de um cone durante a safra agrícola de 2021/2022.	37
Figura 7 Comprimento em milímetros de um cone durante a safra agrícola de 2022/2023.	37
Figura 8 Fenologia das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo de cultivo 2021/2022. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.	41
Figura 9 Fenologia das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo de cultivo 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.	42
Figura 10 - Dados Climáticos (Precipitação e Temperatura Média) de nov/2021 a mai/2023 no município de Dois Vizinhos/PR. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.	44
Figura 11 - Cluster de correlação das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.	64
Figura 12 - Gráfico da dispersão dos indivíduos nos CPs 1 e 2 das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.	65
Figura 13 - Gráfico da dispersão dos indivíduos por ano das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.	66
Figura 14 Gráfico da dispersão dos indivíduos por adubação das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.	67
Figura 15 Cluster de correlação da composição química das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.	68
Figura 16 Gráfico da dispersão dos indivíduos para a composição química das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.	69
Figura 17 - Gráfico da dispersão dos indivíduos para a composição química das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 (Ano 1) e 2022/2023 (Ano 2). UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.	70
Figura 18 - Gráfico da dispersão dos indivíduos para a composição química das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.	71

Figura 19 - Escurecimento na ponta das brácteas dos cones.....	74
Figura 20 - Aplicação do inseticida orgânico óleo vegetal de nem a 1%.....	75
Figura 21 - Estruturas químicas das humulonas (α -ácidos) e lupulonas (β -ácidos) do lúpulo.....	78
Figura 22 - Localização geográfica das amostras de <i>H. lupulus</i> avaliadas	79
Figura 23 - Amostra de <i>H. lupulus</i> em sua forma natural, desidratada e congelada, de origem no Estado do Paraná.....	80
Figura 24 Aparelho clevenger utilizado para a obtenção do rendimento total dos óleos essenciais.....	81
Figura 25 - Processo de extração dos compostos α e β -ácidos.....	82
Figura 26 - Solução sendo filtrada em membrana Millipore de 0,45 μ m, para leitura dos teores de α e β -ácidos em HPLC.....	83
Figura 27- Cromatógrafo acoplado a um detector espectrofotométrico UV/visível Thermo Scientific utilizado para quantificação do alfa e beta – ácidos do <i>H. lupulos</i>	83
Figura 28 - Preparo da amostra Padrão ICE-3.....	84
Figura 29 - Bandas formadas durante a leitura cromatográfica dos compostos cohumulona (1), N + adhumulona (2), colupulona (3) e N + adlupulona (4) de amostra de lúpulo no Sul do Brasil. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.	85
Figura 30 - Cluster de correlação das variáveis óleo essencial, α -ácido (Colhumulone e N+Adhumulone) β -ácido (Colupulone e de N+Adhupulone) do <i>H. lupulus</i> oriundo do Sul do Brasil. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	93
Figura 31 - Gráfico de dispersão dos indivíduos das distintas variedades, para os teores de Colhumulone (1), N+Adhumulone (2), α -ácidos (3), Colupulone (4), N+Adhupulone (5), β -ácidos (6) e óleo essencial (7) obtidos nas amostras de lúpulo oriundas do Sul do Bras	94
Figura 32 - Gráfico da dispersão dos indivíduos por ano dos <i>H. lupulus</i> oriundo do Sul do Brasil. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Altura (m) das plantas aos 40, 60 e 90 dias das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo de cultivo 2021/2022. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	42
Tabela 2 Altura (m) das plantas aos 40, 60 e 90 dias das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo de cultivo 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	45
Tabela 3 - Altura (m) de inserção do primeiro ramo lateral das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo de cultivo 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	47
Tabela 4 - Número de cones das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo de cultivo 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	49
Tabela 5 Massa fresca total de cones (g) das variedades de lúpulo cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo de cultivo 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	51
Tabela 6 Massa fresca de um cone (g) das variedades de lúpulo (Cascade e Chinook) cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo de cultivo 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	52
Tabela 7 Largura e comprimento dos cones das variedades de lúpulo cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	53
Tabela 8 Clorofila total aos 90 e 120 dias das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	55
Tabela 9 Clorofila A aos 90 e 120 dias das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	57
Tabela 10 Clorofila B aos 90 e 120 dias das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	58
Tabela 11 Teor de óleo essencial (mL /100 g ⁻¹) das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	60
Tabela 12 Teor de α -ácidos e β -ácidos das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	61
Tabela 13 Teor de α -ácidos e β -ácidos das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	62
Tabela 14 Teores de óleo essencial em amostras de lúpulos cultivados no ciclo agrícola 2020/2021 no Sul do Brasil. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	86
Tabela 15 Teores de óleo essencial em amostras de lúpulos cultivados no ciclo agrícola 2021/2022 no Sul do Brasil. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	88
Tabela 16 Análise química em amostras de lúpulos cultivados no ciclo agrícola de 2020/2021 no Sul do Brasil. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	89

Tabela 17 - Análise química da safra agrícola 2021/2022 dos <i>H. lupulus</i> oriundos do Sul do Brasil. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.....	91
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
cm	Centímetros
CV	Coeficiente de Variação
g planta ⁻¹	Gramas por planta
kg	Quilogramas
m	Metros
Miliq	Água ultrapura do tipo I
mL	Mililitro
mL 100g ⁻¹	Mililitro a cada 100 gramas
mL min ⁻¹	Mililitro a cada minuto
mm	Nanômetro
N	Nitrogênio
ns	Não significativo
pH	Potencial Hidrogeniônico
US\$	Dólar americano
α	Alfa
β	Beta
ASBC	American Society Of Brewing Chemists
AMBEV	Anheuser-Busch Inbev
BBCH	Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt And Chemical Industry
CAPES	Coordenação De Aperfeiçoamento De Pessoal De Nível Superior
CFA	Clima subtropical com verão quente
EBC	European Brewing Convention
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
IBGE	O Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística
MINEROPAR	Minerais Do Paraná
MDIC	Ministério do Desenvolvimento, da Industria e Comércio Exterior
PCA	Análise Multivariada Dos Componentes Principais
PR	Paraná
RS	Rio Grande Do Sul
SC	Santa Catarina
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal Do Paraná
UDESC/CAV	Universidade do Estado de Santa Catarina/Centro de Ciências Agroveterinárias

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	16
2	OBJETIVO GERAL.....	19
2.1	Objetivos específicos.....	19
3	REVISÃO DE LITERATURA	20
3.1	Morfologia da planta	21
3.2	Requerimentos Edafoclimáticos da Espécie	22
3.3	Fenologia do lúpulo	22
3.4	Adubação	23
3.5	Colheita, beneficiamento e secagem do lúpulo.....	24
3.6	Poda e quebra de dormência.....	25
3.7	Usos do lúpulo.....	25
3.8	Composição química dos cones de lúpulo	26
3.9	Composição química do óleo essencial.....	26
3.10	Composição química dos alfa e beta-ácidos	27
3.11	Atividade antimicrobiana do lúpulo	28
3.12	Mercado do lúpulo: perspectivas de cultivo no Brasil.....	28
3.13	Cervejas Artesanais: a emergência de produtores e de consumidores 29	
4	ASPECTOS AGRONÔMICOS EM RESPOSTA À ADUBAÇÃO ORGÂNICA.....	31
4.1	Introdução	31
4.2	Material E Métodos	32
4.2.1	Local de implantação e condução do experimento.....	32
4.2.2	Descrição das variedades e origem das mudas	33
4.2.3	Preparo da área e do solo	33
4.2.4	Plantio e condução das mudas	34
4.2.5	Delineamento experimental e descrição dos tratamentos	35
4.2.6	Variáveis analisadas.....	36
<u>4.2.6.1</u>	<u>Fenologia.....</u>	<u>36</u>
<u>4.2.6.2</u>	<u>Avaliações biométricas e produtivas</u>	<u>36</u>
<u>4.2.6.3</u>	<u>Avaliações químicas dos cones de lúpulo</u>	<u>38</u>
a)	<i>Teor de óleo essencial</i>	<i>38</i>

b)	Determinação dos teores de α e β -ácidos	38
4.2.7	Análises estatísticas dos dados	39
4.3	Resultados e Discussão	40
4.3.1	Fenologia.....	40
4.3.2	Altura das plantas aos 40, 60 e 90 dias.....	42
4.3.3	Altura de inserção de ramo lateral com cones	47
4.3.4	Produção de cones por planta.....	49
4.3.5	Massa fresca total de cones (g) por planta e massa fresca de cone (g)	50
4.3.6	Comprimento e largura de cones	52
4.3.7	Clorofila	54
4.3.8	Teor de óleos essenciais.....	59
4.4	Análise dos Componentes Principais (PCA)	63
4.5	Conclusões	71
4.6	Considerações Finais	72
5	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE AMOSTRAS DE LÚPULO (<i>HUMULUS LUPULUS</i>) ORIUNDAS DO SUL DO BRASIL	76
5.1	Introdução	76
5.2	Material e métodos	78
5.2.1	Descrição do local	78
5.3	Variáveis avaliadas.....	80
5.3.1.	Determinação dos teores totais de óleo essencial	80
5.3.2	Determinação dos teores de α e β -ácidos.....	81
5.4	Análises estatísticas dos dados	85
5.5	Análise de PCA: multivariada, usado pacote estatístico R	86
5.6	Resultados e Discussão	86
5.6.1	Óleo essencial total	86
5.6.2	Teores de α e β -ácidos.....	88
5.7	Análise Dos Componentes Principais (PCA)	92
5.8	Conclusões	95
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	96
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
	ANEXO I – Análise de solo da área experimental	106
	ANEXO II - metodologia desenvolvida pela escala EBC de lúpulo.....	108

1 INTRODUÇÃO GERAL

O lúpulo (*Humulus lupulus* linnaeus) pertence à ordem das Rosales e à família Cannabaceae (ALMAGUER, et al. 2014). Acredita-se que essa espécie teve origem na Mongólia, há cerca de seis milhões de anos, sendo que uma variedade desta espécie asiática migrou para a Europa há mais de um milhão de anos e, na América do Norte, o lúpulo surgiu há cerca de quinhentos mil anos mais tarde (ROCHA, 2005). O gênero *Humulus* é composto por três espécies: *lupulus*, *japonicus* e *yunnanensis*. Destas, apenas o *H. lupulus* e o *H. japonicus* são cultivadas em larga escala com finalidade comercial (NEVE, 1991).

O *H. lupulus* é utilizado na fabricação de cervejas e é descrito como uma planta trepadeira perene que produz flores, também chamadas de cones, ricas em resinas, que conferem o amargor, através dos alfa e beta-ácidos, de polifenóis, com propriedades antioxidantes e, de óleos essenciais, que conferem aroma (RETTBERG et al., 2018; BAXTER et al., 2001).

O *H. lupulus* utilizado nas grandes cervejarias é praticamente 100 % importado, porém, nos últimos anos, iniciou-se o seu cultivo no Brasil. Após várias tentativas, alguns pequenos produtores brasileiros tiveram êxito no cultivo dessa planta para fabricação de cervejas artesanais. A produção do *H. lupulus* brasileiro é ainda de pequena escala e está em fase de testes (SARNIGHAUSEN, SARNIGHAUSEN, DAL PAI, 2017).

No Brasil existe uma grande variação edafoclimática, podendo haver regiões que satisfaçam as necessidades climáticas da cultura (BIZOTTO, 2019; RADTKE et al; 1999). O *H. lupulus* é uma espécie de clima temperado e, entre os principais fatores climáticos que influenciam no seu desempenho produtivo, estão o fotoperíodo, a temperatura e a disponibilidade hídrica (DODDS, 2020).

Botanicamente, o lúpulo é uma planta dioica, ou seja, as inflorescências se encontram separadas em plantas masculinas e femininas. Na elaboração de cerveja somente são utilizadas as flores femininas do lúpulo, pois nas plantas masculinas os cones possuem apenas 10 a 15 glândulas secretoras de lupulina, enquanto que os cones das plantas femininas podem possuir 10.000 ou mais glândulas (KNEEN 2003). As glândulas secretoras de lupulina são capazes de sintetizar e armazenar resinas

(alfa e beta-ácidos), polifenóis (antioxidantes) e óleos essenciais (compostos aromáticos) (FARAG; WESSJOHANN, 2012; DURELLO, et al. 2019).

A lupulicultura brasileira teve início com os imigrantes alemães e poloneses que se instalaram na região da serra gaúcha no Rio Grande do Sul há mais de 60 anos, entretanto a cultura não permaneceu por muito tempo, dando lugar a outras atividades econômicas naquela região. E, há menos de 10 anos, a lupulicultura voltou a ser assunto, devido ao crescente número de microcervejarias registradas nos últimos anos no Brasil. Atualmente há relatos de produção de lúpulo em diversos estados brasileiros, do Sul ao Norte do país, como pode ser observado na Figura 1 (FAGHERAZZI, 2020).

Figura 1 Localização geográfica dos principais polos de produção de lúpulo no Brasil.



Fonte: FAGHERAZZI (2020).

Fatores climáticos como horas de insolação, temperatura, disponibilidade hídrica, bem como os fenótipos expressos por cada variedade em diferentes condições ambientais irão influenciar na formação de teores distintos de compostos ativos, que são um dos parâmetros mais importantes para a indústria cervejeira na avaliação da qualidade das flores de lúpulo (PAVLOVIČ, 2010).

A nutrição da planta é um fator determinante para seu adequado crescimento e desenvolvimento, sendo que o nitrogênio é um elemento essencial para o

crescimento inicial das plantas, com função estruturante e de formação de aminoácidos, acelerando o seu crescimento, fator que induz a planta a atingir a sua altura máxima, favorecendo o seu florescimento (FAQUIN, 2001).

A presente dissertação foi dividida em dois capítulos. No primeiro capítulo avaliou-se o comportamento de duas variedades de *H. lupulus* cultivadas em Dois Vizinhos, Sudoeste do Paraná, com diferentes adubos orgânicos, nos ciclos agrícolas de 2021/2022 e 2022/2023. No segundo capítulo avaliou-se cones de *H. lupulus* cultivados em distintas microrregiões do Sul do Brasil, nos ciclos agrícolas de 2020/2021 e 2021/2022.

2 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o desenvolvimento e a produtividade de plantas jovens com distintos adubos orgânicos e caracterizar quimicamente amostras de lúpulo oriundas de cultivos no Sul do Brasil.

2.1 Objetivos específicos

- Avaliar os principais parâmetros de crescimento de planta.
- Avaliar a fenologia das plantas.
- Obter os principais componentes de rendimento de cones do lúpulo.
- Extrair e quantificar o óleo essencial do lúpulo.
- Identificar a quantidade de resinas (alfa e beta ácidos).

3 REVISÃO DE LITERATURA

O uso do lúpulo remonta à antiguidade, no século I, nos livros da “Naturalis História” do escritor romano Plínio (ano 24-79), que deu à planta o nome de *Lupus salictarius* (lobo dos salgueiros), devido ao seu hábito trepador e por crescer sobre salgueiros e em outras árvores em seu habitat natural. Plínio também descreveu o lúpulo como uma planta muito popular de jardins hortícolas, usada na culinária da mesma forma que os aspargos (SPÓSITO et al., 2019).

A história do lúpulo e sua utilização é cercada de incertezas. Não se sabe quando o lúpulo foi usado pela primeira vez para a fabricação de cerveja (WILSON, 1975; DELYSER E KASPER, 1994). Muitos nomes foram atribuídos à planta comum do lúpulo, embora também seja debatido o número de espécies verdadeiras, sendo que o antigo nome latino para a planta do lúpulo era *Lupus salictarius* (GLEDHILL, 2002). No entanto, Linnaeus (1753) deu o nome *Humulus* à planta de lúpulo, referindo-se ao húmus e ao hábito da planta se agarrar ao solo, se não for suportado/conduzido, e *Lupulus*, por Marafioti (1970), referindo-se ao lobo, que gosta de subir em cima dos outros (BOUTAIN, 2014).

A China é tida como o provável lugar de origem para o lúpulo do gênero *Humulus*, pois lá três espécies de plantas desse gênero foram reconhecidas (NEVE, 1991). Hipóteses alternativas para a origem geográfica do lúpulo, além da China, incluem Rússia e América do Norte (BOUTAIN, 2014).

No entanto, tudo indica que o lúpulo foi domesticado na Europa (WILSON, 1975). Supõe-se que a origem das cultivares europeias e do lúpulo selvagem seja da Europa Central, trazida por pessoas que migraram do Oriente, ou simplesmente do cultivo de lúpulo selvagem nativo. Assim, foi sugerido que os próprios lúpulos selvagens europeus se originaram de introduções anteriores e não representam uma planta europeia autóctone (MURAKAMI et.al, 2006).

Pouco se sabe sobre as relações filogenéticas entre o lúpulo selvagem e sua variabilidade genética, nem sobre sua origem e rotas de migração (NEVE, 1991).

Desde a introdução da planta do lúpulo domesticado, vários graus de introgressão, natural ou humana, mediada com as plantas nativas da América do Norte, deram origem ao desenvolvimento de novas cultivares, conservação de

germoplasma selvagem do Novo Mundo e lúpulo orgânico sustentável (BOUTAIN 2012).

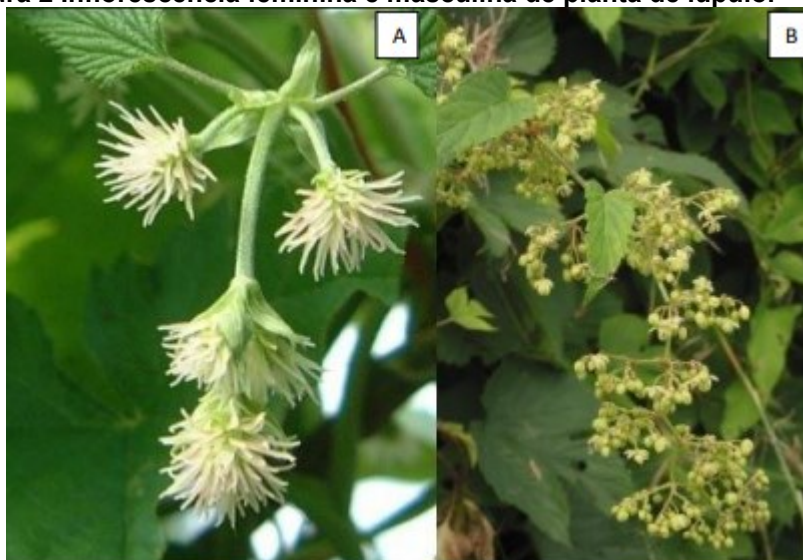
3.1 Morfologia da planta

O lúpulo é uma planta herbácea e perene, formada por um sistema radicular permanente e uma parte aérea que se renova anualmente. Suas raízes podem se desenvolver a uma profundidade de 1,5 m e, lateralmente, as raízes podem atingir distâncias de até 3 m (SPÓSITO et al., 2019).

Na primavera, a partir do rizoma, surgem brotos que se transformam em guias trepadoras (LESKOVAR, 1978). O lúpulo alcança uma altura de aproximadamente quatro a sete metros, necessitando de uma área de aproximadamente 8 m² por planta, que é formada por ramos, folhas e inflorescências, conhecidas por cones (JEZEK et al., 2013).

Os cones produzem cones de flores femininas e masculinas (Figura 2). Porém, para a produção de cerveja, somente são utilizadas as flores femininas, porque as flores da planta machos têm apenas 10 a 15 glândulas secretoras de lupulina, enquanto as plantas femininas possuem 10 mil ou mais glândulas (KNEEN, 2003).

Figura 2 Inflorescência feminina e masculina de planta de lúpulo.



Fonte: Rocha, 2005.

A principal função das flores masculinas é atuar no melhoramento genético de plantas, pois é necessária uma planta-macho para cada 100 plantas fêmeas (KNEEN

2003). Sementes em cones geralmente apresentam altos níveis de ácidos graxos, que afetam negativamente a estabilidade do sabor da cerveja (BEINDL et al., 2014).

As glândulas secretoras de lupulina são capazes de sintetizar e armazenar resinas e óleos essenciais ricos em terpenos fenólicos e polifenóis (FARAG; WESSJOHANN, 2012). São esses compostos que irão fornecer na fabricação da cerveja característica de amargor, sabor e aroma (FAGHERAZZI, 2020).

3.2 Requerimentos Edafoclimáticos da Espécie

O lúpulo desenvolve-se bem em solos bem drenados, ricos em húmus, com pH que pode variar entre 6,0 e 6,5 (PORTUGAL, 2021). Segundo Burgess (1964), um inverno chuvoso não é problema, se o solo tiver boa capacidade de drenagem.

As linhas de plantio devem estar na orientação Norte-Sul, para que as plantas tenham maior incidência de luz sobre elas e para que não ocorra sombreamento entre as plantas de lúpulo das diferentes linhas de plantio. A área deve ser protegida do vento pela adoção de quebra-vento (SPÓSITO et al., 2019).

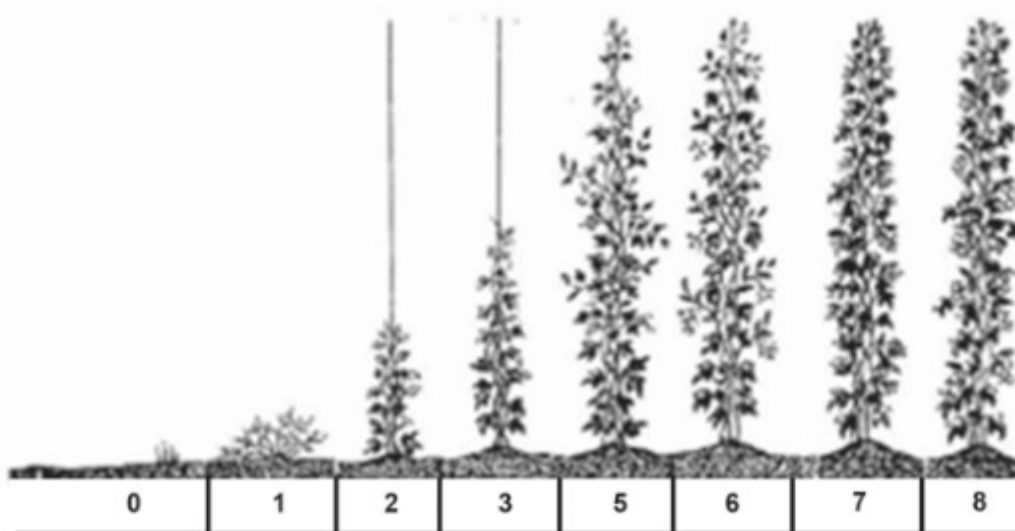
O lúpulo é uma planta exigente em luz, e esse fator deve ser levado em conta na localização do plantio do lupulal (RYBACEK, 1991). Para isso, o espaçamento recomendado para o plantio de lúpulo é de 3,5 m entre linhas e 1,4 m entre plantas, numa densidade de 2040 plantas ha⁻¹ (SPÓSITO et al., 2019).

A faixa ideal de temperatura para o desenvolvimento do lúpulo está entre 16 °C a 18 °C, a qual estimula o seu desenvolvimento. Em temperaturas abaixo de 5 °C e acima de 35 °C a planta tem seu crescimento paralisado (RYBACEK, 1991).

3.3 Fenologia do lúpulo

Na Figura 3 tem-se a representação dos diferentes estádios de crescimento da planta de lúpulo, segundo a escala fenológica BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt and Chemical industry) para a espécie, que são: 0) brotação; 1) Desenvolvimento da folha; 2) Formação de ramos laterais; 3) Alongamento do ramo principal (caule); 5) Emergência da inflorescência (floração); 6) Desenvolvimento dos cones; 7) Maturidade dos cones e; 8) Senescência, entrada em dormência (ROSSBAUER et al., 1995).

Figura 3 Código dos diferentes estádios de crescimento da planta de lúpulo segundo a escala fenológica BBCH para lúpulo.



Fonte: Rossbauer et al. (1995).

A fenologia da planta ao longo do tempo é a sucessão dos seus vários estádios de desenvolvimento no ciclo cultural. Um registo detalhado deste componente permite uma análise da evolução da planta ao longo do tempo, assim como uma determinação de qual ou quais os fatores que contribuíram para sua evolução e conservação (ALVES, 2018).

Ao conhecer o histórico da planta, destaca-se a importância dos herbários para o conhecimento botânico, conservação e manejo do cultivo de qualquer planta, aqui em especial o lúpulo.

3.4 Adubação

O lúpulo responde muito bem à adubação nitrogenada. A adubação feita em setembro produzirá efeitos na planta em dezembro. Em dezembro é importante parar com o uso do nitrogênio e iniciar a adubação à base de potássio, que pode ser via foliar, para intensificar a qualidade da floração. Recomenda-se, também, o uso de cálcio e boro, via foliar, um pouco antes da floração, para melhorar a intensidade e a qualidade das inflorescências (SPÓSITO et al., 2019).

Para a nutrição do lúpulo em sistema orgânico, um dos maiores desafios é conseguir atender às altas demandas de nitrogênio da cultura (PANG E LETEY, 2000). A implantação de cultivos de cobertura com espécies leguminosas fixadoras

de nitrogênio no solo pode ser uma boa alternativa. Segundo Hartwig e Ammon (2002), a longo prazo, os cultivos de cobertura trazem muitas vantagens ao sistema, que vão além do que pagar os custos da semeadura, reduzindo a necessidade de outras entradas de nitrogênio de fontes com maior custo.

Estercos e compostos à base de esterco de gado são usados não apenas para fornecer os nutrientes essenciais às culturas, mas também para aumentar as propriedades físicas e biológicas do solo (DARBY et al., 2019).

3.5 Colheita, beneficiamento e secagem do lúpulo

A colheita das plantas de lúpulo começa quando os cones de lúpulo alcançam a maturidade, ou seja, quando os cones tiverem o maior teor de alfa-ácidos e atinjam o tamanho e peso máximos. O aroma típico dos óleos essenciais também deve ser observado nessa fase. O lúpulo colhido antes da maturidade dos cones tem qualidade reduzida e contém umidade acima da recomendada. O prolongamento da colheita, ultrapassando o estágio de maturidade tecnológica, resulta em cones amarelos ou acastanhados, menor teor de alfa-ácidos e também maiores perdas, devido à dispersão e desintegração dos cones de lúpulo (ČEH E ZMRZLAK, 2006).

O ponto ideal de maturação para a colheita pode ser definido através da determinação da matéria seca de uma amostra de cones, feita após constatado no campo que os cones atingiram os parâmetros qualitativos de ponto ideal para a colheita, que são: mudança sutil de cor verde para amarelado; barulho de amassar papel ao toque e intensificação da cor amarela das glândulas de lupulina (DODDS, 2017).

Alguns pesquisadores, como Leskovar (1978), Neve (1991) e Madden e Darby (2012), recomendam secar os cones até um percentual de 8-13 % de umidade, os quais atingirão um percentual de 6-7 % de umidade após o processo de peletização. Sendo assim, essa quantidade de umidade presente nos cones de lúpulo garante a qualidade química por certo período de tempo, com temperaturas controladas.

Cones acima de 13 % de umidade irão rapidamente perder a qualidade química devido à degradação microbiana, e os cones abaixo desta umidade irão também perder a qualidade devido à oxidação e volatilização dos óleos essenciais (FAGHERAZZI, 2020).

3.6 Poda e quebra de dormência

O lúpulo desenvolve-se em duas fases distintas, que se repetem anualmente: dormência e crescimento. A dormência acontece durante o outono e o inverno, enquanto o crescimento ocorre na primavera e no verão (THOMÉ et al., 1999).

A dormência tem início quando os dias já começam a diminuir sua duração, tendo nesse momento a colheita já sido realizada (MARCOS et al., 2011).

Nessa fase de transição, que ocorre no outono, há a senescência gradual de folhas e ramos, com a transferência de nutrientes e reservas de carboidratos para as raízes mais grossas, onde ficam armazenadas na forma de amido durante todo inverno. As baixas temperaturas no inverno mantêm as plantas em dormência (SPÓSITO et al., 2019).

A poda rente ao solo de todos os primeiros brotos emergentes pós dormência é realizada com o intuito de uniformizar a brotação, eliminar ramos ladrões e favorecer a emergência de ramos mais vigorosos no ciclo seguinte (FORTUNA, 2021).

A partir da quebra de dormência das gemas a planta retoma o seu desenvolvimento à medida que ocorre o aumento das temperaturas na primavera (SPÓSITO et al., 2019).

3.7 Usos do lúpulo

Cerca de 97 % do lúpulo cultivado mundialmente destina-se à utilização na indústria cervejeira (VASCONCELOS, 2017).

Também, tem aplicabilidade como planta medicinal, sendo incorporado em medicamentos recomendados para insônia, estresse e ansiedade (BOWN, 1995). As flores secas também podem ser utilizadas para encher almofadões e almofadas para combater a insônia (QUER, 1995). Na Alemanha existem mais de 100 produtos fitoterápicos de lúpulo, sendo comercializados na categoria de calmantes, com eficiência comprovada (BIENDL; PINZII, 2008).

As brotações novas são utilizadas na culinária, servidos como os aspargos (BOWN, 1995). As folhas jovens, as pontas dos rebentos e as flores masculinas constituem uma boa adição em saladas e sopas (CLEVELY; RICHMOND, 1997).

Os cones femininos, depois de secos, são utilizados em decoração pois, como são semelhantes às pinhas, ficam muito bem em arranjos de flores secas e grinaldas (BREMNESS, 1993).

3.8 Composição química dos cones de lúpulo

Existe mais de 260 cultivares de lúpulo catalogadas no mundo, cada uma com diferentes características apreciadas pela indústria cervejeira, em relação ao amargor, aroma e sabor (HEALEY, 2016).

Essas características distinguem-se entre a composição química: água (8-14 %); proteínas (12-24 %); resinas totais (12-21 %); alfa-ácidos (3- 20 %); beta-ácidos (3-6 %); taninos (2-6 %); celulose (10-17 %); cinzas (7-10 %); e óleos essenciais (0,5-2 %) (HIERONYMUS, 2012).

A composição química dos cones de lúpulo depende de fatores genéticos que distinguem as diversas cultivares de lúpulo, ponto de colheita, condições climáticas e geográficas e processamento pós-colheita. As características de aroma e amargor de uma cerveja estão também relacionadas à quantidade e qualidade da dosagem e tempo de adição de lúpulo, bem como a tecnologia geral de fabricação de cerveja aplicada (RETTBERG; BIENDL; GARBE; 2018).

3.9 Composição química do óleo essencial

A análise química dos cones de lúpulo é importante para determinar suas características sensoriais, sendo um dos principais requisitos para venda e valor do kg comercializado. Através da análise química se determina a quantidade de alfa e beta-ácidos, voláteis e óleos essenciais (LESKOVAR, 1978; NEVE, 1991; E MADDEN E DARBY, 2012).

Os óleos essenciais do lúpulo são produzidos nas glândulas de lupulina, e representam de 0,5 a 3,0 % da massa seca do lúpulo (DURELLO et al., 2019). Os óleos essenciais são o grupo de compostos químicos responsáveis pelo componente aromático das várias cultivares e, portanto, aqueles que vão conferir o seu perfil aromático à cerveja (RODRIGUES et al, 2015).

No lúpulo, contribuem para o aroma e o sabor da cerveja conferindo uma enorme gama de notas de aroma para os diferentes tipos de cerveja (notas de

amadeirado, cítrico, especiarias, floral, frutado, sulfuroso, picante, herbal, resinoso, terroso e picante) (DURELLO et al., 2019).

Os grupos a que pertencem os compostos do óleo essencial do lúpulo são os monoterpenos, os sesquiterpenos e os álcoois terpênicos. Do grupo dos monoterpenos aparecem como compostos majoritários o mirceno, limoneno e o alfa-pineno. Do grupo dos sesquiterpenos aparecem como compostos majoritários o farneseno, humuleno e o beta-cariofileno. Do grupo dos álcoois terpênicos apenas aparece um composto, que é o linalol (LESKOVAR, 1978).

Sabe-se que o teor e a composição química dos óleos essenciais do lúpulo podem ser afetados pelos seguintes fatores: variedade do lúpulo, condições de cultivo, ponto de maturação no momento da colheita, condições de secagem, contato com o oxigênio do ar e condições de armazenamento. Apesar disso, a literatura relata a existência de mais de 200 compostos químicos diferentes já identificados nos óleos essenciais do lúpulo por cromatografia gasosa e espectrometria de massa (CG-EM) (DURELLO, et al., 2019).

3.10 Composição química dos alfa e beta-ácidos

Os ácidos amargos presentes no lúpulo estão nas resinas produzidas pelas flores, sendo que o total de resinas representa a soma de todas as frações amargas e pode ser dividida em resinas duras e macias. Nas resinas macias estão presentes os ácidos amargos mais desejados do lúpulo, que são os alfa-ácidos, na proporção entre 3-17 % e os beta-ácidos, os quais estão em menor proporção, 3-7 % (KROTTENTHALER, 2009).

O teor de alfa-ácidos é um dos mais importantes parâmetros de qualidade de mercado do lúpulo, e pode variar de 2-8 % para variedades de aroma, até 12-18 % para variedades de amargor (PAVLOVIČ, 2009).

Análises de alfa-ácidos e óleo essencial precisas e atualizadas para cada safra são informações importantes para os produtores de lúpulo e para as cervejarias, que oferecem melhores preços em seus contratos de venda com os produtores, de acordo com a qualidade desses parâmetros (FORTUNA, 2021).

3.11 Atividade antimicrobiana do lúpulo

A atividade antimicrobiana do lúpulo é reconhecida desde 1888 e a maioria dos estudos envolvendo a capacidade antimicrobiana dos compostos presentes no lúpulo avaliam este papel sobre bactérias que prejudicam a qualidade da cerveja durante a sua produção, sem grande foco em bactérias de interesse médico (TEUBER; SCHMALRECK, 1973; GERHÄUSER, 2005; BOCQUET; SAHPAZ; RIVIÈRE, 2018; NIONELLI et al., 2018).

O consumo de lúpulo pela indústria cervejeira consome em torno de 97 % de toda a sua produção. O lúpulo como ingrediente na produção de cerveja confere aroma, amargor e estabilidade coloidal à espuma, além de atuar como antioxidante e antimicrobiano, protegendo a cerveja de processos oxidativos e de contaminações microbiológicas. A importância do lúpulo para a indústria cervejeira é grande, que assim como o malte, ele muitas vezes é chamado de “alma da cerveja”, pois, variando-se apenas o tipo e/ou a quantidade de lúpulo em uma mesma receita base, é possível fabricar cervejas totalmente distintas em termos de amargor e aroma (DURELLO et al., 2019).

3.12 Mercado do lúpulo: perspectivas de cultivo no Brasil

O lúpulo vem sendo cultivado no Brasil de forma crescente, sendo que produtores já estão investindo na nova cultura brasileira, que vem se desenvolvendo a partir de técnicas já consolidadas nos demais países produtores, por meio de experiências de produtores familiarizados com o cultivo de uvas (MONTINI, et al., 2018). O gênero *Humulus* é composto por três espécies: *H. lupulus*, *H. japonicus* e *H. yunnanensis*. Destas, o *H. lupulus* e o *H. japonicus* são cultivados em larga escala globalmente com finalidade comercial (NEVE, 1991). Atualmente, majoritariamente, apenas a espécie *H. lupulus* é cultivada no Brasil, sendo utilizada em sua maioria para fins de produção de cervejas artesanais.

O Brasil, 3º maior produtor mundial de cerveja (CERVBRASIL, 2016), não possui produção expressiva de lúpulo, dependendo exclusivamente da importação desta matéria-prima. Segundo dados da MDIC (Ministério do Desenvolvimento, da Indústria e Comércio Exterior), em 2019 foram importados US\$ 64,03 milhões em lúpulo, abrangendo cones de lúpulo frescos ou secos, triturados e não-triturados, moídos ou em pellets, nem moídos, nem em pellets, sucos e extratos.

No entanto, no Brasil o cultivo de lúpulo encontra limitação em seu ciclo de desenvolvimento, principalmente devido ao clima tropical predominante, uma vez que a espécie necessita de baixas temperaturas e elevado fotoperíodo, de um tempo de exposição à luz variando entre nove e quatorze horas diárias (EBY, 2011).

Apesar das dificuldades de produção, encontram-se pequenos plantios de lúpulo no país. Dados obtidos por meio da pesquisa com os produtores de lúpulo da região Sul-Sudeste e Distrito Federal, indicam que aproximadamente 60 % dos produtores cultivam até quatro variedades diferentes da planta. Um pouco mais de 20 % cultivam de cinco a dez variedades e 10 % corresponde a produtores que cultivam mais de dez variedades. O número total de plantas em uma única propriedade foi de duas mil, no estado do Rio Grande do Sul. Embora o número de plantas seja expressivo, menos de 30 % dos produtores têm plantações acima de 200 plantas por propriedade. E, 65,4 % dos produtores apresentam cultivos menores, chegando no máximo a 100 plantas (NAVA et al., 2021).

O maior interesse comercial do lúpulo está nas flores femininas, nas quais se encontram as glândulas de lupulina que produzem resinas e óleos essenciais, compostos que proporcionam amargor, sabor e aroma às cervejas (JEZEK et al., 2013; EBY, 2011).

3.13 Cervejas Artesanais: a emergência de produtores e de consumidores

Nos últimos anos o mercado do lúpulo apresentou mudanças expressivas e sofreu uma revolução com a expansão do mercado de cerveja artesanal, sendo que o número de cervejarias registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) aumentou em oito vezes entre 2008 e 2018, passando de menos de 100 para 889 (MARCUSO; MULLER, 2019), sendo que a concentração de cervejarias nas regiões Sul e Sudeste se mantém e continua crescendo, com cerca de 85,6 % em 2020 das cervejarias do Brasil (CERVBRASIL, 2020). Isso pode ser o resultado da constatação de que seis dos sete estados brasileiros produtores de lúpulo que responderam à pesquisa (NAVA, et al., 2021) estarem localizados nessas regiões. Esses dados são de cervejarias que se encontram na formalidade, contudo esse número deve ser ainda maior ao se considerar a produção informal.

No entanto, as exigências para a fabricação e venda de cervejas são rígidas no Brasil e o MAPA estabelece que as cervejarias “ciganas”, que são empresas legalmente constituídas, mas sem estrutura produtiva própria e que produzem em

cervejarias terceirizadas devidamente registradas no ministério, ou qualquer outra pessoa que queira abrir uma planta produtora de cerveja, devem realizar o registro de estabelecimento no ministério, seguindo toda a legislação vigente e os procedimentos descritos nos protocolos estabelecidos pelo ministério (MAPA, 2021).

Destaca-se, ainda, que a mudança nas preferências dos consumidores obrigou os cervejeiros a redirecionar a produção em resposta aos novos interesses, com a valorização de variedades de cervejas mais aromáticas. Vinculado a esse processo de ressignificação, as principais tendências evidenciadas na alimentação são voltadas para uma procura por alimentos naturais, tradicionais, coloniais, locais, orgânicos e justos (GEWEHR, 2019; SCHNEIDER, 2016).

No Brasil, principalmente as microcervejarias (cervejarias artesanais), são guiadas pela Lei da Pureza da Cerveja, que normatiza a produção de cervejas a partir do uso de apenas quatro ingredientes: água, malte, lúpulo e levedura (PAES, 2015). De modo geral, essas empresas buscam elaborar produtos diferenciados, com o objetivo de produzir cervejas de qualidade e valorizar a artesanidade do processo cervejeiro (GEWEHR, 2019). Manter a pureza da cerveja significa manter a qualidade dos ingredientes, impedindo que sejam colocados outros ingredientes para baratear a produção, o que a tornaria imprópria ao consumidor (INSTITUTE, 2014).

A busca por essas bebidas, por sua vez, despertou a construção de diversas iniciativas de produção, que refletem a territorialidade dos locais e respeitam o meio ambiente por meio de práticas sustentáveis de produção (GEWEHR, 2019). E, com o lúpulo, ingrediente fundamental para a fabricação de cerveja, não foi diferente. Montini (2018) ressalta que diante da paixão pela produção de cerveja artesanal, produtores estão desbravando o caminho para o cultivo de lúpulo no Brasil.

A artesanidade do processo de fabricação de cervejas está ligada a um momento de lazer para muitos produtores, um *hobby*. Esse processo geralmente reúne amigos e familiares e se torna um momento de diversão e satisfação em degustar sua própria cerveja. Isso tem-se aplicado à produção de lúpulo, que vem se tornando um processo interligado a parcerias e trocas de informação e conhecimento, criando vínculos de amizade entre os produtores (NAVA et al., 2021).

4 ASPECTOS AGRONÔMICOS EM RESPOSTA À ADUBAÇÃO ORGÂNICA

4.1 Introdução

A história do cultivo de lúpulo orgânico em todo o mundo começou em meados de 1980 na Baviera, quando duas fazendas em Hallertau começaram a cultivar a variedade Hersbrucker em sistema orgânico, existindo destes pioneiros ainda hoje três empresas em funcionamento. Nos EUA, o primeiro lúpulo orgânico foi produzido no Vale Yakima em 2000 e desde então esse sistema de produção experimentou um rápido aumento (WEIHRAUCH, 2012).

Os trabalhos de adubação de lúpulo em solos brasileiros são muito recentes, sendo que um dos primeiros foi realizado por Oliveira (2016), que avaliou o pH do solo e doses de fósforo no desenvolvimento inicial da cultura na Serra Catarinense.

O cultivo de lúpulo com adubação orgânica, além de trazer uma nova perspectiva de melhoria nos aspectos sociais, ambientais e econômicos da propriedade, e melhorar as características físicas, químicas e biológicas do solo, pode incrementar os teores de alguns compostos químicos de grande valor comercial no lúpulo para o mercado cervejeiro e medicinal (FORTUNA, 2021).

Esterco e os compostos à base de esterco de gado são usados não apenas para fornecer os nutrientes essenciais às culturas, mas também para aumentar as propriedades físicas e biológicas do solo (DARBY et al., 2006).

O nitrogênio é fundamental para o crescimento vegetativo do lúpulo, especialmente para o desenvolvimento de folhas, caules e brotos e, é importante fornecer nitrogênio em quantidades adequadas durante todo o ciclo de vida da planta (CLARK, et al., 2022).

Além do nitrogênio, o fósforo desempenha um papel crucial no desenvolvimento do sistema radicular e na produção de flores; o potássio está envolvido na regulação do crescimento das plantas, resistência a doenças, síntese de proteínas e qualidade das flores, auxiliando no desenvolvimento adequado dos cones de lúpulo; o cálcio auxilia na estrutura das células vegetais e na integridade das membranas celulares, no transporte de outros nutrientes dentro da planta e contribui para a saúde geral do lúpulo e; o magnésio, é o responsável pela fotossíntese (DODS, 2017).

Os sistemas orgânicos de produção de lúpulo exigem a adoção de diversas estratégias de manejo para poder fornecer todos os nutrientes demandados pela

cultura e promover o controle de pragas e doenças de forma preventiva e eficiente (FORTUNA, G. C., 2021).

Um estudo de Keukeleire et al. (2007) comparou a produção dos alfa e beta-ácidos em três anos e em três variedades de lúpulo cultivadas sob os sistemas de produção orgânico e convencional, e sugeriu que diferentes cultivares podem exibir diferentes padrões de crescimento e níveis de alfa-ácidos sob produção orgânica, além de que algumas variedades podem apresentar maior produção de metabólitos secundários.

Assim, o objetivo desse trabalho (Capítulo I) foi avaliar a resposta de duas variedades de lúpulo cultivadas em Dois Vizinhos, PR, a quatro tratamentos de adubação orgânica.

4.2 Material E Métodos

4.2.1 Local de implantação e condução do experimento

O experimento foi realizado no município de Dois Vizinhos, PR, na área da Unidade de Ensino e Pesquisa (Unepe de Olericultura), pertencente à Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) – Campus Dois Vizinhos. O município de Dois Vizinhos localiza-se na região fisiográfica denominada subunidade morfoescultural, Planalto de Francisco Beltrão, situada no Terceiro Planalto Paranaense (MINEROPAR, 2006) a 25° 44' 01" de latitude Sul e 53° 03' 26" de longitude Oeste (IBGE, 2022).

Segundo a classificação de Köppen, o clima local é subtropical úmido Cfa, com temperatura acima de 22 °C nos meses mais quentes, temperaturas inferiores a 18 °C nos meses mais frios e com precipitação média de 2.025 mm ao ano (ALVARES et al., 2013). O solo da área experimental é classificado como Latossolo Distroférico Vermelho (SANTOS et al., 2013).

4.2.2 Descrição das variedades e origem das mudas

As variedades de lúpulo analisadas foram a Cascade e a Chinook. As mudas foram obtidas na Fazenda de Lúpulo Santa Catarina, pertencente a AMBEV, no município de Lages/SC.

A variedade Cascade é oriunda dos Estados Unidos e foi lançada em 1972, resultado do cruzamento entre as variedades Serebrianka (Russa) e a Fuggle (Inglesa). É o lúpulo mais popular do mercado cervejeiro artesanal, sendo ótimo para “dry hopping” (técnica de adicionar o lúpulo seco ao fermentador alguns dias depois de inocular a levedura, no final da etapa da fermentação). Seu cone é compacto, de tamanho médio e tem uma forma quadrada no ombro, possuindo uma quantidade moderada de lupulina de cor amarelo-claro. Seus cones possuem de 4,5 a 8 % de alfa-ácidos, 4,5 a 7 % de beta-ácidos e 0,7 a 1,5 mL de óleo total 100 g⁻¹ de massa seca (VARIETY, 2022).

A variedade Chinook também tem sua origem nos Estados Unidos e foi lançada em 1985, proveniente do cruzamento entre as variedades ‘Peltham Golding’ e ‘63012M’. Apresenta cones com 12 a 14 % de alfa ácidos, 3 a 4 % de beta-ácidos e 1,5 a 2,5 mL de óleo total 100 g⁻¹ (VARIETY, 2022). Seus cones são grandes e abertos, sendo considerado uma variedade de ciclo médio a tardio. Possui maior resistência ao míldio (é também conhecido como mofo ou peronóspora e é causado pelo pseudofungo *Plasmopara vitícola*) e pragas em relação a maioria das variedades (KENNY e ZIMMERMANN, 1986).

4.2.3 Preparo da área e do solo

Antes do preparo da área foi realizada análise química do solo (ANEXO I) e, a partir dos resultados obtidos, foram realizados os cálculos das quantidades dos adubos orgânicos a serem aplicados, segundo Fagherazzi e Rufato (2019), com base na equação 1:

$$A = QD / \left(\left(\frac{B}{100} \right) \times \left(\frac{C}{100} \right) \times D \right) \quad 1$$

Em que: A é a dose de adubo orgânico a ser aplicada ao solo. B é o teor de matéria seca do adubo orgânico em %. C é a concentração do nutriente na matéria seca do adubo orgânico em %. D é o índice de eficiência agrônômica de casa nutriente conforme o cultivo.

Para o plantio das variedades de lúpulo, o solo foi revolvido (gradagem) e foi realizada a abertura de covas, de aproximadamente 30 x 30 cm de largura e 25 cm de profundidade.

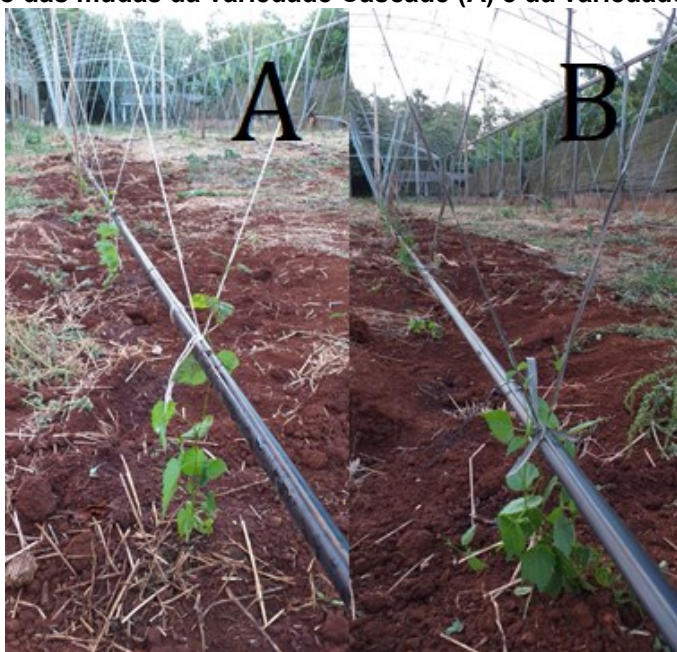
4.2.4 Plantio e condução das mudas

O plantio de lúpulo no Brasil pode ser realizado em diferentes épocas do ano, conforme a região e o clima predominante. Para a Região Sul, recomenda-se o plantio dentre os meses de setembro a novembro (Fagherazzi e Rufato, 2019).

O transplântio das mudas das variedades Cascade e Chinook para a realização desta pesquisa foi realizado no dia 01 de novembro de 2021 (Figura 4). Nessa época, as mudas de lúpulo apresentavam uma altura entre 15 a 30 cm e um bom enraizamento.

O espaçamento de plantio foi de 1,0 m entre plantas nas linhas e 3,5 m entre linhas. O sistema de condução utilizado foi o tipo vertical, com sistema de tutoramento em “V” na linha e altura de postes de 3,80 metros de altura (Figura 5).

Figura 4 Transplântio das mudas da variedade Cascade (A) e da variedade Chinook (B).



Fonte: Autoria própria (2021)

Figura 5 Campo experimental do Departamento de Unep de olericultura pertencente à Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos – Paraná



Fonte: Autoria própria (2021)

4.2.5 Delineamento experimental e descrição dos tratamentos

O experimento foi desenvolvido em duas safras agrícolas, 2021/22 e 2022/23. Os tratamentos foram constituídos pelas duas variedades, Cascade e Chinook, submetidas a diferentes tipos de adubação orgânica: 1) esterco bovino; 2) esterco ovino; 3) cama de aves e 4) testemunha. O experimento, bifatorial (variedades x adubos), constou das seguintes combinações de níveis de fatores (tratamentos): 1) *Cascade x esterco bovino*; 2) *Cascade x esterco ovino*; 3) *Cascade x cama de aves*; 4) *Cascade testemunha* (sem adubação); 5) *Chinook x esterco bovino*; 6) *Chinook x esterco ovino*; 7) *Chinook x cama de aves*; 8) *Chinook testemunha* (sem adubação).

O experimento foi no delineamento blocos em esquema bifatorial onde o fator 1- adubos orgânicos: esterco bovino, esterco ovino e cama de aviário e; fator 2: cultivares Cascade e Chinook, com cinco repetições para cada tratamento e uma planta por unidade experimental, mantendo-se uma planta como bordadura em cada lado das mesmas para evitar possíveis interferências entre os diferentes adubos usados.

Com base na equação 1 utilizou-se as seguintes quantidades anuais de adubos por planta (unidade experimental): 16 kg de esterco bovino, 8 kg de esterco ovino e 3 kg de cama de aves.

No primeiro ciclo agrícola, os adubos foram divididos em duas partes iguais, tendo sido aplicados na proporção de 50 % na cova, durante o momento do plantio e, o restante, em cobertura, na data de 01 de dezembro de 2021.

No segundo ciclo agrícola, os adubos foram aplicados somente em cobertura (superfície do solo), após a quebra da dormência das primeiras variedades, no dia 17 de setembro de 2022.

4.2.6 Variáveis analisadas

4.2.6.1 Fenologia

A fenologia das plantas foi realizada de forma visual, semanalmente, tendo sido avaliados o início da brotação, o crescimento das plantas, a emissão de ramos laterais, início da floração, formação dos cones e início da colheita, seguindo a escala fenológica proposta pela BBCH (ROSSBAUER, 1995).

4.2.6.2 Avaliações biométricas e produtivas

- a) Altura das plantas (m): realizada aos 40, 60 e 90 dias após o plantio e após 40 dias do início de brotação, para a primeira e segunda safra, respectivamente. Para isso utilizou-se de uma fita métrica para as medições, as quais abrangeram a extensão da base da planta, no nível do solo, até a inserção da última folha produzida.
- b) Altura de inserção do primeiro ramo lateral contendo produção de cones (m): mensurado com auxílio de uma trena métrica, abrangendo da base da planta, no nível do solo, até a primeira inserção de ramo lateral contendo produção de cones.
- c) Número de cones por planta: expresso em unidades de cones colhidos por planta.
- d) Massa fresca de cone (g): obtida através da média da massa de dez cones frescos, utilizando-se uma balança digital de precisão.
- e) Produção por planta (g planta^{-1}): expressa em gramas de cones colhidos por planta.
- f) Comprimento e largura de cone: foram obtidos com auxílio de um paquímetro digital. Essa variável foi comparada com a metodologia de

classificação de tamanho de cones proposta pela ASBC (American Society of Brewing Chemists) Hops-3, sendo: Grande (5,7-7,6 cm), médio (3,2-5,1 cm) e pequeno (1,8-2,5 cm); Conforme as figuras 6 e 7:

Figura 6 Largura em milímetros de um cone durante a safra agrícola de 2021/2022.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2022.

Figura 7 Comprimento em milímetros de um cone durante a safra agrícola de 2022/2023



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

- g) Índice relativo de Clorofila a, b e total aos 90 e 120 dias: utilizando um Clorofilômetro Digital da marca comercial ClorofiLOG®, produzido pela Falker Automação Agrícola. Este aparelho possui diodos que emitem luz, e esta passa através da amostra da folha atingindo um receptor que converte a luz transmitida em sinais elétricos analógicos. O clorofilômetro fornece

valores de leitura proporcionais à absorvância das clorofilas a, b e total (a + b). As leituras foram realizadas em todas as plantas analisadas, sendo em três folhas cada planta (uma da parte inferior, uma na altura média da planta e uma na altura máxima da planta), no horário das 12 horas (horário de maior incidência solar).

4.2.6.3 Avaliações químicas dos cones de lúpulo

As amostras obtidas no estudo foram secas em estufa de circulação forçada de ar até umidade de 12-13 %, a uma temperatura de 35 °C e posteriormente foram acondicionadas a vácuo e armazenadas sob congelamento em ultra-freezer, para então iniciar as avaliações químicas, garantindo assim a manutenção da mesma qualidade de lúpulo recém-colhido, bem como as mesmas condições de análises para todas as amostras avaliadas.

a) Teor de óleo essencial

Para a obtenção do rendimento total dos óleos essenciais foi utilizada a técnica de extração por hidrodestilação, utilizando-se o aparelho 'Clevenger'. Foram pesadas 20 gramas de amostra seca e colocadas em um balão de fundo redondo com capacidade de 2 litros, completando-se com 1 litro de água destilada até o nível da manta térmica. O tempo de extração foi de duas horas e, após, foi realizada a leitura do volume de óleo essencial extraído na coluna de retenção do *Clevenger* e realizado o cálculo para a obtenção da sua concentração (mL 100 g⁻¹).

b) Determinação dos teores de α e β -ácidos

Para a determinação dos teores de α e β -ácidos foi utilizada a metodologia desenvolvida pela escala EBC (European Brewing Convention) de lúpulo, proposta por BENITEZ et al. (1997), com adaptações. A extração dos referidos ácidos foi realizada utilizando-se uma mistura de 20 mL de metanol (grau HPLC), 100 mL de éter dietílico e 40 mL de ácido clorídrico. Dez gramas de lúpulo foram pesadas, em triplicata, e logo após adicionou-se a solução extratora em cada amostra de lúpulo. A mistura foi agitada por dez minutos em temperatura ambiente e deixada em repouso por 6 horas ao abrigo da luz e sob temperatura ambiente. Em seguida, foi pipetado 5 mL da fase sobrenadante em um balão volumétrico de 50 mL e o volume do mesmo

foi completado com a solução de metanol. Uma alíquota desse extrato foi filtrada em membrana Millipore de 0,45 μm , para posteriormente ser injetada no cromatógrafo.

As análises foram feitas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), em um cromatógrafo da marca Thermo Scientific (modelo Ultimate 3000), com coluna de fase reversa ACE 5 C18-300 Columns (250 mm de comprimento x 4,6 mm). O sistema encontrava-se acoplado a um detector espectrofotométrico UV/visível Thermo Scientific (modelo Ultimate 3000), conectado a um microcomputador para processamento de dados.

As condições de análise utilizadas foram: fluxo de 1,0 mL min^{-1} ; fase móvel: 77 % de metanol (grau HPLC): 21 % de água MilliQ: 2 % de ácido fosfórico, a temperatura ambiente e comprimento de onda de 314 nm (BENITEZ et al., 1997), com adaptações.

4.2.7 Análises estatísticas dos dados

Os valores médios obtidos dos dois ciclos agrícolas (avaliados em separado, como dois experimentos bifatoriais) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste de F e, quando significativos, as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro com auxílio do programa estatístico Genes (Cruz, 2016).

Para o ciclo de cultivo de 2021/2022, os valores expressos para a altura de inserção do primeiro ramo lateral, massa total de cones colhidos, largura dos cones e altura dos cones foram transformados através da equação $\log x+1$. Para as variáveis massa fresca de cone e teor de óleo essencial, os valores não puderam ser normalizados com nenhuma transformação de dados, tendo sido usado para essas variáveis, portanto, os dados médios originais. Para as demais variáveis foram utilizadas as médias originais, sem transformações, pois os mesmos apresentaram distribuição normal.

Para o ciclo de cultivo de 2022/2023, os valores expressos para altura de inserção do primeiro ramo lateral, biomassa fresca de cone, altura dos cones, clorofila total aos 90 dias e clorofila B aos 120 dias não sofreram nenhuma transformação de dados, pois os mesmos apresentaram distribuição normal. Os dados das variáveis altura das plantas aos 40, 60 e 90 dias, total de cones e biomassa fresca total de cones colhidos por planta foram transformados através da equação \sqrt{x} . As variáveis

largura dos cones e clorofila b aos 90 dias foram transformados através da equação $\log x+1$. E, as variáveis clorofila a e total aos 120 dias não puderam ser normalizadas com nenhuma transformação de dados, tendo sido usado, portanto, os dados médios originais.

Para a melhor compreensão da relação existente entre as variáveis analisadas, as médias das características de altura de plantas, altura de inserção do ramo lateral, índice de cone, produtividade, massa de cone, número de cone por planta, massa fresca de planta, comprimento de cone, largura de cone, clorofila total, a e b, alfa-ácido, beta-ácido e óleo essencial, foram submetidas à análise multivariada pelo teste dos componentes principais (PCA) utilizando o programa estatístico Rbio.

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Fenologia

Nas figuras 8 e 9 encontram-se as datas dos principais estádios fenológicos das cultivares estudadas nos ciclos agrícolas de 2021/2022 e 2022/2023.

Para o primeiro ciclo agrícola 2021/2022, a variedade que teve o ciclo mais curto (dias) foi a Cascade com adubação orgânica de cama de aves, com um total de 119 dias. O ciclo mais longo durou 140 dias, para a variedade Cascade com adubação orgânica de esterco bovino e a testemunha na variedade Chinook (Figura 8).

Observou-se que para as duas variedades, os ciclos tiveram um período de dias próximos e não se identificou diferenças na duração do ciclo em relação aos diferentes tipos de adubações orgânicas, durante o primeiro ciclo agrícola (2021/2022).

Figura 8 Fenologia das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo de cultivo 2021/2022. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Mês	Novembro		Dezembro				Janeiro				Fevereiro				Março				Abril		Ciclo
Semana	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	Dias
Cacade (Testemunha)																					126
Cacade (Aves)																					119
Cacade (Bovino)																					140
Cacade (Ovino)																					133
Chinook (Testemunha)																					140
Chinook (Aves)																					126
Chinook (Bovino)																					133
Chinook (Ovino)																					133

	Plantio
	Crescimento ramo principal
	Formação de ramos laterais
	Início da floração
	Desenvolvimento dos cones
	Maturação dos cones
	Fim do ciclo

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2022.








Para o segundo ciclo agrícola (2022/2023), o início de brotação ocorreu em setembro, mas apenas para a variedade Cascade. A variedade Chinook apresentou um ciclo mais curto, com início de brotação mais tardia, após a segunda quinzena de outubro (Figura 9).

As diferentes cultivares apresentaram distintas datas de ocorrência para os principais estádios fenológicos. Essa diferença ocorre devido à variedade, clima e posição geográfica (JONES, 1997; BRIGHENTI, 2008).

Os tratamentos com diferentes adubos orgânicos não promoveram alterações na fenologia, quando avaliado o início da brotação da mesma variedade e a duração total do ciclo da planta, nos dois ciclos agrícolas (Figura 9).

Figura 9 Fenologia das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo de cultivo 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Mês	Setembro		Outubro				Novembro				Dezembro				Janeiro				Fevereiro				Ciclo
	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
Cacade (Testemunha)																							126
Cacade (Aves)																							126
Cacade (Bovino)																							130
Cacade (Ovino)																							130
Chinook (Testemunha)																							119
Chinook (Aves)																							112
Chinook (Bovino)																							112
Chinook (Ovino)																							112

	Início da brotação
	Crescimento ramo principal
	Formação de ramos laterais
	Início da floração
	Desenvolvimento dos cones
	Maturação dos cones
	Fim do ciclo

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

4.3.2 Altura das plantas aos 40, 60 e 90 dias

Observou-se interação entre os fatores avaliados no ciclo agrícola de 2021/2022, para a altura das plantas aos 40 dias após o plantio (Tabela 1).

Tabela 1 Altura (m) das plantas aos 40, 60 e 90 dias das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo de cultivo 2021/2022. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023

Adubo/Cultivar	Cascade	Chinook	Média
40 dias			
Teste	1,60 aA	0,66 bB	1,13
Aves	1,50 aA	1,56 aA	1,53
Bovino	0,91 bB	1,73 aA	1,32
Ovino	1,08 abA	0,92 bA	1,00
Média	1,27	1,22	1,24
CV (%)	25,87		
60 dias			

Teste	2,58 aA	1,31 aB	1,94
Aves	2,10 aA	2,38 aA	2,22
Bovino	1,34 aB	2,40 aA	1,85
Ovino	2,20 aA	1,80 aA	1,98
Média	2,04	1,96	2,00
CV (%)	37,02		
90 dias			
Teste	2,91	2,31	2,61 ns
Aves	2,84	2,98	2,91
Bovino	3,27	3,05	3,16
Ovino	2,93	2,47	2,7
Média	2,99 ns	2,7	2,85
CV (%)	22,98		

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 %; ns= não significativo.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Aos 40 dias, para a variedade Cascade, com exceção do esterco bovino, que teve menor crescimento, os demais adubos foram estatisticamente iguais. Para a variedade Chinook, os estercos de aves e bovinos proporcionaram maior crescimento inicial das plantas. A cultivar Chinook obteve maior altura de plantas após 40 dias de plantio com adubação de esterco bovino, chegando a uma média de 1,73 m (Tabela 1).

Aos 60 dias houve interação entre os fatores, porém na comparação dentro de cada variedade (Cascade e Chinook), não houve diferença significativa entre os adubos. Pode-se observar variações de crescimento, na comparação na linha, para a testemunha da variedade Chinook, que apresenta um menor desempenho em relação a testemunha da variedade Cascade, ou seja, a variedade Cascade cresceu mais que Chinook. Podemos ainda observar outra diferença para a adubação de esterco bovino, no qual desta vez, ao contrário, a cultivar Chinook teve um melhor desempenho em relação a variedade Cascade (Tabela 1).

Aos 90 dias, não houve interação entre os fatores nem efeito significativo dentro de cada fator isolado, ou seja, não se observou diferenças entre as variedades e entre os adubos (Tabela 1).

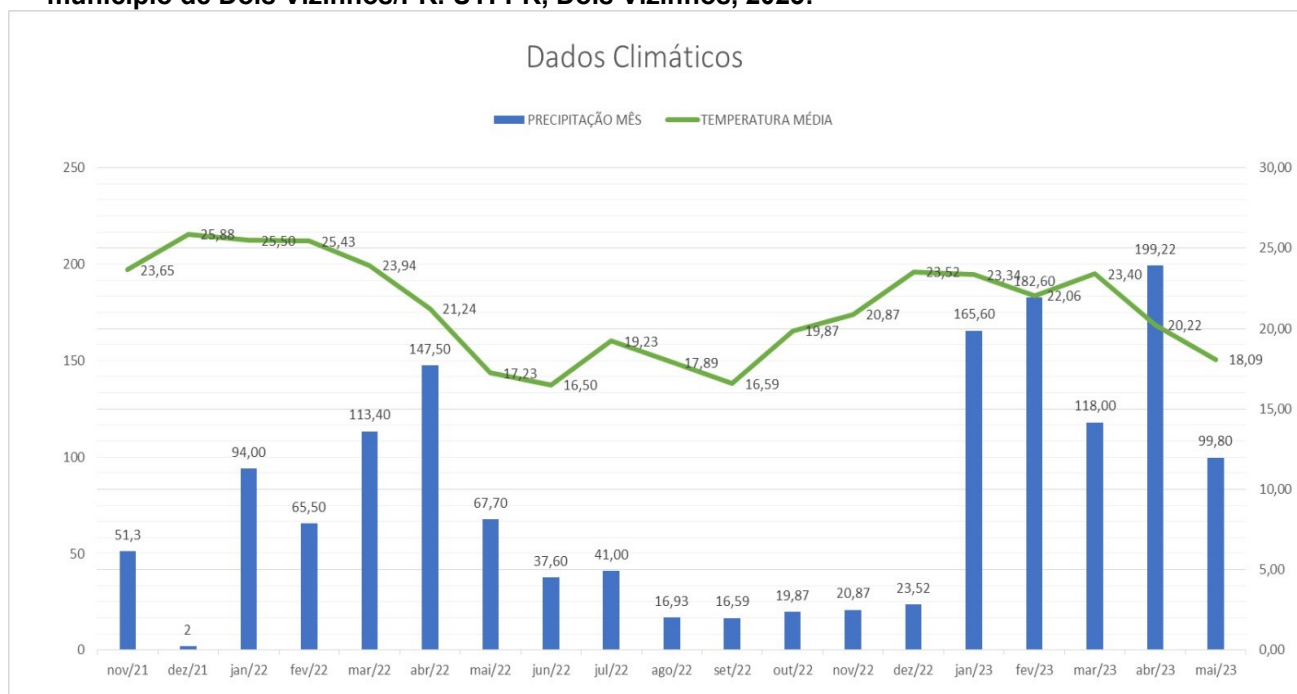
O principal fator meteorológico apontado como responsável por balizar o crescimento e desenvolvimento de cultivo do lúpulo é a disponibilidade de luminosidade no decorrer do período de crescimento. Isso depende, portanto, da

latitude na qual a área plantada se encontra. Dias longos com 16 a 18 horas de luminosidade, durante a fase de crescimento vegetativo, são apontados como essenciais para que essa cultura obtenha seus melhores resultados (ENGELHARD; LUTZ; SEIGNER, 2011).

Em Dois Vizinhos, Paraná, local onde estava alocado o campo experimental, o fotoperíodo varia de 10,4 horas de luminosidade no inverno a 13,6 horas de luminosidade no verão (Adaptado de INMET, 2023), abaixo, portanto, do fotoperíodo recomendado pelos autores acima.

A temperatura e a precipitação também são fatores decisivos que merecem atenção especial. Krottenthaler (2009) reitera a necessidade de temperaturas mais elevadas no decorrer do crescimento e da floração, assim como maior precipitação durante o desenvolvimento dos cones, que é benéfica para a melhor concentração das resinas amargas, que lhe são desejáveis. A figura 10 traz os registros dos regimes térmicos e hídricos do local de realização do experimento, permitindo verificar baixos índices pluviométricos na primavera/verão, principalmente no ano de 2022.

Figura 10 - Dados Climáticos (Precipitação e Temperatura Média) de nov/2021 a mai/2023 no município de Dois Vizinhos/PR. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Observou-se que no período de maio de 2022 a dezembro de 2022 ocorreu escassez hídrica, a qual foi suprida com irrigação suplementar por gotejamento, que preveniu o impacto negativo sobre o desenvolvimento das plantas.

Também se observou interação entre os fatores avaliados no ciclo agrícola de 2022/2023 para a altura das plantas aos 40 dias. Para a variedade Cascade, não houve diferença significativa entre os adubos. Para a variedade Chinook, o esterco bovino proporcionou maior crescimento inicial das plantas. Na comparação entre adubos, o esterco de aves, ovinos, e a testemunha, proporcionaram maior crescimento das plantas na variedade Cascade. Quando comparada as médias de crescimento das plantas aos 40 dias após brotação, a cultivar Cascade obteve um maior crescimento em relação a cultivar Chinook (Tabela 2).

Tabela 2 Altura (m) das plantas aos 40, 60 e 90 dias das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo de cultivo 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Adubo/Cultivar	Cascade	Chinook	Média
40 dias			
Teste	1,54 aA	0,53 bB	1,03
Aves	1,53 aA	0,43 bB	0,98
Bovino	1,52 aA	1,34 aA	1,43
Ovino	1,41 aA	0,67 bB	1,04
Média	1,50	0,74	<u>1,12</u>
CV (%)	11,3		
60 dias			
Teste	3,79 aA	1,31 bB	2,55
Aves	3,40 aA	1,57 abB	2,49
Bovino	3,89 aA	2,01 aB	2,95
Ovino	3,52 aA	1,93 aB	2,72
Média	3,65	1,70	<u>2,68</u>
CV (%)	6,6		
90 dias			
Teste	4,08	2,38 ns	3,23
Aves	4,01	2,80	3,40
Bovino	4,57	2,63	3,60
Ovino	3,88	2,19	3,04
Média	4,13 A	2,50 B	<u>3,32</u>
CV (%)	5,1		

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 %; ns= não significativo.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Aos 60 dias também houve interação entre os fatores para o tamanho das plantas. Para a comparação dentro de cada variedade, na variedade Chinook os adubos de bovinos e ovinos proporcionaram maior crescimento das plantas, em comparação com o tratamento testemunha. Ao comparar os resultados dentro de cada tratamento de adubação, a variedade Cascade apresentou maior crescimento das plantas em todos os adubos (Tabela 2).

Aos 90 dias após o início da brotação não houve interação entre os fatores, bem como não houve efeito significativo para adubos. Pode-se observar apenas que a Cascade atingiu uma altura média maior, de 4,13 m, enquanto a variedade Chinook atingiu uma altura média de 2,50 m (Tabela 2).

Em experimento realizado por Dagostim (2019), avaliando o efeito da adubação nitrogenada na cultura do lúpulo, observou que as plantas de lúpulo tiveram três fases de crescimento, um primeiro momento com taxas de crescimento abaixo de 0,3 cm dia⁻¹, seguido de um crescimento de 1,90 cm dia⁻¹ e, após, uma linearização nas taxas de crescimento ficando estáveis em cerca de 5 cm dia⁻¹.

Aos 40 dias após o início da brotação, durante o ciclo agrícola de 2022/2023, a variedade Cascade apresentou taxas de crescimento médio de 3,75 cm dia⁻¹, enquanto a variedade Chinook apresentou taxas de crescimento médio de 1,85 cm dia⁻¹. Após os 40 dias do início da brotação até os 60 dias, as taxas de crescimento médio foi de 10,75 cm dia⁻¹ e 4,8 cm dia⁻¹ para as variedades Cascade e Chinook, respectivamente. Após os 60 dias do início da brotação até os 90 dias, Cascade apresentou taxa de crescimento diário de 2,4 cm dia⁻¹ enquanto a variedade Chinook cresceu 4,0 cm dia⁻¹.

Observa-se que para a variedade Cascade o seu desenvolvimento e crescimento foram maiores que a variedade Chinook até os 60 dias após o início da brotação, após esse período a taxa de crescimento diminuiu, enquanto a variedade Chinook apresentou crescimento menor que Cascade até os 60 dias, e após os 60 dias, apresentou taxa de crescimento diário superior.

A temperatura invernal também é condição essencial ao crescimento e desenvolvimento de um cultivo de lúpulo produtivo. Segundo Dodds (2017), caso a exposição ao frio durante o período de dormência seja inferior ao necessário, a quebra da dormência pode ser insuficiente, acarretando crescimento defasado das plantas no período posterior. Mahafee *et al.* (2009) citam casos de cultivos de lúpulo na Califórnia

(EUA) e no Quênia, onde a ausência de resfriamento invernal suficiente ocasionou uma quebra de dormência lenta e irregular.

4.3.3 Altura de inserção de ramo lateral com cones

No ciclo agrícola de 2021/2022 houve interação entre os fatores. Porém, na variedade Cascade não teve diferença estatística entre as adubações, só apresentando diferenças estatísticas quando comparada com a variedade Chinook. Na variedade Chinook, os adubos de bovinos e ovinos proporcionaram maior crescimento das plantas, em comparação com o tratamento testemunha, mas não diferiram do adubo de aves. Comparando as adubações, a variedade Cascade cresceu mais que Chinook no tratamento sem adubo. No adubo de bovino observou-se resposta contrária, uma vez que Chinook apresentou maior altura de inserção do primeiro ramo lateral com cones (Tabela 3).

Tabela 3 - Altura (m) de inserção do primeiro ramo lateral das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo de cultivo 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Adubo/Cultivar	Cascade	Chinook	Média
Ciclo de cultivo 2021/2022			
Teste	1,60 aA	0,84 cB	0,99
Aves	1,10 aA	0,96 bcA	1,02
Bovino	1,06 aB	1,60 aA	1,33
Ovino	1,10 aA	1,33 abA	1,21
Média	1,10	1,18	1,14
CV (%)	18,12		
Ciclo de cultivo 2022/2023			
Teste	0,50 bA	0,54 bA	0,52
Aves	0,48 bB	0,71 aA	0,60
Bovino	0,79 aA	0,38 cB	0,58
Ovino	0,61 bA	0,57 abA	0,59
Média	0,59	0,55	<u>0,57</u>
CV (%)	15,4		

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e de mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Para o ciclo agrícola de 2022/2023 houve interação entre os fatores. Na comparação dentro de cada variedade, para a Cascade, o adubo de bovino proporcionou maior altura de inserção do primeiro ramo lateral com cones, em comparação com os demais tratamentos. Para a variedade Chinook o adubo de aves proporcionou maior altura de inserção do primeiro ramo lateral com cones, seguido do adubo de ovino e da testemunha, sendo que o de bovinos proporcionou a menor altura de inserção (Tabela 3).

Na comparação entre as adubações, a variedade Cascade apresentou inserção do primeiro ramo lateral com cones mais alta que na Chinook com o adubo de bovinos. O contrário foi observado para o adubo de aves.

Esta diferença observada entre as variedades com a adubação de esterco bovino pode indicar que a variedade Cascade responde melhor ao adubo, pois promoveu maior altura de inserção dos ramos laterais com cones.

A altura de inserção do primeiro ramo lateral com cone fornece um parâmetro de início de produção por planta e de forma da planta (Fagherazzi e Rufato, 2019).

Quando a planta atinge o ponto máximo de tutoramento inicia-se a brotação dos ramos laterais, o qual se desenvolve rapidamente. O comprimento e disposição dos ramos laterais da planta variam conforme a cultivar de lúpulo, tempo e condições de cultivo. Estes ramos são de grande importância, pois neles ocorrerão as inflorescências que irão gerar os cones de lúpulo (MAPA, 2022).

A inserção dos ramos laterais em alturas mais elevadas no caule geralmente resulta em uma maior produção de cones de lúpulo. Isso ocorre porque os ramos mais altos recebem mais luz solar, o que é essencial para o crescimento e desenvolvimento dos cones. Quando os ramos laterais estão localizados em alturas mais baixas, eles podem receber menos luz solar devido à sombra criada pelos ramos superiores. Isso pode resultar em uma menor produção de cones, pois a quantidade de luz disponível para esses ramos é reduzida (HAUNOLD; MERKLE, 1974).

A luz solar é um dos principais fatores que estimulam a produção de lupulina, a substância responsável pelas propriedades aromáticas e amargas do lúpulo (TEIXEIRA; GOMES; PINHEIRO, 2015).

Além disso, a ventilação adequada entre os ramos é essencial para evitar a propagação de doenças e garantir a qualidade dos cones e, ramos mais baixos podem dificultar a ventilação adequada (KLIMEK; WIELGUSZ, 2019).

4.3.4 Produção de cones por planta

Para o ciclo agrícola de 2021/2022 não houve interação entre os fatores, nem efeito significativo dos adubos orgânicos testados sobre a produção de cones. No entanto, foi observada variação para o número total de cones colhidos entre as cultivares, sendo que a cultivar Cascade (271) produziu um maior número de cones em relação a cultivar Chinook (134) (Tabela 4).

Para o ciclo agrícola de 2022/2023 houve interação entre os fatores. Para a variedade Cascade a adubação de esterco bovino proporcionou maior produção de cones por planta. Para a variedade Chinook a adubação de esterco bovino e cama de aves proporcionaram maior produção de cones por planta. Na comparação entre as variedades, Cascade apresentou maior produção de cones do que a Chinook, em todos os adubos usados (Tabela 04).

Tabela 4 - Número de cones das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo de cultivo 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Adubo/Cultivar	Cascade	Chinook	Média
<i>Ciclo de cultivo 2021/2022</i>			
Teste	256	84	170^{ns}
Aves	301	105	203
Bovino	250	207	229
Ovino	276	140	208
Média	271 A	134 B	202
CV (%)	23,05		
<i>Ciclo de cultivo 2022/2023</i>			
Teste	330 bA	47 bB	188
Aves	350 bA	75 bB	213
Bovino	509 aA	200 aB	354
Ovino	366 bA	202 aB	284
Média	389	131	<u>260</u>
CV (%)	12,0		

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e de mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Em um estudo realizado por Fagherazzi (2020) em Lages, SC, observou que a variedade 'Chinook' no segundo ciclo de produção reduziu a produtividade em mais

de 50%, quando comparado com o primeiro ciclo, avaliando que o menor vigor da planta e a baixa altura do sistema de condução utilizado no experimento não permitiu que a planta expressasse todo seu potencial produtivo.

O lúpulo é uma planta perene, que leva pelo menos dois anos para amadurecer e assim produzir uma colheita satisfatória (GREAT LAKES HOPS, 2013). Assim, segundo essa informação, a tendência da produção é aumentar até o terceiro ano e depois estabilizar.

É importante ressaltar que o rendimento real dependerá de vários fatores, como o local de cultivo, as práticas agrícolas, as condições climáticas e o manejo adequado da planta (NEVE; JOHNSON, 2016).

4.3.5 Massa fresca total de cones (g) por planta e massa fresca de cone (g)

Para a massa fresca total de cones colhidos para o ciclo agrícola de 2021/2022, não houve interação entre os fatores, nem efeito significativo para o fator adubo. No entanto, a variedade Cascade ($161 \text{ g planta}^{-1}$) produziu cones mais pesados do que a variedade Chinook (90 g planta^{-1}) (Tabela 5).

O aumento observado na produção no número de cones por planta na safra agrícola de 2022/2023 (Tabela 4) refletiu em aumento de massa fresca total dos cones por planta, havendo interação entre os fatores avaliados, sendo que, para a variedade Cascade, o esterco bovino proporcionou maior produção de cones por planta, sem diferença estatística do adubo de ovinos. Já para a Chinook, os estercos de bovinos e ovinos proporcionaram maior produção de cones por planta. Comparando as diferentes adubações, a variedade Cascade (285 g) apresentou produção de cones por planta muito superior à Chinook (88 g) em todos os adubos usados (Tabela 5).

Judd (2018) estudando a produção de 13 cultivares de lúpulo no estado da Virgínia, EUA, em duas estações de crescimento, observou a diferença de produção entre as cultivares, destacando a 'Cascade' com maior rendimento geral, 945 g por planta de lúpulo fresco. Entretanto, a média de rendimento no Pacífico Noroeste, para a 'Cascade', varia entre 1.779 - 2.242 kg por hectare (USAHOPS, 2018).

O lúpulo é uma cultura que se desenvolve melhor e, conseqüentemente, tem maior produção de cones em regiões com climas específicos, como os climas temperados. A maioria das variedades de lúpulo se adapta melhor a temperaturas

mais frias e estações distintas, o que é mais comum em países da Europa e em algumas regiões dos Estados Unidos (CARDOSO; TAVELLA; REINEHR, 2019).

Tabela 5 Massa fresca total de cones (g) das variedades de lúpulo cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo de cultivo 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Adubo/Cultivar	Cascade	Chinook	Média
<i>Ciclo de cultivo 2021/2022</i>			
Teste	158,2	59,0	108,6 ns
Aves	151,8	58,2	105,0
Bovino	174,6	131,4	153,0
Ovino	159,6	110,0	134,8
Média	161 A	90 B	125,3
CV (%)	10,33		
<i>Ciclo de cultivo 2022/2023</i>			
Teste	246 bA	31 bB	138
Aves	243 bA	51 bB	147
Bovino	377 aA	136 aB	256
Ovino	274 abA	135 aB	205
Média	285	88	186
CV (%)	13,7		

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e de mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. ns: não significativo.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Em relação à massa fresca de cone, para o ciclo agrícola 2021/2022, não houve interação entre os fatores, nem efeito significativo para os fatores avaliados isoladamente, ou seja, não se observou diferenças entre variedades e entre os adubos usados (Tabela 6).

Para o ciclo agrícola 2022/2023 também não houve interação entre os fatores e nem efeito significativo para o fator adubo, porém observou-se que a variedade Cascade produziu cones mais pesados do que a variedade Chinook (Tabela 6).

Tabela 6 Massa fresca de um cone (g) das variedades de lúpulo (Cascade e Chinook) cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo de cultivo 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Adubo/Cultivar	Cascade	Chinook	Média
Ciclo de cultivo 2021/2022			
Teste	0,73	0,71	0,72 ns
Aves	0,95	0,96	0,95
Bovino	0,69	0,63	0,66
Ovino	0,55	0,83	0,69
Média	0,73 ns	0,78	0,75
CV (%)	63,76		
Ciclo de cultivo 2022/2023			
Teste	0,73	0,62	0,68 ns
Aves	0,71	0,68	0,70
Bovino	0,75	0,68	0,72
Ovino	0,74	0,67	0,71
Média	0,74 A	0,66 B	0,70
CV (%)	14,8		

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e de mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. ns: não significativo.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

4.3.6 Comprimento e largura de cones

Para o ciclo agrícola 2021/2022 observou-se que houve interação entre os fatores para largura dos cones. Na variedade Cascade os adubos não apresentaram diferença entre si. Na variedade Chinook, o adubo de aves, sem diferença estatística para o adubo de bovinos, proporcionou cones mais largos do que os demais tratamentos. Na comparação dentro de cada adubo, somente no tratamento testemunha observou-se cones mais largos, na variedade Cascade (Tabela 7).

Para o comprimento dos cones durante o ciclo agrícola 2021/2022 não houve interação entre os fatores e nem efeito significativo para os fatores variedades e adubos, quando avaliados isoladamente.

Para a largura dos cones, no ciclo agrícola 2022/2023, observou-se interação entre os fatores. Na variedade Cascade, o adubo de ovinos, sem diferença estatística para o adubo de bovinos, proporcionou cones mais largos que os demais tratamentos. Para a variedade Chinook, os adubos de aves e bovinos, sem diferença estatística para o adubo de ovinos, proporcionou cones mais largos que a testemunha (Tabela 7).

Na comparação dentro de cada adubação, a variedade Cascade apresentou cones mais largos do que os da variedade Chinook, em todos os adubos usados (Tabela 7).

Para o ciclo agrícola 2022/2023, observou-se interação entre os fatores para o comprimento dos cones. Para a variedade Cascade, o esterco de ovinos, seguido do de aves, proporcionou cones mais compridos. Para a variedade Chinook, o esterco de bovino proporcionou cones mais compridos do que a testemunha e o esterco de ovinos. Entretanto na comparação dentro de cada adubação, com exceção do adubo de bovinos, a variedade Cascade apresentou cones mais compridos do que os da variedade Chinook para os adubos usados (Tabela 7).

As variáveis comprimento e largura de cone foram obtidas para ter um parâmetro de tamanho de cone, seguindo a metodologia da ASBC Hops-3 (Grande (5,7-7,6 cm), médio (3,2-5,1 cm) e pequeno (1,8-2,5 cm)).

Observa-se que apenas no ciclo de 2022/2023, na variedade Cascade, para as adubações de cama de aves, bovino e ovino, os cones se classificaram como médios. Para todas as demais medições, os cones são classificados como pequenos (Tabela 07), reforçando que as baixa produtividades de cones por planta obtidas nesse experimento estão associadas, principalmente, ao tamanho pequeno dos mesmos (baixa qualidade).

Tabela 7 Largura e comprimento dos cones das variedades de lúpulo cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante o ciclo 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Adubo/Cultivar	Cascade	Chinook	Média
<i>Largura ciclo 2021/2022</i>			
Teste	1,95 aA	1,65 bB	1,80
Aves	1,95 aA	2,16 aA	2,05
Bovino	1,81 aA	2,00 abA	1,90
Ovino	1,76 aA	1,76 bA	1,76
Média	1,87	1,89	1,88
CV (%)	6,91		
<i>Comprimento de cones ciclo 2021/2022</i>			
Teste	3,10	2,63	2,86 ns
Aves	2,90	2,96	2,92
Bovino	3,14	3,02	3,08
Ovino	2,70	2,69	2,69
Média	2,95 ns	2,83	2,88
CV (%)	7,41		

Largura de cones ciclo 2022/2			
Teste	2,00 cA	1,49 bB	1,75
Aves	2,70 bA	1,98 aB	2,34
Bovino	2,74 abA	1,91 aB	2,33
Ovino	3,16 aA	1,70 abB	2,43
Média	2,65	1,77	<u>2,21</u>
CV (%)	5,4		
Comprimento ciclo 2022/2023			
Teste	3,07 cA	2,34 cB	2,70
Aves	3,58 bA	2,78 abB	3,18
Bovino	3,22 cA	3,03 aA	3,12
Ovino	3,96 aA	2,63 bcB	3,29
Média	3,46	2,69	<u>3,08</u>
CV (%)	7,41		

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e de mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%; ns: não significativo.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

4.3.7 Clorofila

O teor de clorofila na folha é utilizado para predizer o nível nutricional de nitrogênio (N) em plantas, devido ao fato da quantidade desse pigmento correlacionar-se positivamente com o teor de N na planta (Argenta et al. 2001).

Para o ciclo agrícola 2021/2022 houve interação entre os fatores para os maiores índices de clorofila total aos 90 dias, sendo que para a Cascade, os maiores teores foram obtidos com o adubo de ovinos e com o tratamento testemunha, sem diferença significativa para o adubo de aves. Para a variedade Chinook não se observou diferença entre os adubos. Quando feita a comparação dentro de cada adubo, somente para o adubo de ovinos e para o tratamento testemunha se observou maior teor de clorofila total aos 90 dias na variedade Cascade, em relação à Chinook (Tabela 8).

Ainda durante o ciclo agrícola 2021/2022, para os teores de clorofila total aos 120 dias, não houve interação entre os fatores e nem efeito significativo para os fatores variedades e adubos avaliados isoladamente (Tabela 8).

Para o ciclo agrícola 2022/2023 houve interação entre os fatores. O maior teor de clorofila total aos 90 dias, para a variedade Cascade, foi obtido com o adubo de bovinos, sem diferença significativa com o adubo de ovinos. Para a variedade Chinook, os maiores teores de clorofila total aos 90 dias foram obtidos com o adubo

de bovinos e no tratamento testemunha (sem adubação orgânica). Quando a clorofila total é comparada dentro de cada adubo, para os adubos de aves e ovinos se observou maior teor na variedade Cascade, em relação à Chinook. Para a testemunha, o efeito foi o contrário (Tabela 8).

Ainda durante o ciclo agrícola 2022/2023, observou-se interação entre os fatores para clorofila total aos 120 dias. Na variedade Cascade, o maior teor de clorofila total aos 120 dias foi obtido com o adubo de ovinos, sem diferença significativa com o adubo de bovinos. Na variedade Chinook não se observou diferenças entre os adubos. Quando comparados os teores de clorofila total aos 120 dias dentro de cada adubação, somente para o adubo de ovinos se observou maior teor de clorofila na variedade Cascade, em relação à Chinook (Tabela 8).

Tabela 8 Clorofila total aos 90 e 120 dias das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Adubo/Cultivar	Cascade	Chinook	Média
	90 dias	Ciclo 2021/2022	
Teste	47,43 aA*	37,68 aB	42,55
Aves	41,10 abA	42,90 aA	42,00
Bovino	35,25 bA	35,50 aA	35,38
Ovino	46,67 aA	35,90 aB	41,28
Média	42,60	37,99	40,30
CV (%)	11,55		
	120 dias	Ciclo 2021/2022	
Teste	45,14	35,50	40,32 ns
Aves	51,83	43,80	47,81
Bovino	42,87	41,17	42,01
Ovino	47,70	40,92	44,31
Média	46,88 ns	40,35	43,61
CV (%)	15,62		
	90 dias	Ciclo 2022/2023	
Teste	45,1 cB	52,5 aA	48,8
Aves	49,1 bcA	42,6 bB	45,9
Bovino	57,5 aA	55,1 aA	56,3
Ovino	54,0 abA	42,3 bB	48,2
Média	51,4	48,2	49,8
CV (%)	9,7		
	120 dias	Ciclo 2022/2023	
Teste	49,7 bA	46,5 aA	48,1
Aves	47,3 bA	45,2 aA	46,3
Bovino	52,0 abA	48,7 aA	50,4
Ovino	61,3 aA	42,9 aB	52,1

Média	52,6	45,9	<u>49,2</u>
CV (%)	11,7		

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e de mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%; ns: não significativo.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Em relação aos teores de clorofila a, no ciclo agrícola 2021/2022, houve interação entre os fatores aos 90 dias. Na variedade Cascade, os maiores teores de clorofila aos 90 dias foram obtidos com o adubo de ovinos e com o tratamento testemunha, sem diferença significativa com o adubo de aves. Para a variedade Chinook não se observou diferença entre os adubos. Na comparação dentro de cada adubo, somente para o adubo de ovinos e para o tratamento testemunha se observou diferenças no teor de clorofila A aos 90 dias, que foi maior na variedade Cascade em relação à Chinook (Tabela 9).

Ainda durante o mesmo ciclo, aos 120 dias, para os índices de clorofila a, não houve interação entre os fatores e nem efeito significativo para os fatores variedades e adubos isoladamente (Tabela 9).

Para o ciclo agrícola 2022/2023 houve interação entre os fatores para os teores de clorofila a, aos 90 dias. Na variedade Cascade, o maior teor de clorofila aos 90 dias foi obtido com o adubo de ovinos, sem diferença significativa com os adubos de aves e bovinos. Na variedade Chinook os maiores teores de clorofila A aos 90 dias foram obtidos com o adubo de bovinos e na testemunha, sem diferença significativa com o adubo de aves. Quando feito uma comparação dentro de cada adubo, para o adubo de ovinos se observou maior teor de clorofila A aos 90 dias na variedade Cascade, em relação à Chinook. Para a testemunha observou-se efeito contrário (Tabela 9).

Para os teores de clorofila A aos 120 dias, nesse mesmo ciclo agrícola, não houve interação entre os fatores e nem efeito significativo para o fator adubos. No entanto, observou-se que a variedade Cascade apresentou maior teor de clorofila A aos 120 dias em comparação à Chinook.

Uma maior concentração de clorofila geralmente indica uma maior capacidade fotossintética da planta, o que pode levar a um melhor desenvolvimento e produção de lúpulo. Isso ocorre porque a fotossíntese é um processo essencial para a produção de carboidratos e outros compostos necessários para o crescimento das plantas (KOCH; BÜCKING, 2016).

Tabela 9 Clorofila A aos 90 e 120 dias das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Adubo/Cultivar	Cascade	Chinook	Média
	90 dias	Ciclo 2021/2022	
Teste	36,21 aA	29,43 aB	32,82
Aves	32,28 abA	32,16 aA	32,22
Bovino	28,30 bA	28,70 aA	28,50
Ovino	36,03 aA	28,39 aB	32,20
Média	33,20	29,67	31,44
CV (%)	10,00		
	120 dias	Ciclo 2021/2022	
Teste	34,37	32,33	33,35 ns
Aves	37,93	32,96	35,45
Bovino	32,99	31,81	32,40
Ovino	35,91	32,10	34,00
Média	35,30 ns	32,30	33,80
CV (%)	9,06		
	90 dias	Ciclo 2022/2023	
Teste	33,3 bB	37,4 aA	35,3
Aves	36,0 abA	32,5 abA	34,3
Bovino	37,8 abA	37,4 aA	37,6
Ovino	38,8 aA	32,0 bB	35,4
Média	36,5	34,8	35,7
CV (%)	8,5		
	120 dias	Ciclo 2022/2023	
Teste	35,8	33,8	34,8 ns
Aves	33,6	33,0	33,3
Bovino	39,7	34,1	36,9
Ovino	45,1	32,2	38,6
Média	38,6 A	33,3 B	35,9
CV (%)	19,9		

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e de mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%; ns: não significativo.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Quando analisados os teores de clorofila b, para o ciclo agrícola 2021/2022, não houve interação entre os fatores e nem efeito significativo para os fatores variedades e adubos, isoladamente, para ambas as medições, aos 90 e 120 dias (Tabela 10).

No entanto, para o ciclo agrícola 2022/2023, houve interação entre os fatores para os teores de clorofila b, aos 90 dias. Na variedade Cascade, o maior teor de clorofila B aos 90 dias foi obtido com o adubo de bovinos, sem diferença significativa com o adubo de ovinos. Para a variedade Chinook, os maiores teores de clorofila b aos 90 dias foram obtidos com o adubo de bovinos e na testemunha. Para a comparação dentro de cada adubação, para os adubos de aves e ovinos, se observou maior teor de clorofila B aos 90 dias na variedade Cascade, em relação à Chinook. Para a testemunha observou-se efeito contrário (Tabela 10).

Para os teores de clorofila b aos 120 dias não se observou interação entre os fatores e nem efeito significativo para os fatores variedades e adubos isoladamente (Tabela 10).

A relação entre os valores de clorofila e a produção de lúpulo não é direta e depende de outros fatores, como as condições ambientais, o manejo agrícola e a variedade de lúpulo em questão. Além disso, outros parâmetros, como teor de nutrientes no solo, disponibilidade de água e incidência de doenças, também influenciam significativamente a produção de lúpulo (PIOTROWSKI, et al., 2020).

Tabela 10 Clorofila B aos 90 e 120 dias das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Adubo/Cultivar	Cascade	Chinook	Média
	90 dias	Ciclo 2021/2022	
Teste	11,21	8,12	9,67 ns
Aves	8,83	11,08	9,95
Bovino	7,0	6,72	6,85
Ovino	10,63	7,50	9,07
Média	9,41 ns	8,36	8,88
CV (%)	15,88		
	120 dias	Ciclo 2021/2022	
Teste	10,91	9,65	10,28 ns
Aves	13,95	10,83	12,39
Bovino	9,88	9,45	9,66
Ovino	11,79	8,83	10,31
Média	11,63 ns	9,69	10,66
CV (%)	20,10		
	90 dias	Ciclo 2022/2023	
Teste	11,8 bB	15,2 aA	13,5
Aves	13,1 bA	10,1 bB	11,6
Bovino	19,6 aA	17,8 aA	18,7

Ovino	15,2 abA	10,3 bB	12,7
Média	14,9	13,3	<u>14,1</u>
CV (%)	6,1		
	120 dias	Ciclo 2022/2023	
Teste	13,9	12,7	13,3 ns
Aves	13,7	12,2	12,9
Bovino	12,2	14,6	13,4
Ovino	16,2	10,8	13,5
Média	14,0 ns	12,6	<u>13,3</u>
CV (%)	36,8		

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e de mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%; ns: não significativo.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

4.3.8 Teor de óleos essenciais

O óleo essencial do lúpulo é encontrado na estrutura conhecida como lupulina. As glândulas de lupulina, com cerca de 0,15 mm de diâmetro, compõem cerca de 20 % do peso do cone de lúpulo. O teor de óleo na lupulina pode atingir cerca de 7,5 % do seu peso, e é responsável pelo aroma específico de cada cultivar (Patzak, 2015).

Para o ciclo agrícola 2021/2022 houve interação entre os fatores, sendo que na variedade Cascade o maior teor de óleo essencial foi obtido com o adubo de aves, sem diferença estatística da testemunha. Para a variedade Chinook, o maior teor de óleo essencial foi obtido com o adubo de aves, seguido do adubo de ovinos. Na comparação dentro de cada adubação, para a testemunha se observou maior teor de óleo essencial na variedade Cascade. No entanto, para os adubos de aves e ovinos, observou-se efeito contrário (Tabela 11).

Para o ciclo agrícola 2022/2023 também houve interação entre os fatores na qual, para a Cascade, o maior teor de óleo essencial foi obtido com o adubo de bovinos, seguido da testemunha. Já para a variedade Chinook, o maior teor de óleo essencial foi obtido com o adubo de aves, seguido dos adubos de bovinos e ovinos. Na comparação dentro de cada adubação, para a testemunha e adubo de bovinos, se observou maior teor de óleo essencial na variedade Cascade. No entanto, para os adubos de aves e ovinos, observou-se efeito contrário (Tabela 11).

Tabela 11 Teor de óleo essencial (mL /100 g⁻¹) das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Adubo/Cultivar	Cascade	Chinook	Média
Ciclo de cultivo 2021/2022			
Teste	0,97 abA	0,50 cB	0,74
Aves	1,01 aB	1,92 aA	1,47
Bovino	0,33 cA	0,59 cA	0,46
Ovino	0,46 bcB	1,33 bA	0,90
Média	0,69	1,08	0.89
CV (%)	25,19		
Ciclo de cultivo 2022/2023			
Teste	0,99 bA	0,58 cB	0,79
Aves	0,73 cB	1,98 aA	1,36
Bovino	1,72 aA	0,95 bB	1,33
Ovino	0,67 cB	0,93 bA	0,80
Média	1,11	1,03	1,07
CV (%)	7,20		

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e de mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%; ns: não significativo.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

A influência da adubação orgânica na produção de óleo essencial de lúpulo pode variar dependendo de vários fatores, como o tipo de adubo orgânico utilizado, a composição do solo, as condições climáticas e a variedade de lúpulo em questão. Além disso, o manejo adequado da adubação orgânica, em termos de dosagem e época de aplicação, também é crucial para otimizar os resultados (CANTUARIAS et al., 2019).

4.3.9 Teores de Alfa e Beta-ácidos

Para o ciclo agrícola 2021/2022 houve interação entre os fatores, sendo que na variedade Cascade o maior teor de α -ácidos totais foi obtido no tratamento testemunha. Já para a variedade Chinook, o maior teor de α -ácidos totais foi obtido no tratamento testemunha seguido dos adubos de bovinos e ovinos. Na comparação dentro de cada adubo, com exceção do adubo de aves, observou-se que a variedade Chinook produziu maiores teores de α -ácidos totais, em comparação à Cascade (Tabela 12).

Para os teores de β -ácidos, no ciclo agrícola 2021/2022, houve interação entre os fatores, e quando se comparou dentro de cada variedade, o maior teor de β -ácidos totais para a Cascade foi obtido no adubo de bovinos, sem diferença estatística do tratamento testemunha e do adubo de aves. Na variedade Chinook os maiores teores de β -ácidos totais foram obtidos no tratamento testemunha e com o adubo de bovinos. Já na comparação dentro de cada adubo, somente se observou no adubo de aves que a variedade Cascade produziu maiores teores de β -ácidos totais (Tabela 12).

Outros pesquisadores apontam alguns valores semelhantes, mas, na maior parte, distintos aos obtidos na presente pesquisa, principalmente para as concentrações de alfa e beta-ácidos na cultivar Cascade. Para Pinto (2018), avaliando a concentração de alfa-ácidos do lúpulo Cascade cultivado no Brasil, detectou teor de 5,0 % para alfa-ácidos e 3,0 % de beta-ácidos, acima dos obtidos na presente pesquisa, principalmente para alfa-ácidos (2,28 %). Entretanto, Fagherazzi (2020) obteve para a variedade Chinook, no município de São Joaquim, SC, teores de 3,69 % para alfa-ácido e 3,30 % para beta-ácido, valores esses bem distintos aos obtidos nessa presente pesquisa, sobretudo para alfa-ácidos que, na média dos adubos testados, foi mais que o dobro (8,47 %).

Segundo Bertelli et al. (2018), a diferença das concentrações de alfa e beta-ácidos entre cultivares é devido a muitos parâmetros, tais como o seu local de origem, clima, crescimento, pós-colheita e condições de armazenamento, entre outros.

Tabela 12 Teor de α -ácidos e β -ácidos das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Adubo/Cultivar	Cascade	Chinook	Média
<i>α-ácidos</i>			
Teste	3,54 aB	11,66 aA	7,60
Aves	1,78 bA	2,10 cA	1,94
Bovino	1,65 bB	9,97 bA	5,81
Ovino	2,13 bB	10,17 bA	6,15
Média	2,28	8,47	<u>5,38</u>
CV (%)	10,35		
<i>β-ácidos</i>			
Teste	2,18 abA	2,47 aA	2,32
Aves	2,27 abA	1,40 bB	1,83
Bovino	2,83 aA	3,46 aA	3,14
Ovino	1,59 bA	2,34 bA	1,96
Média	2,22	2,41	<u>2,32</u>
CV (%)	19,96		

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e de mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Para o ciclo agrícola 2022/2023 também houve interação entre os fatores, sendo que na variedade Cascade o maior teor de α -ácidos totais foi obtido no adubo de bovinos, seguido pelo adubo de aves. Já para a variedade Chinook, o maior teor de α -ácidos totais foi obtido na testemunha, seguido pelos adubos de aves e bovinos (Tabela 13).

Na comparação dentro de cada adubo, com exceção da testemunha, em todos os demais adubos, a variedade Cascade produziu maiores teores de α -ácidos totais, em comparação à Chinook (Tabela 13).

Para os índices de β -ácidos no ciclo agrícola 2022/2023, também houve interação entre os fatores e, na variedade Cascade, o maior teor de β -ácidos totais foi obtido no esterco bovino, seguido pelo adubo de aves. Para a variedade Chinook, o maior teor de β -ácidos totais foi obtido com o adubo de bovinos, seguido pela testemunha. Na comparação dentro de cada adubo, em todos os adubos, a variedade Cascade produziu maiores teores de β -ácidos totais, em comparação à Chinook (Tabela 13).

Tabela 13 Teor de α -ácidos e β -ácidos das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Adubo/Cultivar	Cascade	Chinook	Média
<i>α-ácidos</i>			
Teste	10,39 cB	10,77 aA	10,58
Aves	14,00 bA	10,32 bB	12,16
Bovino	15,73 aA	10,38 bB	13,05
Ovino	8,71 dA	3,88 cB	6,30
Média	12,21	8,84	<u>10,52</u>
CV (%)	0,46		
<i>β-ácidos</i>			
Teste	8,62 cA	7,46 bB	8,04
Aves	10,52 bA	5,58 cB	8,05
Bovino	11,83 aA	7,88 aB	9,85
Ovino	7,67 dA	2,23 dB	4,95
Média	9,66	5,78	<u>7,72</u>
CV (%)	1,75		

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e de mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Estatisticamente não é possível inferir, uma vez que os dois ciclos de produção foram analisados estatisticamente em separados, mas é possível observar, mesmo assim, que no segundo ciclo de produção, na média dos adubos testados, que ambas as cultivares produziram maiores teores de alfa e beta-ácidos.

4.4 Análise dos Componentes Principais (PCA)

Através da análise multivariada dos componentes principais foi possível compreender quais as variáveis, ou conjuntos de variáveis (com ação conjunta), melhor discriminaram os efeitos dos níveis de cada fator testado (variedades de lúpulo, adubos e ciclos de produção).

Os componentes principais, Dim1 e Dim2, conseguiram explicar 58,8 % da variação total das variáveis avaliadas no experimento (Figura 11), explicando mediamente bem, em relação ao nível de confiabilidade as variações existentes/observadas.

A figura 11 também mostra claramente três grupos de variáveis correlacionadas positivamente entre si, em maior ou menor grau (na comparação individual entre si), a saber:

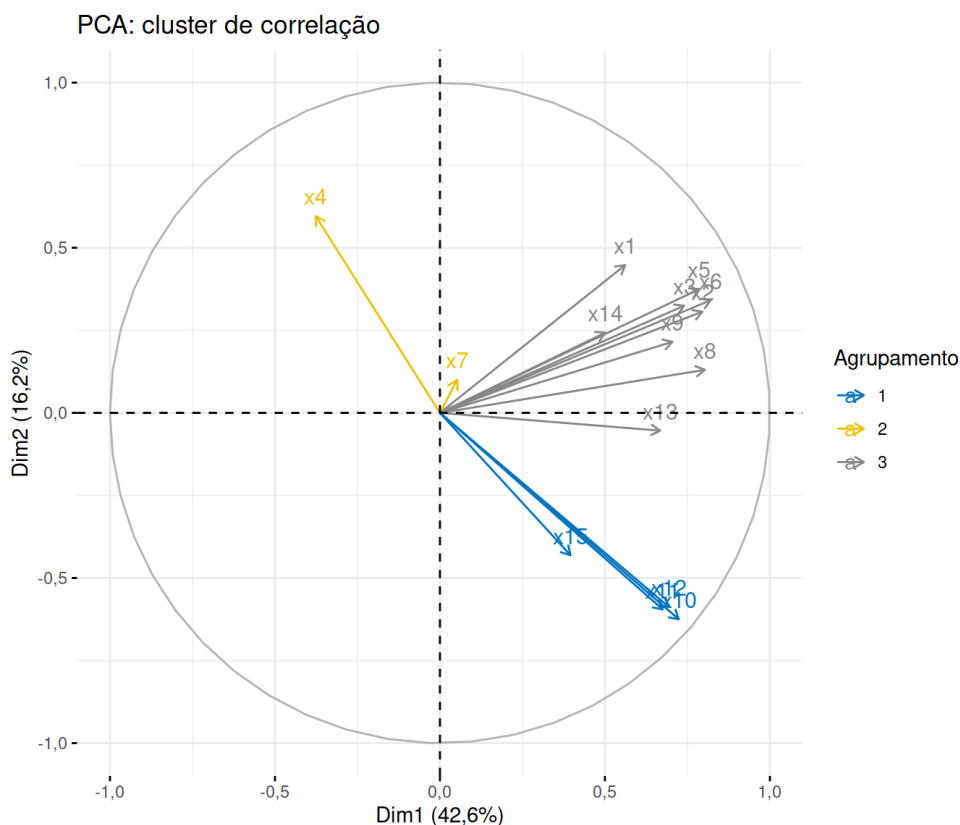
- Grupo 1: as variáveis com setas de cor cinza: tamanho das plantas aos 40 dias (x1), aos 60 dias (x2), aos 90 dias (x3), total de cones colhidos (x5), massa total fresca dos cones colhidos (x6), largura dos cones (x8), altura dos cones (x9), clorofila total aos 120 dias (x13) e clorofila B aos 120 dias (x14).

- Grupo 2: as variáveis com setas de cor azul: clorofila total aos 90 dias (x10), clorofila A aos 90 dias (x11), clorofila B aos 90 dias (x12) e clorofila B aos 120 dias (x15).

- Grupo 3: as variáveis com setas de cor amarela: altura de inserção do primeiro ramo lateral (x4) e massa fresca de cone (x7), as quais são fracamente correlacionadas entre si (setas com comprimentos distintos, mesmo apontando para o mesmo lado – eixo).

Destaca-se, ainda, que a variável massa fresca de cone (x7) praticamente não variou e, que a variável altura de inserção do primeiro ramo lateral (x4) apresentou correlação negativa com as variáveis clorofila total aos 90 dias (x10), clorofila A aos 90 dias (x11), clorofila B aos 90 dias (x12) e clorofila B aos 120 dias (x15) (Figura 11).

Figura 11 - Cluster de correlação das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

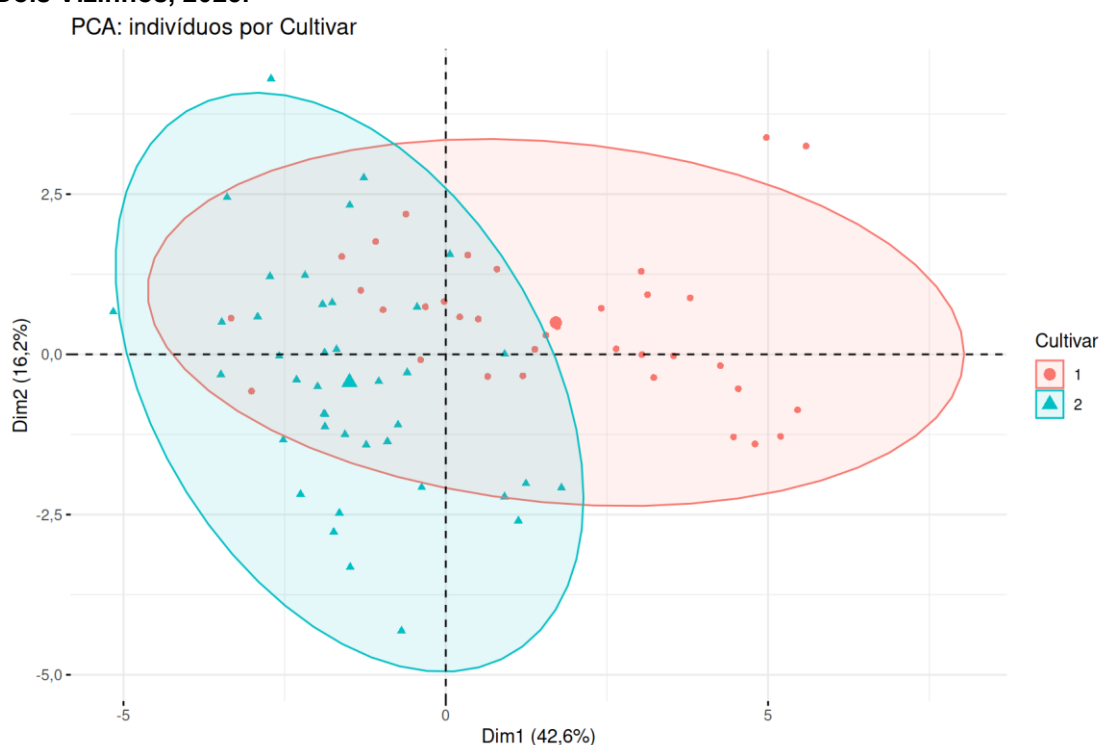


Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Para o fator variedade, os componentes principais, Dim1 e Dim2, conseguiram explicar 58,8 % da variação total observada. No entanto, as variáveis avaliadas não discriminaram bem as duas cultivares, pois observa-se uma significativa área ou zona de interseção de dados entre elas (Figura 12). No entanto, as variáveis correlacionadas do grupo 1 – Dim 1 (Figura 11) indicam maior correlação com a variedade Cascade (Figura 12).

Observa-se ainda que a maior fonte de variação na cultivar 1 (Cascade), foi nas variáveis que estão paralelas ao eixo x. Para a cultivar 2 (Chinook) foi nas variáveis que estão paralelas ao eixo y.

Figura 12 - Gráfico da dispersão dos indivíduos nos CPs 1 e 2 das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

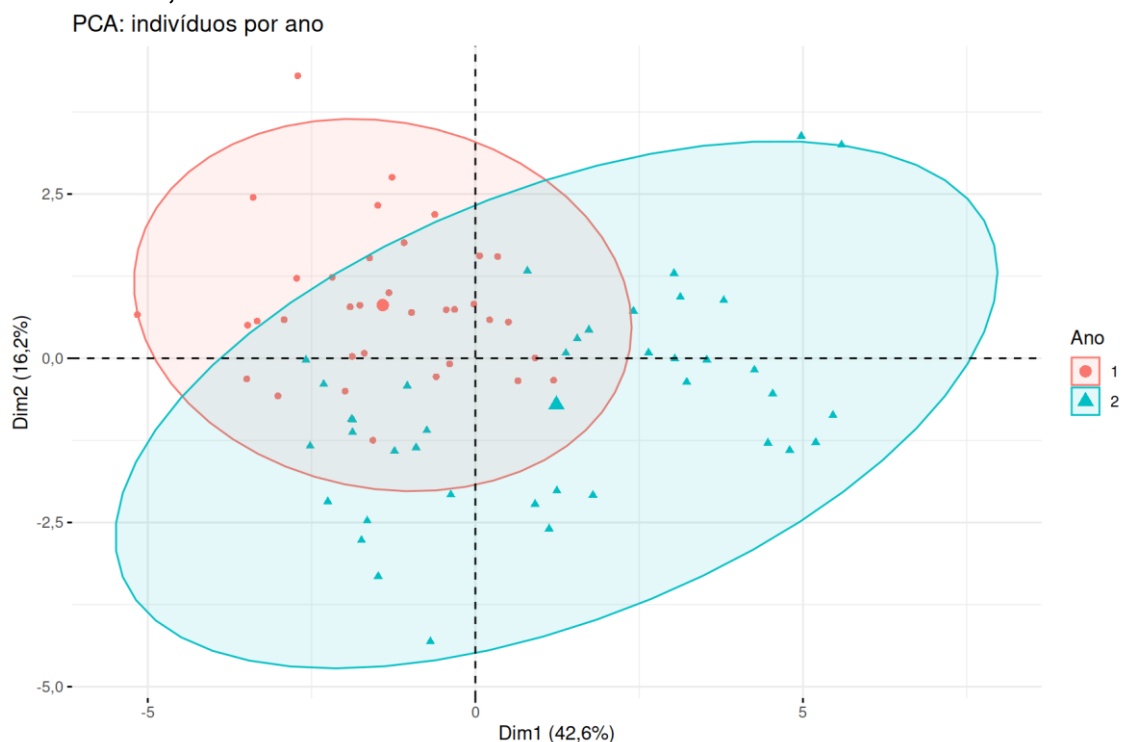


Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Para o fator ciclo de cultivo (ano), os componentes principais, Dim1 e Dim2, conseguiram explicar 58,8 % da variação total observada. No entanto, as variáveis avaliadas não discriminaram bem as duas cultivares, pois observa-se uma significativa área ou zona de interseção de dados entre os anos (Figura 13). Isso indica que, a maior parte das variáveis avaliadas não sofrerem variação do ano, diferentemente do observado para as variáveis químicas de qualidade do lúpulo (alfa e beta-ácidos), associada à Dim 1 (ano 2 – ciclo 2022/2023) (Figura 17).

Porem observa-se que a maior fonte de variação na cultivar 1 (Cascade), foi nas variáveis que estão paralelas ao eixo y. Para a cultivar 2 (Chinook) foi nas variáveis que estão paralelas ao eixo x (Figura 13).

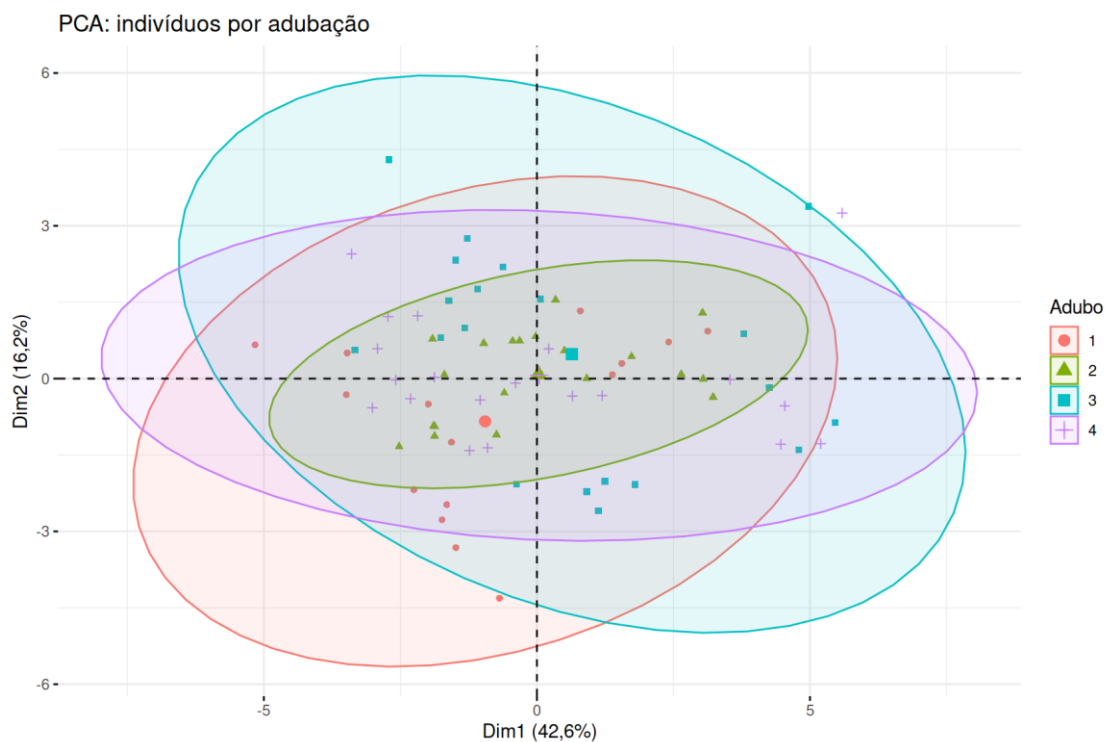
Figura 13 - Gráfico da dispersão dos indivíduos por ano das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Para o fator “adubos”, os componentes principais, Dim1 e Dim2, conseguiram explicar 58,8 % da variação total observada. No entanto, as variáveis avaliadas não discriminaram bem as duas cultivares, pois observam-se significativas áreas ou zona de interseção de dados entre os tipos de adubos (Figura 14). Isso indica que a maior parte das variáveis avaliadas não responderam de maneira diferencial aos adubos usados.

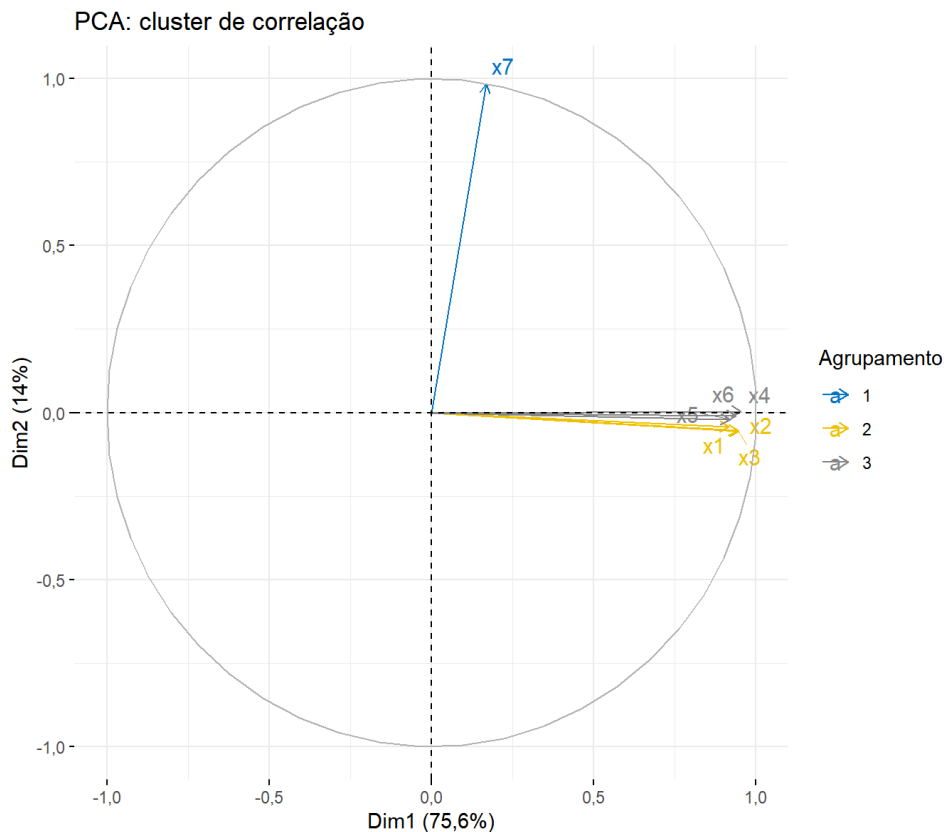
Figura 14 Gráfico da dispersão dos indivíduos por adubação das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas durante durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Para as avaliações químicas dos cones de lúpulo, os componentes principais (Dim1 e Dim2) conseguiram explicar 89,6 % da variação total observada (Figura 15), explicando com elevado nível de confiabilidade a variação existente/observada nos dados dos fatores/níveis avaliados.

Figura 15 Cluster de correlação da composição química das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

A figura 15 também mostra claramente três grupos de variáveis, correlacionadas ou não entre si, em maior ou menor grau (na comparação individual entre si), a saber:

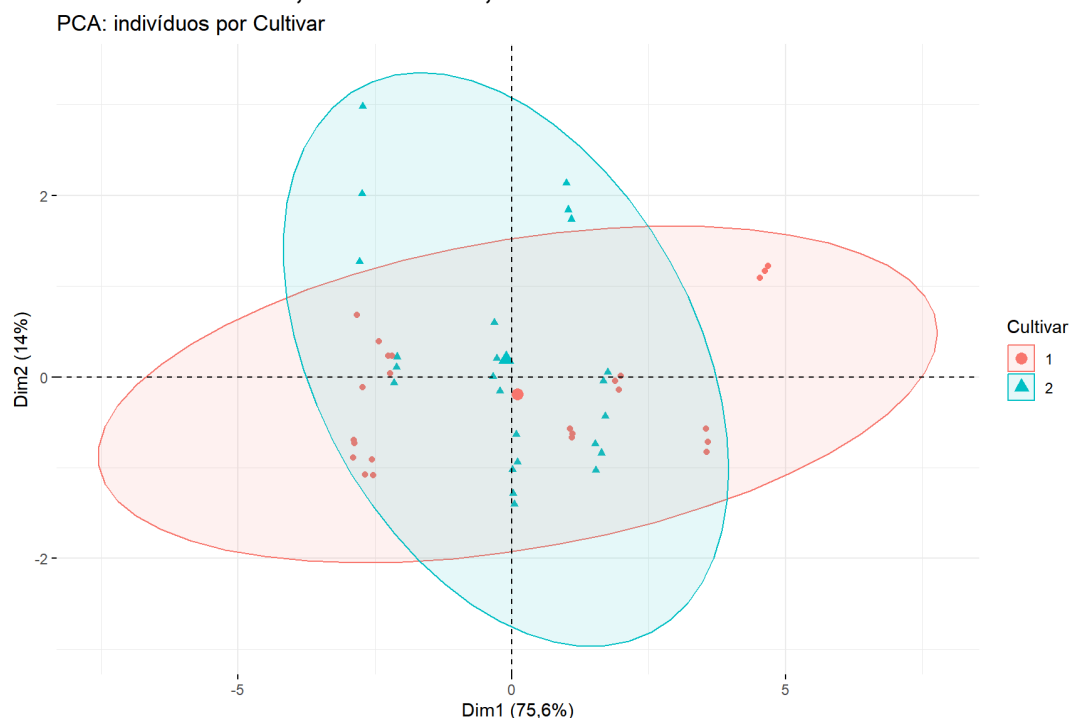
- Grupo 1: a variável com seta de cor azul: óleo essencial (x7), a qual não se correlacionou com nenhuma das demais variáveis.

- Grupo 2: as variáveis com setas de cor cinza: colhumulone (x1), N+adulmulone (x2) e total de alfa ácido (x3), as quais possuem alta correlação entre si.

- Grupo 3: as variáveis com setas de cor amarela: colupulone (x4), N+adlupulone (x5) e total de beta ácido (x6), as quais possuem alta correlação entre si.

A figura 16 a seguir demonstra a distribuição (posição) dos indivíduos dentro dos grupos de acordo as coordenadas dos componentes principais.

Figura 16 Gráfico da dispersão dos indivíduos para a composição química das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

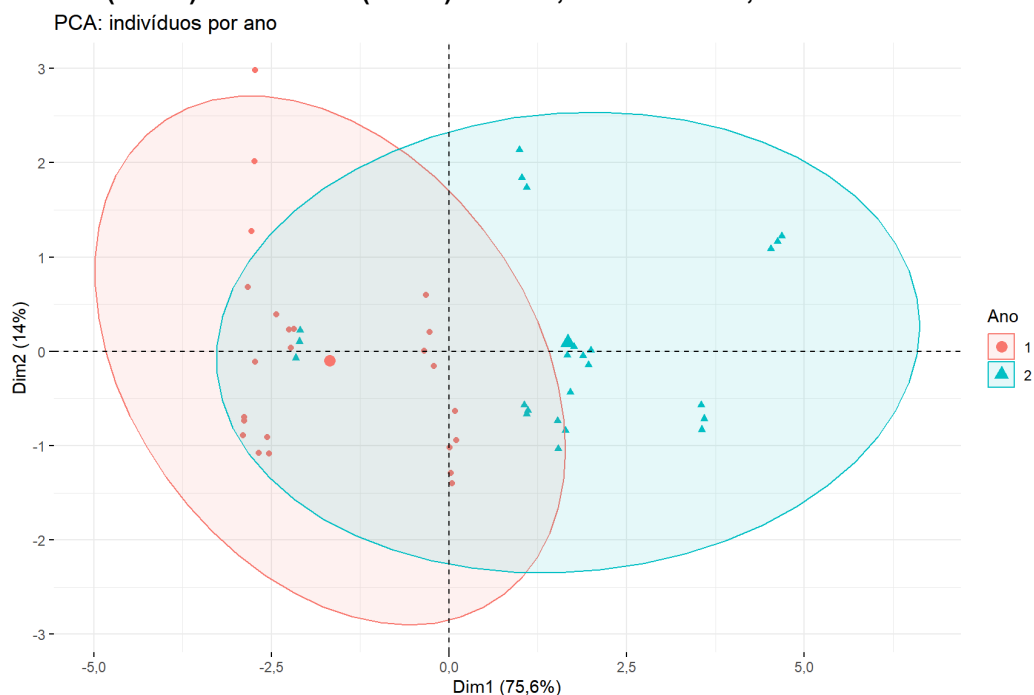


Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Para o fator “variedade”, os componentes principais, Dim1 e Dim2, conseguiram explicar 89,6 % da variação total observada. No entanto, as variáveis avaliadas não discriminaram bem as duas cultivares, pois observa-se significativa área ou zona de interseção de dados entre as mesmas (Figura 16). Isso indica que o fator variedade não afetou substancialmente a produção de compostos químicos do lúpulo. No entanto, a cultivar 2 (Chinook) apresentou maior variação em função do óleo essencial, o qual se encontra todo no campo da Dim 2, ao passo que as demais variáveis se encontram no campo da Dim 1 (Figura 15).

Para o fator “ano”, as variáveis avaliadas não discriminaram bem os tratamentos, pois observam-se significativas áreas ou zonas de interseção de dados entre os anos. Isso indica que o fator ano não afetou substancialmente a produção de compostos químicos do lúpulo (Figura 17)

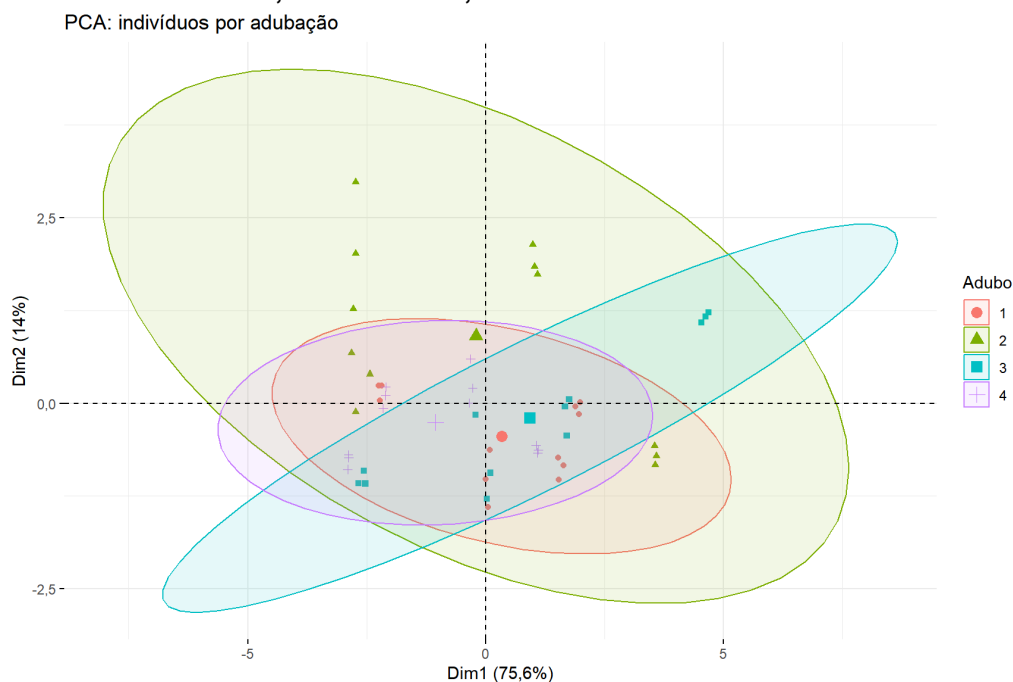
Figura 17 - Gráfico da dispersão dos indivíduos para a composição química das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante durante os ciclos 2021/2022 (Ano 1) e 2022/2023 (Ano 2). UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Na figura 18 pode-se observar a dispersão dos indivíduos por adubo, sendo que as variáveis avaliadas não discriminaram bem os tratamentos, pois observa-se significativa área ou zona de intersecção de dados entre os tipos de adubos. Isso indica que a maior parte das variáveis químicas avaliadas não responderam de maneira diferencial aos tipos de adubos usados.

Figura 18 - Gráfico da dispersão dos indivíduos para a composição química das variedades de lúpulo Cascade e Chinook cultivadas com diferentes adubos orgânicos durante os ciclos 2021/2022 e 2022/2023. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

4.5 Conclusões

Com base nas condições edafoclimáticas em que o experimento foi realizado, conclui-se que:

A cultivar Cascade foi mais produtiva (maior número e maior biomassa fresca de cones por planta) que a cultivar Chinook, em ambos os ciclos de cultivo.

A cultivar Chinook apresentou maior teor de óleo essencial com a adubação de cama de aves, em ambos os ciclos.

Ambas as cultivares produziram os maiores teores de alfa e beta-ácidos no segundo ciclo de produção.

A análise multivariada dos componentes principais (PCA) permitiu discriminar bem as correlações entre as variáveis (de campo e químicas), mas as variáveis, na sua maioria, não permitiram discriminar bem as diferenças entre variedades, anos e adubos.

4.6 Considerações Finais

Em suma, a avaliação das diferentes cultivares de *Humulus lupulus* em termos de caracteres agronômicos e químicos durante os ciclos agrícolas 2021/2022 e 2022/2023, considerando seu desenvolvimento inicial e os diferentes tipos de adubação orgânica, permitiu observar resultados distintos.

Os dados obtidos no presente estudo indicam que o lúpulo é capaz de se desenvolver satisfatoriamente nas condições analisadas, resultando na produção de cones desde a primeira safra agrícola.

Para a variável tamanho das plantas, no ciclo agrícola de 2021/2022, aos 40 dias, na “*Chinook*”, os estercos de aves e bovinos proporcionaram maior crescimento inicial das plantas. Para a variedade Cascade, com exceção do esterco bovino, que teve menor crescimento, os demais adubos foram estatisticamente iguais. Aos 60 e 90 dias, não houve interação entre os fatores nem efeito significativo dentro de cada fator isolado, ou seja, não se observou diferenças entre as variedades e entre os adubos.

No ciclo agrícola de 2022/2023, aos 40 dias, para a variedade Chinook, apenas o esterco bovino proporcionou maior crescimento inicial. Para a variedade Cascade, não houve diferença significativa entre os adubos. Aos 60 dias, na variedade Chinook os adubos de bovinos e ovinos proporcionaram maior crescimento das plantas. Porém, a variedade Cascade apresentou maior crescimento das plantas em todos os adubos. Aos 90 dias após o início da brotação não houve interação entre os fatores, bem como não houve efeito significativo para adubos.

Para a variável altura de inserção dos ramos laterais, no ciclo agrícola de 2021/2022 na variedade Cascade não teve diferença estatística entre as adubações. Na variedade Chinook, o adubo de bovinos proporcionou maior crescimento dos ramos laterais. No ciclo agrícola de 2022/2023, o esterco bovino proporcionou a maior altura para a variedade Cascade, enquanto para a variedade Chinook, o esterco de aves teve melhor desempenho.

Para a produção de cones por planta, o ciclo agrícola de 2021/2022 não houve interação entre os fatores, nem efeito significativo dos adubos orgânicos testados. No ciclo seguinte, na variedade Cascade a adubação de esterco bovino proporcionou maior produção de cones por planta. Para a variedade Chinook a adubação de esterco bovino e cama de aves proporcionaram maior produção de cones por planta. Na

comparação entre as variedades, Cascade apresentou maior produção de cones do que a Chinook, em todos os adubos usados.

Para a massa fresca total de cones colhidos (g) por planta, para o ciclo agrícola de 2021/2022, não houve interação entre os fatores, nem efeito significativo para o fator adubo. No entanto, a variedade Cascade produziu cones mais pesados do que a variedade Chinook.

No ciclo seguinte, na variedade Cascade, o esterco bovino proporcionou maior produção de cones por planta, sem diferença estatística do adubo de ovinos. Já para a Chinook, os estercos de bovinos e ovinos proporcionaram maior produção de cones por planta. Comparando as diferentes adubações, a variedade Cascade apresentou produção de cones por planta muito superior à Chinook em todos os adubos usados.

Na variável comprimento e largura dos cones, durante o primeiro ciclo 2021/2022, para a variedade Chinook, o adubo de aves, sem diferença estatística para o adubo de bovinos, proporcionou cones mais largos do que os demais tratamentos. Na variedade Cascade os adubos não apresentaram diferença entre si. Para o segundo ciclo (2022/2023) a variedade Cascade apresentou cones mais largos e mais compridos que a variedade Chinook.

Os teores de clorofila total durante o ciclo agrícola 2021/2022, aos 90 dias e 120 dias, para a variedade Cascade, os maiores teores, foram obtidos com o adubo de bovinos e ovinos. Para a variedade Chinook aos 90 dias a adubação de bovinos e no tratamento testemunha renderam os maiores teores de clorofila total, porém não se observou diferença entre os adubos aos 120 dias. Em todas as leituras de clorofila total, A e B, a variedade Cascade ficou com médias gerais maiores que a variedade Chinook.

Para os teores de óleo essencial, durante o ciclo agrícola 2021/2022, para as duas variedades a adubação com cama de aves tiveram o maior rendimento de óleo essencial, sendo a maior média para a variedade Chinook. No segundo ciclo, a adubação com aves continuou rendendo os maiores teores de óleo essencial para a variedade Chinook, porém para a variedade Cascade os maiores teores foram obtidos com a adubação de bovinos, não se diferenciando as médias gerais das duas variedades.

Os teores de alfa e beta-ácidos para o ciclo de 2021/2022, Chinook produziu maiores teores de α -ácidos totais, em comparação à Cascade. No ciclo seguinte, em

todos os demais adubos, a variedade Cascade produziu maiores teores de α -ácidos totais (com exceção da testemunha), e β -ácidos totais, em comparação à Chinook.

Considera-se ainda que, no ciclo agrícola de 2021/2022 e 2022/2023 foram observadas escurecimento na ponta das brácteas dos cones, semelhantes a uma “ferrugem” em alguns cones do campo experimental (Figura 19). Segundo Fagherazzi (2020), na área experimental de Lages, também foram observadas o sintoma de escurecimento na ponta das brácteas dos cones, e no laboratório de fitopatologia da UDESC/CAV foram identificados que esses sintomas são causados pelo patógeno *Alternaria* (*Alternaria alternata*), fungo necrotrófico que sobrevive em restos culturais, sendo medidas de controle preventivo evitar a colheita tardia dos cones, pois quanto mais tempo se deixar os cones em um ambiente susceptível à incidência do fungo mais rápido será a degradação da qualidade química dos mesmos.

Figura 19 - Escurecimento na ponta das brácteas dos cones



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Também foram observados insetos como a popular “vaquinha” (*Diabrotica speciosa*) nas cultivares de lúpulo. Para este controle, foram realizadas aplicações sempre que necessário de óleo vegetal de nem, que é um inseticida orgânico, na concentração de 1% (Figura 20).

Figura 20 - Aplicação do inseticida orgânico óleo vegetal de nem a 1%.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Portanto, as informações obtidas neste estudo são relevantes para os produtores de lúpulo que buscam maximizar sua produção e obter um melhor rendimento das suas colheitas, permitindo a seleção das variedades de lúpulo mais adequadas e dos melhores tipos de adubação.

5 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE AMOSTRAS DE LÚPULO (*Humulus lupulus*) ORIUNDAS DO SUL DO BRASIL

5.1 Introdução

A produção de lúpulo é uma atividade que remonta há muitos séculos na Europa, sendo que os primeiros registros sobre o cultivo da planta datam do século VIII, na região da atual Alemanha. Desde então o lúpulo tem sido amplamente cultivado em diversos países do mundo, como Estados Unidos, Canadá, Nova Zelândia, Austrália, China, entre outros. Atualmente, a maior parte da produção mundial de lúpulo se concentra na Europa e nos Estados Unidos (SCHMIDT, 2008).

A produção de lúpulo no Brasil teve início na década de 1960, com a introdução da espécie *H. lupulus* em algumas regiões do país, como São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul. No entanto, até o momento, a produção não alcançou grande expressão devido a diversos fatores, como o clima inadequado para o cultivo da planta em algumas regiões, a falta de tecnologia adequada e a pequena demanda do mercado nacional pela matéria-prima (MACHADO, 2008).

A produção de lúpulo na região Sul do Brasil é recente e ainda está em fase experimental, sendo que o cultivo comercial de lúpulo começou a ser desenvolvido na região no final dos anos 1990, principalmente nos estados do Paraná e de Santa Catarina, cuja produção ainda é limitada, mas tem apresentado avanços quantitativos e qualitativos promissores (ALVES et al, 2018).

No Paraná, a produção de lúpulo teve início na década de 1970, com a implantação de áreas experimentais em algumas regiões do estado, como Ponta Grossa e Castro. Nos anos seguintes, a produção se expandiu para outras regiões do estado, como Irati e Guarapuava. A produção atual é bastante reduzida, devido a diversos fatores, como a falta de incentivos governamentais e a concorrência com outras culturas mais rentáveis (SANTOS et al, 2015).

O *Humulus lupulus* é uma planta trepadeira perene da família Cannabaceae, de aplicação medicinal e industrial. *H. lupulus* tem destaque na indústria cervejeira devido as suas propriedades organolépticas, derivadas de ácidos orgânicos amargos, óleos essenciais, resinas e compostos polifenólicos (KESKIN et al., 2019). Além da indústria cervejeira, os extratos de lúpulo são empregados também em medicamentos fitoterápicos, suplementos alimentares, bebidas funcionais e em cosméticos (PRENCIPE et al., 2014; DURELLO, SILVA, BOGUSZ JR., 2019).

Seus principais compostos são as humulonas (α -ácidos), responsáveis por conferir amargor à cerveja, as lupulonas (β -ácidos), responsáveis pelas atividades biológicas, os óleos essenciais, responsáveis pelas características aromáticas de cervejas lupuladas, entre outros (DURELLO, SILVA & BOGUSZ JR., 2019).

O lúpulo é uma espécie de qualidade, que varia de acordo com o clima, aspectos da raiz (idade, infecções) e condições de cultivo, como adubação, poda e colheita. Nas plantações o lúpulo brota da raiz durante a primavera e sobe através de fios entrelaçados. As inflorescências, conhecidas como cones de lúpulo, são colhidas dentro do período de um a dois meses após o início da floração (MATSUI et al., 2016).

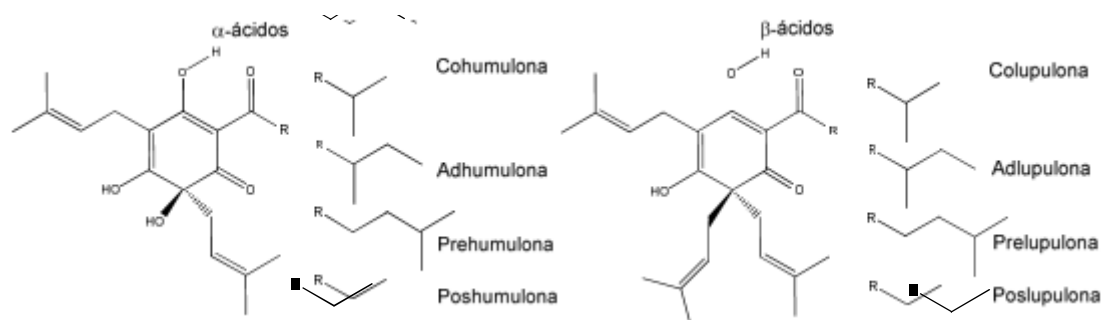
A forma mais comum de comercialização e utilização do lúpulo é em *pellets*, que são pequenas pelotas de flores prensadas. Essa forma de comercialização visa reduzir o volume do lúpulo para o transporte e preservar suas características originais (MEGA, NEVES & ANDRADE, 2011).

As variedades de lúpulo são geralmente classificadas em função do teor de α -ácidos, como lúpulo de amargor ou de aroma, respectivamente. Ainda, existem algumas variedades de amargor que são ricas em compostos aromáticos e podem ser classificadas como lúpulos de duplo-propósito (MACHADO JR. et al., 2019).

O teor de α -ácidos nos cones de lúpulo varia de 2 a 11 % nas cultivares aromáticas e de 12 a 19 % nas cultivares de amargor (HOPSTEINER, 2020). Em termos de composição química, é apenas nas flores não polinizadas das plantas femininas de lúpulo que é possível encontrar quantidades suficientes de resinas amargas, ricas em humulonas e lupulonas (α -ácidos e β -ácidos, respectivamente) compostos responsáveis pelo amargor, que é fundamental para o equilíbrio do sabor e para a sensação de saciedade que a cerveja proporciona (MALOWICKI & SHELLHAMMER, 2005).

Humulonas são um grupo de compostos formados pela mistura de cinco moléculas orgânicas quimicamente relacionadas: humulona (35-70 % do total de humulonas), cohumulona (20-55 %), adhumulona (10-15 %), prehumulona (1-10 %) e poshumulona (1-3 %) (KARABÍN et al., 2016; VERZELE & KEUKELEIRE, 1991). Por sua vez, as lupulonas também correspondem a uma mistura de cinco congêneres: lupulona (30-55 % do total de lupulonas), colupulona (20-55 %), adlupulona (5-10 %), prelupulona (1-3 %) e poslupulona (de quantidade ainda não estabelecida na literatura) (VERZELE & KEUKELEIRE, 1991). As estruturas químicas das humulonas e lupulonas podem ser observadas na Figura 21.

Figura 21 - Estruturas químicas das humulonas (α -ácidos) e lupulonas (β -ácidos) do lúpulo.



Fonte: adaptado de KARABÍN et al., 2016.

O lúpulo seco apresenta cerca de 0,5 - 3,0 % de óleo essencial em massa, que, assim como os ácidos amargos, são produzidos nas glândulas de lupulina (DURELLO, SILVA & BOGUSZ JR, 2019).

A composição química dos óleos de lúpulo depende principalmente da variedade de lúpulo e menos das condições de cultivo, processamento e armazenamento (KOVAČEVIČ & KAČ, 2002; YAN et al., 2002).

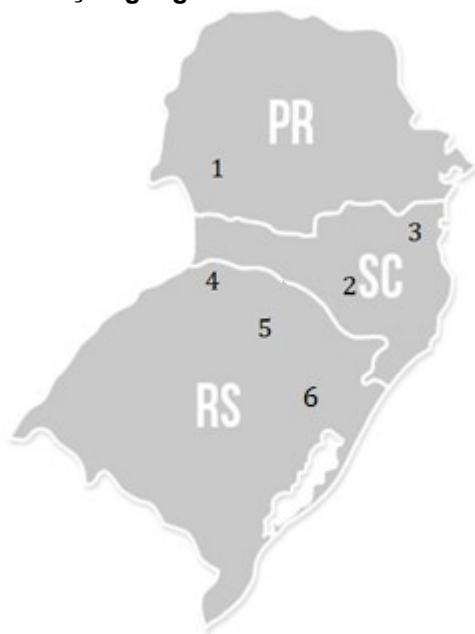
Tendo em vista que a caracterização química dos cones de lúpulo é fundamental para sua comercialização, pois a definição de sua composição vai determinar a sua utilização no processo de fabricação de cervejas artesanais, ou seja, se esse lúpulo é para amargor, aroma ou sabor. Assim, esta pesquisa teve como objetivo quantificar os teores de óleo essencial e α e β -ácidos de cones de amostras de lúpulos de distintas variedades cultivados em distintas regiões do Sul do Brasil.

5.2 Material e métodos

5.2.1 Descrição do local

As amostras de distintas variedades de *H. lupulus* foram obtidas de áreas de cultivos na região Sul do Brasil, sendo que a Figura 22 localiza os municípios de origem das amostras, sendo eles: 1- Salto do Lontra, Coronel Vivida e Pato Branco, da região Sudoeste do Paraná; 2- Lages, SC; 3- Benedito Novo, SC; 4- Frederico Westphalen, RS; 5- Getúlio Vargas, 6- Novo Hamburgo, RS.

Figura 22 - Localização geográfica das amostras de *H. lupulus* avaliadas



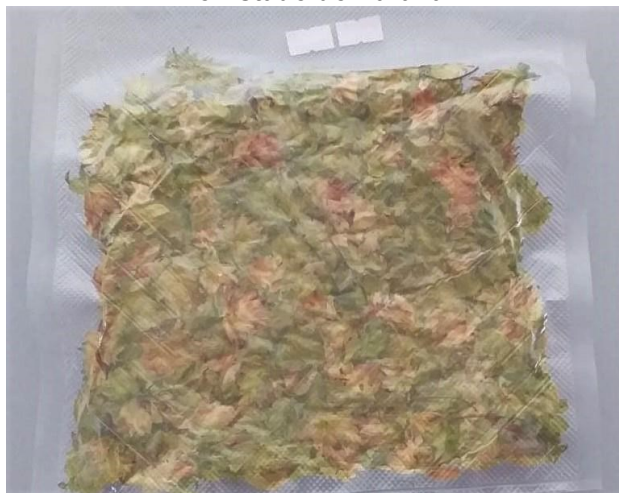
Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

O manejo das plantas dos lúpulos amostrados nessa pesquisa foi realizado com adubação orgânica sob sistema de irrigação. As mudas das variedades foram disponibilizadas por viveiros certificados para reprodução das mudas de *H. lupulus*.

As plantas de lúpulo de onde foram coletadas as amostras foram cultivadas nos ciclos agrícolas de 2020/2021 e 2021/2022, sendo de primeiro e segundo ano de cultivo, respectivamente.

Todas as amostras utilizadas nas avaliações químicas estavam em sua forma natural, desidratadas, embaladas à vácuo e congeladas, garantindo assim as mesmas condições de análises para todas as amostras avaliadas. A figura 23 mostra como chegaram as amostras das flores de *H. lupulus*.

Figura 23 - Amostra de *H. lupulus* em sua forma natural, desidratada e congelada, de origem no Estado do Paraná.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

5.3 Variáveis avaliadas

A avaliação química dos cones de lúpulo contemplou três grupos de variáveis: o rendimento total dos óleos essenciais, os teores de α -ácidos (cohumulona e N+adhumulona) e o teores de β -ácidos (colupulona e N+adlupulona).

5.3.1. Determinação dos teores totais de óleo essencial

Para a obtenção do rendimento total de óleo essencial foi utilizada a técnica de hidrodestilação, utilizando o aparelho 'clewenger' (Figura 24).

Figura 24 Aparelho clevenger utilizado para a obtenção do rendimento total dos óleos essenciais.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Foram pesadas 20 gramas de amostra seca e colocadas em um balão de fundo redondo com capacidade de 2 litros, completando-se com 1 litro de água destilada até o nível da manta térmica. O tempo de extração foi de 2 horas e, após a extração, foi realizada a leitura do volume de óleo essencial extraído na coluna de retenção e realizado o cálculo para a obtenção da concentração de óleo em mL 100 g⁻¹.

5.3.2 Determinação dos teores de α e β -ácidos

Para a determinação α e β -ácidos foi utilizada a metodologia desenvolvida pela escala EBC de lúpulo (BENITEZ et al. 1997) com adaptações. A extração dos referidos ácidos foi realizada utilizando-se uma mistura de 20 mL de metanol (grau HPLC), 100 mL de éter dietílico e 40 mL de ácido clorídrico. Dez gramas de lúpulo foram pesadas, em triplicata. Logo após, foi adicionada a solução extratora em cada amostra. A mistura foi agitada por 10 minutos em temperatura ambiente e deixada em repouso por 6 horas ao abrigo da luz e sob temperatura ambiente (Figura 25).

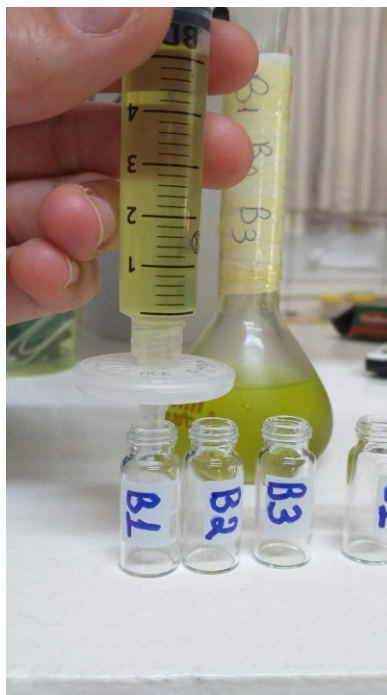
Figura 25 - Processo de extração dos compostos α e β -ácidos



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Em seguida, foram pipetados 5 mL da fase sobrenadante da solução em um balão volumétrico de 50 mL e o volume completado com a solução de metanol. Uma alíquota desse extrato foi filtrada em membrana Millipore de 0,45 μm para posteriormente ser injetada no cromatógrafo (Figura 26).

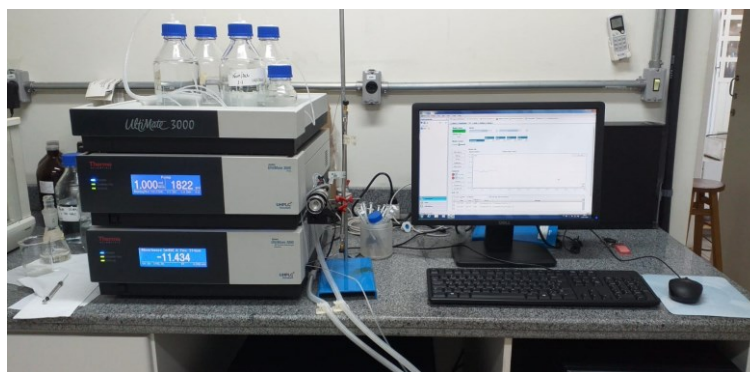
Figura 26 - Solução sendo filtrada em membrana Millipore de 0,45 μm , para leitura dos teores de α e β -ácidos em HPLC.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

As análises foram feitas por cromatografia líquida de alta eficiência, em um cromatógrafo da marca Thermo Scientific (modelo Ultimate 3000), com coluna de fase reversa ACE 5 C18-300 Columns (250 mm de comprimento x 4,6 mm). O sistema encontrava-se acoplado a um detector espectrofotométrico UV/visível Thermo Scientific (modelo Ultimate 3000), conectado a um microcomputador para processamento de dados (Figura 27).

Figura 27- Cromatógrafo acoplado a um detector espectrofotométrico UV/visível Thermo Scientific utilizado para quantificação do alfa e beta – ácidos do *H. lupulos*.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

As condições de análise utilizadas foram: fluxo de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$; fase móvel: 77 % de metanol (grau HPLC): 21 % de água Milliq: 2 % de ácido fosfórico, a temperatura ambiente e comprimento de onda de 314 nm (BENITEZ et al., 1997), com adaptações.

A amostra padrão (ICE-3) apresentava em sua composição uma mistura de 13,88 % de cohumulona, 30,76 % de n+adhumulona, 13,44 % de colupulona e 10,84 % de n+adlupulona, totalizando 44,64 % de α -ácidos e 24,28 % de β -ácidos (ASBC) (Figura 28).

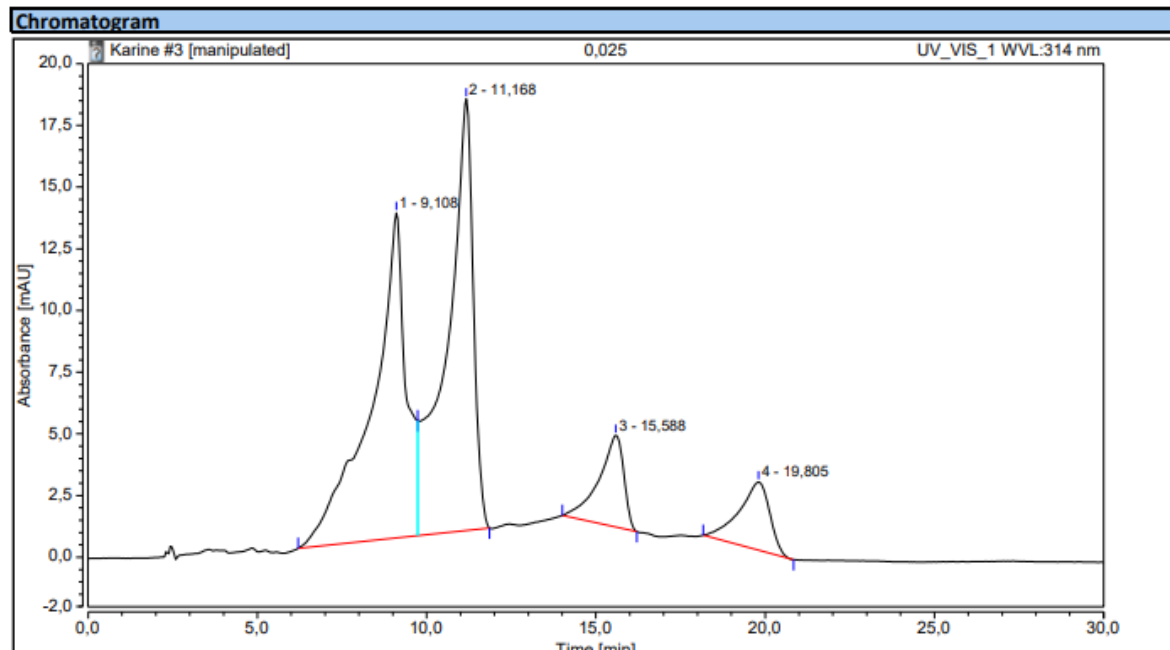
Figura 28 - Preparo da amostra Padrão ICE-3.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

É importante ressaltar também que, embora existam cinco humulonas e cinco lupulonas, como visto na Figura 21, considerou-se apenas quatro bandas no cromatograma, isto é, duas bandas para humulonas (cohumulona e N + adhumulona) e duas bandas para lupulonas (colupulona e N + adlupulona), procedimento padrão, nas quais essas apresentam maiores concentrações, que são as de interesse (Figura 29).

Figura 29 - Bandas formadas durante a leitura cromatográfica dos compostos cohumulona (1), N + adhumulona (2), colupulona (3) e N + adlupulona (4) de amostra de lúpulo no Sul do Brasil. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

5.4 Análises estatísticas dos dados

Previamente, os dados foram submetidos ao teste de homogeneidade de variâncias de Lilliefors e, para aqueles que não seguiam a distribuição normal, foram transformados, sendo que, para o ciclo de cultivo de 2020/2021, os valores expressos para o composto Colhumulone foram transformados através da equação \sqrt{x} ; os valores do teor de N+Adhumulone foram transformados através da equação $\sqrt{x}/100$ e; os valores expressos para o total de α -ácidos foram transformados através da equação $(\log x + 1)$. Para os valores dos teores de Colupulone, N+Adhupulone e total de β -ácidos foram utilizadas as médias originais (sem transformação). Para os teores de óleo essencial nenhuma equação de transformação normalizou os dados, tendo sido usado as médias originais também.

Para o ciclo de cultivo de 2021/2022, os valores dos teores de Colhumulone foram transformados através da equação $\sqrt{x + 1}$; os valores expressos para o teor de N+Adhumulone foram transformados através da equação \sqrt{x} , os valores do teor de α -ácidos totais foram transformados através da equação $\sqrt{x}/100$ e; os valores do teor de Colupulone foram transformados através da equação $\sqrt{x}/10$. Para os teores de

N+Adhupulone, β -ácidos totais e óleo essencial, nenhuma equação de transformação normalizou os dados, tendo sido usadas as médias originais.

5.5 Análise de PCA: multivariada, usado pacote estatístico R

Para uma melhor compreensão da relação existente entre as variáveis analisadas, as médias de alfa-ácidos, beta-ácidos e óleo essencial foram submetidas à análise de multivariada pelo teste dos componentes principais (PCA). Para tal análise, foi utilizado o programa estatístico R (2023).

5.6 Resultados e Discussão

5.6.1 Óleo essencial total

Para o ciclo agrícola de 2020/2021, a variedade de lúpulo que mais produziu óleo essencial foi a Comet oriunda do estado do Rio Grande do Sul, com rendimento de 1,59 mL a cada 100 gramas de lúpulo desidratado.

Os menores teores foram oriundos de amostras de lúpulos cultivados no estado do Paraná, nas variedades Cascade de Salto do Lontra (0,57 mL 100 g⁻¹), Cascade de Pato Branco (0,51 mL 100 g⁻¹), e de Santa Catarina, nas variedades Cascade (0,62 mL 100 g⁻¹), Chinook (0,50 mL 100 g⁻¹) e Culumbus (0,54 mL 100 g⁻¹) de Lages.

As demais variedades: Cascade, Centenial e Colombus do Rio Grande do Sul, Cascade de Coronel Vivida (PR) e Cascade de Benedito Novo (SC), produziram teores intermediários de óleo essencial, em relação às variedades acima citadas (Tabela 14).

Tabela 14 Teores de óleo essencial em amostras de lúpulos cultivados no ciclo agrícola 2020/2021 no Sul do Brasil. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Estado - Cultivar - Município	ÓLEO
	ESSENCIAL mL 100 g ⁻¹
RS - Cascade - Frederico Westephalen	0.82 d
RS - Comet - Frederico Westephalen	1.59 a
RS - Centenial - Frederico Westephalen	1.01 c

RS - Columbus - Frederico Westephalen	1.23 b
PR- Cascade - Coronel Vivida	0.75 d
PR - Cascade - Pato Branco	0.51 e
PR - Cascade - Salto do Lontra	0.57 e
SC - Cascade - Benedito Novo	1.01 c
SC - Cascade - Lages	0.62 e
SC - Columbus - Lages	0.54 e
SC - Chinook - Lages	0.50 e
MÉDIA	0.83
CV (%)	14.56

* Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de agrupamento de Scott & Knott ($p \leq 0.05$).

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

No ciclo agrícola 2021/2022, a variedade que produziu o maior teor de óleo essencial foi a variedade Comet, oriunda do estado do Rio Grande do Sul (RS), resultando em 3,21 mL a cada 100 gramas de cones de lúpulo desidratados, o qual foi muito superior aos encontrados para as demais variedades (Tabela 15). No ciclo agrícola anterior (2020/2021) essa mesma variedade também foi a que teve o maior rendimento de óleo essencial (1,59 mL 100 g⁻¹) (Tabela 14).

Ainda, em relação ao RS, a variedade Magnum foi a segunda maior produtora de óleo, apresentou 1,91 mL 100 g⁻¹, porém com teor bem inferior à Comet.

Comet também se destacou em amostra de lúpulo oriunda do estado de Santa Catarina, com 1,83 mL 100 g⁻¹ de óleo essencial (Tabela 15).

Para o ciclo agrícola de 2021/2022, dentre as sete primeiras variedades que mais renderam óleo essencial, o estado do Rio Grande do Sul lidera com quatro variedades, sendo elas: Comet, Magnum, Nuget e Mithelfrueh. Sendo as outras duas do estado de Santa Catarina e uma do estado do Paraná (Tabela 15).

O teor médio de óleo essencial de todas as variedades avaliadas dos três estados pertencentes a região sul do Brasil, resultou em 1,40 mL 100 g⁻¹.

A variedade Chinook cultivada em SC foi a que menos produziu óleo essencial, com apenas 0,54 mL 100 g⁻¹. E, as demais variedades produziram teores intermediários de óleo essencial, em relação às variedades acima citadas (Tabela 15).

O aumento do rendimento médio do primeiro ano (0,83 mL 100 g⁻¹) para o segundo ano (1,40 mL 100 g⁻¹), pode ser explicado pelo fato que a composição química dos óleos de lúpulo depende principalmente da variedade de lúpulo e menos

das condições de cultivo, processamento e armazenamento (KOVAČEVIČ & KAČ, 2002; YAN et al., 2002).

Tabela 15 Teores de óleo essencial em amostras de lúpulos cultivados no ciclo agrícola 2021/2022 no Sul do Brasil. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Estado - Cultivar - Município	ÓLEO ESSENCIAL mL 100 g⁻¹
RS – Nuget – Getúlio Vargas	1.74 d
RS – Magnun – Novo Hamburgo	1.91 b
RS - Comet - Getúlio Vargas	3.21 a
RS – Columbus – Novo Hamburgo	0.82 g
RS – Mitelfrueh - Getúlio Vargas	1.52 f
RS – Bland - Getúlio Vargas	1.64 e
PR – SSD – Coronel Vivida	0.72 h
PR – Mithelfrueh – Coronel Vivida	0.72 h
PR - Cascade– Coronel Vivida	0.68 h
PR - Cascade – Salto do Lontra	1.87 b
SC – Cascade – Lages	0.81 g
SC – Chinook – Lages	0.54 i
SC – Comet- Benedito Novo	1.83 c
SC – Columbus – Benedito Novo	1.67 e
MÉDIA	1.40
CV (%)	1.99

* Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de agrupamento de Scott & Knott ($p \leq 0.05$).

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

5.6.2 Teores de α e β -ácidos

Para o primeiro ciclo, 2020/2021, a concentração média geral de α -ácido foi de 2,46 %, enquanto para β -ácido a concentração média geral foi de 1,37 % (Tabela 16).

Em um estudo desenvolvido por Fagherazzi (2020), no município da Palmeira os teores médios de α e β -ácidos ficaram entre 2,65% e 2,36%, respectivamente, acima dos obtidos nessa pesquisa, principalmente para β -ácidos.

Para o ciclo agrícola de 2020/2021, os maiores teores de α -ácidos foram obtidos nas variedades Comet e Columbus cultivadas no estado do Rio Grande do Sul e na variedade Cascade cultivada no estado de Santa Catarina. Essa última variedade também produziu o maior teor de β -ácidos (Tabela 16).

Observa-se que a variedade Comet apresentou nos dois ciclos de cultivo os maiores rendimentos de óleo essencial, bem como de α -ácidos no ciclo 2020/2021. Esta relação entre rendimento de óleo essencial e maior teor de α -ácidos pode ser explicada por um estudo desenvolvido no município de Lages, SC, em que foi demonstrado que as condições pré-colheita, pós-colheita e fatores de processamento influenciam a composição da fração do óleo essencial e do teor de alfa-ácido (FAGHERAZZI, 2020).

A variedade que apresentou os menores teores de α e β -ácidos foi a Cascade – Salto do Lontra, PR, com 0,49 % e 0,21 %, respectivamente (Tabela 16). Em comparação com um estudo desenvolvido no município de Lages, SC, os teores de alfa e beta ácidos acima mencionadas foram muito abaixo dos valores referenciados para as cultivares Cascade, Chinook e Columbus, cujas cultivares obtiveram, na média, 2,66 % para alfa e aproximadamente 3,0 % para beta ácidos (FAGHERAZZI, 2020). Os baixos teores de α e β -ácidos da variedade Cascade, ainda podem ser explicados pela má adaptação edafoclimática, principalmente devido às altas temperaturas da Mesorregião Sudoeste Paranaense.

Sabendo que o índice total de α -ácido é formado pela soma dos compostos Colhumulone e N+Adhumulone, destaca-se a variedade Comet (RS), para o primeiro composto isoladamente, que apresentou um teor de 1,26 % de Colhumulone. Para o composto N+Adhumulone, os maiores teores foram obtidos nas variedades Comet (RS) com 3,08 %, Columbus (RS) com 3,35 % e Cascade de Lages (SC) com 3,20 % (Tabela 16). Para esse último, com valores acima da Cascade de Lages (SC), do ano de 2020, destacado por Fagherazzi anteriormente, que era na média, 2,66 %.

Tabela 16 Análise química em amostras de lúpulos cultivados no ciclo agrícola de 2020/2021 no Sul do Brasil. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Estado Cultivar Município	Colhumulone (%)	N+Adhumulone (%)	Total Alfa Ácido (%)	Colupulone (%)	N+Adhupulone (%)	Total Beta Ácido (%)
RS – Cascade - Frederico Westephalen.	0.49 e	1.52 d	2.01 d	0.47 d	0.58 c	1.04 c
RS – Comet - Frederico Westephalen	1.26 a	3.08 a	4.34 a	0.70 c	0.45 c	1.15 c
RS – Centenial - Frederico Westephalen.	0.38 f	1.00 e	1.38 e	0.71 c	0.91 b	1.62 b
RS - Columbus - Frederico Westephalen.	1.10 b	3.35 a	4.45 a	0.47 d	0.36 d	0.83 c
PR- Cascade - Coronel Vivida	0.45 e	1.67 c	2.12 d	0.95 b	0.81 b	1.77 b
PR - Cascade - Pato Branco	0.89 c	2.62 b	3.52 b	0.92 b	0.79 b	1.71 b

PR - Cascade - Salto do Lontra	0.12 i	0.38 g	0.49 h	0.11 e	0.10 e	0.21 d
SC – Cascade - Benedito Novo	0.68 d	1.79 c	2.47 c	0.73 c	0.59 c	1.32 b
SC - Cascade - Lages	1.11 b	3.20 a	4.31 a	1.27 a	1.12 a	2.39 a
SC - Columbus - Lages	0.23 h	0.67 f	0.89 g	0.90 b	0.59 c	1.49 b
SC – Chinook - Lages	0.27 g	0.81 f	1.08 f	0.90 b	0.63 c	1.53 b
MÉDIA	0.64	1.82	2.46	0.74	0.63	1.37
CV (%)	0.68	10.32	8.93	11.84	16.09	13.50

* Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de agrupamento de Scott & Knott ($p \leq 0.05$).

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

Altos teores de humulonas (Colhumulone e N+Adhumulone) são importantes para aumentar a solubilidade do mosto cervejeiro e também para aumentar o seu amargor (VERZELE & KEUKELEIRE, 1991).

Para os compostos resultantes no total de β -ácido, a variedade Cascade de Lages (SC) apresentou os maiores teores de Colupulone e de N+Adhupulone, de 1,27 % e 1,12 %, respectivamente (Tabela 16). Quando somado os dois obtém-se um teor de 2,39 % de β -ácido, um pouco abaixo do observado por (FAGHERAZZI, 2020), que foi de aproximadamente 3,0 %.

As lupulonas (Colupulone e N+Adhupulone) também contribuem para o amargor da cerveja, embora estas sejam mais conhecidas por sua ação antimicrobiana, isto é, por protegerem a cerveja de contaminações indesejadas (DURELLO, SILVA, BOGUSZ, 2019).

Desta maneira, poderia se inferir que, para o primeiro ciclo, as variedades Comet, Columbus e Cascade, poderiam ser utilizadas para aumentar a solubilidade no mosto cervejeiro e também para aumentar o seu amargor, pois apresentaram os maiores teores de α -ácidos, E, quando deseja-se aumentar a ação antimicrobiana, somada ao fornecimento de amargor ao mosto cervejeiro, a variedade que se mostrou mais adequada, por apresentar o maior teor de β -ácido, foi a Cascade.

Para o segundo ciclo, a concentração média geral de α -ácido foi de 12 % e, para β -ácido, foi de 5,45 % (Tabela 17).

Tabela 17 - Análise química da safra agrícola 2021/2022 dos *H. lupulus* oriundos do Sul do Brasil. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023.

Estado - Cultivar - Município	Colhumulone (%)	N+Adhumulone (%)	Total De Alfa Ácido (%)	Colupulone (%)	N+Adhupulone (%)	Total De Beta Ácido
RS – Nuget – Getúlio Vargas	4.83 a	20.48 a	25.31 a	3.64 b	3.40 b	7.04 b
RS – Magnus – Novo Hamburgo	2.82 d	12.64 c	15.46 c	2.62 c	3.16 c	5.78 c
RS - Comet - Getúlio Vargas	3.13 c	10.47 e	13.60 d	2.68 c	1.77 e	4.45 d
RS – Columbus – Novo Hamburgo	2.87 d	10.33 e	13.21 d	2.52 c	1.67 f	4.20 d
RS – Mitelfrueh - Getúlio Vargas	3.83 b	13.91 b	17.74 b	5.78 a	3.98 a	9.76 a
RS – Bland - Getúlio Vargas	2.53 e	10.81 d	13.34 d	2.28 c	1.94 e	4.22 d
PR – SSD – Coronel Vivida	0.61 i	3.00 i	3.61 i	2.33 c	1.77 e	4.10 d
PR – Mitelfrueh – Coronel Vivida	1.18 g	6.18 g	7.36 g	2.11 d	2.37 d	4.48 d
PR - Cascade– Coronel Vivida	0.98 h	4.93 h	5.91 h	3.20 b	2.94 c	6.14 c
PR - Cascade – Salto do Lontra	1.73 f	6.38 g	8.11 f	3.49 d	3.51 b	7.00 b
SC – Cascade – Lages	1.19 g	4.55 h	5.73 h	2.32 c	2.37 d	4.70 d
SC – Chinook – Lages	2.62 e	10.93 d	13.54 d	1.64 e	1.47 f	3.11 e
SC – Comet- Benedito Novo	2.59 e	8.59 f	11.18 e	2.49 c	1.57 f	4.06 d
SC – Columbus – Benedito Novo	2.75 e	11.24 d	13.98 d	3.80 b	3.47 b	7.26 b
MÉDIA	2.40	9.60	12.00	2.92	2.53	5.45
CV (%)	3.45	3.08	2.97	7.64	6.57	6.83

* Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de agrupamento de Scott & Knott ($p \leq 0.05$).

Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

A variedade Nuget, oriunda do estado do Rio Grande do Sul, apresentou o maior teor de α -ácidos (25,31 %) e também de seus compostos formadores, Colhumulone (4,83 %) e N+Adhumulone (20,48%).

A composição química dos óleos de lúpulo depende principalmente da variedade de lúpulo e menos das condições de cultivo, processamento e armazenamento (KOVAČEVIČ & KAČ, 2002; YAN et al., 2002).

A variedade Nuget, destaca-se por ser pouco exigente em relação à fertilidade do solo, se adapta facilmente a várias localidades. Resistente ao míldio, oídio e murcha-de-verticílio (Healey, 2016; Freshops, 2021). A fácil adaptabilidade da variedade Nuget, somada a um bom manejo de produção, podem ser fatores que contribuíram para que a variedade tenha obtido o maior teor de α -ácidos.

A variedade SSD do Paraná (3,61 %) foi a que apresentou o menor teor de α -ácidos. As demais variedades avaliadas apresentaram produção intermediária de α -ácidos, em relação às anteriormente citadas.

Destacou-se estatisticamente para os teores totais de β -ácidos, Colupulone N+Adhupulone, a amostra da variedade Mithelfrueh oriunda do estado do Rio Grande do Sul, com teores de 9,76 %, 5,78 % e 3,98%, respectivamente. Na sequência, para os teores totais de β -ácidos, as variedades Columbus (7,26 %) de SC, Nuget (7,04 %) do RS e Cascade (7,00 %) do PR. A variedade Chinook, de Lages, SC, apresentou o menor teor de β -ácidos (3,11 %). As demais variedades avaliadas apresentaram produção intermediária de β -ácidos, em relação às anteriormente citadas.

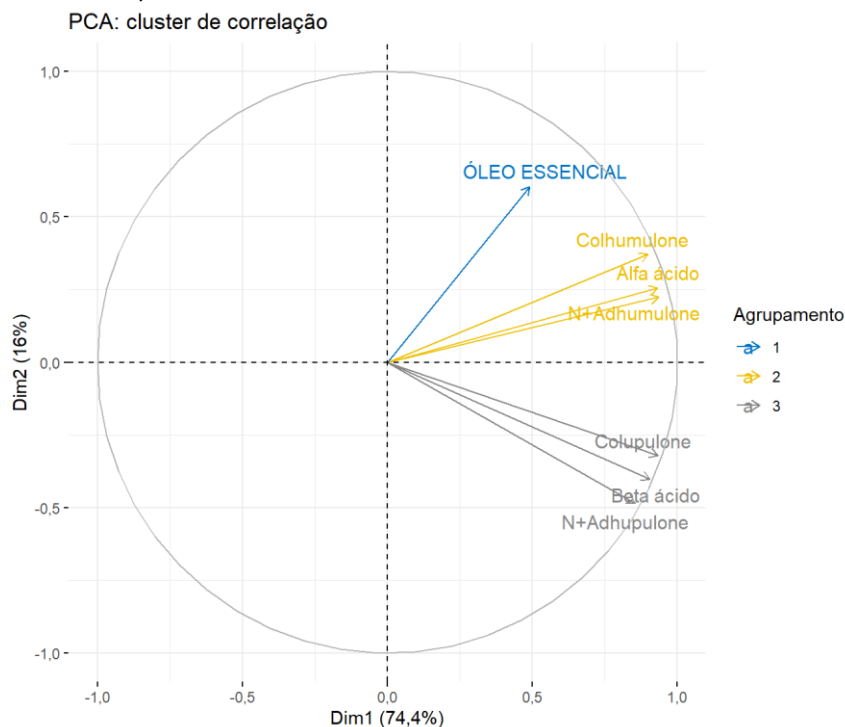
Segundo Bertelli et al. (2018), a diferença das concentrações da composição química entre cultivares é devido a muitos fatores, tais como o seu local de origem, clima, crescimento, pós-colheita e condições de armazenamento, entre outros.

O lúpulo é uma planta perene, que leva pelo menos dois anos para amadurecer e, assim, produzir uma colheita de cones satisfatória, com teores da composição química e rendimento de óleo essencial mais intensos (GREAT LAKES HOPS, 2013), segundo essa informação a tendência da produção é aumentar até o terceiro ano e depois estabilizar. Deste modo, pode-se explicar o aumento nas concentrações dos teores de α e β -ácidos do primeiro ciclo agrícola 2020/2021, no qual as plantas estavam no primeiro ano de produção, para o segundo ciclo agrícola 2021/2022, onde as plantas estavam no segundo ano de produção.

5.7 Análise Dos Componentes Principais (PCA)

Na análise multivariada, os componentes principais (Dim1 e Dim2) conseguiu explicar 90,4 % da variação, explicando muito bem, em relação ao nível de confiabilidade, as variações existentes/observadas nas variáveis óleo essencial, α -ácido (Colhumulone e N+Adhumulone) β -ácido (Colupulone e de N+Adhupulone). Na Figura 30, podemos observa-las no cluster de correlação:

Figura 30 - Cluster de correlação das variáveis óleo essencial, α -ácido (Colhumulone e N+Adhumulone) β -ácido (Colupulone e de N+Adhupulone) do *H. lupulus* oriundo do Sul do Brasil. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

A figura 30 também mostra claramente três grupos de variáveis correlacionadas entre si, em maior ou menor grau (na comparação individual entre si), a saber:

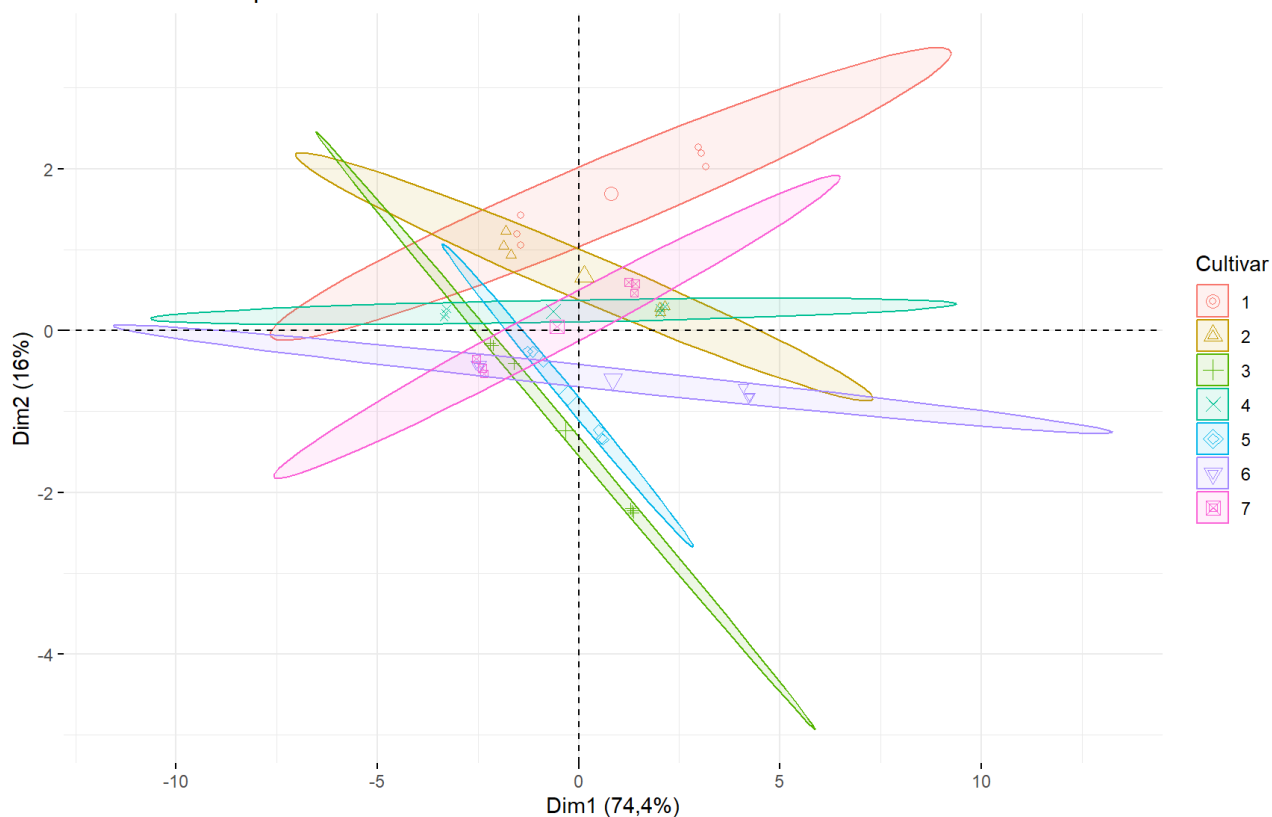
- Grupo 1: a variável com seta de cor azul (óleo essencial).
- Grupo 2: as variáveis com setas de cor laranja (Colhumulone, alfa-ácido e N-Adhumulone).
- Grupo 3: as variáveis com setas de cor cinza (Colupulone, beta-ácido e N-Adhupulone).

Para o fator variedade (Figura 31), é possível observar três conjuntos/grupos de variedades que são bem distintas entre si: 1) 1 e 7 (Colhumulone e óleo essencial); 2) 3 e 5 (α -ácidos e N+Adhupulone) e; 3) 4 e 6 (Colupulone e β -ácidos).

Observa-se que quando não há intercessão entre os grupos, quer dizer que as variáveis que não se cruzam, são muito distintas entre si.

Figura 31 - Gráfico de dispersão dos indivíduos das distintas variedades, para os teores de Colhumulone (1), N+Adhumulone (2), α -ácidos (3), Colupulone (4), N+Adhupulone (5), β -ácidos (6) e óleo essencial (7) obtidos nas amostras de lúpulo oriundas do Sul do Bras

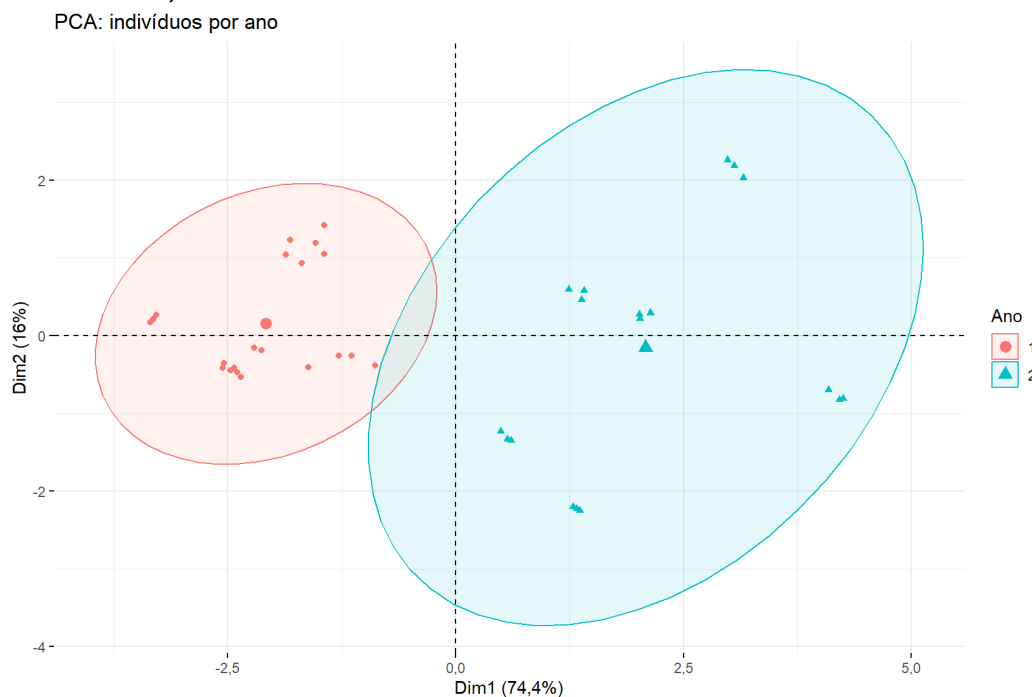
PCA: indivíduos por Cultivar



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

As principais variáveis avaliadas discriminaram perfeitamente o ano, principalmente devido à maior contribuição do ano 2, pois a maior parte dos dados das variáveis se encontram no campo da Dim 1, a qual explicou a maior parte da variação total dos dados (74,4 %). Portanto, o fator “ano” apresentou maior contribuição do que o fator “cultivar” para a variabilidade dos dados (Figura 32).

Figura 32 - Gráfico da dispersão dos indivíduos por ano dos *H. lupulus* oriundo do Sul do Brasil. UTFPR, Dois Vizinhos, 2023



Fonte: Elaborado pelo próprio autor, 2023.

5.8 Conclusões

A cultivar Comet, oriunda do Rio Grande do Sul apresentou, nos dois ciclos de cultivo, os maiores rendimentos de óleo essencial.

No primeiro ciclo agrícola, as cultivares Comet e Columbus, do Rio Grande do Sul (RS), e Cascade, de Santa Catarina (SC), apresentaram os maiores teores de α -ácidos no primeiro ciclo, enquanto a cultivar Cascade, oriunda de Lages, SC, apresentou o maior teor de β -ácidos.

No segundo ciclo agrícola, a cultivar Nuget, apresentou o maior teor de α -ácidos, e a cultivar Mitelfrueh apresentou o maior teor de β -ácidos, ambas oriundas do RS.

Na análise multivariada dos componentes principais (PCA), o fator “ano” apresentou maior contribuição do que o fator “cultivar” para a variabilidade dos dados.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A comparação entre as variedades de *H. lupulus* mostrou diferenças significativas em termos de características agronômicas e químicas, que podem ser relevantes para os pequenos produtores que buscam o cultivo do lúpulo como fonte de renda.

No experimento de campo, a variedade Cascade, por exemplo, apresentou uma produtividade superior em relação à Chinook, o que pode ser uma vantagem importante para os produtores que desejam maximizar a produção em áreas limitadas e obter um maior retorno financeiro. Além disso, a Cascade é uma planta de crescimento mais rápido e de maior altura em comparação com a Chinook, o que pode otimizar o espaço de cultivo e maximizar a produção.

Observamos que diferentes variedades de *Humulus lupulus*, cultivadas em pontos distintos da região sul do Brasil, podem apresentar ótimos resultados de concentração de α e β -ácidos e rendimento de óleo essencial, no entanto, a escolha da variedade mais adequada dependerá de fatores agronômicos específicos e de mercado, e deve ser cuidadosamente avaliada pelos produtores antes de tomar uma decisão.

Em resumo, o cultivo do lúpulo pode ser uma opção interessante de fonte de renda para pequenos produtores, que devem considerar cuidadosamente os aspectos agronômicos e econômicos envolvidos para obter o melhor retorno possível.

Portanto, é importante que futuras pesquisas aprofundem o estudo desses fatores, a fim de entender melhor as razões por trás do alto rendimento de óleo essencial e altas concentrações de α e β -ácidos das variedades de *H. lupulus* do Rio Grande do Sul e, assim, desenvolver novas estratégias e técnicas de cultivo que possam ser aplicadas em outras regiões do país.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMAGUER, C.; GASTL, M.; ARENDT, E. K.; BECKER, T. Comparative study of the contribution of hop (*Humulus lupulus* L.) hard resins extracted from different hop varieties to beer quality parameters. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**. v. 73, n. 2, p. 115-123, 2015.

ALMAGUER, C.; SCHONBERGER, C.; GASTL, M.; ARENDT E. K.; BECKER, T.; J. **Inst. Brew.** 2014.

ALVES, F. C., **Influência da rega na produtividade e na qualidade da produção do lúpulo (*Humulus lupulus* L.), variedade Nugget, na região da Galiza.** Dissertação. 2018.

ALVES, V. S. et al. Lúpulo: Uma alternativa para a diversificação da agricultura familiar no Sul do Brasil. **Revista de Política Agrícola**, Brasília, v. 27, n. 3, p. 5-17, 2018. Disponível em: http://www.siapenet.gov.br/images/stories/revistas/rpa/volume_27/numero_3/1Lupulo.pdf. Acesso em: 06 mai. 2023.

APROLUPULO - **Associação Brasileira de Produtores de Lúpulo**. Disponível em: <<https://www.aprolupulo.com.br>>. Acessado em: 20 abril 2021.

ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F.; BORTOLINI, C. G.; FORSTHOFER, E. L.; STRIEDER, M.L.; **Relação Da Leitura Do Clorofilômetro Com Os Teores De Clorofila Extraível E De Nitrogênio Na Folha De Milho**. Departamento de Plantas de Lavoura, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 91540-000. R. Bras. Fisiol. Veg., 13(2):158-167, 2001.

ASBC- **American Society of Brewing Chemists**. Disponível em: <https://www.asbcnet.org/Methods/HopsMethods/Pages/default.aspx>. Acesso em: 17 de março de 2021.

BAXTER, E. D.; HUGHES, P. S.; Beer: quality, safety and nutritional aspects, 1st ed., **RSC Paperbacks: Cambridge**, 2001.

BENITEZ, J. L., FORSTER, A., DE KEUKELEIRE, D., MOIR, M., SHARPE, F. R., VERHAGEN, L. C., et al. **EBC-Manual of good practice: Hops and Hop Products**. Hans Carl-Verlag, Nürnberg. 1997.

BERTELLI, D. et al. Nuclear magnetic resonance and high-performance liquid chromatography techniques for the characterization of bioactive compounds from *Humulus lupulus* L. (hop). **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 410, n. 15, p. 3521-3531, 2018. doi: <https://doi.org/10.1007/s00216-018-0851-y>

BIZOTTO, D. **Lúpulo Nos Campos De Cima Da Serra: Potencialidades Climáticas**. 2019. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Geografia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2019.

BOCQUET, L.; SAHPAZ, S.; RIVIÈRE, C. An Overview of the Antimicrobial Properties of Hop. **Springer, Cham**, 2018. p. 31–54.

BOUTAIN JR. 2014. On the origin of hops: genetic variability, phylogenetic relationships, and ecological plasticity of *Humulus* (Cannabaceae) [Dissertations] Hawaii: University of Hawaii at Manoa. Boutain, J. 2012a. Sobre a origem do lúpulo (*Humulus*, Cannabaceae): Etnobotânica, filogenia e lúpulo de última geração na China. **Resumo e pôster apresentados na 4ª Conferência Bienal da Associação Internacional de Ecologia e Saúde em Kunming, Yunnan, Kunming, RP China - 15 a 18 de outubro de 2012.**

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.** Lúpulo no Brasil: perspectivas e realidades / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Agricultura Familiar e Cooperativismo. Alexander Creuz, Stéfano Gomes Kretzer. – Brasília: MAPA/SAF. 175p. ISBN 978-65-86803-89-1. 2022.

CARDOSO, M. D., TAVELLA, L. B., & REINEHR, J. Climatic requirements for hop (*Humulus lupulus* L.) cultivation in Brazil. **Ciência Rural**, 49(4), e20181039. 2019.

CAPPER A, DARBY P. What makes British Hops Unique in the world of Hop Growing? British Hop Association. **IBD Asia Pacific Convention**, 24th March 2014.

CANTUARIAS-AVILÉS, T., LÓPEZ-VALENZUELA, J. A., ZAGAL, E., RODRÍGUEZ, A., & NAVARRETE, D. Effect of organic fertilization on growth, yield, and quality of hops (*Humulus lupulus* L.). **Chilean Journal of Agricultural Research**, 79(4), 589-598. 2019.

ČEH B., ZMRZLAK M. **Tehnološka zrelost hmelja / Technological maturity of hop.** Kmeč. glas, 23. avg. 2006.

CERVBRASIL. **Anuário 2016.** p. 64, 2016.

CERVBRASIL. **Anuário 2016.** p. 9, 17, 2020.

CHAGAS, E.; GARCIA, L. Lúpulo em pleno crescimento no Brasil. **Revista da Cerveja.** 2018.

CLARK, J., DULEY, C., SCHROEDER, K., BAXTER, C., HALFMAN, B., DAVIS, K. Nitrogen Application and Management to Hops. Volume 15, **Journal Of The Nacaa - ISSUE 2 – December**, 2022.

CRUZ, C.D. **Programa Genes:** estatística experimental e matrizes. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 285p. 2006.

Cruz, C. D. **Programa Genes:** estatística experimental e matrizes. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa. 2016.

DARBY H & MADDEN R. **The UVM mobile hop harvester.** www.uvm.edu/extension/cropsoil/wpcontent/uploads/The-UVM-Hop-Harvester-ProjectReport-Drawings.pdf University of Vermont, USA. 2012.

DURELLO, R. S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ JR, St. Química do lúpulo. **Revista Química Nova**, v. 42, n. 8, p. 900-919, 2019. doi: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170412>

GENT, D.; SIRRINE, R.; DARBY, H. **Nutrient Management and Imbalances**. Hop Growers of America, 2019.

DAGOSTIM, Marcelo Dalpiaz. **Crescimento do lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em função da adubação nitrogenada e da aplicação de ácido giberélico foliar**. 2019. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência do Solo, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2019.

DELYSER DY, Kasper WJ (1994). **Cerveja com lúpulo: o caso para cultivo**. *Econom Bot* 48: 166-170

DODDS, K. Hops: A Guide for New Growers. 1. ed. **New South Wales**: NSW Department of Primary Industries, 2017.

DURELLO, Renato S.; SILVA, Lucas M. and BOGUSZ JR., Stanislau. QUÍMICA DO LÚPULO. **Revista Química Nova**. 2019, vol.42, n.8, pp.900-919. Epub Oct 21, 2019. ISSN 1678-7064.

EASTWOOD, R., LIPTON, M., & NEWELL, A. (2010). Farm size. In R. Evenson & P. Pingali (Eds.), **Handbook of agricultural economics** (Vol. 4, Cap. 65, pp. 3323-3397). Elsevier.

ENGELHARD, B.; LUTZ, A.; SEIGNER, E.. **Hopfen für alle Biere der Welt**. 2011. Disponível em: Acesso em: 18 de maio de 2023.

EBY, S. Hops, **Humulus lupulus An investigation of agricultural practices and how producers are linked with business networks and consumers**. Ontário: Nuffield Canada, 2011. p. 58.

FAGHERAZZI, M. M. **Adaptabilidade de cultivares de lúpulo na região do planalto Sul Catarinense**. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, 2020.

FAGHERAZZI, M.M.; Rufato, L.; Kretzschmar, A.A.; Arruda, A.L.; Santos, F.S.; Camargo, S.S. A cultura do lúpulo: botânica e variedades. **Revista Agronomia Brasileira**, Volume 1, Número 1, 2017. doi:[10.29372/rab201712](https://doi.org/10.29372/rab201712).

FAGHERAZZI, M.M.; Rufato, L.; **Aspectos técnicos da cultura do lúpulo**. 2019.

FAQUIN, V. **Nutrição mineral de plantas**. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2001. 182p.

FARAGÓJ.; PŠENÁKOVÁ, I.; FARAGOVÁ, N. The use of biotechnology in hop (*Humulus lupulus* L.) improvement. **Nova Biotechnol.** v. 9, p. 279-293, 2009.

FORTUNA, G. C.; **Desempenho agrônômico e fitoquímico de variedades de lúpulo produzidas em condições tropicais sob manejo orgânico e convencional**. Botucatu 2021.

FRESHOPS (2021). Disponível em: <https://freshops.com>. Acesso em: 10 de junho de 2023.

GERHÄUSER, C. Broad spectrum antiinfective potential of xanthohumol from hop (*Humulus lupulus*L.) in comparison with activities of other hop constituents and xanthohumol metabolites fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 266, p. 173–2 fev. 2018

GEOGRAPHIC, taxa of humulus. **Systematic Botany**, v. 3, n. 1, p. 37, 1978.

GEWEHR, B. **Qualidade Lupulada: O Significado De Artesanal Na Rede Cervejeira Gaúcha**. Dissertação submetida ao Programa de Pós Graduação em Desenvolvimento Rural da Faculdade de Ciências Econômicas da UFRGS. Porto Alegre, 2019.

GLEDHILL, D. **Os nomes das plantas**. Terceira edição. Cambridge University Press, Cambridge. 2002.

GONSAGA, R. F. **Desenvolvimento de híbridos de lúpulo adaptados às condições tropicais** / Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. 2021.

GREAT LAKES HOPS (2013). Disponível em: <https://www.greatlakeshops.com>. Acesso em: 28 de maio de 2023.

HAUNOLD, A., & MERKLE, E. Influence of leaf and lateral position on the yield of hops. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 99(1), 65-68.1974.

HEALEY J. (2016) **The Hops List: 265 Beer Hop Varieties from Around the World**. Disponível em: <http://www.hopslist.com/hops/bittering-hops/bullion/>. Acesso em: 10 junho de 2023.

HIERONYMUS, S. **For the love of hops: The practical guide to aroma, bitterness and the culture of hops**. Brewers publications, 2012.

HOPSTEINER. **Guidelines for hop buying**. 2020. Disponível em: <https://www.hopsteiner.com/news/type/guidelines/> Acesso em: 03/11/2020.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistemas de referência). **Relatório do Município de Dois Vizinhos/PR**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/pr/dois-vizinhos.html>. Acesso em: 23 de dezembro de 2022.

JEZEK, J., KRIVÁNEK, J., POKORNÝ, J. (2013). Trials with growing hops on low trellis in the czech republic in 2009-2011. **Acta Horticulturae** 1010, p. 199- 203.

JUDD BARSLUND D. **Hops Production in Virginia: Nutrition, Fungal Pathogens, and Cultivar Trials** Thesis submitted to the faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University. 2018.

KARABÍN, M.; HUDCOVÁ, T.; JELÍNEK, L.; DOSTÁLEK, P. Biologically Active Compounds from Hops and Prospects for Their Use. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 3, p. 542-567, 2016.

KENNY, S. T.; ZIMMERMANN, C. E. Registration of Chinook hop. **Crop Science, Madison**, v. 26, p. 196-197, 1986.

KOCH, R., & BÜCKING, H. Impact of chlorophyll on quality and yield of hop (*Humulus lupulus* L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, 107, 278-284. 2016.

KLIMEK-CHODACKA, M., & WIELGUSZ, K. The influence of the height of branch formation and the vegetation period on the quantity and quality of hop yield. **Agricultural Engineering**, 23(3), 29-37. 2019.

KROTTENTHALER, Martin. **Hops. Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets**, p. 85-104, 2009.

LESKOVAR L. **El lúpulo: su cultivo y procesamiento**. Buenos Aires. Argentina. 145 p, 1978.

KESKIN, Ş. et al. An investigation of *Humulus lupulus* L.: Phenolic composition, antioxidant capacity and inhibition properties of clinically important enzymes. **South African Journal of Botany**, v. 120, p. 170-174, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.04.017>

KOVAČEVIČ, M.; KAČ, M. Determination and verification of hop varieties by analysis of essential oils. **Food Chemistry**, v. 77, n. 4, p. 489-494, 2002. doi: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00114-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00114-0)

MACHADO JR. et al. Modeling of α -acids and xanthohumol extraction in dry-hopped beers. **Food Chemistry**, v. 278, p. 216-222, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.050>

MACHADO, F. B. et al. Lúpulo (*Humulus lupulus* L.). In: LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. (Eds.). **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum**, 2008. p. 1009-1012.

MAHAFFEE, Walter et al. **Compendium of hop diseases and pests**. St. Paul: Amer Phytopathological Society, 2009. 93 p.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - **Registro Nacional De Cultivares – RNC**. 2020.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Anuário Da Cerveja**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/a-cada-dois-dias-uma-nova-cervejaria-abre-as-portas-no-brasil>. Acesso em 13 de julho de 2021.

MALOWICKI, M. G.; SHELLHAMMER, T. H. **Isomerization and Degradation Kinetics of Hop**. v. 53, n. 11, p. 4434-4439, 2005.

MARCOS, J.A. et al. **Guia del cultivo del lúpulo**. 2011.

MARCUSSO, E. F.; MULLER, C. V. **A Economia E O Território Do Lúpulo: A história, análise mercadológica e o desenvolvimento do lúpulo no Brasil e no mundo.** 2018. Disponível em: https://www.faculdadeepica.com.br/adm/uploads/revista_artigo/61.pdf. Acesso em: 26 de junho de 2021.

MARCUSSO, E. F.; MULLER, C. V. Anuário da cerveja no Brasil 2018: crescimento e inovação. **Revista MAPA**, Brasília, 2019. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/pastapublicacoes-DIPOV/anuario-da-cerveja-no-brasil-2018>. Acesso em: 10 de maio de 2021.

MATSUI, H. et al. The influence of pruning and harvest timing on hop aroma, cone appearance, and yield. **Food chemistry**, v. 202, p. 15-22, 2016. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.058>

MEGA, J. F.; NEVES, E.; ANDRADE, C. J. A produção de cerveja no Brasil. **Revista Citino**, v. 1, n. 1, p. 34-42, 2011. ISSN: 2238-2461.

MDIC, Ministério do Desenvolvimento, da Indústria e Comércio Exterior – MDIC – **Relatório de exportação e importação geral de 2019.** Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral/15604>. Acesso em: maio de 2021.

MOLECULAR Nutrition & Food Research , v. 49, n. 9, p. 827–831, set. 2005.

MINEROPAR. **Atlas geomorfológico do estado do Paraná escala 1:250.000 modelos reduzidos.** Universidade Federal do Paraná – Curitiba. 63p. 2006.

MONTINI, R.M.C., OLIVEIRA M.G. SILVA, W.E., VARIZI, À., ZANOELLO, F.F. **Produção De Lúpulo No Brasil: Um Estudo Sobre A Viabilidade Financeira.** Presidente Prudente - SP, 16 a 17 de outubro de 2018.

MURAKAMI A, DARBY P, JAVORNIK B, PAIS MSS, SEIGNER E, LUTZ A, SVOBODA P. (2006) **Molecular phylogeny of wild Hops, Humulus lupulus L. Heredity** 97:66- 74.

NAVA, A. N., NAVA, K. G, MATTE, A.; Mercado Do Lúpulo: Perspectivas de Cultivo No Brasil. **Congresso de Ciência e Tecnologia (CCT) – UTFPR/DV (2021).**

NEVE, R. A. **Lúpulo.** Chapman e Hall: Londres. Pillay M., Kenny ST (1996).

NEVE, R. A **Estrutura e herança de variantes de DNA ribossomal em lúpulo cultivado e selvagem, Humulus lupulus EUA.** Theor Appl Genet 93: 333–340. Rybáček V (1991).

NEVE, R.A. 1991. **Hops.** Chapman and Hall, London, UK. P 266.

NIONELLI, L.; PONTONIO, E.; GOBBETTI, M.; RIZZELLO, C. G. Use of hop extract as antifungal ingredient for bread making and selection of autochthonous resistant starters for sourdough fermentation. **International**

Journal of Food Microbiology. Volume 266, 2 February 2018, Pages 173-182. 2018.

OLIVEIRA, M. V. R. **Crescimento do lúpulo influenciado por calagem e fornecimento de fósforo**. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2016.

PAES, R. F., A. **Construção Da Qualidade: Estudo Sobre A Legitimação Do Standard Da Lei De Pureza Alema No Mercado Catarinense De Cervejas**. Trabalho de Conclusão de Curso submetido(a) ao Curso de Ciências Sociais da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2015.

PANG, X.P. AND LETEY, J. Organic Farming: Challenge of Timing Nitrogen Availability to Crop Nitrogen Requirements. **Soil Science Society of America Journal**, 64, 247-253. 2000.

PATZAK, J. et al., Number and size of lupulin glands, glandular trichomes of hop (*Humulus lupulus* L.), play a key role in contents of bitter acids and polyphenols in hop cone. **International Journal of Food Science & Technology**. DOI: 10.1111/ijfs.12825. 2015.

PAVLOVIC, M., 2012. Production character of the EU hop industry. Bulg. **J. Agric. Sci.** 18, 233–239.

PAVOLOVIČ, V. et al. Modelling of quality prediction for hops (*Humulus lupulus* L.) in relation to meteorological variables. **Balwois conference proceedings**; Ohrid, Republic of Macedonia, 2010, 1-10.
https://balwois.com/wpcontent/uploads/old_proc/ffp-1920.pdf

PIOTROWSKI, S., SOBCZYKIEWICZ, P., JUSZCZAK, L., & WIECZOREK, P. P. The effect of chlorophyll content on the yield and quality of hop cones. **Journal of Central European Agriculture**, 21(4), 1492-1502. 2020.

PORTUGAL, L., **Análise De Preservação De Água No Solo Na Cultura Irrigada De Lúpulo Com O Uso De Cobertura Morta**. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, 2021.

PRENCIPE, F. P. et al. Development of a new high-performance liquid chromatography method with diode array and electrospray ionization-mass spectrometry detection for the metabolite fingerprinting of bioactive compounds in *Humulus lupulus* L. **Journal of Chromatography A**, v. 1349, p. 50-59, 2014. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.04.097>

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. 2023.

RADTKE, V.M. et al. **Zoneamento Agroecológico e Socioeconômico de Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 1999.

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

REVISTA DA CERVEJA. **Aprolúpulo**: à união dos produtores de lúpulo - 2018. Disponível em:

<http://revistadacerveja.com.br/aprolupulo-a-uniao-dos-produtores-de-lupulo/>. Acesso em: maio de 2021.

ROCHA, Filomena Alexandre dos Santos. **Distribuição e ecologia do lúpulo (Humulus lupulus L.) em Portugal**. 2005. 173 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Ciências Ambientais, Universidade de Minho, Braga, 2005.

ROSSBAUER, G. et al. **Phänologische Entwicklungsstadien von KulturHopfen (Humulus lupulus L.)**. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes, Stuttgart, v. 47, n. 10, S. 249-253, 1995.

ROSSBAUER I. Compendium of growth stage identification keys for mono- and dicotyledonous plants, extended BBCH scale. 2nd Edition. **Bayer, Novartis**: 1-2. 1995.

SANTOS, G. R. et al. Lúpulo (*Humulus lupulus* L.). In: CARVALHO, P. E. R. et al. (Eds.). **Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial**. Brasília: MMA, 2015. p. 376-381.

SANTOS, H.G. dos, ALMEIDA, J.A.; OLIVEIRA, J.B.; LUMBRERAS, J.F.; ANJOS, L.H.C.; COELHO, M.R.; JACOMINE, P.K.T.; CUNHA, T.J.F.; OLIVEIRA, V.A. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 353 p.

SARNIGHAUSEN, P.; SARNIGHAUSEN, V. C. R.; DAL PAI, A. O Lúpulo e a oportunidade do Agronegócio no Brasil. 6 a **Jornada de Iniciação Científica da FATEC de Botucatu**, 23 a 27 de outubro de 2017, Botucatu, São Paulo, Brasil.

SCHNEIDER, S.; MARQUES, F. C.; CONTERATO, M. A. Introdução. In: MARQUES, F. C.; CONTERATO, M. A.; SCHNEIDER, S. (org.). Construção de mercados e agricultura familiar: desafios para o desenvolvimento rural. Porto Alegre: **Editora UFRGS**, 2016. p. 11-18.

SCHMIDT, M. Hops (*Humulus lupulus* L.). In: JANICK, J.; PAUL, R. E. (Eds.). The Encyclopedia of Fruit and Nuts. Wallingford: **CABI Publishing**, 2008. p. 407-413.

SIRRINE, J., ROTHWELL, N., LIZOTTE, E., GOLDY, R., MARQUIE, S., RYTHEWSKI, E. Sustainable Hop Production in Great Lakes Region. **Extension Bulletin** E-3038. Michigan University Extension. 2010.

SMALL, E. A numerical and nomenclatural analysis of morphogeographic taxa of *Humulus*. **System. Bot.** 3. 37-76, 1978.

SOARES, F. **Cultivo de lúpulo começa a ganhar espaço na Serra Gaúcha**. 2018. Disponível em: <http://especiais-pio.clicrbs.com.br/maisserra/40/central.html>. Acesso em: maio 2020.

SPÓSITO M.B., ISMAEL R.V., BARBOSA, C.M. DE A., TAGLIAFERRO, A.L. A cultura do lúpulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - Divisão de Biblioteca. 81 p. (**Série Produtor Rural**, no. 68), 2019.

TEIXEIRA, J. C., GOMES, M. H., & PINHEIRO, J. . Influence of lateral branch height on hop (*Humulus lupulus* L.) yield and quality. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, 30(1), 1-8. (2015).

TEUBER, M.; SCHMALRECK, A. F. Membrane leakage in *Bacillus subtilis* 168 induced by the hop constituents lupulone, humulone, isohumulone and humulinic acid. **Archiv fur Mikrobiologie**, v. 94, n. 2, p. 159 – 71, 21 dez. 1973.

THOMÉ, V.M. et al. **Zoneamento Agroecológico e Socioeconômico de Santa Catarina**. 1999. Disponível em: . Acesso em: 16 maio 2023.

USA hops Statistical Report 2018. Disponível em:
<<https://www.usahops.org/enthusiasts/stats.html>>. Acesso em: 17 de jan. 2020

USA hops. Statistical Report 2018. Disponível em:
<<https://www.usahops.org/enthusiasts/stats.html>> Acesso em 28 de maio de 2023.

VARIETY Manual Hop Growers Of América. **Hop Growers Of America**. Disponível em: <<https://www.usahops.org> >acesso em: 20 de junho de 2022.




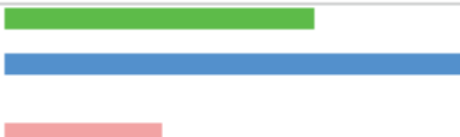




VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. Bebidas: tecnología, química y microbiología. Volume 2 ed. [s.l.] **Editorial Acribia**. S. A. 1997.

VERZELE, M.; DE KEUKELEIRE, D. Chemistry and analysis of hop and beer bitter acids. **Amsterdam: Elsevier Science publishers**. 1991.

WILSON D.G. Planta restos do barco Graveney e o início da história de *Humulus lupulus* L. em W. Europe. **Novo Fitol** 75: 627–648. (1975).

WEIHRAUCH, F.; MEIER, H. Marktanalyse Öko-Hopfen 2012 – Deutschland, Europa, Welt. **Angewandte Forschung und Beratung für den ökologischen Landbau no Bayern**, p. 164-168, 2012.

ANEXO I – Análise de solo da área experimental

 Laboratório de Análises Agronômicas Maravilha Ltda. PR 493 Km 03, Linha Reta Grande - Pato Branco - PR Caixa Postal 28 - CEP:85.501-970 - Fone:(46)3225-7677 E-mail - laboratorio@laboratoriomaravilha.com.br		
INFORMATIVO DE ANÁLISE DE SOLO		
Informativo Número: 287238.		
DADOS DO SOLICITANTE		
Solicitante: Gilmar A. Nava / Dalva Paulus Proprietário: Gilmar A. Nava / Dalva Paulus End. Propriedade: Cidade: Dois Vizinhos-PR		 Emissão: 30/11/2021
PROPRIEDADE DA AMOSTRA		
Lote: 'n°' Gleba: 'n°' Matricula: 'n°' Coordenadas: Latitude:'n°' Longitude:'n°' Data da Amostra: 23/11/2021		Profundidade: (cm): 'n°' Área: 'n°' Tamanho: 'n°' Condições do Clima: 'n°' Recebimento da Amostra: 25/11/2021
LEITURA		
Teor de Matéria Orgânica (g/dm ³): 41,02 Teor de Carbono (g/dm ³): 23,85 pH: 6,30 Índice SMP: 6,70 AlS + H (cmol(+)/dm ³): 2,95 Al Trocável (cmol(+)/dm ³): 0,00		
MACRONUTRIENTES		
Cálcio (cmol(+)/dm ³): 15,37 Cálcio + Magnésio - Ca+Mg (cmol(+)/dm ³): 19,74 Potássio - K (cmol(+)/dm ³): 0,90 Potássio - K (ppm): 391,90 Fósforo - P (mg/dm ³): 140,50 Fósforo Remanescente - P (mg/dm ³): 'na' Enxofre - S (mg/dm ³): 'na'		
RELAÇÕES		
Cálcio/Magnésio: 3,52 Cálcio/Potássio: 17,08 Magnésio/Potássio: 4,86 (%) Cálcio: 65,15 (%) Magnésio: 18,52 (%) Potássio: 3,82 Soma de Bases Trocáveis - S: 20,64 Capacidade de Troca de Cátions - T: 23,69 Saturação de Bases - V (%): 87,49 Saturação de Alumínio - Al (%): 0,00 CTC Efetiva: 20,64		
MICRONUTRIENTES		
Cobre - Cu (mg/dm ³): 1,88 Zinco - Zn (mg/dm ³): 42,37 Boro - B (mg/dm ³): 'na' Ferro - Fe (mg/dm ³): 22,10 Manganês - Mn (mg/dm ³): 285,40		
A presente análise tem valor restrito à amostra entregue no laboratório.		
METODOLOGIAS WALKLEY-BLACK - MO CaO2 0,01 - pH SMP - pH KCl 1N - Ca+Mg, Al, Ca MEHLICH 1 - P,K CaH2 PO4)2 - S MEHLICH 1 - Cu, Zn, Fe, Mn Ba Cl2 - S	LEGENDA 	 Elton Salvaggio Eng. Agrônomo/Responsável Técnico CREA - PR - 65740/D
HASH:1b527549-dac9-40x0-82ef-dce41f0c84f		

ANEXO II - metodologia desenvolvida pela escala EBC de lúpulo



7.7 α - AND β -ACIDS IN HOPS AND HOP PRODUCTS BY HPLC – 2012

ABSTRACT

The method specifies a high performance liquid chromatographic analysis for the determination of α - and β -acids for all hops, hop powder products as well as for all conventional hop extracts.

Refer to Section 0 (Safety) for relevant warning and safety precautions.

1 SCOPE

The method specifies a high performance liquid chromatographic analysis for the determination of α - and β -acids for all hops, hop powder products as well as for all conventional hop extracts.

2 FIELD OF APPLICATION

The method can be applied to all hops, hop powder products and all conventional hop extracts.

3 REFERENCES

- 3.1 International Standard, Water for analytical laboratory use. Specification and test methods, ISO 3696:1987 (E).
- 3.2 EBC Method 7.1 (Hops and Hop Products: Sampling of Hops and Hop Products).
- 3.3 EBC Method 7.6 (Hops and Hop Products: Bitter Substances in Hop Extracts: Lead Conductance Value and Total Resin, Soft Resin and Hard Resin).

4 PRINCIPLE

4.1 Hops, hop powder products, α - and β -acids are extracted by a mixture of diethyl ether/methanol and hydrochloric acid solution from milled hops and hop powder products.

4.2 In the ether phase dissolved α - and β -acids are separated by reversed phase HPLC and measured spectrophotometrically at a wavelength of 314 nm.

- 1 -

This document or any of its parts cannot be altered, reproduced, sold, transferred or distributed without the explicit consent of The Brewers of Europe / EBC. The use of this document shall comply with the General Terms and Conditions available [here](#)

7 PREPARATION OF SAMPLES

The sample taken for analysis must be representative of the whole sample, see EBC Method 7.1.

8 PROCEDURE

8.1 Calibration hop extract

- 8.1.1 Ensure that the International Calibration Extract (ICE) is homogenized. Weigh out $0.5 \text{ g} \pm 0.1 \text{ mg}$ of the calibration extract into a 100 ml volumetric flask.
- 8.1.2 Add about 40 ml of methanol and dissolve extract using sonication for about 30 s in an ultrasonic bath.
- 8.1.3 Make the contents up to volume with methanol at 20°C . Stopper and mix by inversion at least four times.
- 8.1.4 Pipette 10 ml of the solution at 20°C into a 50 ml volumetric flask. Make the contents up to volume with methanol at 20°C . Stopper and mix carefully.
- 8.1.5 Filter the solution.
- 8.1.6 The calibration solution is now ready as a sample for HPLC determination. Since such samples deteriorate in solution, carry out the HPLC analysis immediately after preparation. If this is not convenient store the prepared solution below -10°C . The solution is stable for two weeks if stored in a freezer and protected from light.
- 8.1.7 The calibration hop extract, which has a known content of α - and β -acids, is used as external standard for calibration of the HPLC equipment.
- 8.1.8 Store the calibration hop extract below 5°C (see also instructions given by the supplier). Replace the calibration hop extract every year.

8.2 Hops and hop powder products

- 8.2.1 Grind hops, hop powder or pellets in a suitable mill.
- 8.2.2 Weigh accurately about 10 g of finely ground sample and transfer to a tared glass flask, 250 ml capacity. Attemperate solvents to 20°C and add 20 ml of methanol, 100 ml of diethyl ether and 40 ml of 0.1 mol/litre hydrochloric acid solution.
- 8.2.3 Stopper the flask and attach to a shaker. Shake the flask for 40 min at the optimum speed.
- 8.2.4 Allow the flask to stand for 10 min at 20°C to permit the phases to separate.
- 8.2.5 Pipette 5 ml of the supernatant ether phase at 20°C into a 50 ml volumetric flask. Make the contents up to volume with methanol at 20°C . Stopper and mix contents of the flask carefully.
- 8.2.6 Filter the solution.
- 8.2.7 The sample solution is ready for HPLC determination. Since such samples deteriorate in solution, carry out the HPLC analysis immediately after preparation (see also calibration solution, 8.1.6).

8.3 Hop extract

Pure resin hop extracts are dissolved using the same procedure as for the calibration hop extract (8.1). Standardised hop extracts containing glucose or tannins are dissolved as described in EBC Method 7.6, sub-clause 4 (distribution between an acidified aqueous/methanolic liquid phase and diethyl ether).

- 3 -

This document or any of its parts cannot be altered, reproduced, sold, transferred or distributed without the explicit consent of The Brewers of Europe / EBC. The use of this document shall comply with the General Terms and Conditions available [here](#)

4.3 Hop extracts are dissolved in methanol. The α - and β -acids are separated by reversed phase HPLC and measured spectrophotometrically at a wavelength of 314 nm.

4.4 The concentrations of the individual components are estimated by measuring the peak areas and referring to a calibration factor.

4.5 A standard hop extract is used as external standard for calibration.

5 REAGENTS

- 5.1 During the analysis, unless otherwise stated, use water of grade 1 as defined in ISO 3696:1987 (E).
- 5.2 Diethyl ether, maximum 0.2 % water, peroxide free (examined with test strips).
- 5.3 Methanol (analytical grade) and methanol (HPLC grade).
- 5.4 Hydrochloric acid solution, $c(\text{HCl}) = 0.1 \text{ mol/litre}$.
- 5.5 Orthophosphoric acid, 85 %, $d = 1.71$ (analytical grade).
- 5.6 Eluting solution as mobile phase: mixture of methanol/water/phosphoric acid.
- 5.7 International Calibration Extract (ICE). This standard of known composition is available from Labor Veritas, Switzerland (see the List of Suppliers).

6 APPARATUS

- 6.1 Glass flasks with solvent tight screw stoppers, 250 ml.
- 6.2 Volumetric flask, 50 ml, 100 ml.
- 6.3 Pipettes, 5 ml, 10 ml, 100 ml.
- 6.4 Suction device for filling pipettes.
- 6.5 Dispensers, 20 ml, 40 ml.
- 6.6 Analytical balance, accurate to 0.1 mg.
- 6.7 Hop mill (e.g. hammer mill with a 2 mm sieve). Hop pellets mill, spice or coffee mill so constructed that the mill space does not gum up with hop resins.
- 6.8 Automatic shaker, e.g. horizontal shaker at $220 \pm 5 \text{ rpm}$.
- 6.9 Water bath at $20 \pm 1^\circ\text{C}$.
- 6.10 Freezer.
- 6.11 Refrigerator.
- 6.12 Ultrasonic bath.
- 6.13 HPLC system equipped with a UV detector (314 nm), column heater and electronic integrating facilities.
- 6.14 HPLC analysis column, filled with RP18, e.g. Nucleodur 5-100 C18 ec, $125 \times 4 \text{ mm}$ (Macherey-Nagel GmbH, Germany; see the List of Suppliers).
- 6.15 Filter, membrane filter (0.45 micrometer).

- 2 -

This document or any of its parts cannot be altered, reproduced, sold, transferred or distributed without the explicit consent of The Brewers of Europe / EBC. The use of this document shall comply with the General Terms and Conditions available [here](#)

8.4 Chromatographic determination

8.4.1 HPLC conditions (example: chromatography with the HPLC column "Nucleodur")

- 8.4.1.1 Prepare the eluent methanol/water/phosphoric acid in a ratio of 775/210/9 (v/v/v).
- 8.4.1.2 Start the HPLC equipment. Set eluent flow to 1 ml/min. Check the whole system. Set the UV detector to 314 nm. Heat the column at $40 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

8.4.2 Operation

- 8.4.2.1 Equilibrate the column with eluent for at least 30 min before injecting any samples.
- 8.4.2.2 Start the integrator/recorder. Inject 10 microlitre of the solution prepared for HPLC analysis. Elute for about 25 min.
- 8.4.2.3 Run the calibration solution at least twice, before and after a series of samples. For a series greater than 5 samples include the calibration solution at intervals throughout the run.
- 8.4.2.4 Carry out at least 2 chromatographic runs on each sample.
- 8.4.2.5 Example of a chromatogram (figure 1) Evaluation of the chromatogram: there is a small peak (Nr. 2) just after the retention time of cohumulone. This small peak has to be separated before evaluation. If there is insufficient resolution, especially of this peak, it may help to vary the water content of the eluent.
- 8.4.2.6 Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)

Without changing the eluent it is possible to achieve a comparable peak separation at considerable shorter retention times when applying UPLC. See example of a chromatogram (figure 2) resulting from chromatography of 5 microlitre of the prepared solution with the column Hyperasil Gold C18 ec, $50 \times 2 \text{ mm}$, 1.9 micron (Thermo Fisher Scientific, Inc., see the List of Suppliers) at a flow rate of 0.8 ml/min (pressure 470 bar). As mentioned above the separation of the small peak just after the retention time of cohumulone has to be guaranteed.

9 EXPRESSION OF RESULTS

9.1 Calculation, external standard procedure

9.1.1 The individual components, cohumulone, $n +$ adhumulone, colupulone, $n +$ adlupulone, are calculated using the following equation:

$$C_i = \frac{DF \cdot M_{CS} \cdot C_{ic} \cdot A_i}{M_s \cdot A_{ic}}$$

where

- C_i = concentration of component i in the sample expressed as percent by weight
- DF = dilution factor, DF = 1 for hop extracts or DF = 2 for hops and hop powder products
- M_{CS} = weight of the calibration standard in g
- C_{ic} = concentration of component i in the calibration standard expressed as percent by weight
- A_i = peak area of component i from the sample run (average)
- M_s = weight of the sample in g

- 4 -

This document or any of its parts cannot be altered, reproduced, sold, transferred or distributed without the explicit consent of The Brewers of Europe / EBC. The use of this document shall comply with the General Terms and Conditions available [here](#)

A_{i0} = peak area of component i from the calibration run (average)

9.1.2 Express the total α -acids content, C_{α} , of the sample as percent by weight as the sum of α -acid components cohumulone, $C_{\alpha 1}$, and n - α -adhumulone, $C_{\alpha 2}$.

$$C_{\alpha} = C_{\alpha 1} + C_{\alpha 2}$$

9.1.3 Express the total β -acids content, C_{β} , of the sample as percent by weight as the sum of β -acid components colupulone, $C_{\beta 1}$, and n - β -adlupulone, $C_{\beta 2}$.

$$C_{\beta} = C_{\beta 1} + C_{\beta 2}$$

9.1.4 Report the total α -acids content, C_{α} , and the total β -acids content, C_{β} , as percent by weight to one decimal place.

9.2 Precision

The precision values given below [% (m/m)] were determined from the data of a collaborative trial carried out by the EBC Analysis Committee in 2004 including participation from members of ASBC (American Society of Brewing Chemists), BCOJ (Brewery Convention of Japan) and AHA (Arbeitsgruppe Hopfenanalyse). All participants used the column "Nucleodur" (see 8.4.1). Laboratories analysed hop pellets at 4 levels and hop extracts at 4 levels.

Sample	No. of Laboratories	Range [% (m/m)]	r_{95} [% (m/m)]	R_{95} [% (m/m)]
α -acids	Pellets 12 to 13	2.9 to 14.7	0.045 m	0.122 + 0.075 m
	Extracts 12 to 14	34.8 to 54.7	0.079 + 0.022 m	2.98
β -acids	Pellets 12 to 13	4.1 to 6.1	0.25	0.55
	Extracts 12 to 14	17.6 to 29.1	0.75	1.6

where m is the mean value in % (m/m).

10 BIBLIOGRAPHY

- 10.1 Olaus, H., Van Dyck, J., Verzele, M.J., *Journal of The Institute of Brewing*, 1978, 84, 218.
- 10.2 Forster, A., Anderegg, P., Pfenninger, H., *Brauerei-Rundschau*, 1984, 95, 81.
- 10.3 Anderegg, P., Pfenninger, H., *Brauerei-Rundschau*, 1985, 96, 201.
- 10.4 Blendl, M., Anderegg, P., *Monatsschrift für Brauwissenschaft*, 2005, 58, 32.

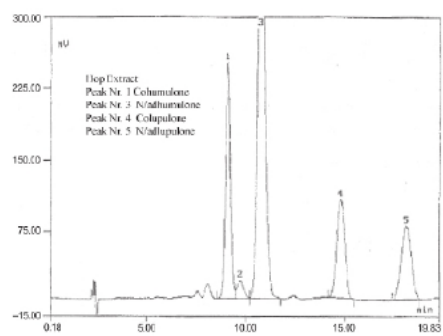


Figure 1

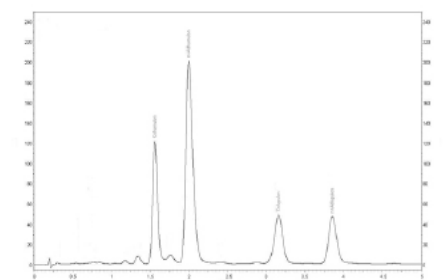


Figure 2