

## EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E FLAVONÓIDES DO LÚPULO (*Humulus Lupulos*) COM O AUXÍLIO DE SOLVENTES EUTÉTICOS.

JULIA EDUARDA SIQUIERA<sup>13</sup>, VÂNIA ZANELLA PINTO<sup>32</sup>

### 1 Introdução

O lúpulo (*Humulus lupulus L.*) é uma planta trepadeira pertencente à família Cannabaceae. É composto por inflorescências que são responsáveis por conferir amargor e aroma em diferentes tipos de cerveja (Righi, *et al.*, 2024). A sua composição é rica em ácidos fenólicos como o *p*-coumarico e cafeico, flavonoides como a quercetina e catequina, ácidos orgânicos como as humulonas (alfa ácidos) e lupulonas (beta ácidos), e também o xanthohumol. Este último é uma chalcona que vem sendo estudada para utilização na indústria médica como agente quimiopreventivos do câncer, farmacêutica para o tratamento de insônia e ansiedade, e alimentícia como composto antioxidante (Wang., *et al.*, 2014; Verhagen, 2010).

Para a utilização de extratos provenientes de plantas, o uso da extração verde é de grande importância para garantir a atoxicidade dos mesmos (Verhagen, 2019). Os solventes eutéticos profundos (DES) ou solventes eutéticos profundos naturais (NaDES) são os principais solventes verdes utilizados para extração de compostos de biomassa vegetal (Benvenuti; Zielinski; Ferreira, 2019; Choi, 2019). Estes solventes verdes são formados pela mistura entre um doador de hidrogênio (HBD), podendo ser ácido láctico, glicerol ou ácido oxálico e um receptor de hidrogênio (HBA), normalmente sendo o cloreto de colina. A combinação do HBD e HBA forma uma mistura viscosa, atóxica, de baixa volatilidade com alto potencial de extração de compostos bioativos (DAI *et al.*, 2013).

### 2 Objetivos

Extrair compostos fenólicos totais (CFT) e flavonoides em pellets de lúpulos com a

<sup>1</sup> Titulação acadêmica Julia Eduarda Siqueira, instituição Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Laranjeiras do Sul - PR, contato: julia.eduardasiq@gmail.com

<sup>2</sup> Grupo de pesquisa: Produção, transformação e armazenamento de alimentos.

<sup>2</sup> Vânia Zanella Pinto, instituição Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Laranjeiras do Sul – PR, contato: vania.pinto@uffs.edu.br. **Orientadora**

utilização de NaDES sintetizados através de cloreto de colina e ácido láctico na proporção 1:1M.

### 3 Metodologia

Os pellets de lúpulo foram fornecidos pela Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), situada na cidade de Lages – SC. Os cultivares de lúpulo, Chinook, Comet e Cascade, as quais são variedades americanas. Esses foram moídos em moinho analítico e armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento da utilização.

Para a síntese do NaDES, utilizou-se a proporção molar de 1:1 de ácido láctico (HBD) com cloreto de colina (HBA). Os precursores foram levados a agitação magnética à  $80^{\circ}\text{C}$  até apresentar uma consistência viscosa, homogênea e aparência incolor. Na sequência, o líquido eutético foi diluído em água (10%) para formação de uma mistura eutética, que foi utilizada na extração.

Para o preparo dos extratos, utilizou-se 0,50 g de cada amostra de pellets de lúpulo, adicionado de 30mL da mistura eutética em uma proporção predeterminada por testes preliminares. A extração foi assistida por ultrassom (Vibra-cell VC 505, Sonics and Material Inc., Newtown, CT, EUA) equipado com uma sonda CV33 (5 mm de diâmetro), usando um ciclo liga/desliga de 10 s operando a 20 kHz com amplitude de 60% por 8 minutos a  $30^{\circ}\text{C}$ . A extração foi realizada em triplicata para cada amostra.

Para a determinação dos compostos fenólicos totais do extrato, utilizou-se ensaio colorimétrico com o reagente Folin-Ciocalteu e leitura da absorbância em 765nm. Os resultados foram calculados a partir de uma curva padrão de ácido gálico e expresso em mg de ácido gálico por grama de amostra (mg AG/100 g amostra). Para a determinação dos flavonoides, utilizou-se ensaio colorimétrico e leitura da absorbância em 520nm. Os resultados foram calculados a partir de uma curva padrão de catequina e expresso em mg de catequina por grama de amostra (mg CAT/ 100 g amostra). Em ambas as determinações se utilizou a espectrofotometria UV-VIS (Thermo Scientific Multiskan, SkyHigh, Massachusetts, EUA) com as reações colorimétricas realizadas em triplicata, e os resultados foram avaliados pela análise de variância (ANOVA) com nível de confiança de 95% e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

### 4 Resultados e Discussão

As concentrações de compostos fenólicos totais e flavonoides extraídos dos cultivares dos lúpulos variou  $7,427 \pm 0,04$  e  $7,2152 \pm 0,15$  mg AG/100 g amostra, e  $4,336 \pm 0,47$  e  $2,036 \pm 0,41$  mg CAT/100 g amostra, respectivamente, e estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 - Concentração de compostos fenólicos totais e flavonoides em cultivares de lúpulo.

Compostos	Cultivares		
	Chinook	Comet	Cascade
<b>Compostos Fenólicos Totais (mg AG/100 g amostra) *</b>	$7,427 \pm 0,04$ a	$7,377 \pm 0,17$ a	$7,215 \pm 0,15$ a
<b>Flavonoides (mg CAT/100 g amostra) *</b>	$4,336 \pm 0,47$ a	$2,571 \pm 0,24$ b	$2,036 \pm 0,41$ b

\*Médias que não compartilham a mesma letra são significativamente diferentes pelo teste de Tukey e 95% de confiança.

Fonte: A autora

A concentração de CFT nos extratos de lúpulo foi igual entre as diferentes cultivares ( $p < 0,05$ ). Isso pode se dar pelo fato de que esses três cultivares de lúpulo são provenientes da variedade americana. Mesmo com essa similaridade entres eles, ELROD et al., (2019) estudou as diferenças bioquímicas de cada um, e descreveu diferenças na concentração de alfa-ácidos em cada. O lúpulo da variedade Chinook apresentou o teor de 10-15% de alfa-ácidos, já a variedade Comet, 8-11% seguido da variedade Cascade tem teor de 4-7%. Estes ácidos possuem estrutura aromática nas suas moléculas o que justifica a pequena variação entre ambos na concentração de CFT (Durello, *et al.*, 2019).

A concentração de flavonoides presentes nesses cultivares variou entre si, sendo que a variedade Chinook se diferenciou ( $p < 0,05$ ) das variedades Comet e Cascade, as quais foram similares entre si ( $p > 0,05$ ). Para a justificativa dessa diferença, SHI et al., (2019) avaliou as características de cultivares de lúpulos brasileiros e americanos, concluindo que os cultivares americanos apresentam maior concentração do flavonoide quercetina, composto que possui coloração amarela, e tem teor variável de 5 mg CAT /100g à 23 mg CAT/100g nos cones de lúpulo. Além disso, este é o composto responsável por apresentar a maior capacidade antioxidante, mediante os demais compostos encontrados nas estruturas lupulinicas. O kaempferol também é outro flavonoide encontrado no lúpulo em teores de 2 mg CAT/100g à 24 mg CAT/100g, esse encontrado em maior abundância em lúpulos com características de aroma (Durello, *et al.*, 2019).

## 5 Conclusão

Através das análises com as diferentes amostras de lúpulo foi possível observar que todas apresentaram concentrações de CFT de interesses tecnológicos. A utilização de extratos de lúpulo pode ser para além da indústria cervejeira, visando a utilização em outras áreas, como farmacêutica e médica. A concentração de flavonoides da variedade Chinook foi maior, bem com esta apresentou a maior concentração de CFT. O estudo aplicado desses flavonoides também é de interesse tecnológico, visto que o flavonoide majoritário presente no lúpulo é a quercetina, composto esse que pode ser utilizado como antioxidante na aplicação de filmes para inibição da oxidação dos alimentos.

Para estudos futuros, é de interesse a identificação desses compostos presentes no lúpulo com a finalidade da aplicação para além da indústria cervejeira, visto que estudos vêm sendo desenvolvidos para avaliar a capacidade de compostos específicos presentes no lúpulo para a utilização como agentes anticarcinogênicos.

## Referências Bibliográficas

BENVENUTTI, L.; ZIELINSKI, A. A. F.; FERREIRA, S. R. S. Which is the best food emerging solvent: IL, DES or NADES? **Trends in food science & technology**, v. 90, p. 133–146, 2019.

CHOI, Y. H.; VERPOORTE, R. Green solvents for the extraction of bioactive compounds from natural products using ionic liquids and deep eutectic solvents. **Current opinion in food science**, v. 26, p. 87–93, 2019.

DAI, Y. et al. Natural deep eutectic solvents as a new extraction media for phenolic metabolites in *Carthamus tinctorius* L. **Analytical chemistry**, v. 85, n. 13, p. 6272–6278, 2013.

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

ELROD, S. M. et al. Relationship between phenolic and antioxidant concentration of *Humulus lupulus* and alpha acid content. **Journal of the American Society of Brewing Chemists. American Society of Brewing Chemists**, v. 77, n. 2, p. 134–139, 2019.

RIGHI, E. et al. Análise bibliográfica da produção científica sobre lúpulo. **Cadernos de Gestão e Empreendedorismo**, v. 12, n. 1, p. 49–62, 2024.

SHI, G. J.; LI, Y.; CAO, Q. H.; WU, H. X.; TANG, X.Y.; GAO, X. H.; YU, J. Q.; CHEN, Z.; YANG, Y. (2019). *In vitro* and *in vivo* evidence that quercetin protects against 150 diabetes and its complications: A systematic review of the literature. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 109, p. 1085–1099.

STEVENS, J.F.; PAGE, J.E. (2004). Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: To your good health! **Phytochemistry**, 65, 1317–1330.

VERHAGEN, L. C. Beer flavor. Em: **Comprehensive Natural Products II**. [s.l.] Elsevier, 2010. p. 967–997.

WANG, X. et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidant and antimutagenic activities of polyphenols extracted from hops (*Humulus lupulus* L.). **Journal of the science of food and agriculture**, v. 94, n. 8, p. 1693–1700, 2014.

**Palavras-chave:** Cannabaceae, lúpulo, extração, compostos bioativos

**Nº de Registro no sistema Prisma:** PES-2023-0257

**Financiamento:** CNPQ