

MINIATURIZAÇÃO DO PREPARO DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE HUMULONAS E LUPULONAS EM LÚPULO

Lais Gomes Sanchez e Stanislau Bogusz Junior

Universidade de São Paulo (USP), Instituto de Química de São Carlos (IQSC)

lais.sanchez30@usp.br

Objetivos

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é um ingrediente essencial para a fabricação de cerveja, uma vez que, na sua composição são encontradas quantidades apreciáveis de humulonas e lupulonas (ou α -ácidos e β -ácidos).¹ Estes fitoquímicos são os responsáveis pelo amargor, frescor, equilíbrio de sabor e pela sensação de saciedade que a cerveja proporciona.^{1,2} Sendo assim, análises químicas de humulonas e lupulonas em lúpulo são fundamentais para que se possa calcular a quantidade certa de lúpulo que deve ser usada em cada receita cervejeira. No entanto, as metodologias oficiais para quantificação de humulonas e lupulonas em lúpulo utilizam um preparo de amostras baseado em extração sólido-líquido, com uso de 10 g de lúpulo e 120 mL de uma mistura de éter dietílico e metanol. Sendo assim, o emprego destas quantidades e de tais solventes, não se encaixa muito bem nos princípios da química analítica verde, uma vez que estes solventes são voláteis, inflamáveis, tóxicos e explosivos. Além disso, o volume de resíduos decorrente do uso destes solventes em uma análise de humulonas e lupulonas é expressivo, gerando cerca de 120 mL para cada replicata de extração. O objetivo geral desta pesquisa foi miniaturizar e substituir

os solventes orgânicos convencionais utilizados no preparo de amostras para análise de lúpulo por solventes alternativos, como é o caso dos terpenos limoneno, nerol, farnesol e eugenol, para em seguida quantificar as humulonas e lupulonas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD).

Métodos e Procedimentos

Neste estudo foram utilizadas amostras de lúpulo peletizado da variedade Cascade. As amostras foram analisadas seguindo os métodos oficiais da American Society of Brewing Chemists (ASBC), que incluem a determinação de umidade e teor de α e β -ácidos por HPLC.^{3,4} Para a etapa de miniaturização do preparo de amostras, foram utilizados apenas 500 mg de lúpulo e 1 mL de solvente em cada extração. Após a extração os analitos foram separados em uma coluna XDB-C18 (4,6 x 250 mm e 5 μ m de partícula) empregando fase móvel A composta por metanol, água Milli-Q, ácido fosfórico e solução de EDTA 4% (75:24:9:1), e fase móvel B composta por acetonitrila grau HPLC. A vazão foi de 1,0 mL/min, iniciando com um gradiente de 15% de B até 55% de B. O volume de injeção foi de 20 μ L e o detector ajustado para 314 nm. Todos os reagentes e

solventes empregados foram de grau cromatográfico ou superior.

Resultados

Na Figura 1 é possível observar os resultados de rendimento de extração em termos de área total de humulonas (isto é, cohumulona e n-+adhumulona) e lupulonas (colupulona e n-+adlupulona) empregando a mistura dos solventes orgânicos clássicos éter dietílico e metanol (80:20) e cada um dos terpenos testados nesta pesquisa. Nesta etapa foi utilizada a mesma massa de lúpulo (500 mg) e mesmo volume de cada um dos solventes (1 mL). É possível observar que os maiores valores de área total foram obtidos com o uso de terpeno nerol ($3,35\text{E}+08$), seguido por eugenol ($1,03\text{E}+08$), limoneno ($9,08\text{E}+07$), farnesol ($7,67\text{E}+07$), e finalmente com a mistura éter dietílico e metanol ($1,63\text{E}+07$). Embora o nerol tenha fornecido os melhores resultados de extração, optamos por dar seguimento a pesquisa com uso de eugenol, uma vez que o preço do nerol é muito superior ao do eugenol.

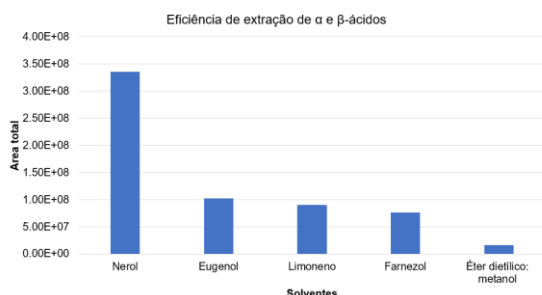


Figura 1: Gráfico representativo da eficiência de extração dos diferentes solventes empregados nesta pesquisa.

O preparo das amostras de lúpulo com uso de eugenol e com a mistura éter dietílico e metanol (controle) forneceram valores quantitativos muito próximos de humulonas e lupulonas, o que corrobora com a ideia inicial de que os solventes orgânicos

clássicos podem ser substituídos por terpenos o que está em maior acordância com os princípios da química analítica verde. Na figura 2 pode ser visualizado um cromatograma representativo da separação de humulonas e lupulonas com uso de eugenol como solvente de extração.

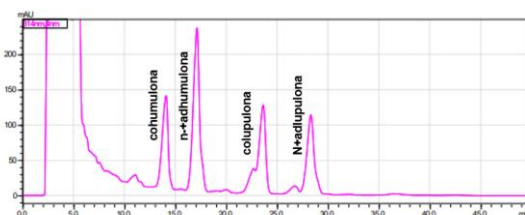


Figura 2: Cromatograma representativo da separação de humulonas e lupulonas com uso de eugenol como solvente de extração.

Conclusões

Nesta pesquisa buscou-se desenvolver uma alternativa ao preparo de amostras para a metodologia oficial de análise humulonas e lupulonas em lúpulo por HPLC, através da miniaturização do preparo e pela substituição dos solventes éter dietílico e metanol por terpenos. Sugere-se a continuidade desta pesquisa aplicando o método desenvolvido para outras variedades de lúpulo com níveis baixos, médios e altos de humulonas e lupulonas.

Referências

- [1] Baxter, E.D. & Hughes, P.S. Beer: quality, safety and nutritional aspects. RSC, 2001. ISBN: 0-8 5404-58 8-0.
- [2] Durello, R.S.; Silva, L.M.; Bogusz, S. Química do lúpulo. Química Nova, 2019, v. 42, 8, 900-919.
- [3] ASBC: Hops-4, moisture. DOI: 10.1094/ASBCMOA-Hops-4.
- [4] ASBC: Hops 14. α-and β-acids in hops, DOI: 10.1094/ASBCMOA-Hops-14.