

CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA – CCN
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Juliana Federsom de Moraes

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE α E β ÁCIDOS DO
LÚPULO APLICÁVEIS EM ALIMENTOS

Buri
2025

Juliana Federsom de Moraes

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE α E β ÁCIDOS DO
LÚPULO APLICÁVEIS EM ALIMENTOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para
a obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de
Alimentos na Universidade Federal de São
Carlos.

Orientadora: Prof^a Dr^a Thais Jordânia Silva

Coorientadora: Prof^a Dr^a Juliane Viganó

Buri

2025

de Moraes, Juliana Federsom

Avaliação de diferentes processos de extração de α e β ácidos do lúpulo aplicáveis em alimentos / Juliana Federsom de Moraes -- 2025. 39f.

TCC (Graduação) - Universidade Federal de São Carlos, campus Lagoa do Sino, Buri

Orientador (a): Thais Jordânia Silva

Banca Examinadora: Isabelle Cristina Oliveira Neves, Mayara de Souza Queirós

Bibliografia

1. α -ácidos e β -ácidos. 2. Extração assistida por ultrassom. 3. Humulus lupulus. I. de Moraes, Juliana Federsom. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática (SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Lissandra Pinhatelli de Britto - CRB/8 7539


FOLHA DE APROVAÇÃO

JULIANA FEDERSOM DE MORAES


AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE α E β ÁCIDOS DO LÚPULO APLICÁVEIS EM ALIMENTOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para a obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos na Universidade Federal de São Carlos.


Aprovado em 17/02/2025

Documento assinado digitalmente
 **THAIS JORDANIA SILVA**
Data: 18/02/2025 09:32:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª Dra. Thaís Jordânia Silva
Universidade Federal de São Carlos

Documento assinado digitalmente
 **ISABELLE CRISTINA OLIVEIRA NEVES**
Data: 20/02/2025 09:16:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª Dra. Isabelle Cristina Oliveira Neves
Universidade Federal de São Carlos

Documento assinado digitalmente
 **MAYARA DE SOUZA QUEIROS**
Data: 19/02/2025 17:24:12-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra Mayara de Souza Queirós
Cargill

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, que me deu força e perseverança para chegar até aqui, mesmo diante dos desafios. Agradeço à minha família, pelo apoio incondicional, por acreditarem em mim e me motivarem a continuar mesmo nas horas mais difíceis. Vocês sempre serão a minha base e inspiração.

Sou imensamente grata aos professores da UFSCar - Campus Lagoa do Sino, principalmente os do curso de Engenharia de Alimentos, por compartilharem conhecimento e contribuírem significativamente para a minha formação acadêmica e profissional. Cada aula, orientação e troca de ideias foi essencial para a construção deste trabalho e para o meu crescimento como futura engenheira de alimentos. Além disso, gostaria de agradecer especialmente às professoras Juliane Viganó e Thais Jordânia da Silva, que me orientaram e acompanharam ao longo de todo o trabalho. Agradeço também aos colegas de curso, em que alguns se tornaram grandes amigos ao longo desta jornada. Obrigada pelas risadas, pelas conversas e pelo suporte mútuo em momentos que foram tão difíceis ao longo da graduação. Sem vocês, o caminho teria sido muito mais difícil, não tenho dúvidas.

Por fim, agradeço à instituição Universidade Federal de São Carlos, principalmente ao campus Lagoa do Sino, por ter me proporcionado um ambiente agradável dentro desses 5 anos. E a Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) da Unicamp, por me conceder acesso aos laboratórios para realização das análises necessárias para a conclusão deste trabalho.

RESUMO

Antimicrobianos naturais se fazem necessários em face às demandas do mercado consumidor por alimentos *clean label*, tendo em vista que os consumidores estão em busca por alimentos que contenham ingredientes naturais, orgânicos ou até mesmo aqueles reduzidos em ingrediente nocivo à saúde. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método de extração para obter α -ácidos e β -ácidos a partir de lúpulo, vislumbrando aplicações antimicrobianas em alimentos. O lúpulo foi submetido a dois métodos de extração, por agitação e assistida por ultrassom, empregando três diferentes tipos de óleos de origem vegetal (óleo de girassol, óleo de soja e azeite de oliva). Além do tipo de solvente, os parâmetros de extração avaliados foram a temperatura (20-60 °C) e a fração entre massa de solvente e massa de amostra (1/10-30 g/mL). A matéria-prima foi caracterizada em relação à umidade e composição em α -ácidos e β -ácidos. A performance das extrações foi avaliada pelo rendimento e recuperação de α -ácidos e β -ácidos usando técnica espectrofotométrica. A melhor performance de extração foi obtida por agitação com o emprego do óleo de soja, a temperatura de 20 °C, e fração entre soluto e solvente de 1/20 (g/mL). Para a extração assistida por ultrassom, a potência de 280 W e o tempo de extração de 6 minutos foram as variáveis determinadas como as variáveis que apresentaram maior rendimento e recuperação. Os compostos extraídos obtidos nas melhores condições foram caracterizados quanto a propriedade reológica e acidez. Portanto, o trabalho avaliou diversas variáveis perante a extração por agitação e extração assistida por ultrassom, permitindo a escolha de parâmetros ideais para a aplicação futura dos antimicrobianos extraídos, em alimentos.

Palavras-chave: bioativos, ultrassom, α -ácidos, β -ácidos, *Humulus lupulus*, engenharia de alimentos, extração sólido-líquido, pellets.

ABSTRACT

Natural antimicrobials are necessary as substitutes for synthetic ones due to consumer market demands for clean-label foods. Over time, dietary consumption patterns have adjusted, with consumers seeking foods that contain natural or organic ingredients or those with reduced amounts of components perceived as harmful to health. The aim of this study was to develop an extraction method to obtain α -acids and β -acids from hops, aiming at antimicrobial applications in food. Hops were subjected to two extraction methods—agitation and ultrasound-assisted extraction—using three different types of plant-based oils (sunflower oil, soybean oil, and olive oil). In addition to the type of solvent, the extraction parameters evaluated included temperature (20–60 °C) and the ratio of solvent mass to sample mass (1/10–30 g/mL). The raw material was characterized in terms of moisture content and composition of α -acids and β -acids. The extraction performance was evaluated based on yield and recovery of α -acids and β -acids using spectrophotometric techniques. The best extraction performance was achieved through agitation using soybean oil at room temperature (20 °C) and a solute-to-solvent ratio of 1/20 (g/mL). For ultrasound-assisted extraction, a power of 280 W and an extraction time of 6 minutes were determined to be the conditions yielding the highest extraction efficiency and recovery. The extracts obtained under optimal conditions were further characterized in terms of rheological properties and acidity. Therefore, this study evaluated multiple variables in both agitation and ultrasound-assisted extraction methods, enabling the selection of ideal parameters for the future application of the extracted antimicrobials in food products.

Keywords: bioactives, ultrasound, α -acids, β -acids, *Humulus lupulus*, food engineering, solid-liquid extraction, pellets.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Localização geográfica das propriedades de lúpulo no Sudeste e Sul do Brasil (A) e no estado de São Paulo (B). Pontos verdes representam propriedades agrícolas, canecas de cerveja representam cervejarias que utilizam lúpulo nacional e Erlenmeyer representa laboratórios de análises químicas de lúpulo.....13
- Figura 2** - Estruturas químicas dos compostos alvo presentes nas flores do lúpulo: (a) cohumulona, (b) adhumulona, (c) colupulona, (d) adlupulona, (e) xanthohumol.14
- Figura 3** - Efeito da potência de extração por ultrassom na recuperação de α -ácidos (a) e β -ácidos (b) para tempo de 4 min e 1,5 g de amostra. Letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.29
- Figura 4** - Efeito do tempo de extração por ultrassom na recuperação de alfa-ácidos (a) e beta-ácidos (b) para potência de 280 W e 1,5 g de amostra. Letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.30
- Figura 5** - Comportamento reológico do óleo de soja e do blend de óleo de soja com óleo de lúpulo.32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentração de α -ácidos e β -ácidos nos pellets de lúpulo.....	23
Tabela 2 - Rendimento e recuperação de alfa e beta ácidos obtidos a partir da variação do tipo de solvente e da temperatura de extração para S/F igual a 1/20 (g/mL) e tempo de processo de 60 min.	24
Tabela 3 - Rendimento e recuperação de α -ácidos e β -ácidos obtidos a partir da variação do S/F (g/mL) para tempo de processo de 60 min e temperatura de 20 °C.	26
Tabela 4 - Rendimento e recuperação de α -ácidos e β -ácidos obtidos a partir da variação do tempo para S/F de 1/20 (g/mL) e temperatura de 20 °C.	27
Tabela 5 - Parâmetros obtidos para os óleos de soja e de lúpulo através do modelo ajustado de Newton.	32

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVO	11
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1 ANTIMICROBIANOS NATURAIS	12
3.2 LÚPULO	12
3.3 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO.....	15
4 MATERIAL E MÉTODOS	16
4.1 MATERIAL	16
4.2 PRÉ-TRATAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	16
4.2.1. Teor de umidade	16
4.2.2. Teor de α -ácidos e β -ácidos	17
4.3 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO.....	18
4.3.1 Extração por agitação.....	18
4.3.1.1. Determinação do tipo de solvente e temperatura de extração	18
4.3.1.2. Determinação da fração entre volume de solvente e massa de amostra	19
4.3.1.3. Determinação do tempo de extração (cinética)	19
4.3.2 Extração assistida por ultrassom	19
4.3.2.1 Determinação da potência de extração	20
4.3.2.2 Determinação do tempo de extração	20
4.3.3 Rendimento e recuperação de α -e β -ácidos	20
4.4 ANÁLISE DE RESULTADOS.....	21
4.5 ANÁLISE DE QUALIDADE DO ÓLEO APÓS EXTRAÇÃO	21
4.5.1. Acidez	21
4.5.2. Comportamento reológico	21
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	22
5.1.1 Teor de Umidade.....	22
5.1.2 Teor de α -ácidos e β -ácidos	23
5.2 EFEITO DAS VARIÁVEIS DA EXTRAÇÃO POR AGITAÇÃO.....	24
5.2.1 Tipo de solvente e temperatura de extração.....	24
5.2.2 Fração entre quantidade de soluto e de solvente.....	26
5.2.3 Tempo de extração (cinética).....	27
5.3 EFEITOS DAS VARIÁVEIS DA EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM.....	28
5.3.1 Potência do ultrassom	28
5.3.2 Tempo de extração.....	30
5.4 ESCOLHA DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO.....	31
5.5 ANÁLISE DE QUALIDADE DE ÓLEO EXTRAÍDO	31
5.5.1. Acidez	31
5.5.6. Comportamento reológico	32
6 CONCLUSÃO	33
7 REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

A necessidade de produtos naturais para aplicação em alimentos tem crescido nos últimos anos principalmente devido às demandas do mercado. O consumidor está cada vez mais exigente quanto à origem, composição e rota de fabricação dos itens que consomem. Diante dessa transformação do mercado consumidor, a indústria e a academia têm buscado alternativas aos sistemas tradicionais de produção (Bearth *et al.*, 2014). Entre essas mudanças está a necessidade de agentes antimicrobianos naturais substitutos aos sintéticos (Alzoreky, e Nakahara, K., 2003).

A motivação pela substituição dos antimicrobianos sintéticos se deve principalmente a dois fatores. O primeiro diz respeito ao uso indevido e manuseio incorreto de microrganismos, incluindo patógenos de origem alimentar que não apenas resistem a antibióticos, mas também são mais tolerantes a vários métodos de processamento e preservação. Além disso, o aumento da conscientização sobre o potencial impacto negativo dos conservantes sintéticos na saúde, a importância de produtos *clean label* e os benefícios dos aditivos naturais tem alavancado o interesse de pesquisadores e levado a indústria a procurar conservantes alternativos que possam melhorar a segurança e a qualidade dos alimentos (Gyawali; Ibrahim, 2014).

O lúpulo é uma matéria-prima milenar usada na fabricação de cerveja. Suas funções na bebida estão associadas às características sensoriais e à estabilidade microbiológica. São inúmeros os estudos reportados na literatura que mostram a ação antimicrobiana dos extratos desta matéria-prima contra vários microrganismos (Abiko *et al.*, 2022; Bogdanova *et al.*, 2018). No entanto, os compostos responsáveis pela ação antimicrobiana são majoritariamente extraídos por extração com dióxido de carbono supercrítico (Mihaylova *et al.*, 2013), uma vez que apresentam caráter apolar. A extração supercrítica apresenta um elevado custo para a implantação industrial. Portanto, estudos vêm sendo desenvolvidos em busca de técnicas de extração com maior rendimento de compostos alvos e baixo custo de implantação e operação (Khaw *et al.* 2017). Adicionalmente, o uso de solventes compatíveis com a produção em alimentos é fundamental para se alcançar a aplicação em formulações de alimentos, pois evitam etapas de evaporação e concentração do extrato.

A extração sólido-líquido para obtenção de compostos bioativos, incluindo compostos antimicrobianos, tem sido alvo de muita pesquisa nos últimos anos, como a pesquisa desenvolvida por Al-Dhabi *et al* (2017), em que foram investigados os resultados da extração sólido-líquido assistida por ultrassom de compostos fenólicos de resíduos de borra de café.

Diferentes técnicas e matérias-primas vêm sendo estudadas (Silva and Rangel, 2010), no entanto, são poucos os casos que conseguem superar a barreira laboratorial e alcançar aplicação industrial. Um dos principais desafios é a produção em grande escala e o custo de produção; tanto a disponibilidade da matéria-prima quanto o aumento da escala do processo precisam atender às escalas industriais e, além disso, o custo de produção deve ser viável a substituição dos agentes sintéticos (Wibowo; Zhao, 2019). Dentre algumas aplicações da extração sólido-líquido, tem-se a extração por agitação e a extração assistida por ultrassom, em que ambas possuem características individuais e vantagens comparativas, consistindo na extração de compostos solúveis de uma matriz sólida pela aplicação de um solvente (Jerman; Trebše; Mozetič Vodopivec, 2010).

A extração sólido-líquido obtida por agitação é um dos processos mais utilizados para extrair compostos de interesse de plantas, grãos e outros materiais biológicos, principalmente por ser simples e de baixo custo (Borges *et al.*, 2017). Por outro lado, a extração assistida por ultrassom é uma técnica mais moderna e tem o seu princípio baseado no emprego de ondas de alta frequência para extração de compostos solúveis presentes em uma matriz sólida, em que a cavitação resultante da alta frequência, gera microbolhas que auxiliam no processo de extração sólido-líquido, além de garantir um processo mais rápido e sustentável (Freitas, 2019).

Portanto, a busca por métodos de extração eficientes e de baixo custo é imprescindível para obtenção e aplicação dos compostos de interesse do lúpulo em alimentos, visando a conservação dos mesmos e a conversão dos experimentos laboratoriais em grandes soluções dentro da escala industrial de forma otimizada e o mais rentável possível.

2 OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo obter extrato de lúpulo usando tecnologias e solventes de baixo custo (agitação e ultrassom) vislumbrando aplicação em alimentos, e avaliar qualitativamente o óleo de melhor performance de extração após o processo.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ANTIMICROBIANOS NATURAIS

Compostos naturais têm apresentado forte potencial para serem usados na segurança do alimento devido às suas propriedades antimicrobianas contra uma ampla gama de patógenos de

origem alimentar. Esses compostos naturais incluem substâncias de origem vegetal, animal bacteriana, algas e cogumelos (Gyawali, Ibrahim, 2014; Lucera *et al.*, 2012).

A inibição de microrganismos em alimentos pela ação de agentes antimicrobianos naturais pode ser alcançada pela adição direta na formulação do produto, revestindo o produto com uma superfície contendo o antimicrobiano ou incorporando à embalagem do produto. A adição direta resulta na ação imediata, porém pode ter curto prazo de ação. Enquanto a ação pela embalagem ou filme de cobertura pode provocar a liberação gradativa por um período mais longo (Lucera *et al.*, 2012). Adicionalmente, antimicrobianos também podem ser encapsulados em nanopartículas, que promovem a liberação controlada, e incorporadas diretamente na formulação, na superfície, ou na embalagem primária do produto (Gyawali, Ibrahim, 2014).

As principais substâncias naturais com comprovada ação antimicrobiana incluem os óleos essenciais, compostos fenólicos, alcaloides, enzimas de fontes animais, bactericidas microbianas e polímeros naturais (Irkim; Esmer, 2015; Hintz *et al.*, 2015; Gyawali, Ibrahim, 2014; Pisoschi *et al.*, 2018). No entanto, a aplicação em alimentos é desafiadora; o agente antimicrobiano não deve apenas conservar o produto e estender sua vida útil, mas também, não pode alterar as propriedades tecnológicas, sensoriais e nutricionais do produto, o que impactaria em características sensoriais e nutricionais (Pisoschi *et al.*, 2018). Portanto, apesar de ser uma área vastamente estudada, ainda há oportunidade de pesquisa para descoberta de novas fontes antimicrobianas, validação na aplicação em alimentos, produção em escala industrial e com custo de produção reduzido.

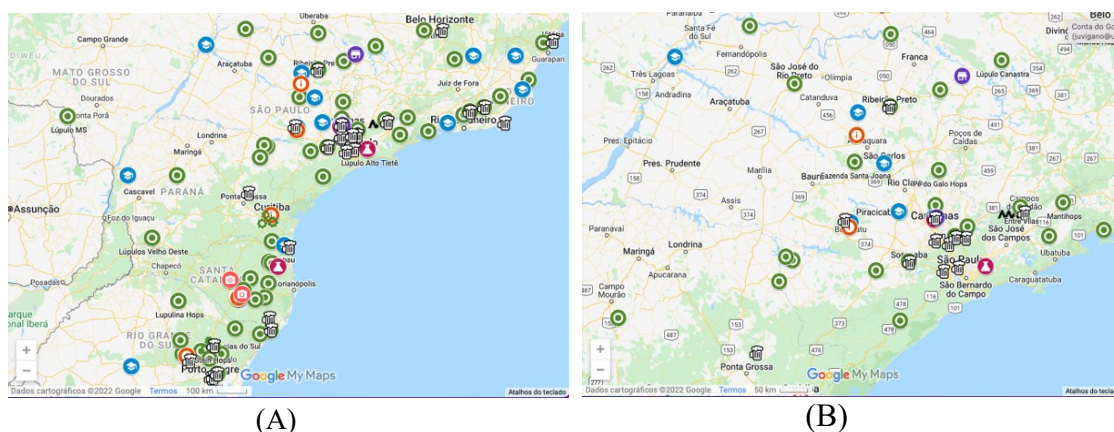
3.2 LÚPULO

As flores femininas ou cones de lúpulo fazem parte dos ingredientes essenciais na produção de cerveja. O lúpulo é uma planta da espécie *Humulus lupulus* que pertence à família Cannabaceae. Na produção cervejeira, o lúpulo pode ser utilizado através dos cones desidratados, no formato de pellets ou extrato (Damjanović; Varga, 2021). No entanto, sua aplicação vai além do uso na cerveja, há diversos produtos no mercado a base dessa matéria-prima, como extratos antimicrobianos e nutracêuticos.

A produção mundial de lúpulo está concentrada no hemisfério norte entre as latitudes 35° e 55°, sendo a Alemanha e os Estados Unidos os principais produtores (Pearson *et al.*, 2016). O Brasil importa quase toda sua demanda de lúpulo, no entanto, a partir de 2015 a produção nacional começou a ganhar destaque e hoje cresce em ritmo acelerado, o que é

altamente desejável para tornar o país menos dependente da importação. No estado de São Paulo, em particular na região administrativa de Sorocaba, estão os produtores de maior destaque em termos de quantidade e qualidade do lúpulo cultivado (Meirelles, 2021). Como é mostrado na Figura 1, os estados brasileiros que têm se destacado são Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo, nos quais predomina a produção da agricultura familiar. No entanto, a cultura ainda precisa superar muitos desafios para poder elevar a produção nacional.

Figura 1 - Localização geográfica das propriedades de lúpulo no Sudeste e Sul do Brasil (A) e no estado de São Paulo (B). Pontos verdes representam propriedades agrícolas, canecas de cerveja representam cervejarias que utilizam lúpulo nacional e Erlenmeyer representa laboratórios de análises químicas de lúpulo.



Fonte: Van den Bergen, 2022.

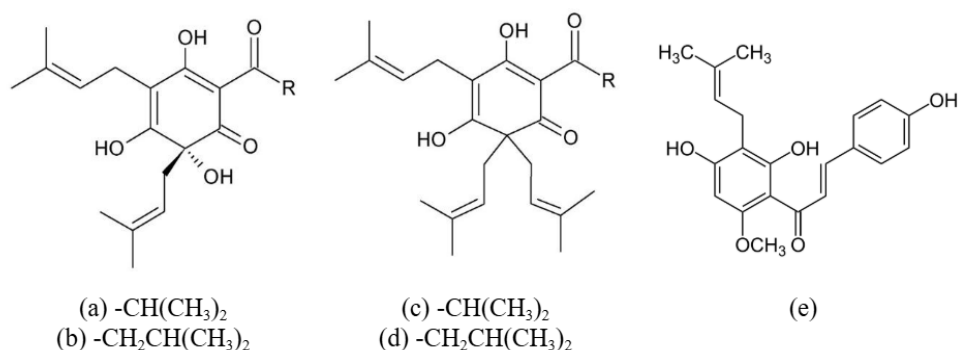
Em relação a industrialização de extrato de lúpulo, a primeira fração de extrato foi obtida em 1819 por destilação a vapor (Schönberger; Kostelecky, 2011). Desde então, técnicas de extração foram desenvolvidas e nos anos 70, técnicas de extração envolvendo fluidos pressurizados, especialmente fluidos supercríticos surgiram. Segundo Del Valle *et al.* (2003),

CO₂ é o solvente mais aceito para a manufatura do extrato dos cones de lúpulo. Tal processo de extração já tem sido usado na Austrália, Alemanha, Reino Unido e Estados Unidos.

O processo de extração com CO₂ permite a separação e da lupulina (pequenas partículas amarelas que estão localizadas dentro das inflorescências e protegido pelas brácteas e bractéolas da flor) do material vegetal da flor do lúpulo. A lupulina concentra os compostos de interesse do lúpulo que são as resinas moles (α -ácidos e β -ácidos) (Fergus, Graham 2006; Barth-Hass, 2016). A extração com CO₂ é seletiva de acordo com a pressão e temperatura usadas e por isso oferece a vantagem de produzir extratos a partir de lúpulo com elevada pureza. No entanto, é uma técnica que eleva o custo da implantação da planta industrial. E, portanto, técnicas de menor custo pode ser atrativas para substituir a extração com CO₂.

A ação antimicrobiana do extrato de lúpulo está associada aos α -ácidos (Figura 2(a) e (b)) e β -ácidos (Figura 2(c) e (d)) e alguns flavonóides como o xanthohumol (Figura 2(e)), devido à presença de radicais prenil (3-metil-but-2-en-1-il) nestas moléculas (Bocquet; Sahpaz; Rivière, 2018). O lúpulo é uma fonte rica nestes compostos. Os α -ácidos podem representar de 5 a 13% da massa no lúpulo, enquanto os β -ácidos podem variar de 5 a 15% da massa da matéria-prima. Por outro lado, xanthohumol pode estar presente de 0,3 a 1,5% (Durello; Silva; Bogusz, 2019).

Figura 2 - Estruturas químicas dos compostos alvo presentes nas flores do lúpulo: (a) cohumulona, (b) adhumulona, (c) colupulona, (d) adlupulona, (e) xanthohumol.



Fonte: Autoria própria, 2023.

3.3 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO

Os processos de extração a partir de matérias-primas vegetais sólidas são classificados como extração sólido-líquido. Na fase sólida se encontram os compostos de interesse, os quais se deseja separar com o emprego de um solvente geralmente líquido (Tadini *et al.*, 2015). A seleção do método de extração e do solvente são as primeiras tarefas no desenvolvimento da extração a partir de uma matéria-prima.

O método consiste na técnica usada e é caracterizado pelo princípio da técnica e pelas principais variáveis de controle. Em geral, temperatura, pressão, agitação, razão entre massa de sólido e solvente, tamanho das partículas, potência, frequência são as principais variáveis investigadas (Da Silva *et al.*, 2021). Durante anos, os processos de extração usavam solventes tóxicos; no entanto, atualmente há uma forte tendência para a aplicação de solventes reconhecidos como seguros, o que não oferece perigo aos produtos, operadores e meio ambiente (Nutrizio *et al.*, 2022)

Em relação aos solventes, além de aspectos de segurança, eles são selecionados com base no rendimento do composto alvo e a concentração dele no extrato; portanto, rendimento e seletividade são desejados na escolha dos solventes (Da Silva *et al.*, 2021). O índice de polaridade é um dos aspectos que devem ser considerados na escolha, de modo que solventes apolares promovem a extração de compostos apolares e solventes polares privilegiam a extração de compostos também polares (Mukherjee *et al.*, 2022).

Especificamente na extração a partir de lúpulo, CO₂ supercrítico tem sido o principal solvente usado na separação de α -ácidos e β -ácidos pois possibilita altos rendimentos e elevada concentração; extratos contendo em torno de 60% destes compostos podem ser obtidos por essa técnica. Enquanto frações de maior polaridade como os flavonoides são mais bem extraídos com solventes como etanol ou mistura de etanol e água (Meirelles, 2021). Do ponto de vista técnico, a extração com CO₂ supercrítico atende aos principais aspectos esperados de um processo de extração. Porém, apresenta elevado custo para a implantação das unidades de fabricação (Viganó; Zobot; Martínez, 2017).

O processo de extração com CO₂ permite a separação e da lupulina (pequenas partículas amarelas que estão localizadas dentro das inflorescências e protegido pelas brácteas e bractéolas da flor) do material vegetal da flor do lúpulo. A lupulina concentra os compostos de interesse do lúpulo que são as resinas moles (α -ácidos e β -ácidos) (Fergus, Graham 2006; Barth-Hass,

2016). A extração com CO₂ é seletiva de acordo com a pressão e temperatura usadas e por isso oferece a vantagem de produzir extratos a partir de lúpulo com elevada pureza. No entanto, é uma técnica que eleva o custo da implantação da planta industrial. E, portanto, técnicas de menor custo pode ser atrativas para substituir a extração com CO₂.

Dentro da revisão bibliográfica realizada neste projeto não foi verificado o uso de óleos vegetais como solventes de extração. Outrossim, óleos vegetais já foram usados como cossolventes com CO₂ supercrítico na extração de licopeno (Vasapollo *et al.*, 2004), astaxantina (Krichnavaruk *et al.* 2008), carotenóides (Sun e Temelli, 2006). No entanto, há desafios a serem superados quanto ao uso destes solventes, como maior viscosidade do que os solventes voláteis e maior dificuldade operacional na separação mecânica do extrato oleoso e matriz vegetal. Por outro lado, o uso de óleos vegetais como solventes pode trazer benefícios para futuras aplicações do extrato, pois se encontrará disponível para uso direto em formulações.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

O óleo de soja, girassol e azeite de oliva foram adquiridos em um supermercado local (Campina do Monte Alegre, SP, Brasil). A variedade de lúpulo Comet (em pellets), rica em α -ácidos e β -ácidos e com baixo teor de óleos essenciais, foi obtida da Fazenda IraHops, localizada na cidade de Itapetininga, SP, Brasil.

4.2 PRÉ-TRATAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

Os pellets foram desintegrados por moagem, com o auxílio de almofariz e pistilo e, então, armazenados ao abrigo da luz em temperatura de -18 °C para posterior uso.

4.2.1. Teor de umidade

O teor de umidade foi determinado de acordo com metodologia oficial 934.06 da AOAC (1997). Foram pesados 5 g de amostra de lúpulo, em cadinhos previamente secos e tarados. Posteriormente, os cadinhos foram colocados em estufa a temperatura de trabalho de 105 °C e mantidos sob estas condições durante 8 horas e 30 minutos, tempo necessário para que a amostra apresentasse massa constante. Após o período de secagem, o teor de umidade foi calculado pela Equação 1 e apresentado em base seca (Ubs).

$$Ubs \left(\frac{gde\acute{a}gua}{Ggdeamostra} \right) = \frac{Mam - Mf}{Mf} \times 100 \text{ (Equação 1)}$$

Em que Ubs é a umidade em base seca (%), Mam é a massa inicial da amostra (g) e Mf é a massa após secagem em estufa (g).

4.2.2. Teor de α -ácidos e β -ácidos

O teor de α -ácidos e β -ácidos foi determinado seguindo o método ASBC – HOPS 6A (ASBC, 2008). Em um béquer de 50 mL, foram pesados 10 g da amostra moída de pellets de lúpulo, obtida através da moagem com almofariz e pistilo. Após esse procedimento, uma alíquota de 0,75 g de amostra de lúpulo moído foi adicionada a um tubo de ensaio de 30 mL, e posteriormente diluída em 15 mL de tolueno. O tubo de ensaio foi envolvido por papel alumínio e acondicionado ao abrigo da luz e à temperatura ambiente, permitindo a ocorrência de extração *overnight*. Em seguida, 20 μ L do sobrenadante presente no tubo de ensaio foi pipetado em três tubos de ensaios de 10 mL, permitindo a análise em triplicata, e diluído em solução de hidróxido de sódio 6 mol/L. Após a triplicata ser preparada, e anteriormente à leitura da absorbância a 275 nm, 325 nm, 355 nm em espectrofotômetro (NOVA Instruments, 1600UV, Piracicaba, São Paulo), o denominado reagente branco foi preparado de maneira análoga às amostras de medição. As leituras foram realizadas e os teores de α -ácidos e β -ácidos foram calculados pelas Equações 2 e 3, respectivamente.

$$\alpha - \text{ácidos} \left(\frac{mg}{L} \right) = d(-51.56A_{355} + 73.79A_{325} - 19.07A_{275}) \text{ (Equação 2)}$$

$$\beta - \text{ácidos} \left(\frac{mg}{L} \right) = d(55.57A_{355} - 47.59A_{325} + 5.10A_{275}) \text{ (Equação 3)}$$

Em que, A_{355} é a absorbância a 355 nm, A_{325} é a absorbância a 325 nm, A_{275} é a absorbância a 275 nm e d é o fator de diluição do extrato.

4.3 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO

A extração dos compostos apolares do lúpulo foi realizada com três diferentes óleos comestíveis (óleo de soja, óleo de girassol e azeite de oliva), utilizando extração por agitação ou assistida por extração.

4.3.1 Extração por agitação

4.3.1.1. Determinação do tipo de solvente e temperatura de extração

Para determinar o tipo de solvente que melhor extraiu os compostos de interesse, foram realizadas extrações utilizando cada um dos três tipos de solventes escolhidos: óleo de soja, óleo de girassol e azeite de oliva. No entanto, anteriormente ao experimento, pelos solventes apresentarem densidades diferentes, e conseqüentemente massas diferentes, foi necessário estimar a massa específica de cada solvente, a qual foi realizada em picnômetro de vidro, a temperatura ambiente (20 °C) e usando a Equação 4.

$$\rho_i = \frac{m_i}{V} \text{ (Equação 4)}$$

Em que ρ_i é a densidade de cada solvente (g/mL), m_i é a massa de solvente (g) e V é o volume do picnômetro (mL).

A medição da massa específica de cada solvente foi importante também para manter a relação equilibrada entre a quantidade de soluto e solvente no sistema. Tal proporção é geralmente conhecida como relação S/F, onde S é referente a massa do soluto e F representa a massa de solvente, além de ser comumente associada a processos de extração sólido-líquido. Além disso, trabalhar dentro de um S/F ideal é fundamental para tornar uma extração mais eficiente e aumentar o rendimento de um processo (Mabesoone et al., 2020).

Para se manter a relação S/F de 1/20 (g/mL), 1 g de lúpulo moído foi adicionado em um béquer de 50 mL, no qual se adicionou 18,29 g de óleo de girassol ou 18,25 g de óleo de soja ou 18,17 g de azeite de oliva. Para que a temperatura ideal de extração também pudesse ser determinada, foram realizadas extrações para cada um dos tipos de óleo, nas temperaturas de 20 °C, 40 °C e 60 °C, sendo a temperatura aferida com o auxílio de um termômetro digital, durante todo o experimento. Em seguida, os béqueres tiveram suas superfícies cobertas por

papel alumínio e as amostras foram agitadas, por meio de agitador magnético, durante o período de 1 hora na temperatura desejada. Após este período, os béqueres foram colocados ao abrigo da luz e à temperatura ambiente para decantação, durante 1,16 h. A seguir, 20 µL do sobrenadante foi coletado, diluído com metanol alcalino em balões volumétricos de 10 mL. A leitura da absorbância das 27 amostras foi realizada em espectrofotômetro de microplacas a 275 nm, 325 nm e 355 nm (BMG Labtech, SPECTROstar Omega, Ortenberq, Alemanha).

4.3.1.2. Determinação da fração entre volume de solvente e massa de amostra

Nesta etapa, três diferentes S/Fs (g/mL) foram testados (1/10, 1/20 e 1/30), considerando a conversão do volume (mL) de solvente em gramas. O solvente utilizado foi o óleo de soja (18,25 g de óleo de soja, considerando a densidade). As amostras foram agitadas por 1 h a 20 °C, utilizando um agitador magnético, e posteriormente armazenadas à temperatura ambiente ao abrigo da luz, durante 70 minutos. Após separação de fases, 20 µL da solução foi diluída em metanol alcalino, em béqueres de 10 mL, e as amostras foram lidas em espectrofotômetro (NOVA Instruments, Spectrophotometer Model Nova 1600UV, Piracicaba, São Paulo), a 275 nm, 325 nm e 355 nm.

4.3.1.3. Determinação do tempo de extração (cinética)

Para determinação do tempo de extração ideal, a análise cinética foi realizada nos tempos de 5, 10, 20, 30, 45 e 60 minutos. As amostras foram preparadas levando em consideração um S/F de 1/20 (g/mL) e utilizando o óleo de soja como solvente para a extração por agitação, realizada à temperatura de 20 °C. Após o período de agitação e de descanso das amostras, 20 µL da solução foi diluída em metanol alcalino, em béqueres de 10 mL, e as amostras foram lidas em espectrofotômetro (NOVA Instruments, Spectrophotometer Model Nova 1600UV, Piracicaba, São Paulo), a 275 nm, 325 nm e 355 nm.

4.3.2 Extração assistida por ultrassom

Na extração assistida por ultrassom foram investigados a potência de ultrassom e o tempo de extração. O óleo de soja foi usado como solvente e o S/F foi de 1,5/27,4 (g de amostra/g de solvente), tendo em vista que o comprimento do transdutor não era suficiente para alcançar a solução.

4.3.2.1 Determinação da potência de extração

O lúpulo moído e o solvente (óleo de soja) foram adicionados em tubo cônico de centrifugação. Em seguida, em cada experimento, o ultrassom (Unique, modelo DES500, Indaiatuba, SP) foi configurado para as potências 200 W, 280 W e 360 W. O tempo de extração foi de 4 minutos e os experimentos foram realizados em triplicata. Vale ressaltar que a temperatura final das amostras foi mensurada, uma vez que a energia fornecida pelo ultrassom aumenta a temperatura do meio de extração. Após a extração, 2 mL do sobrenadante foram transferidos para tubos de microcentrífuga, os quais foram submetidos à centrifugação, durante 10 minutos a 5.589 g. Posteriormente, o sobrenadante foi novamente transferido para outros tubos de microcentrífuga, permitindo o armazenamento do extrato. Para a leitura nos comprimentos de onda de 275 nm, 325 nm e 355 nm, 20 µL de cada amostra foi colhido e adicionado em tubos cônicos de centrifugação e diluído em 9980 µL de metanol alcalino. E então, 200 µL destas soluções foram pipetados em microplaca e a leitura realizada em espectrofotômetro de microplacas (BMG Labtech, SPECTROstar Omega, Ortenberg, Alemanha).

4.3.2.2 Determinação do tempo de extração

A potência foi fixada em 280 W e o tempo foi estudado como variável. Neste caso, as extrações foram realizadas, em triplicata, para cada um dos tempos a seguir: 2, 4, 6, 8 e 10 minutos. Ressaltando que a temperatura foi mensurada ao final de cada extração. O preparo das amostras e a leitura foram realizados de forma análoga ao descrito na seção de avaliação da potência de extração.

4.3.3 Rendimento e recuperação de α -e β -ácidos

Os extratos foram analisados quimicamente como descrito na Seção 3.2 “a”. O teor total de α -ácidos e β -ácidos do extrato foi aplicado na Equação 5 para quantificar o rendimento da extração. A recuperação dos compostos alvos também foi avaliada (Equação 6), usando como referência o conteúdo total presente na matéria-prima.

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{teor do composto alvo } \left(\frac{g}{mL}\right) \times \text{volume de extrato (mL)}}{\text{massa de amostra (g)}} 100 \text{ (Equação 5)}$$

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{Rendimento}}{\text{Teor na matéria-prima}} 100 \text{ (Equação 6)}$$

4.4 ANÁLISE DE RESULTADOS

Os resultados foram expressos pela média e pelo desvio padrão das triplicatas experimentais. Análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey foram usados para verificar diferenças a 5% de significância através do software Statistica.

4.5 ANÁLISE DE QUALIDADE DO ÓLEO APÓS EXTRAÇÃO

Após otimização do processo de extração, a fração lipídica (óleo + extrato de lúpulo) obtida da extração por agitação com óleo de soja, a temperatura ambiente (20 °C), fração entre massa de soluto e massa de solvente de 1/20, a um tempo de agitação de 5 minutos, foi avaliada quanto às suas propriedades.

4.5.1. Acidez

A análise de acidez do óleo de soja contendo extrato de lúpulo foi realizada por titulação ácido-base, utilizando a metodologia AOCS Ca5a-40 (AOCS, 2009). Foram pesadas 1 g de amostra e adicionada ao álcool previamente neutralizado. A solução foi então titulada com hidróxido de sódio 0,1 mol/L e o teor de ácidos graxos livres (AGL) foi calculado com base na Equação 7.

$$\text{AGL (\% de ácido oleico)} = \frac{V \times N \times 28,2}{mA} \text{ (Equação 7)}$$

Em que V é o volume de hidróxido de sódio gasto na titulação (mL), N é a normalidade do hidróxido de sódio (N) e mA é a massa de amostra (g).

4.5.2. Comportamento reológico

A análise reológica da solução foi realizada utilizando um reômetro de tensão controlada Physical MCR101 (Anton Par, Alemanha) acoplado a um sensor de geometria placas paralelas de aço inoxidável, paralela PP50. A placa superior, com diâmetro efetivo de 49,98 mm foi

posicionada a uma distância (gap) de 0,1 mm em relação à placa inferior. A análise foi realizada a uma temperatura constante de 25 °C, por meio do sistema de controle térmico do equipamento. As curvas foram determinadas em três rampas contínuas (crescente, decrescente, crescente), com taxa de deformação variando de 0,001 a 300 s⁻¹, utilizando 2 min em cada curva. As determinações foram realizadas em triplicata e os dados da terceira curva de fluxo foram ajustados aos modelos de Herschel-Bulkley, Lei de Newton e Lei da Potência (Hasan; Khan, 2020).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

5.1.1 Teor de Umidade

O conteúdo de umidade na matéria-prima foi $11 \pm 0,16$ g/g matéria seca. A umidade é um dos principais parâmetros a serem avaliados quando se tem o objetivo de preservar características intrínsecas ou a qualidade das matérias-primas ou produtos, visto que o teor de água presente na matriz do material pode influenciar suas propriedades físicas, químicas e biológicas, podendo conseqüentemente impactá-lo negativamente, principalmente durante o seu período de armazenamento (Preetha; Narayanan, 2020).

Neste contexto, objetivando maior preservação dos compostos aromáticos e outros compostos de interesse, como α -ácidos e β -ácidos, é ideal que o teor de umidade do lúpulo esteja próximo a 10%, evitando degradação de substâncias relevantes e promovendo maior estabilidade durante seu armazenamento, principalmente admitindo-se que os compostos presentes no lúpulo podem ser degradados ou oxidados facilmente caso o seu estoque seja feito fora das condições favoráveis, como na presença de luz, altas concentrações de água e fora de refrigeração (Tedone *et al.*, 2020).

Portanto, partindo do ponto de que os pellets de lúpulo geralmente apresentam teor de umidade entre 8-11% (Rangel, 2016), e levando em consideração o teor obtido nesta pesquisa, pode-se afirmar que o ganho de umidade por parte dos pellets de lúpulo foi mínimo, e tal fato pode ser explicado pelo correto armazenamento, dentro de embalagem com fechamento hermético, e manipulação da variedade adquirida (Heřmánek; Rybka; Honzík, 2018).

5.1.2 Teor de α -ácidos e β -ácidos

O solvente empregado (tolueno) possui uma notável afinidade com os compostos aromáticos investigados neste estudo, uma vez que o tolueno é um solvente orgânico por natureza (Zhang; Gu; Peng, 2019). Além disso, sua característica volátil permitiu uma evaporação eficiente após a extração dos α -ácidos e β -ácidos, facilitando o processo de análise. Portanto, a utilização do tolueno desempenhou um papel significativo ao resultar em um teor dos compostos de interesse na faixa de 13-15% para α -ácidos e 6,6-7,4% para β -ácidos, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 - Concentração de α -ácidos e β -ácidos nos pellets de lúpulo.

Composto de interesse	Teor do composto na amostra (%)
α -ácidos	14,20 \pm 0,92
β -ácidos	7,15 \pm 0,39

Fonte: Autor, 2023.

No entanto, mesmo que o tolueno tenha demonstrado uma afinidade considerável perante os α -ácidos e β -ácidos, é importante salientar que este solvente possui um caráter tóxico, o que demanda a busca por solventes alternativos tão eficazes quanto o tolueno, porém com menor potencial de risco à saúde e ao meio ambiente, minimizando possíveis impactos adversos para aqueles que manuseiam esses compostos, à flora e à fauna (Forster *et al.*, 1994).

A cultivar de lúpulo Comet é uma das variedades utilizadas pelo mercado cervejeiro para conferir aroma e amargor aos produtos, devido ao seu perfil aromático distinto e que inclui notas de cítricos, picantes e herbais. Além disso, apresenta uma concentração de α e β -ácidos moderada, contemplando uma faixa de 6-12% 3-6,1%, respectivamente (Woodske, 2012). No entanto, as características e a composição em ácidos podem variar a cada safra e local de cultivo.

Sendo assim, ao comparar o teor de α -ácidos e β -ácidos no lúpulo com a literatura (Nesvadba; Straková; Trnková, 2023), é possível afirmar que os teores foram próximos ao que se era esperado segundo a literatura, apresentando um maior teor de α -ácidos. Este acontecimento pode ser explicado pelo emprego de diferentes tratamentos acerca das amostras, além de manuseio do tolueno, solvente utilizado nesta etapa.

5.2 EFEITO DAS VARIÁVEIS DA EXTRAÇÃO POR AGITAÇÃO

5.2.1 Tipo de solvente e temperatura de extração

A extração sólido-líquido é caracterizada pela extração do composto de interesse solúvel de um sólido, pelo emprego de um solvente líquido. Existem diversos fatores que influenciam diretamente a relação entre a substância a ser extraída e o tipo de solvente utilizado, como: as interações químicas entre soluto e solvente, a natureza do solvente quanto sua polaridade, a temperatura de extração, o tempo de contato, a razão sólido-líquido, a influência de agitação, e a presença de interferentes ou impurezas na matriz sólida (Costa, 2017).

A Tabela 2 apresenta uma visão comparativa das eficácias dos solventes óleo de soja, óleo de girassol e azeite de oliva na extração de α e β ácidos, fornecendo informações cruciais para a seleção do solvente mais apropriado para o processo.

Tabela 2 - Rendimento e recuperação de alfa e beta ácidos obtidos a partir da variação do tipo de solvente e da temperatura de extração para S/F igual a 1/20 (g/mL) e tempo de processo de 60 min.

Tipo de solvente	Temperatura (°C)	Rendimento de α -ácidos (%) ¹	Recuperação de α -ácidos (%) ¹	Rendimento de β -ácidos (%) ¹	Recuperação de β -ácidos (%) ¹
Óleo de Soja	20	16,71 ± 3,82 ^b	129,40 ± 26,92 ^c	6,13 ± 0,98 ^a	85,72 ± 13,69 ^a
	40	16,44 ± 2,05 ^{b, c}	115,79 ± 14,46 ^c	6,33 ± 0,31 ^{a, b}	88,51 ± 4,37 ^{a, b}
	60	18,20 ± 3,93 ^b	128,19 ± 27,67 ^c	7,13 ± 0,97 ^{a, c}	99,80 ± 13,62 ^{a, d}
Óleo de Girassol	20	15,07 ± 3,04 ^{b, d}	210,83 ± 42,56 ^b	5,04 ± 0,97 ^{b, d}	70,52 ± 13,61 ^{b, e, f}
	40	15,81 ± 2,73 ^{b, d}	221,13 ± 38,21 ^b	5,49 ± 1,10 ^{b, e}	76,79 ± 15,36 ^{c, e, b, f}
	60	22,90 ± 3,01 ^a	320,43 ± 42,16 ^a	7,47 ± 0,78 ^{a, c}	104,56 ± 10,85 ^{a, d}
Azeite de Oliva	20	12,16 ± 2,48 ^e	85,68 ± 17,50 ^d	4,05 ± 0,65 ^f	56,61 ± 9,07 ^g
	40	13,10 ± 3,68 ^{c, d, e}	92,24 ± 25,91 ^{c, d, e}	4,70 ± 0,86 ^{d, e, g}	65,69 ± 12,08 ^{f, h}
	60	17,63 ± 1,51 ^b	124,21 ± 10,60 ^c	5,38 ± 0,34 ^{b, g}	75,32 ± 5,82 ^{b, h}

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2023.

Os três solventes empregados são considerados apolares. Entretanto o azeite pode apresentar polaridade mínima e os óleos de soja e girassol polaridade moderada (Tang; You;

Wu, 2021), promovendo a extração, com maior ou menor eficiência, dos compostos de interesse, uma vez que os α -ácidos e β -ácidos são substâncias consideradas apolares (Feitosa *et al.*, 2022). A partir da polaridade dos óleos é possível explicar a diferença entre os valores de rendimento e recuperação, confirmando a baixa eficiência do azeite de oliva para solubilizar e extrair os compostos de interesse. Os óleos de soja e de girassol foram os mais eficientes quanto à extração de α -ácidos e β -ácidos. No entanto, apesar do rendimento e da recuperação encontrada para ambos os óleos terem obtido valores aproximados ($p > 0,05$), tanto para α -ácidos, quanto para β -ácidos, o custo do óleo de soja é menor quando comparado ao do óleo de girassol. Portanto, partindo do objetivo de minimizar os custos com processos de extração, o óleo de soja foi escolhido como o melhor solvente.

Em relação às temperaturas analisadas, é perceptível que a elevação da temperatura contribuiu para um maior rendimento e recuperação dos compostos de interesse ($p < 0,05$), independentemente do tipo de solvente empregado. Isso pode ser explicado pelo fato de que o aumento da temperatura contribui para o aumento da solubilidade dos compostos, ou seja, quanto maior a temperatura de extração, maior o rendimento e a recuperação dos compostos de interesse (Xilu *et al.*, 2022).

A temperatura está diretamente ligada à diminuição da tensão interfacial e à viscosidade do solvente (Kartika; Kurniawan; Kresna, 2023). A tensão interfacial é uma propriedade física que ocorre devido às forças de coesão entre as moléculas de um líquido em sua superfície e pode ser entendida como a quantidade de energia necessária para aumentar a sua área superficial ou romper a superfície entre duas substâncias imiscíveis, no caso de misturas (Hartland, 2004). Tal propriedade pode sofrer influência pelas características das substâncias envolvidas e também por condições ambientais, como pressão, fontes de contaminação e temperatura. Quanto maior a temperatura, menor a tensão interfacial, uma vez que o aumento da temperatura permite que as moléculas ganhem mais energia cinética (maior agitação) e sejam menos aderidas à superfície, visto que sua força de atração é reduzida (Fowkes, 1964).

Em contrapartida, a viscosidade é a propriedade física que mensura a resistência que um fluido tem ao escoamento, e, por isso, sua relação com a temperatura é dada em função a essa capacidade das moléculas de ganharem energia cinética e escoarem mais rapidamente, superando a resistência gerada pela viscosidade do fluido (Tadini, 2015). Sendo assim, no caso de uma extração sólido-líquido, é ideal que o solvente tenha um bom poder de arraste das substâncias requeridas da parte sólida, e com o aumento da temperatura, a maioria dos líquidos

tem sua viscosidade reduzida, facilitando esse enriquecimento da fase líquida com os compostos solúveis de interesse e o seu rendimento e recuperação em processos extrativos (Tadini, 2015). Por isso, o aumento da temperatura de extração permitiu valores de rendimento e recuperação de α -ácidos e β -ácidos mais altos (Tabela 2).

Levando em consideração tanto os fatores que influenciam o rendimento e a recuperação de α e β -ácidos, quanto a necessidade de desenvolver métodos de extração de baixo custo, a temperatura do processo de extração dos compostos do lúpulo com o emprego de óleo de soja, foi fixada em 20 °C, visto que é mais rentável utilizar temperaturas próximas a ambiente em vez de utilizar aquelas que necessitam de meio de aquecimento, pois elevariam o custo de processo.

5.2.2 Fração entre quantidade de soluto e de solvente

Partindo do princípio de que a razão entre soluto e solvente influencia na eficiência da extração sólido-líquido, experimentos foram realizados para averiguar três diferentes S/F na extração de α -ácidos e β -ácidos, e os valores de rendimento e recuperação são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Rendimento e recuperação de α -ácidos e β -ácidos obtidos a partir da variação do S/F (g/mL) para tempo de processo de 60 min e temperatura de 20 °C.

Tipo de solvente	S/F (g/mL)	Rendimento de α -ácidos (%) ¹	Recuperação de α -ácidos (%) ¹	Rendimento de β -ácidos (%) ¹	Recuperação de β -ácidos (%) ¹
Óleo de Soja	1/10	13,11 ± 3,34 ^b	92,34 ± 23,60 ^a	7,44 ± 0,78 ^b	104,07 ± 10,80 ^b
	1/20	16,71 ± 3,82 ^a	129,40 ± 26,92 ^a	6,13 ± 0,98 ^b	85,72 ± 13,69 ^b
	1/30	18,81 ± 3,02 ^{a, b}	132,51 ± 21,30 ^a	11,79 ± 2,59 ^a	164,94 ± 36,20 ^a

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2023.

Em geral, quanto maior a disponibilidade de solvente, maior a extração da substância de interesse. Apesar disso, existe o ponto de saturação do solvente, o qual pode ser definido como aquele em que a quantidade de soluto é igual ao seu coeficiente de solubilidade, ou seja,

é o momento em que já foi atingida a quantidade máxima de soluto que pode se solubilizar pelo solvente, e a partir dele não há mais extração do composto de interesse (Brown *et al.*, 2005). As frações entre massa de solvente e massa de amostra que obtiveram os melhores desempenhos em relação à extração sólido-líquido, foram os S/F de 1/20, em g/mL, (para rendimento de α -ácidos) e 30 mL/g (para rendimento e recuperação de β -ácidos), ou seja, os que utilizaram maior quantidade de solvente. Contudo, os valores de recuperação dos S/F de 1/20 g/mL e 30 g/mL são estatisticamente iguais ($p > 0,05$) para α -ácidos, fazendo com que a escolha seja novamente pautada em custos, ou seja, menor gasto de solvente. Portanto, pelo S/F de 1/20 g/mL utilizar menor volume de solvente este foi selecionado para seguir as etapas.

5.2.3 Tempo de extração (cinética)

Uma vez que o tipo de solvente (óleo de soja), a temperatura ideal de extração (20 °C) e a fração entre massa de soluto e massa de solvente (20 mL/g) foram determinados, foi realizada análise de cinética, onde a amostra foi submetida a agitação por 5, 10, 20, 30, 45 e 60 minutos (Tabela 4).

Tabela 4 - Rendimento e recuperação de α -ácidos e β -ácidos obtidos a partir da variação do tempo para S/F de 1/20 (g/mL) e temperatura de 20 °C.

Tipo de solvente	Tempo (min)	Rendimento de α -ácidos (%)	Rendimento de β -ácidos (%)	Recuperação de α -ácidos (%)	Recuperação de β -ácidos (%)
Óleo de Soja	5	53,10 ± 0,30 ^{b, c}	12,26 ± 0,54 ^{b, c}	373,99 ± 2,10 ^{a, b}	171,51 ± 7,49 ^{a, b}
	10	58,39 ± 1,63 ^{a, b, c}	12,24 ± 1,21 ^{a, b, c}	411,26 ± 11,45 ^a	171,24 ± 16,95 ^a
	20	48,43 ± 12,42 ^c	8,70 ± 1,38 ^c	341,10 ± 87,50 ^a	121,68 ± 19,25 ^a
	30	66,87 ± 3,79 ^a	14,57 ± 2,53 ^a	470,99 ± 26,69 ^a	203,78 ± 35,37 ^a
	45	53,79 ± 2,51 ^{b, c}	10,74 ± 1,62 ^{b, c}	379,91 ± 17,70 ^{a, b}	150,32 ± 22,68 ^{a, b}
	60	62,65 ± 1,07 ^{a, b}	13,98 ± 0,54 ^{a, b}	441,26 ± 7,55 ^a	195,54 ± 7,61 ^a

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2024.

A temperatura de extração é um fator crucial que afeta o rendimento e a qualidade dos compostos bioativos, uma vez que temperaturas elevadas podem levar à degradação das

substâncias de interesse, como no estudo realizado por Barbosa *et al.* (2016), em que os pesquisadores chegaram à conclusão de que o emprego de altas pode reduzir a concentração de fenólicos totais e a atividade antioxidante, neste caso, de milho de grãos pretos (Barbosa; Paes; Pereira, 2016). Sendo assim, o emprego de temperaturas mais baixas podem ser ideias para preservação da integridade dos compostos desejados. Além disso, o rendimento dos compostos de interesse pode ser influenciado por outras variáveis, que, quando combinadas ao efeito da temperatura, podem garantir um resultado de extração mais otimizado (Groeler, 2020).

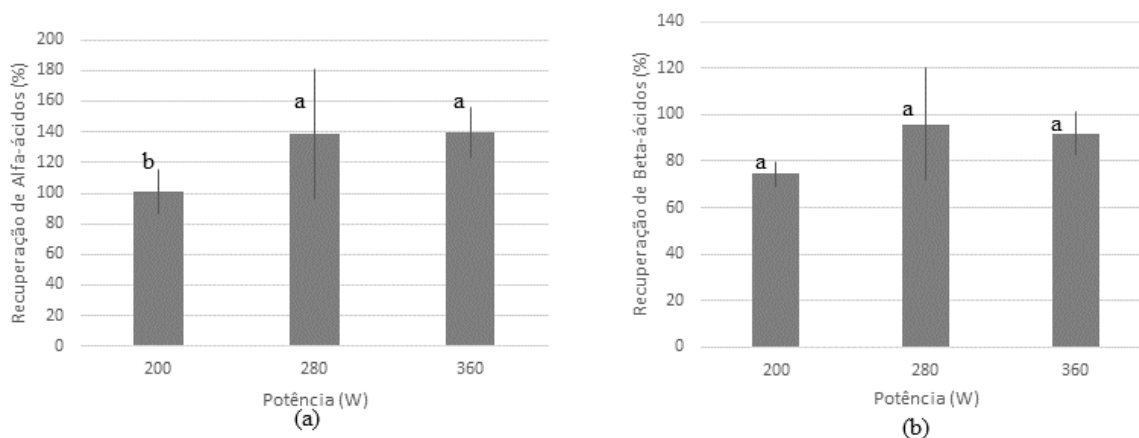
Sendo assim, levando em consideração os resultados apresentados na Tabela 4 e as demais condições de processo, o tempo de 5 minutos foi considerado eficiente para uma extração dos compostos próxima aos níveis registrados pela amostra em 60 minutos. Neste sentido, visando a otimização do tempo de processo, sem prejudicar a eficiência, o tempo de 5 minutos foi escolhido como o ideal para extração por agitação dos compostos de interesse.

5.3 EFEITOS DAS VARIÁVEIS DA EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM

5.3.1 Potência do ultrassom

A potência utilizada no ultrassom impacta diretamente a eficiência da extração de compostos. Este método tem como princípio a ação de ondas mecânicas de baixa frequência, as quais resultam na cavitação acústica do meio, favorecendo a formação e o colapso de bolhas de vapor que geram áreas de alta pressão e temperatura, as quais geram agitação turbulenta no solvente, aumentando a transferência de massa entre os compostos de interesse na matriz sólida e o solvente, ou seja, aumentando a eficiência de extração (Moreno *et al.*, 2022). A Figura 3 apresenta os ensaios de extração com as variáveis otimizadas assistido por ultrassom a diferentes potências (W).

Figura 3 - Efeito da potência de extração por ultrassom na recuperação de α -ácidos (a) e β -ácidos (b) para tempo de 4 min e 1,5 g de amostra. Letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Fonte: Autor, 2023.

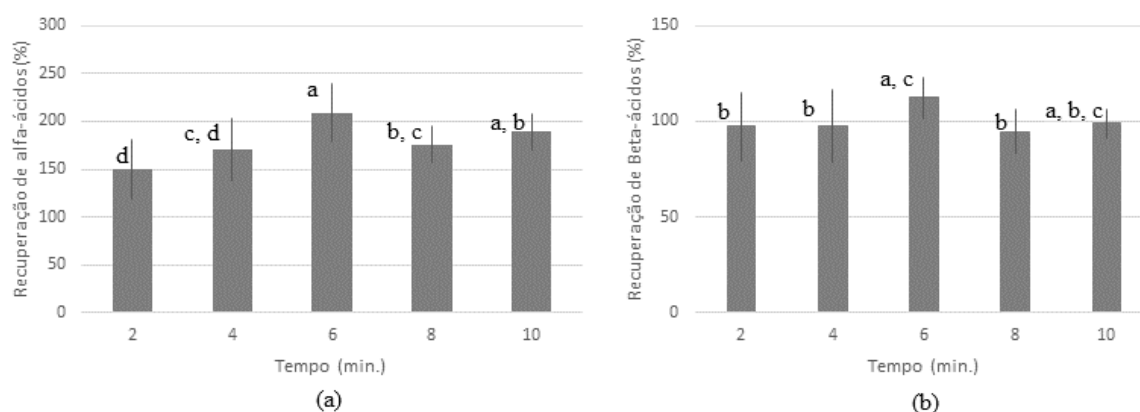
A Figura 3 mostra que as potências de 280 W e 360 W resultaram em uma maior recuperação de α -ácidos, o que pode ser explicado por uma maior cavitação e consequente agitação proporcionada pelo aumento da potência de trabalho. No entanto, ao analisar os desvios padrão calculados para cada um dos casos que apresentaram bons resultados, admite-se que a potência de 280 W foi a que proporcionou maior recuperação dos compostos de interesse, permitindo que ela fosse definida como a potência ideal de trabalho. Para recuperação de β -ácidos as potências de 200 W, 280 W e 360 W foram estatisticamente ($p > 0,05$) iguais.

Os valores médios de temperatura registrados após a extração foram 69 ± 8 °C, 98 ± 1 °C e 117 ± 2 °C, para 200 W, 280 W e 360 W, respectivamente, mostrando um aumento da temperatura conforme a potência do ultrassom cresce. A elevação da temperatura, apesar de contribuir para uma extração mais eficiente, pode contribuir com a degradação dos compostos de interesse, principalmente se forem termossensíveis. Neste sentido, apesar dos α e β -ácidos serem resistentes às altas temperaturas, sua exposição a essa condição pode contribuir para perda de sua estrutura química e funcionalidade, perdas por volatilidade, alteração na solubilidade desses compostos na matriz sólida e até desnaturação de enzimas presentes no extrato que contribuem com a eficiência da extração dos compostos desejados (Khan, 2010). Portanto, o ideal é que o processo de extração seja feito em condições de temperatura favoráveis para garantir um bom rendimento e uma boa recuperação das substâncias desejadas.

5.3.2 Tempo de extração

O tempo de extração é um parâmetro que influencia diretamente a eficiência com que o solvente consegue extrair as substâncias de interesse (Costa, 2017). Deste modo, foram analisados 5 tempos de extração assistida por ultrassom diferentes, variando de 2 a 10 minutos. E os dados de recuperação de α -ácidos e β -ácidos obtidos estão apresentados na Figura 4.

Figura 4 - Efeito do tempo de extração por ultrassom na recuperação de alfa-ácidos (a) e beta-ácidos (b) para potência de 280 W e 1,5 g de amostra. Letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Fonte: Autor, 2023.

Analisando os dados de recuperação de α -ácidos e β -ácidos apresentados durante a variação do tempo, pode-se concluir que o tempo de 6 minutos foi o mais eficiente para a extração dos compostos. Se apenas o fato de que quanto maior o tempo de contato do soluto com o solvente, maior a quantidade de substância de interesse solubilizada no solvente, fosse levado em consideração, o melhor tempo teria sido o de 10 minutos. No entanto, considerando que o aumento do tempo de extração, sob alta potência, gera aumento de temperatura, e esse aumento pode resultar na degradação dos compostos que deveriam ser extraídos. Portanto, o tempo de extração de 6 minutos foi considerado como ideal perante processo de extração que ocorre sob potência de 280 W, S/F de 1/20 (g/mL) e óleo de soja como solvente.

Os dois métodos de extração, por agitação e por ultrassom, obtiveram valores de recuperação acima de 100%, significando que a solução continha substâncias interferentes que

não foram completamente removidas durante a extração, como resíduos de lúpulo e óleos essenciais. Recuperações maiores do que 100% é interessante do ponto de vista industrial e econômico, pois, pode implicar na redução de custos, gerando maior economia por parte das indústrias que buscam processos cada vez mais rentáveis e que visam a extração de compostos aplicáveis em produtos, principalmente alimentos (Gruz et al., 2014).

5.4 ESCOLHA DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO

O método de extração por agitação foi escolhido devido à sua simplicidade e eficácia na obtenção de compostos antimicrobianos a partir dos pellets de lúpulo. O óleo de soja foi utilizado como solvente, junto às condições de temperatura ambiente (20 °C), razão solvente/soluto (S/F) de 1/20 g/mL e tempo de extração de 5 minutos, visando a maximização do rendimento.

5.5 ANÁLISE DE QUALIDADE DE ÓLEO EXTRAÍDO

5.5.1. Acidez

Avaliando o teor de ácidos graxos livres presentes na amostra analisada, é possível concluir que a solução de óleo contendo os compostos de interesse apresenta uma acidez de 0,6 % de ácido oleico ou 0,1194 mg KOH/g. O valor encontrado está dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação no Anexo III da Instrução Normativa - IN nº 87, de 2021, que indica que a acidez máxima permitida para óleos e gorduras refinados é de 0,6 mg KOH/g (Brasil, 2021). Considerando que a amostra passou pelo processo de extração dos compostos dos lúpulos, era esperado a maior presença de ácidos graxos livres, pois processos extrativos podem promover a liberação desses compostos a partir da matriz lipídica. Um aumento na acidez pode indicar uma degradação parcial do óleo, tornando-o mais suscetível à oxidação e reduzindo sua vida útil (Rodrigues, 2016). No entanto, o fato de a amostra permanecer dentro dos limites regulatórios indica que a extração dos compostos dos lúpulos não comprometeu significativamente sua qualidade.

5.5.6. Comportamento reológico

Os óleos de soja e o blend de óleo de soja + óleo de lúpulo se ajustaram ao modelo de Newton, como era esperado para óleos vegetais, uma vez que a tensão de cisalhamento foi

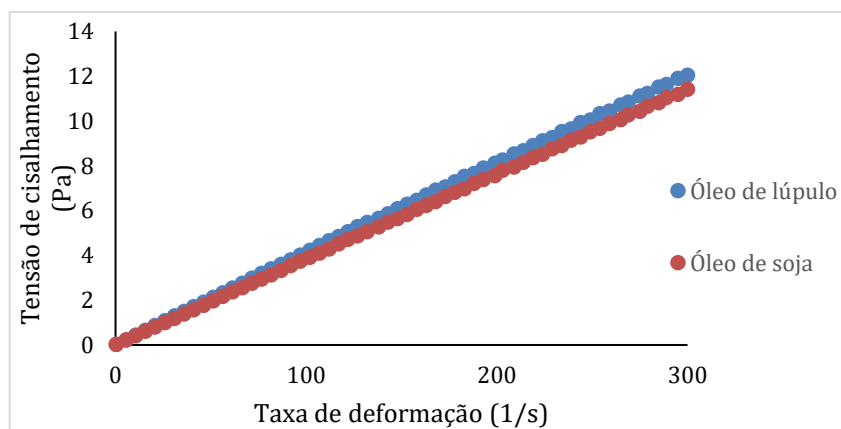
diretamente proporcional à taxa de deformação. Os parâmetros obtidos para os óleos através do modelo melhor ajustado estão dispostos na Tabela 6 e na Figura 5.

Tabela 5 - Parâmetros obtidos para os óleos de soja e de lúpulo através do modelo ajustado de Newton.

Amostra	μ (Pa.s)	Pr>t	R ²	Root MSE
Óleo de Soja	0,038 ± 0,000	<.0001	0,999	0,065
Blend de óleo de soja com óleo de lúpulo	0,041 ± 0,000	<.0001	0,999	0,103

Fonte: Autor, 2025.

Figura 5 - Comportamento reológico do óleo de soja e do blend de óleo de soja com óleo de lúpulo.



Fonte: Autor, 2025.

A viscosidade (μ) foi de 0,038 Pa·s para o óleo de soja e 0,041 Pa·s para o blend de óleo de soja com óleo de lúpulo, demonstrando que este último é ligeiramente mais viscoso. O alto coeficiente de determinação (R²) reforça o excelente ajuste ao modelo de Newton. A Figura 5, ilustra o comportamento reológico do blend de óleo de soja e óleo de lúpulo, mostra uma relação linear entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação, confirmando a natureza newtoniana do fluido.

Os fluidos de comportamento newtoniano apresentam vantagens industriais quando comparados aos fluidos que não seguem tal comportamento, facilitando os parâmetros de trabalho e até mesmo a aplicação em processos que envolvem produtos alimentícios. Dentre os principais benefícios encontra-se o controle preciso da consistência e textura dos alimentos, a previsibilidade e dimensionamento dos equipamentos e do processo, e a otimização dos processos em meio à facilidade de controle das variáveis que refletem e afetam o comportamento dos fluidos (Helibombas, 2023; Esss, 2017).

Além disso, a ligeira diferença na viscosidade do blend pode estar relacionada à sua composição química, possivelmente contendo uma maior proporção de solutos em comparação ao óleo de soja. Esses fatores devem ser considerados ao avaliar a aplicabilidade desses óleos em formulações alimentícias.

6 CONCLUSÃO

Foi explorado a obtenção de compostos naturais extraídos de pellets de lúpulo, visando oferecer alternativas mais saudáveis e seguras para a conservação de alimentos. Os resultados obtidos demonstraram a eficácia da extração de compostos antimicrobianos utilizando diferentes métodos: extração por agitação e a extração assistida por ultrassom. Os experimentos revelaram que o óleo de soja foi o solvente mais eficiente para a extração por agitação, com as condições de temperatura ambiente, S/F de 1/20 g/mL e tempo de extração por agitação de 5 minutos. Já a extração assistida por ultrassom com potência de 280 W e tempo de extração de 6 minutos também foram identificados como as condições mais propícias para obter os melhores rendimentos na extração dos compostos antimicrobianos. Sendo assim, os resultados sugerem que diferentes métodos e condições de extração podem ser otimizados para maximizar a obtenção de α -ácidos e β -ácidos, contribuindo para a formulação de produtos saudáveis e sem a adição de aditivos químicos. Em relação às análises de qualidade do blend de óleo de soja com óleo de lúpulo, o teor de ácido graxo livre presente na amostra se apresentou dentro da legislação. Quanto ao comportamento reológico, o óleo avaliado seguiu o comportamento esperado para óleos vegetais, apresentando um comportamento de fluido newtoniano. Assim, conclui-se que o objetivo de avaliar e comparar dois métodos de extração foi realizado no presente trabalho, obtendo-se as variáveis ideais para extração dos compostos de interesse do lúpulo (α - e β - ácidos) dentro das melhores condições experimentais. Agora vale expandir o potencial de aplicação do blend em alimentos, levando em consideração o potencial

antimicrobiano desempenhado principalmente pelos α -ácidos, mas sem desconsiderar os possíveis impactos das características sensoriais do blend de óleo de lúpulo e óleo de soja, especialmente a coloração esverdeada, na aparência, a cor, o sabor e outras propriedades dos alimentos a serem testados.

7 REFERÊNCIAS

ABIKO, Y.; PAUDEL, D.; UEHARA, O. Hops components and oral health. *Journal of Functional Foods*, [s.l.], v. 99, p. 105035, 2022. DOI: [10.1016/j.jff.2022.105035](https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105035).

AL-DHABI, N. A.; PONMURUGAN, K.; JEGANATHAN, P. MARAN. Desenvolvimento e validação da extração sólido-líquido assistida por ultrassom de compostos fenólicos a partir de resíduos de borra de café. *Ultrasonics Sonochemistry*, [s.l.], v. 34, p. 206-213, 2017. DOI: [10.1016/j.ultsonch.2016.05.005](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.05.005).

ALZOREKY, N. S., e NAKAHARA, K. (2003). Atividade antibacteriana de extratos de algumas plantas comestíveis comumente consumidas na Ásia. *Int. J. Microbiol Alimentar*. 80, 223–230. DOI: [10.1016/S0168-1605\(02\)00169-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00169-1)

ASBC Methods of Analysis, online. Hops-6, α - and β -Acids in Hops and Hop Pellets by spectrophotometry and conductometric titration, A. α - and β -Acids by Spectrophotometry [Release date 1959, revised 1976 and 2008].

BARBOSA, N. A.; PAES, M. C. D.; PEREIRA, J. Influência da temperatura e do solvente na obtenção de extrato de milho de grãos pretos. In: **CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO**, 31., 2016, Belo Horizonte. *Milho e sorgo: inovações, mercados e segurança alimentar*. Belo Horizonte: [entidade organizadora], 2016.

BEARTH, Angela; COUSIN, Marie-Eve; SIEGRIST, Michael. The consumer's perception of artificial food additives: Influences on acceptance, risk and benefit perceptions. *Food Quality and Preference*, [s.l.], v. 38, p. 14-23, 2014. DOI: [10.1016/j.foodqual.2014.05.008](https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2014.05.008).

BOGDANOVA, K. et al. Inhibitory effect of hop fractions against Gram-positive multi-resistant bacteria. A pilot study. 2018.

BOCQUET, L.; SAHPAZ, S.; RIVIÈRE, C.. An overview of the antimicrobial properties of hop. **Natural antimicrobial agents**, p. 31-54, 2018.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. *Instrução Normativa nº 87, de 15 de março de 2021*. Estabelece requisitos de composição de ácidos graxos, qualidade e rotulagem para óleos e gorduras vegetais. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 17 mar. 2021. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-87-de-15-de-marco-de-2021-307346495>. Acesso em: 27 jan. 2025.

BROWN, T. et al. **Química: a ciência central**. 9 ed. Prentice-Hall, 2005.

CAO, Y. e MIAO, L. (2023), "Percepção do consumidor de rótulos de alimentos limpos", *British Food Journal*, Vol. 125 No. 2, pp. 433-448. <https://doi.org/10.1108/BFJ-03-2021-0246>.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; [...] ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, [S.l.], v. 34, p. 540-560, 2017. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2016.06.035.

COSTA, L.M.A. Simulação da extração sólido-líquido de Vanilina de Favas de Vanilla planifolia. 2017. Monografia (Graduação em Engenharia Química) - UFU, [S. l.], 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/20349/1/Simula%C3%A7%C3%A3oExtra%C3%A7%C3%A3oS%C3%B3lido.pdf>. Acesso em: 19 ago. 2023.

DA SILVA, Laise C. et al. Recent advances and trends in extraction techniques to recover polyphenols compounds from apple by-products. **Food Chemistry: X**, v. 12, p. 100133, 2021.

DAMJANOVIĆ, K.; VARGA, I. World beer production and hops use. *Research Journal of Agricultural Science*, [S.l.], v. 53, n. 4, p. 127-135, 2021.

DEL VALLE, J. M. et al. Supercritical CO₂ extraction of Chilean hop (*Humulus lupulus*) ecotypes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 13, p. 1349-1356, 2003.

ESSS. Aprimorando processos na indústria de alimentos e bebidas com simulação. 2017. Disponível em: https://www.esss.com/blog/aprimorando-processos-na-industria-de-alimentos-e-bebidas-com-simulacao/?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 21 fev. 2025.

FEITOSA, C.M. et al. Óleos e gorduras: aspectos químicos, biológicos e farmacológicos. *Atomo*, 2022. 288 p.

FERGUS G. P.; GRAHAM, G. S.; **Handbook of Brewing**. Second Edition. Boca Raton, 2006.

FREITAS, Y. K. Extração assistida por ultrassom para determinação de lântano e cério em rochas de perfuração por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado. 2019. 41 f. Trabalho de conclusão de curso (Engenharia química) - UFSC, Florianópolis, 2019. Disponível em: https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/202625/TCC_FINAL_BU.pdf?sequencia=1. Acesso em: 11 set. 2023.

FORSTER, L.M.K. et al. Toxicologia do tolueno: aspectos relacionados ao abuso. **Rev. Saúde Pública**, 28: 167- 72, 1994.

FOWKES, F. M. Attractive Forces at Interface – The Interface Symposium 5 – Engenharia Química e Industrial, 1964, 56 (12).

GROELER, E. K. Estudo de processos de extração de cumarina em *Mikania glomerata* (Guaco). 2020. 103 f. Dissertação (Mestrado em Processos Químicos e Biotecnológicos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, 2020.

GRUZ, Ana Paula Gil; SILVA E SOUSA, Carla Guimarães; TORRES, Alexandre Guedes; PEREIRA FRE, Suely. Recuperação de compostos bioativos a partir do bagaço de uva. 2014. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/989651/1/2014015.pdf>. Acesso em: 24 fev. 2025.

GYAWALI, R.; IBRAHIM, S.A. Natural products as antimicrobial agents. **Food control**, v. 46, p. 412-429, 2014.

HARTLAND, S. Surface and interfacial tension measurement, theory and applications – Surfactant Science Series. Volume 119 – 11 de Março de 2004, CRC Press.

HELIBOMBAS. Diferentes fluidos no setor alimentício e o impacto das bombas helicoidais. 2023. Disponível em: https://helibombas.com.br/diferentes-fluidos-no-setor-alimenticio-e-o-impacto-das-bombas-helicoidais/?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 21 fev. 2025.

HEŘMÁNEK, P.; RYBKA, A.; HONZÍK, I. Determinação da taxa de umidade em partes do cone de lúpulo durante o processo de secagem em secador de esteira. *Pesquisa Agrônômica*, [S.l.], v. 53, n. 3, p. 215-224, 2018. DOI: 10.15159/AR.18.076.

IRKIN, R.; ESMER, O. K. Novel food packaging systems with natural antimicrobial agents. **Journal of food science and technology**, v. 52, n. 10, p. 6095-6111, 2015.

JERMAN, T.; TREBŠE, P.; MOZETIČ VODOPIVEC, B. Ultrasound-assisted solid liquid extraction (USLE) of olive fruit (*Olea europaea*) phenolic compounds. *Food Chemistry*, [S.l.], v. 119, n. 1, p. 86-92, 2010. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.04.006.

KARTIKA, A.; KURNIAWAN, A.; KRESNA, A. Análise do efeito da temperatura na viscosidade dos líquidos. *Jurnal Penelitian dan Pembelajaran Fisika Indonesia*, [S.l.], v. 5, n. 1, p. 1-9, 2023. DOI: 10.29303/jppfi.v5i1.214.

KHAN, M.K. et al. Ultrassond-assisted extraction of polyphenols (flavonone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. **Food Chemistry**, vol. 119, n. 2, p. 851-858, 2010.

KHAW, Kooi-Yeong; PARAT, Marie-Odile; SHAW, Paul Nicholas; FALCONER, James Robert. Solvent supercritical fluid technologies to extract bioactive compounds from natural sources: a review. *Molecules*, [s.l.], v. 22, n. 7, p. 1186, 2017. DOI: [10.3390/molecules22071186](https://doi.org/10.3390/molecules22071186).

KRICHNAVARUK, S. et al. Supercritical carbon dioxide extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* with vegetable oils as co-solvent. **Bioresource technology**, v. 99, n. 13, p. 5556-5560, 2008.

LUCERA, A.; COSTA, C.; CONTE, A.; DEL NOBILE, M. A. Food applications of natural antimicrobial compounds. *Frontiers in Microbiology*, v. 3, p. 287, 2012. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00287.

NUTRIZIO, M. et al. Toward Green Extraction Processes. **Sustainable Separation Engineering: Materials, Techniques and Process Development**, p. 519-561, 2022.

MABESOONE, Mathijs F. J.; PALMANS, Anja R. A.; MEIJER, E. W. Solute–solvent interactions in modern physical organic chemistry: supramolecular polymers as a muse. *Journal of the American Chemical Society*, v. 142, n. 47, p. 19781–19798, 11 nov. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/jacs.0c09293>.

MEIRELLES, A. A. D. Pesquisa e desenvolvimento para a obtenção de extratos do lúpulo (*Humulus lupulus*) usando tecnologia de fluidos pressurizados para a aplicação na indústria de bebidas: Relatório técnico submetido à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. Campinas – SP, 2021.

MIHAYLOVA, D. et al. Antimicrobial activity of supercritical fluid-carbon dioxide hop extracts. *Technology*, v. 2013, p. 18-19, 2013.

MINITAB BLOG EDITOR. Análise de regressão: Como interpretar o R-quadrado e avaliar a qualidade de ajuste. *Blog Minitab*, 27 mar. 2019. Disponível em: <https://blog.minitab.com/pt/analise-de-regressao-como-interpretar-o-r-quadrado-e-avaliar-a-qualidade-de-ajuste>. Acesso em: 02 de fev. 2025.

MORENO, L.F.A. et al. Ultrasound-assisted extraction for colorimetric determination of iron in soil: a comparison with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Química Nova*, p. 1284-1288, 19 ago. 2022. DOI <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170936>. Disponível em: <https://s3.sa-east-1.amazonaws.com/static.sites.s bq.org.br/quimicanova.s bq.org.br/pdf/NT2022-0110.pdf>. Acesso em: 19 ago. 2023.

MUKHERJEE, C. et al. Polarity-wise successive solvent extraction of *Scenedesmus obliquus* biomass and characterization of the crude extracts for broad-spectrum antibacterial activity. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 1-17, 2022.

NESVADBA, V.; STRAKOVÁ, L.; [...] TRNKOVÁ, S. Evaluation of variability of the content of alpha and beta acids in Czech bittering hop varieties (*Humulus lupulus* L.). *Kvasny Prumysl*, [S.l.], v. 69, p. 719-725, 2023. DOI: 10.18832/kp2023.69.719.

PISOSCHI, A. M. et al. An overview of natural antimicrobials role in food. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 143, p. 922-935, 2018.

PREETHA, S. S.; NARAYANAN, R. Fatores que influenciam o desenvolvimento de micróbios nos alimentos. *Shanlax Revista Internacional de Artes, Ciências e Humanidades*, [S.l.], v. 7, n. 3, p. 65-72, 2020. DOI: 10.34293/sijash.v7i3.473.

RANGEL, Julio. Produção de cerveja de álcool por fermentação interrompida. Teoria de Cerveja, 16 ago. 2024. Disponível em: <https://teoriadecerveja.blogspot.com/>. Acesso em: 20 fev. 2025.

RODRIGUES, Gabriela de Moura. Determinação de índices de acidez e de peróxido em azeite de oliva extra virgem acondicionado em embalagens plásticas sob diferentes exposições à luz. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Instituto Federal de Ciência e Tecnologia de São Paulo, Campus Barretos, Barretos, 2016.

SCHÖNBERGER, C.; KOSTELECKY, T. 125th anniversary review: the role of hops in brewing. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 117, n. 3, p. 259-267, 2011.

SILVA, T. B.; RANGEL, E. T. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ETANÓLICO DO TOMILHO (*Thymus vulgaris* L.) IN VITRO. Revista.

SUN, M.; TEMELLI, F. Supercritical carbon dioxide extraction of carotenoids from carrot using canola oil as a continuous co-solvent. **The Journal of supercritical fluids**, v. 37, n. 3, p. 397-408, 2006.

TADINI, C.C.; TELIS, V.R.N.; MEIRELLES, A.J.A.; PESSOA-FILHO, P.A. (Eds) Operações Unitárias na Indústria de Alimentos, Vol 1. Rio de Janeiro: LTC, 2015. 690p.

TANG, J.; YOU, G.; [...] WU, S. Antioxidant behavior affected by polarity in the olive oil: Experimental and molecular simulation investigations. *ACS Omega*, [S.l.], v. 6, n. 5, p. 3090-3100, 2021. DOI: 10.1021/acsomega.1c00120.

TEDONE, L. et al. Hop (*Humulus lupulus* L.) Volatiles Variation During Storage. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, v. 78, n. 2, p. 114–125, 2020.

VASAPOLLO, G. et al. Innovative supercritical CO₂ extraction of lycopene from tomato in the presence of vegetable oil as co-solvent. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 29, n. 1-2, p. 87-96, 2004.

VIGANÓ, J.; ZABOT, G. L.; MARTÍNEZ, J. Supercritical fluid and pressurized liquid extractions of phytonutrients from passion fruit by-products: economic evaluation of sequential multi-stage and single-stage processes. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 122, p. 88-98, 2017.

WIBOWO, D.; ZHAO, C. X. Recent achievements and perspectives for large-scale recombinant production of antimicrobial peptides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, [S.l.], v. 103, n. 4, p. 1481-1496, 2019. DOI: 10.1007/s00253-018-9524-1.

WOODSKE, D. Hop Variety Handbook: Learn More About Hops. Create Better Beer. CreateSpace Independent Publishing Platform, 2012.

ZHANG, M.; GU, L.; [...] PENG, J. Análise comparativa de polímeros molecularmente impressos com atrazina usando acetonitrila e tolueno como solventes. *Journal of Applied Polymer Science*, [S.l.], v. 136, n. 2, p. 47190, 2019. DOI: 10.1002/app.47190.