



---

**ValorNatural** – Valorização de Recursos Naturais através da Extração de Ingredientes de Elevado Valor Acrescentado para Aplicações na Indústria Alimentar.

---

## **Entregável nº 4.1.4**

**Versão do Documento:** 1

**Data de Submissão:** 30/12/2020

**Responsável:** UP (FEUP-LSRE)

**Nome do Documento:** Caracterização organolética dos aromas produzidos por extração supercrítica e dos hidrolatos

### **Histórico de Revisão**

<b>Revisão</b>	<b>Data</b>	<b>Parceiros Envolvidos</b>	<b>Descrição</b>

**Lista de Autores**

Profa. Dra. Madalena Dias

Dra. Isabel Martins

Dra. Vanessa Vieira

Me. Júlia Cristiê Kessler

## **Resumo**

O presente entregável destina-se à apresentação de resultados provenientes da análise sensorial de extratos de aromas de plantas aromáticas (alecrim, tomilho e orégãos) e frutos secos (avelã, amêndoa e noz), assim como os respetivos padrões comerciais. Nesse sentido, foram realizados diversos ensaios para determinar o *Odor Threshold* (ODT) de cada amostra, definindo o limiar mínimo de perceção dos odores em causa, bem como a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), para obter o perfil de descritores sensíveis ao olfato humano correspondente às mesmas.

Paralelamente, o estudo toxicológico de todas as matérias-primas e padrões comerciais viabilizou a definição de intervalos de concentração sensorialmente ideais e seguros à saúde humana, para incorporação em produtos de panificação de modo a enriquecer o potencial aromático do mercado de interesse.

## Índice

<b>1</b>	<b>Identificação</b> .....	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>Informação</b> .....	<b>6</b>
	<b>Referências</b> .....	<b>17</b>

## 1 Identificação

<b><i>Deliverable</i></b>	E 4.1.4 - Caracterização organolética dos aromas produzidos por extração supercrítica e dos hidrolatos
<b>Tipo de <i>deliverable</i></b>	Relatório
<b>Nível de disseminação</b>	Confidencial
<b>PPS</b>	4. Aromas e modelos de aromas

## 2 Informação

Os extratos de aromas de plantas aromáticas e frutos secos destinam-se à incorporação em produtos alimentares, especificamente em produtos de panificação. Numa primeira fase, os extratos obtidos foram devidamente caracterizados do ponto de vista químico (composição em voláteis). De seguida, e atendendo aos requisitos de segurança alimentar, tornou-se essencial avaliar o potencial citotóxico dos ingredientes aromatizantes/odorizantes obtidos pelos diferentes métodos de extração. Adicionalmente, e sempre que possível, os resultados foram comparados aos de padrões comerciais (grau alimentar) das mesmas matrizes naturais. O potencial citotóxico dos hidrolatos resultantes da hidrodestilação de plantas aromáticas (frescas e desidratadas) foi também avaliado, como previsto na Atividade 4.1. Todos os ensaios relativos ao potencial citotóxico foram realizados em colaboração com o CIMO e, para o efeito, foram utilizadas células não tumorais de rim de macaco (células *Vero*).

Os hidrolatos não concentrados de cada uma das amostras foram diretamente colocados em contacto com as culturas celulares *Vero*, atendendo o seu baixo rendimento em base seca (**Tabela 3** do Entregável 4.1.3, julho de 2020). Em suma, nenhum dos extratos de hidrolato inibiu a proliferação celular da cultura *Vero*, o que se traduziu em resultados de  $GI_{50} > 5\%$  (**Tabela 1**). Esta percentagem traduz o volume de amostra total (10  $\mu$ L) colocado em contacto com a suspensão celular (290  $\mu$ L) <sup>[1]</sup>.

Relativamente ao potencial citotóxico de extratos de plantas aromáticas (SFE e OE), verifica-se que para o alecrim (*Rosmarinus officinalis*), os valores de  $GI_{50}$  rondam a mesma ordem de grandeza, independentemente do estado da planta (fresca ou desidratado) ou técnica de extração aplicada ( $GI_{50}$  compreendidos entre 219  $\mu$ g/mL a 263  $\mu$ g/mL). O mesmo não se verificou com os extratos de tomilho bela-luz (*Thymus mastichina*), onde os valores de  $GI_{50}$  dos extratos obtidos por  $CO_2$  supercrítico ( $235 \pm 7$   $\mu$ g/mL e  $272 \pm 24$   $\mu$ g/mL, respetivos a planta fresca e desidratada) foram superiores (menor potencial citotóxico) aos obtidos para os óleos essenciais da mesma matéria-prima ( $GI_{50} = 122 \pm 11$   $\mu$ g/mL e  $65 \pm 0,9$   $\mu$ g/mL, planta fresca e desidratada, respetivamente). Finalmente, apenas recorrendo à extração por  $CO_2$  supercrítico foi possível a obtenção de aromas de orégãos (*Origanum vulgare*), onde o extrato da planta fresca ( $GI_{50} = 178 \pm 4$   $\mu$ g/mL) apresentou maior potencial citotóxico comparativamente à sua forma desidratada ( $GI_{50} = 313 \pm 19$   $\mu$ g/mL).

Uma vez que os extratos de aromas de plantas aromáticas produzidos no âmbito deste projeto apresentarem concentrações inibitórias inferiores a 400 µg/mL, tornou-se importante comparar os resultados obtidos com os de padrões comerciais disponíveis no mercado. Relativamente ao padrão comercial de alecrim, este apresentou menor potencial citotóxico do que qualquer um dos extratos obtidos ( $GI_{50} = 400 \mu\text{g/mL}$ ). Por outro lado, o padrão de orégãos apresentou valores de citotoxicidade numa ordem de grandeza abaixo ( $GI_{50} = 31,9 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$ ) comparativamente aos extratos obtidos por  $\text{CO}_2$  supercrítico. Por fim, o padrão comercial de tomilho revelou-se tão tóxico ( $GI_{50} = 83,5 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$ ) quanto o extrato de tomilho bela-luz que mais inibiu a proliferação das células *Vero* (OE de planta desidratada;  $GI_{50} = 65 \pm 0,9 \mu\text{g/mL}$ ).

**Tabela 1.** Análise toxicológica de extratos de plantas aromáticas, frutos secos e respetivos padrões comerciais em células *Vero* (média  $\pm$  DP).

Amostra	Fresca			Desidratada			Padrão comercial
	SFE	OE	HD	SFE	OE	HD	
<u>Células <i>Vero</i> (<math>GI_{50}</math>, µg/mL)</u>							
<b>Plantas aromáticas</b>							
<i>Rosmarinus officinalis</i>	248±23	263±17	> 5%	227±10	219±3	> 5%	> 400
<i>Thymus mastichina</i>	235±7	122±11	> 5%	272±24	65±0,9	> 5%	83,5±0,1
<i>Origanum vulgare</i>	178±4	-	> 5%	313±19	-	> 5%	31,9±0,1
<b>Frutos secos</b>							
<i>Corylus avellana</i>	-	-	-	254±14	-	-	-
<i>Juglans regia</i>	-	-	-	177±12	-	-	-
<i>Prunus dulcis</i>	-	-	-	> 400	-	-	228±3

SFE: extratos obtidos por extração de  $\text{CO}_2$  supercrítico; OE: óleo essencial; HD: hidrolato.

No que concerne aos resultados de citotoxicidade de frutos secos, destaca-se o extrato de amêndoa, que não inibiu a linha celular *Vero* na gama de concentrações aplicada ( $GI_{50} > 400 \mu\text{g/mL}$ ), seguindo-se a avelã ( $GI_{50} = 254 \pm 14 \mu\text{g/mL}$ ) e as nozes ( $GI_{50} = 177 \pm 12 \mu\text{g/mL}$ ). Em contrapartida, o padrão comercial da amêndoa revelou inibir a proliferação da mesma linha celular a concentrações médias de 228 µg/mL. Deste modo, a extração de aromas de amêndoas por solvente supercrítico conduziu a um produto menos tóxico comparativamente a um outro já existente no mercado.

O estudo preliminar referente ao potencial citotóxico dos extratos de plantas aromáticas e frutos secos, bem como dos seus equiparáveis padrões comerciais,

representa um passo extremamente importante para se definir as concentrações/doses máximas que poderão ser utilizadas aquando à incorporação em alimentos, nomeadamente no pão. Por outro lado, a concentração mínima de extrato a incorporar baseia-se na análise sensorial dos mesmos, mais concretamente pela determinação do *Odor Threshold* (ODT), ou seja, o limiar mínimo de concentração em que, pelo menos, 50% dos avaliadores sentiram algum estímulo relativo à amostra em causa. Nesse sentido, procedeu-se à avaliação sensorial (olfativa) de todas as amostras em estudo, com exceção dos hidrolatos que, atendendo aos baixos rendimentos quando liofilizados, apresentam um menor potencial de aplicação neste contexto comparativamente aos extratos ricos em terpenóides (SFE e OE). Adicionalmente, não foi possível realizar a análise sensorial do óleo essencial de tomilho bela-luz desidratado, em função do baixo rendimento por hidrodestilação. Neste caso particular, o OE obtido foi apenas suficiente para avaliação de potencial citotóxico.

As análises sensoriais foram conduzidas de acordo com a normativa da *International Standard Organization* (ISO, 8586:2012(E) – *Sensory analysis - General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors*<sup>[2]</sup>. A avaliação foi realizada por 12 avaliadores (10 mulheres e 2 homens), com idades compreendidas entre os 20 e 45 anos, em 3 séries de testes. As sessões foram realizadas individualmente, sendo a sala higienizada ao fim de cada ensaio e em condições de temperatura e iluminação semelhantes. Os testes de ODT e ADQ foram conduzidos sequencialmente, de acordo com cada amostra apresentada ao avaliador.

Os extratos das plantas aromáticas e frutos secos, assim como respetivos padrões comerciais, foram diluídos em água desionizada em frações que variaram de  $1,0 \times 10^{-8}$  a  $1,0 \times 10^{-2}$ , escala de grandeza definida em testes preliminares, dispostos em frascos de polipropileno com tampa, cobertos com algodão, e mantidos à temperatura média de 40 °C<sup>[3]</sup>.

Previamente à realização dos ensaios de ADQ, quatro avaliadores participaram na definição dos descritores e inquérito utilizados em análise, como apresentado no 4º Relatório de Execução Semestral, Anexo 2.

As amostras foram codificadas aleatoriamente com três dígitos e apresentadas monodicamente. A **Figura 1** ilustra a análise sensorial a decorrer, onde se podem observar as condições de segurança e saúde a favor do bem-estar do avaliador, tendo sido adotadas medidas preventivas contra a proliferação de COVID-19.





**Figura 1.** Avaliador voluntário durante a análise sensorial de *Odor Threshold* (ODT) e Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) de extratos de plantas aromáticas e frutos secos.

A **Tabela 2** apresenta os valores de ODT obtidos para todos os extratos analisados e padrões comerciais adquiridos.

**Tabela 2.** Valores de ODT para extratos obtido por CO<sub>2</sub> supercrítico e hidrodestilação (óleos essenciais) e padrões comerciais de plantas aromáticas, frescas e desidratadas, e frutos secos, em  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

Amostra	Fresca ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )		Desidratada ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )		Padrão comercial ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
	SFE	OE	SFE	OE	
<b>Plantas aromáticas</b>					
<i>Rosmarinus officinalis</i>	$3,0 \times 10^{-4}$	$4,0 \times 10^{-5}$	$3,0 \times 10^{-3}$	$2,3 \times 10^{-4}$	$5,0 \times 10^{-4}$
<i>Thymus mastichina</i>	$6,3 \times 10^{-4}$	-	$5,0 \times 10^{-3}$	$3,0 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-4}$
<i>Origanum vulgare</i>	$1,0 \times 10^{-4}$	-	$2,3 \times 10^{-3}$	-	$5,0 \times 10^{-5}$
<b>Frutos secos</b>					
<i>Corylus avellana</i>	-	-	$3,0 \times 10^{-4}$	-	-
<i>Juglans regia</i>	-	-	$8,3 \times 10^{-4}$	-	-
<i>Prunus dulcis</i>	-	-	$6,9 \times 10^{-3}$	-	-

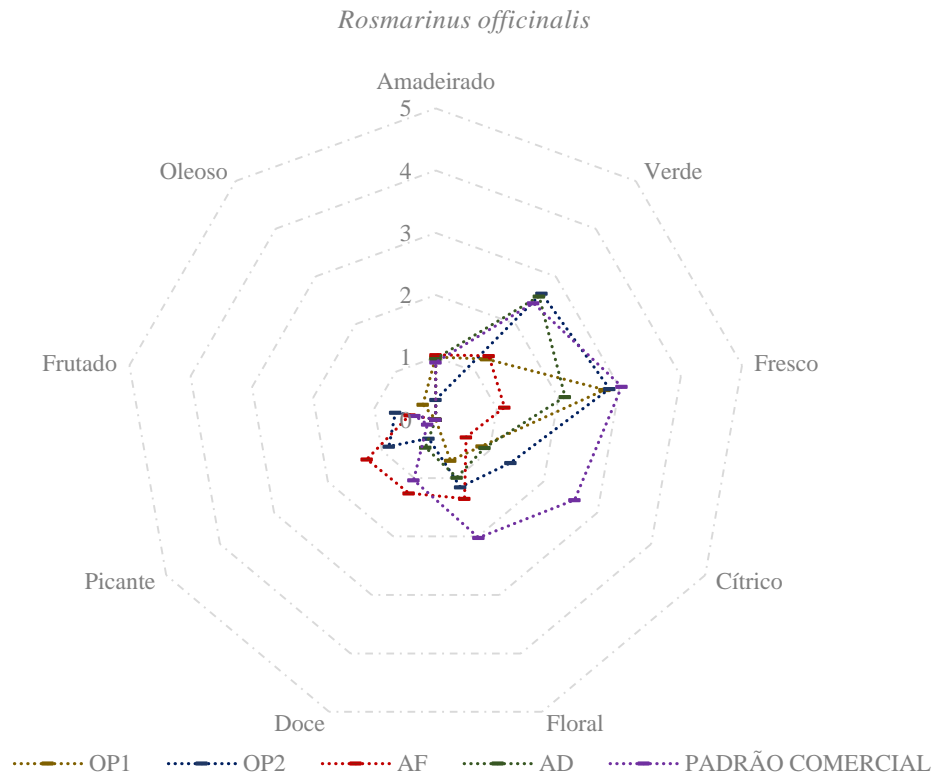
SFE: extratos obtidos por extração de CO<sub>2</sub> supercrítico; OE: óleo essencial obtidos por hidrodestilação.

De um modo geral, os ODT obtidos para plantas aromáticas foram sempre mais baixos para os extratos obtidos por hidrodestilação (OE), independentemente do estado fresco ou desidratado das amostras submetidas à extração. Por outro lado, quando comparados os extratos obtidos a partir do mesmo material vegetal, verifica-se que os óleos essenciais de plantas frescas são perceptíveis a concentrações menores comparativamente às plantas desidratadas.

Relativamente ao comportamento dos padrões comerciais, os ODT determinados encontram-se dentro da mesma gama quando comparados com o que se obteve para as amostras de plantas aromáticas. Concretamente, para o alecrim, foi obtido um valor de concentração com uma ordem de grandeza semelhante para OE da matéria-prima desidratada ( $2,3 \times 10^{-4} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) e padrão comercial ( $5,0 \times 10^{-4} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), sendo necessário uma maior concentração do extrato para se obter um valor mínimo da perceção de odores para o extrato SFE-CO<sub>2</sub> da planta desidratada ( $3,0 \times 10^{-4} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), de acordo com os avaliadores. O mesmo se verificou para o padrão comercial de tomilho ( $1,0 \times 10^{-4} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), sendo perceptível a concentrações menores comparativamente ao OE de planta desidratada ( $3,0 \times 10^{-4} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) e SFE de planta fresca ( $6,3 \times 10^{-4} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ). No entanto, quando analisados os resultados obtidos para os orégãos, verifica-se que o padrão comercial se destaca por apresentar um menor valor de ODT ( $5,0 \times 10^{-5} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), sendo consequentemente, mais facilmente perceptível ao olfato humano.

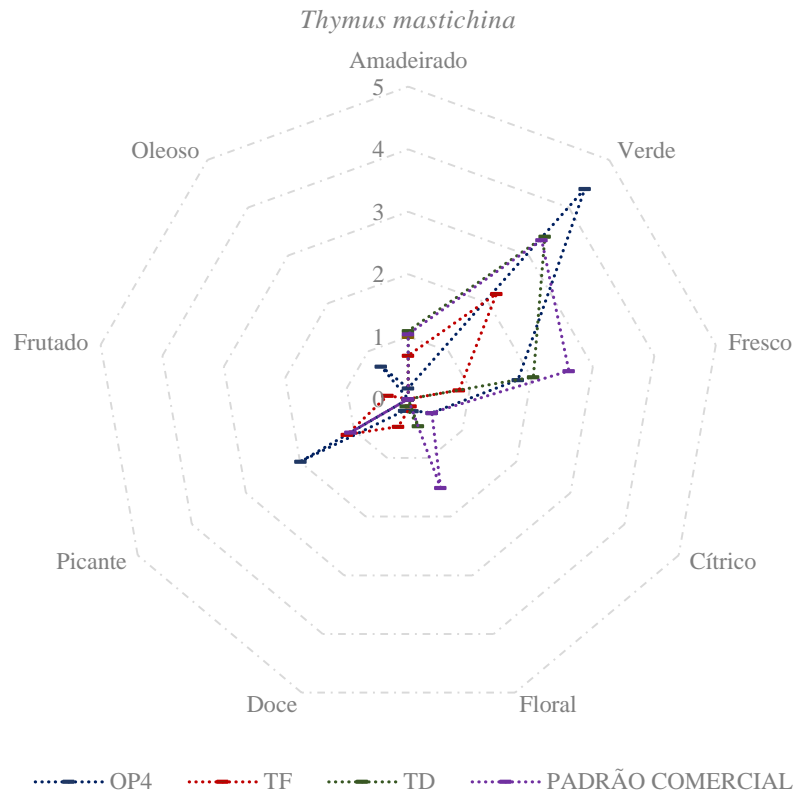
No que diz respeito à perceção de aromas de frutos secos, a análise baseia-se nas amostras extraídas por CO<sub>2</sub> supercrítico. Assim, o menor valor de ODT foi obtido com o extrato de avelã ( $3,0 \times 10^{-4} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), consequentemente, o odor mais perceptível, seguido pela amostra de aroma de noz ( $8,3 \times 10^{-4} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) e, finalmente, o extrato proveniente de amêndoas ( $6,9 \times 10^{-3} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ).

Como descrito anteriormente, os extratos obtidos laboratorialmente e os seus padrões comerciais foram também alvo de avaliação descritiva das suas principais notas aromáticas numa escala não estruturada (Relatório de Execução do 4º Semestre, Anexo 2). Assim, são apresentados nas **Figuras 2, 3, 4 e 5**, os resultados obtidos da ADQ e respetivas médias de intensidades de todos os extratos analisados para plantas aromáticas e frutos secos.



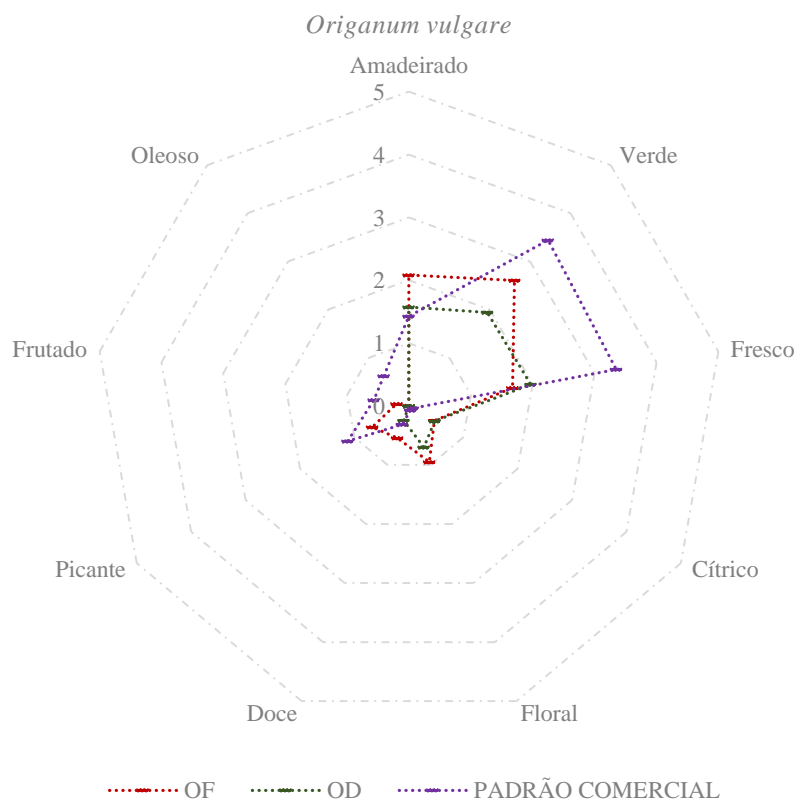
**Figura 2.** Análise descritiva quantitativa de óleos essenciais, extratos e padrão comercial de *Rosmarinus officinalis*, obtidos por hidrodestilação (HD) e extração supercrítica (SFE-CO<sub>2</sub>). OP1: óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* fresca obtido por hidrodestilação; OP2: óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* desidratada obtido por hidrodestilação; AF: extrato supercrítico de *Rosmarinus officinalis* fresca obtido por SFE-CO<sub>2</sub>; AD: extrato supercrítico de *Rosmarinus officinalis* desidratada obtido por SFE-CO<sub>2</sub>.

De um modo geral, os descritores mencionados com maior intensidade para as amostras de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) foram de nota “verde”, “fresco” e “cítrico”, especialmente para o padrão comercial. Destacando-se a perceção a “fresco” em óleo essencial da planta fresca (OP1), obtido por hidrodestilação. As sensações de “picante”, “doce” e “floral” foram identificadas em extrato SFE-CO<sub>2</sub> (AF), além de “verde”, “fresco” e “amadeirado”, em intensidades médias que variaram de 1,04 a 1,35, numa escala de 9 pontos.



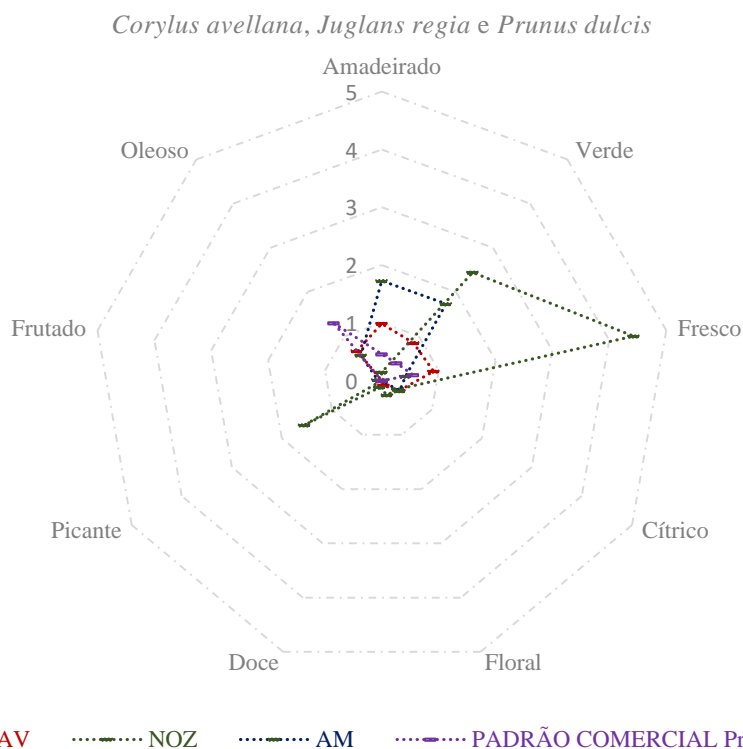
**Figura 3.** Análise descritiva quantitativa de óleos essenciais, extratos e padrão comercial de *Thymus mastichina*, obtidos por hidrodestilação (HD) e extração supercrítica (SFE-CO<sub>2</sub>). OP4: óleo essencial de *Thymus mastichina* fresca obtido por hidrodestilação; TF: extrato supercrítico de *Thymus mastichina* fresca obtido por SFE-CO<sub>2</sub>; TD: extrato supercrítico de *Thymus mastichina* desidratada obtido por SFE-CO<sub>2</sub>.

Por sua vez, os extratos de tomilho bela-luz (*Thymus mastichina*) apresentaram intensidade de 4,4 e 3,4 no atributo “verde” para a planta fresca, nas extrações por HD e SFE-CO<sub>2</sub>, respetivamente. Um valor médio aproximado foi também apontado para o padrão comercial (3,33 pontos). Fresco e picante foram também indicados para as amostras em causa. Apenas o óleo essencial de tomilho desidratado (OP4) foi mencionado com características a “oleoso”. O comportamento da avaliação mostrou-se com uma inclinação aos mesmos descritores com grau de intensidade diferentes, como observado na **Figura 3**.



**Figura 4.** Análise descritiva quantitativa de extratos e padrão comercial de *Origanum vulgare*, obtidos por extração supercrítica (SFE-CO<sub>2</sub>). OF: extrato supercrítico de *Origanum vulgare* fresca obtido por SFE-CO<sub>2</sub>; OD: extrato supercrítico de *Origanum vulgare* desidratada obtido por SFE-CO<sub>2</sub>.

Quanto aos extratos SFE-CO<sub>2</sub> de orégãos (*Origanum vulgare*), na sua forma fresca e desidratada, obtiveram-se resultados que variaram entre “fresco”, “verde” e “amadeirado”. Na amostra de padrão comercial, as notas apresentaram-se mais perceptíveis, tendo sido indicada a presença da característica “picante”. O atributo “floral” foi mencionado em ambos os extratos (fresco e desidratado) e, da mesma forma como apontado nas amostras anteriores, observou-se a coerência entre as famílias de descritores atribuídas às amostras de orégãos.



**Figura 5.** Análise descritiva quantitativa de extratos de *Corylus avellana*, *Juglans regia* e *Prunus dulcis*, obtidos por extração supercrítica (SFE-CO<sub>2</sub>) e padrão comercial de *Prunus dulcis*. AV: extrato supercrítico de *Corylus avellana* obtido por SFE-CO<sub>2</sub>; NOZ: extrato supercrítico de *Juglans regia* obtido por SFE-CO<sub>2</sub>; AM: extrato supercrítico de *Prunus dulcis* obtido por SFE-CO<sub>2</sub>.

Finalmente, no que diz respeito a avaliação sensorial de extratos SFE-CO<sub>2</sub> de frutos secos, a noz (*Juglans regia*) apresentou os maiores índices de intensidade, sobretudo ao “fresco”, com média de 4,43 pontos, “verde” (2,44) e “picante” (1,55). A avelã (*Corylus avellana*) foi descrita com um odor suave, atingindo valores inferiores a 1,00 para “amadeirado”, “fresco”, “oleoso”, “verde”, “cítrico” e “floral”. Relativamente aos resultados para a amêndoa (*Prunus dulcis*) os extratos foram caracterizados como “amadeirado” e “verde”, tanto para o extrato SFE-CO<sub>2</sub>, como para a amostra comercial.

Na sequência do trabalho realizado e como referido anteriormente, torna-se necessário definir a gama de concentrações em que os aromas serão incorporados nos produtos de panificação. Para tal, os resultados referentes ao potencial citotóxico de cada amostra (concentração a partir da qual 50% da proliferação de células *Vero* é inibida) determinará o limite máximo de concentração de amostra a incorporar em produtos de panificação. Por outro lado, o limite mínimo foi estabelecido pelo ODT de cada amostra. Deste modo, é possível definir um intervalo de concentrações a utilizar nos testes de incorporação de extratos no pão. Estes valores são sumarizados na **Tabela 3**. De um modo geral, observa-se uma variação de 5 a 7 ordens de grandeza entre as concentrações de

GI<sub>50</sub> e ODT, o que possibilita o uso de uma vasta gama de concentrações dos extratos a incorporar nos produtos de panificação.

Relativamente aos resultados de concentração relativa das moléculas identificadas e apresentados no Entregável 4.1.3 e Relatório de Execução do 4º Semestre, as moléculas maioritárias foram quantificadas numa gama de concentrações que variaram entre 0,01 g·L<sup>-1</sup> a 0,0005 g·L<sup>-1</sup>. A **Tabela 4** sumariza os valores de limite de deteção (LOD) e limite de quantificação (LOQ), em g·L<sup>-1</sup>, além da respetiva equação de ajuste à curva de calibração e qualidade do ajuste (R<sup>2</sup>). Para tal, foram selecionadas as seguintes moléculas:  $\alpha$ -pineno, cânfora, eucaliptol,  $\gamma$ -terpineno,  $\rho$ -cimeno, verbenona e, encontrando-se ainda em análise, o timol. Os dados são expressos em mg de analito por g de planta em base seca (mg·g<sup>-1</sup>). De notar que, os respetivos rendimentos de extração foram previamente apresentados no Entregável 4.1.3 e Relatório de Execução do 4º Semestre.

No que diz respeito à presença de moléculas de aromas em alecrim (**Tabela 4**), podemos verificar uma predominância de  $\alpha$ -pineno, eucaliptol e verbenona, independentemente do tratamento da amostra (fresca ou desidratada). Assim, nos óleos essenciais, os teores de  $\alpha$ -pineno chegaram a 5,82 mg·g<sup>-1</sup> e 1,96 mg·g<sup>-1</sup>, na matéria vegetal fresca e desidratada respetivamente. Quanto ao eucaliptol foram de 1,09 mg·g<sup>-1</sup> (planta fresca) e 2,21 mg·g<sup>-1</sup> na planta desidratada, enquanto a verbenona atingiu concentrações por planta entre os 0,81 mg·g<sup>-1</sup> e 0,88 mg·g<sup>-1</sup>, nas versões fresca e desidratada, respetivamente. Os extratos obtidos por SFE-CO<sub>2</sub> ficaram muito aquém destas quantidades e, mostram-se semelhantes independentemente do estado hidratado da matéria-prima, onde totalizaram 0,41 mg·g<sup>-1</sup> na planta fresca e 0,34 mg·g<sup>-1</sup> na planta desidratada, em comparação aos 9,46 mg·g<sup>-1</sup> e 5,29 mg·g<sup>-1</sup> obtidos por hidrodestilação, para os respetivos materiais vegetais.

Contrariamente, em extratos e óleos essenciais de tomilho bela-luz, os valores foram ligeiramente semelhantes quanto a ordem de grande da planta fresca, a exemplo do  $\gamma$ -terpineno que apresentou 0,09 mg·g<sup>-1</sup> em amostras obtidas por SFE-CO<sub>2</sub> e 0,06 mg·g<sup>-1</sup> no produto proveniente da hidrodestilação. O mesmo não foi observado na planta desidratada, sendo o óleo essencial o composto com maior fração para todas as moléculas quantificadas, especialmente no que diz respeito ao  $\gamma$ -terpineno (0,59 mg·g<sup>-1</sup>) e ao  $\rho$ -cimeno (0,32 mg·g<sup>-1</sup>). Em ambos os métodos de extração, a versão desidratada foi a única a indicar a presença de  $\alpha$ -pineno. No entanto, maiores conclusões acerca da matriz natural poderão, apenas, ser realizadas após a análise de todas as informações sobre o timol (componente maioritário nas amostras).

No que diz respeito aos orégãos, a planta fresca apresentou quantidades superiores de verbenona ( $0,08 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) e eucaliptol ( $0,04 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) comparativamente à planta desidratada ( $0,01 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  para ambas as moléculas).

No que concerne aos hidrolatos de plantas aromáticas, foram determinadas quantidades residuais das moléculas predominantes.

Por fim, atendendo o conjunto de informações apresentadas e, de acordo com o propósito a que se destinam os presentes resultados, foi possível identificar o método de extração e material vegetal que apresenta maior potencial à fase que se segue: a incorporação de extratos de aromas em produtos de panificação. Assim, o óleo essencial de alecrim fresco atende a todas as necessidades, visto apresentar o menor potencial toxicológico, o menor ODT, um aroma fresco característico e, ser o produto que indica os maiores rendimentos nas moléculas que predominam no seu perfil aromático/voláteis, em comparação com as restantes amostras estudadas.



**Tabela 3.** Resumo das concentrações mínimas (ODT, µg/mL) e máximas (GI<sub>50</sub>, µg/mL) de extrato ou padrão a incorporar em produtos de panificação.

Amostra	Fresca				Desidratada				Padrão comercial		
	SFE		OE		SFE		OE		GI <sub>50</sub> (·10 <sup>+2</sup> )	ODT	
	GI <sub>50</sub> (·10 <sup>+2</sup> )	ODT	GI <sub>50</sub> (·10 <sup>+2</sup> )	ODT	GI <sub>50</sub> (·10 <sup>+2</sup> )	ODT	GI <sub>50</sub> (·10 <sup>+2</sup> )	ODT			
<b>Plantas aromáticas</b>											
<i>Rosmarinus officinalis</i>	2,48	3,00x10 <sup>-4</sup>	2,63	4,00x10 <sup>-5</sup>	2,27	3,00x10 <sup>-3</sup>	2,19	2,28x10 <sup>-4</sup>	> 4	5,00x10 <sup>-4</sup>	
<i>Thymus mastichina</i>	2,35	6,30x10 <sup>-4</sup>	1,22	-	2,72	5,00x10 <sup>-3</sup>	0,65	3,00x10 <sup>-4</sup>	0,835	1,00x10 <sup>-4</sup>	
<i>Origanum vulgare</i>	1,78	1,00x10 <sup>-4</sup>	-	-	3,13	2,28x10 <sup>-3</sup>	-	-	0,319	5,00x10 <sup>-5</sup>	
<b>Frutos secos</b>											
<i>Corylus avellana</i>	-	-	-	-	2,54	3,00x10 <sup>-4</sup>	-	-	-	-	
<i>Juglans regia</i>	-	-	-	-	1,77	8,29x10 <sup>-4</sup>	-	-	-	-	
<i>Prunus dulcis</i>	-	-	-	-	> 4	6,92x10 <sup>-3</sup>	-	-	2,28	n.d.	

SFE: extratos obtidos por extração de CO<sub>2</sub> supercrítico; OE: óleo essencial obtidos por hidrodestilação; n.d.: não determinado.

**Tabela 4.** Quantificação das moléculas maioritárias presentes nos extratos obtidos por extração com CO<sub>2</sub> e por hidrodestilação (óleos essenciais e hidrolatos) de plantas aromáticas, em mg·g<sup>-1</sup>.

Molécula	Curva de calibração	R <sup>2</sup>	LOD (g·L <sup>-1</sup> )	LOQ (g·L <sup>-1</sup> )	(mg·g <sup>-1</sup> )															
					AF	AD	OP1	OP2	HP1	HP2	TF	TD	OP3	OP4	HP3	HP4	OF	OD	HP5	HP6
α-Pineno	$y = 1 \times 10^{10}x - 2E+06$	0,9988	$1,9 \times 10^{-3}$	$6,3 \times 10^{-13}$	0,09	0,09	5,82	1,96	-	-	-	0,01	0,06	-	-	-	0,02	$4,96 \times 10^{-3}$	-	$7,76 \times 10^{-5}$
Cânfora	$y = 9 \times 10^9x - 3 \times 10^6$	0,9978	$2,5 \times 10^{-3}$	$7,7 \times 10^{-3}$	0,05	0,05	0,77	0,51	$3,520 \times 10^{-3}$	$6,290 \times 10^{-4}$	-	0,01	0,15	-	-	-	-	-	-	-
Eucaliptol	$y = 1 \times 10^{10}x - 5 \times 10^6$	0,9972	$3,6 \times 10^{-13}$	$1,1 \times 10^{-12}$	0,11	0,07	1,09	1,21	$6,460 \times 10^{-3}$	$1,470 \times 10^{-3}$	0,04	0,01	0,13	0,02	-	-	0,04	0,01	-	$1,490 \times 10^{-4}$
γ-Terpineno	$y = 8 \times 10^9x - 5 \times 10^6$	0,9966	$4,0 \times 10^{-13}$	$1,2 \times 10^{-12}$	0,04	0,04	0,63	0,47	-	$6,360 \times 10^{-4}$	0,09	0,11	0,59	0,06	$2,540 \times 10^{-3}$	$8,720 \times 10^{-2}$	-	-	$2,970 \times 10^{-3}$	-
ρ-Cimeno	$y = 7 \times 10^9x - 2 \times 10^6$	0,9975	$2,0 \times 10^{-3}$	$7,7 \times 10^{-3}$	0,02	0,02	0,35	0,25	-	$3,150 \times 10^{-4}$	0,04	0,06	0,32	0,03	$1,530 \times 10^{-3}$	$4,080 \times 10^{-2}$	-	-	-	-
Verbenona	$y = 7 \times 10^9x - 7 \times 10^6$	0,9995	$1,8 \times 10^{-3}$	$5,5 \times 10^{-3}$	0,09	0,07	0,81	0,88	$5,830 \times 10^{-3}$	$1,130 \times 10^{-3}$	0,07	-	-	-	-	-	0,08	0,01	-	-
Total	-	-	-	-	0,41	0,34	9,46	5,29	1,58E-02	4,18E-03	0,23	0,19	1,25	0,11	4,08E-03	1,28E-01	0,14	0,02	2,97E-03	2,27E-04

LOD: limite de deteção; LOQ: limite de quantificação; AF: extrato supercrítico de *Rosmarinus officinalis* fresca obtido por SFE-CO<sub>2</sub>; AD: extrato supercrítico de *Rosmarinus officinalis* desidratada obtido por SFE-CO<sub>2</sub>; OP1: óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* fresca obtido por hidrodestilação; OP2: óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* desidratada obtido por hidrodestilação; HP1: hidrolato de *Rosmarinus officinalis* fresca obtido por hidrodestilação; HP2: hidrolato de *Rosmarinus officinalis* desidratada obtido por hidrodestilação; TF: extrato supercrítico de *Thymus mastichina* fresca obtido por SFE-CO<sub>2</sub>; TD: extrato supercrítico de *Thymus mastichina* desidratada obtido por SFE-CO<sub>2</sub>; OP3: óleo essencial de *Thymus mastichina* desidratada obtido por hidrodestilação; OP4: óleo essencial de *Thymus mastichina* fresca obtido por hidrodestilação; HP3: hidrolato de *Thymus mastichina* desidratada obtido por hidrodestilação; HP4: hidrolato de *Thymus mastichina* fresca obtido por hidrodestilação; OF: extrato supercrítico de *Origanum vulgare* fresca obtido por SFE-CO<sub>2</sub>; OD: extrato supercrítico de *Origanum vulgare* desidratada obtido por SFE-CO<sub>2</sub>; HP5: hidrolato de *Origanum vulgare* fresca obtido por hidrodestilação; HP6: hidrolato de *Origanum vulgare* desidratada obtido por hidrodestilação.

## Referências

- [1] Vieira V., Calhelha R.C., Barros L., Coutinho J.A.P., Ferreira I.C.F.R., Ferreira O. Insights on the Extraction Performance of Alkanediols and Glycerol: Using *Juglans regia* L. Leaves as a Source of Bioactive Compounds. **Molecules**, v. 25, n. 11, p. 2497, 2020.
- [2] ISO 8586:2012 (2012). Sensory analysis - **General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors**, 1<sup>a</sup> ed., Geneva: International standard, 2012, 28 p.
- [3] Kamath, A.; Asha, M. R.; Ravi, R.; Narasimhan, S.; Rajalakshmi, D. Comparative study of odour and GC-olfactometric profiles of selected essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 16, p. 401-407, 2001.