



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO - PPGAN
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO – UNIRIO

DAIENE ALVES DE OLIVEIRA

**Estudo fitoquímico e de bioatividade de plantas usadas para a preparação
de infusões tradicionais ou inusitadas.**

Phytochemical and bioactivity study of plants used for the preparation of traditional or
unusual infusions

RIO DE JANEIRO
2022

1
2
3 DAIENE ALVES DE OLIVEIRA
4
5
6

7 Estudo fitoquímico e de bioatividade de plantas usadas para a
8 preparação de infusões tradicionais ou inusitadas.
9

10 Phytochemical and bioactivity study of plants used for the preparation of
11 traditional or unusual infusions
12
13
14
15
16
17

18 Dissertação de Mestrado apresentada ao
19 Programa de Pós-Graduação em Alimentos e
20 Nutrição, da Universidade Federal do Estado do
21 Rio de Janeiro, como requisito parcial para
22 obtenção do título de Mestre em Alimentos e
23 Nutrição.
24

25
26
27 Orientador: Prof. Dr. Ricardo Felipe Alves Moreira

28 Co-orientadora: Profa. Dra. Cristiane Barbosa Rocha
29
30
31
32
33

34 RIO DE JANEIRO
35 2022
36

37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47

048 Oliveira, Daiene Alves de
Estudo fitoquímico e de bioatividade de plantas usadas para a preparação de
infusões tradicionais ou inusitadas / Daiene Alves de Oliveira. – Rio de
Janeiro, 2022.
70 f.

Orientador: Ricardo Felipe Alves Moreira.
Coorientador: Cristiane Barbosa Rocha.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Estado do Rio de
Janeiro, Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição, 2022.

1. Rosmarinus officinalis. 2. Theobroma cacao. 3. óleos essenciais. 4.
potencial antioxidante. 5. toxicidade. I. Moreira, Ricardo Felipe Alves, orient.
II. Rocha, Cristiane Barbosa, coorient. III. Título.

48
49
50
51

DAIENE ALVES DE OLIVEIRA

Estudo fitoquímico e de bioatividade de plantas usadas para a preparação de infusões tradicionais ou inusitadas

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestra em Alimentos e Nutrição.

Aprovada em: 05/09/2022

BANCA EXAMINADORA

Dr. Ricardo Felipe Alves Moreira - (Orientador e Presidente da banca - PPGAN/UNIRIO)

Dra. Eliane Przytyk Jung - (1ª examinadora) (INT)

Dra. Francine Albernaz Teixeira Fonseca Lobo – (2ª examinadora) (PPGAN/UNIRIO)

RIO DE JANEIRO

2022





Datas e horários baseados em Brasília, Brasil
Sincronizado com o NTP.br e Observatório Nacional (ON)
Certificado de assinaturas gerado em
16/09/2022 às 12:49:52



Página_interna_dissertação_com_assinaturas_membros_avaliadores_Daiene_Alves 

Data e Hora de Criação: 08/09/2022 às 01:45:47

Documentos que originaram esse envelope:
- Pagina_Assinaturas_Banca_Dissertação_Daiene_Alves.pdf (Arquivo PDF) - 1 página(s)

Hashs únicas referente à esse envelope de documentos

[SHA256]: 2687ff91f97a0d445c0435d5e7ca658c378b35ae9721c2536b2674349353deca
[SHA512]: 8df1b1db3468352b617978484cba0794d32c8fb3697e03002d04e43cc44b24f032c06d72f3be12accd4c781576da19223c67a871eb36aa2ce0e9cdd5249a248

Lista de assinaturas solicitadas e associadas à esse envelope

- ASSINADO - Eliane Przytyk Jung (eliane.jung@edu.unirio.br)**
 Data/Hora: 16/09/2022 - 12:49:52, IP: 200.20.196.226, Geolocalização: [-22.896321, -43.183896]
 [SHA256]: 28386eea2cd82052e7fc150dce89b2b142c0e8acbd751f841e308e72f685e6f0
- ASSINADO - Francine Albarnaz Teixeira Fonseca Lobo (francinealbernazlobo@gmail.com)**
 Data/Hora: 08/09/2022 - 05:25:16, IP: 187.80.89.237
 [SHA256]: f2f6891860fa8cce20834a0f1564161acd65b3fc3a669f11e775350ceb21e86e
- ASSINADO - Ricardo Felipe Alves Moreira (ricardo.moreira@unirio.br)**
 Data/Hora: 08/09/2022 - 01:48:40, IP: 179.83.253.139
 [SHA256]: a2ff708049275682dcfe723c3ae8b61a8aa2fb5afc2fdacd1deac2d30130698b

Histórico de eventos registrados neste envelope

16/09/2022 12:49:53 - Envelope finalizado por eliane.jung@edu.unirio.br, IP 200.20.196.226
 16/09/2022 12:49:52 - Assinatura realizada por eliane.jung@edu.unirio.br, IP 200.20.196.226
 08/09/2022 05:25:16 - Assinatura realizada por francinealbernazlobo@gmail.com, IP 187.80.89.237
 08/09/2022 01:48:40 - Assinatura realizada por ricardo.moreira@unirio.br, IP 179.83.253.139
 08/09/2022 01:48:33 - Envelope visualizado por ricardo.moreira@unirio.br, IP 179.83.253.139
 08/09/2022 01:48:21 - Envelope registrado na Blockchain por ricardo.moreira@unirio.br, IP 179.83.253.139
 08/09/2022 01:48:20 - Envelope encaminhado para assinaturas por ricardo.moreira@unirio.br, IP 179.83.253.139
 08/09/2022 01:45:48 - Envelope criado por ricardo.moreira@unirio.br, IP 179.83.253.139

Ricardo Felipe Alves Moreira




Documento em conformidade com o padrão de assinatura digital ICP-Brasil e
validado de acordo com o Instituto Nacional de Tecnologia da Informação



Os registros de assinatura presentes nesse documento pertencem única e exclusivamente a esse envelope.
Documento final gerado e certificado por **Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro**

55

56

57

58

59

60

61

62

63

64

65

66

67

68

69

70

71

72

73

Dedico este trabalho primeiramente a Deus.

74

Não menos importantes, dedico este trabalho também aos meus pais e à minha irmã, que sempre estiveram ao meu lado.

75

76

In memoriam, Ana Maria Alves.

77

AGRADECIMENTOS

78

79

80 - Agradeço muito a toda equipe LACAPA/LEEM, em especial aos professores Ricardo Felipe
81 e Cristiane Barbosa, por me auxiliarem na confecção do trabalho e pela paciência e
82 compreensão que tiveram comigo.

83

84 - Agradeço muito a Deus, por não me deixar abalar em momentos de dificuldades.

85

86 - Agradeço aos meus pais, Tarcísio Alves e Maria de Fátima Alves, e à minha irmã Denise
87 Alves, por estarem sempre presentes e por serem minha motivação.

88

89 Obrigada!

90

91

92

93

94

95

96

97

98

99

100

101

102

103

104

105

106

107

108

109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138

Pessoas boas atraem coisas boas.

Ana Maria Alves

RESUMO

139

140

141

142

143

144

145

146

147

148

149

150

151

152

153

154

155

156

157

158

159

160

161

162

163

164

165

166

167

168

169

170

O estudo do perfil fitoquímico, da bioatividade e toxicidade de plantas consumidas pelos seres humanos é essencial em vários aspectos como, por exemplo, para garantir um consumo seguro e com maior possibilidade de aproveitamento do potencial bioativo benéfico de seus componentes. No caso das ervas tradicionais, esse tipo de estudo pode fornecer dados que viabilizem o monitoramento da autenticidade de produtos comerciais. No caso de novos produtos originários de resíduos da agroindústria, esse tipo de pesquisa pode alavancar seu consumo e aumentar a sustentabilidade dos processos agroindustriais. Pensando nisso, o trabalho em questão foi direcionado para a avaliação de partes de duas plantas que podem ser consumidas como infusões. Uma delas é a tradicional erva alecrim (*Rosmarinus officinalis*), cujas flores e folhas secas e moídas podem ser facilmente adquiridas no comércio para preparação desse tipo de bebida. A outra é a casca da amêndoa do cacau (*Theobroma cacao*), um resíduo da agroindústria que também já pode ser encontrado em lojas de produtos naturais e em alguns supermercados para a preparação de uma infusão inusitada, com um aroma muito agradável e atrativo de chocolate. Dessa forma, os objetivos do presente estudo foram avaliar a capacidade antioxidante e a composição química dos óleos essenciais de amostras de alecrim comercializadas na cidade do Rio de Janeiro e de cascas de amêndoas de cacau provenientes dos estados da Bahia e do Pará. A avaliação do teor total de compostos fenólicos, a atividade antioxidante e o potencial toxicológico das infusões das cascas também foram alvo de interesse do presente estudo. Os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação em aparelho de Clevenger e foram utilizadas técnicas cromatográficas para o estabelecimento de seus perfis químicos. As análises toxicológicas foram realizadas pelo bioensaio com *Artemia salina* e as demais análises com o auxílio de técnicas espectrofotométricas (Folin-Ciocalteu, $AlCl_3$, DPPH). Nos óleos essenciais dessas quinze amostras comerciais de alecrim, provenientes de cinco marcas distintas, foram identificados 24 compostos. Os perfis químicos desses óleos essenciais se mostraram qualitativamente e quantitativamente muito semelhantes. Os compostos majoritários encontrados foram o α -pineno, 1,8-cineol, cânfora, endo-borneal e o α -terpineol. Não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre as marcas no que diz respeito ao teor desses compostos. Os óleos essenciais dessas amostras apresentaram valores de $IC_{50}(DPPH)$ semelhantes ($p > 0,05$) e relativamente baixos, revelando que todas as amostras tinham boa capacidade antioxidante. O

171 ácido tetradecanoico, ácido n-hexadecanoico, tetradecanoato de etila e o oleato de metila
172 foram os únicos compostos identificados nos óleos essenciais de todas as amostras das cascas
173 das amêndoas de cacau testadas (Pará e Bahia). Provavelmente, as pirazinas detectadas nessas
174 frações voláteis foram produzidas durante o processo de torrefação das sementes. As infusões
175 dessas cascas apresentaram potenciais antioxidants moderados e altamente correlacionados
176 com os conteúdos totais de flavonoides e compostos fenólicos. Essas infusões foram
177 classificadas como atóxicas de acordo com os dados obtidos pelo bioensaio com *Artemia*
178 *salina*.

179 Palavras-chave: *Rosmarinus officinalis*, *Theobroma cacao*, óleos essenciais, composição
180 química, atividade antioxidante, DPPH, toxicidade.

181

182

183

184

185

186

187

188

189

190

191

192

193

194

195

196 **ABSTRACT**

197

198 The study of the phytochemical profile, bioactivity and toxicity of plants consumed
199 by humans is essential in several aspects, such as, for example, to allow a safe consumption
200 and a greater possibility of taking advantage of the beneficial bioactive potential of its
201 components. In the case of traditional herbs, this type of study can provide data that allow the
202 monitoration of the authenticity of commercial products. In the case of new products
203 originating from agro-industry residues, this type of research can leverage their consumption
204 and increase the sustainability of agro-industrial processes. With that in mind, this work
205 turned to the evaluation of parts of two plants that can be consumed as infusions. One of them
206 is the traditional herb rosemary (*Rosmarinus officinalis*), whose dried and ground leaves and
207 flowers can be easily purchased in the commerce for the preparation of this type of beverage.
208 The other is the cocoa (*Theobroma cacao*) almond husk , an agro-industry residue that can
209 also be found in food stores of natural products and in some supermarkets for the preparation
210 of an unusual infusion, with a very pleasant and attractive chocolate aroma. Thus, the
211 objectives of the present study were to evaluate the antioxidant capacity and chemical
212 composition of essential oils from samples of rosemary sold in the city of Rio de Janeiro and
213 from cocoa almond husks from the states of Bahia and Pará. The evaluation of the total
214 phenolic content, antioxidant activity and toxicological potential of the cocoa almond husk
215 infusions were also subject of interest of the present study. The essential oils were extracted
216 by hydrodistillation in a Clevenger apparatus and chromatographic techniques were used to
217 establish their chemical profiles. Toxicological analyzes were carried out by the *Artemia*
218 *salina* bioassay and the other analyzes were performed with the aid of spectrophotometric
219 techniques (Folin-Ciocalteu, AlCl₃, and DPPH). In the essential oils of these fifteen
220 commercial rosemary samples, from five different brands, 24 compounds were identified. The
221 chemical profiles of these essential oils were qualitatively and quantitatively very similar. The
222 major compounds found in these essential oils were α -pinene, 1,8-cineole, camphor, endo-223
borneol e o α -terpineol. There was no statistically significant difference ($p > 0.05$) among the 224
brands with regard to the content of these compounds. The essential oils from these samples 225
showed similar ($p > 0.05$) and relatively low IC₅₀(DPPH) values, revealing that all samples had 226
good antioxidant capacity. Tetradecanoic acid, n-hexadecanoic acid, ethyl tetradecanoate and 227
methyl oleate were the only compounds identified in the essential oils of all samples of cocoa

228 almond husks that were tested (Pará and Bahia). Probably, the pyrazines detected in these
229 volatile fractions were produced during the seed roasting process. The infusions of these
230 cocoa almond husks showed moderate antioxidant potentials that were highly correlated with
231 the total contents of flavonoids and phenolic compounds. These infusions were classified as
232 non-toxic beverages according to the data obtained by the *Artemia salina* bioassay.

233

234 Keywords: *Rosmarinus officinalis*, *Theobroma cacao*, essential oils, chemical composition,
235 antioxidante activity, DPPH, toxicity.

236

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247

248

249

250

251

252

253

254

255

256

257

258

259

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL -----	17
2.	REVISÃO DA LITERATURA -----	17
2.1.	ERVAS MEDICINAIS -----	17
2.2.	RESÍDUOS DA AGROINDÚSTRIA DO CACAU -----	23
2.2.1.	O CACAU -----	23
2.2.2.	A CASCA DA AMÊNDOA DO CACAU -----	25
3.	OBJETIVOS -----	33
3.1.	Objetivo geral -----	33
3.2.	Objetivos específicos -----	33
	CAPÍTULO 1 -----	34
	Avaliação da composição química e do potencial antioxidante dos óleos essenciais de ervas comercializadas sob a designação de alecrim -	34
	RESUMO -----	35
	ABSTRACT -----	36
1.	INTRODUÇÃO -----	37
2.	METODOLOGIA -----	41
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	43
4.	CONCLUSÕES -----	48
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	49
	CHAPTER 2 -----	55
	Evaluation of the essential oils and teas produced from the bahia and pará cocoa almond husks -----	55
	ABSTRACT -----	56
1.	INTRODUCTION -----	57
2.	MATERIAL AND METHODS -----	58
2.1.	SAMPLES -----	58
2.2.	CHEMICALS -----	58
2.3.	ESSENTIAL OIL (VOLATILE FRACTION) -----	58
2.4.	EVALUATION OF THE TEAS PREPARED FROM THE COCOA ALMOND HUSKS -	59
2.4.1.	PREPARATION OF THE TEAS -----	59
2.4.2.	TOTAL PHENOLIC AND FLAVONOID CONTENT ASSAYS -----	59
2.4.3.	DPPH ASSAY -----	59

2.4.4.	ARTEMIA SALINA BIOASSAY	60
2.5.	STATISTICAL ANALYSIS	60
3.	RESULTS AND DISCUSSION	60
3.1	ESSENTIAL OILS FROM BA AND PA COCOA ALMOND HUSKS	60
3.2.	TEAS PRODUCED FROM BA AND PA COCOA ALMOND HUSKS	64
4.	CONCLUSIONS	66
5.	REFERENCES	67
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
	INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES	70
	PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS	70

260

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

272

273

274

275

276

277

278

279

280

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

Figura 1:	<i>Rosmarinus officinalis</i> -----	18
Figura 2:	Cacau em corte longitudinal -----	24
Figura 3:	Mucilagem esbranquiçada que envolve a semente -----	24
Figura 4:	Semente do cacau inteira (esquerda) e em corte longitudinal ----- (direita)	24
Figura 5:	Casca da semente obtida após torrefação -----	25
Figura 6:	Casca da amêndoa do cacau comercializada -----	27

CAPÍTULO 1

Figura 1:	Gráfico do rendimento de extração dos óleos essenciais das amostras de alecrim -----	44
Figura 2	Figura 2: Cromatogramas dos óleos essenciais das amostras de alecrim analisadas -----	46
Figura 3	Teor % médio de 1,8-cineol e de cânfora em cada uma das marcas analisadas -----	47

281

282

LISTA DE TABELAS
REVISÃO DA LITERATURA

Tabela 1	Compostos voláteis de amostras de alecrim	19
Tabela 2	Propriedades farmacológicas de compostos já identificados na fração volátil do alecrim	21
Capítulo 1		
Tabela 1	Compostos voláteis já identificados em amostras de alecrim	37
Tabela 2	Propriedades farmacológicas dos principais compostos terpênicos já identificados na fração volátil do alecrim	40
Tabela 3	Rendimento percentual médio do processo de extração dos óleos essenciais das amostras de alecrim	43
Tabela 4	Composição dos óleos essenciais das amostras de alecrim coletadas na cidade do Rio de Janeiro	44
Tabela 5	Capacidade antioxidante (expressa como valores de IC ₅₀) dos óleos essenciais	48
Chapter 2		
Table 1	Mean yields of the extraction process of the essential oils from the cocoa almond husks from BA and PA	60
Table 2	Chemical composition of the essential oils isolated from BA and PA cocoa almond husks	61
Table 3	Phenol and flavonoid contents, antioxidant capacity and toxicological potential of teas produced from BA and PA cocoa almond husks	65
Table 4	Pearson's correlation analysis	66

289

290 1. INTRODUÇÃO GERAL

291

292 O estudo do perfil fitoquímico, da bioatividade e toxicidade de plantas consumidas
293 pelos seres humanos é essencial em vários aspectos como, por exemplo, para garantir um
294 consumo seguro e com maior possibilidade de aproveitamento do potencial bioativo benéfico
295 de seus componentes (Jung et al., 2022). No caso das ervas tradicionais, esse tipo de estudo
296 pode fornecer dados que viabilizem o monitoramento da autenticidade de produtos comerciais
297 (Souza et al., 2019). No caso de novos produtos originários de resíduos da agroindústria, esse
298 tipo de pesquisa pode alavancar seu consumo e aumentar a sustentabilidade dos processos
299 agroindustriais (Marques et al., 2022). Pensando nisso, o trabalho em questão foi direcionado
300 para a avaliação de partes de duas plantas que podem ser consumidas como infusões. Uma
301 delas é a tradicional erva alecrim (*Rosmarinus officinalis*), cujas flores e folhas secas e moídas
302 podem ser facilmente adquiridas no comércio para preparação desse tipo de bebida. A outra é
303 a casca da amêndoa do cacau (*Theobroma cacao*), um resíduo da agroindústria que também já
304 pode ser encontrado em lojas de produtos naturais e em alguns supermercados para a
305 preparação de uma infusão inusitada, com um aroma muito agradável e atrativo de chocolate.

306

307 2. REVISÃO DA LITERATURA

308

309 2.1. ERVAS MEDICINAIS

310 A utilização de plantas com fins medicinais, para tratamento, cura e prevenção de
311 doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade (Braga, 2011).
312 As ervas, por exemplo, são muito utilizadas pela população brasileira para aliviar ou curar
313 várias doenças, como enfermidades renais, reumatismo e diabetes (Rodrigues et al., 2001).
314 Adicionalmente, estima-se que uma parcela correspondente a cerca de 70% da população dos
315 países em desenvolvimento utilize as ervas medicinais em seus cuidados com a saúde, seja
316 com base em seu conhecimento da medicina popular, medicina indígena, quilombola ou
317 científica (Brasil, 2012; Cruz & Gonçalves, 2022).

318 Muitas ervas e plantas são ricas em compostos com propriedades antioxidantes, como
319 as vitaminas E e C e os compostos fenólicos, sendo capazes de prevenir, por exemplo, a auto-
320 oxidação de ácidos graxos insaturados (Nieto et al., 2018). Certas frações e extratos obtidos

321 de plantas da família Lamiaceae já tiveram suas propriedades antioxidantes destacadas em
322 vários estudos (Nieto et al., 2011; Botsoglou et al., 2002). A família Lamiaceae possui 180
323 gêneros e 3.500 espécies que são encontradas predominantemente em regiões mediterrâneas,
324 montanhas tropicais e Oriente Médio (Judd et al., 2002).

325 A planta conhecida como alecrim (*Rosmarinus officinalis*) pertence a essa família
326 (Lamiaceae). Apresenta-se como um arbusto lenhoso (1,8 m de altura), com folhas pequenas e
327 finas, opostas e lanceoladas. Possui na parte inferior das folhas uma coloração verde
328 acinzentada e na parte superior uma coloração verde brilhante (Morales, Flora Ibérica).
329 Desenvolve-se em terrenos secos e calcários e é, entre as espécies da família, a mais
330 explorada devido ao valor funcional de seu óleo essencial (Zaouali et al., 2010). Na medicina
331 tradicional essa erva (Figura 1) se destaca pelo seu poderoso potencial antioxidante e
332 bactericida, sendo muito utilizada como agente flavorizante e de preservação de alimentos
333 (Wang et al., 2008). Estudos farmacológicos modernos indicaram também que o alecrim e
334 alguns de seus constituintes apresentam potencial para serem usados na etnomedicina em
335 função de suas propriedades analgésicas, anti-inflamatórias, anticarcinogênicas,
336 antirreumáticas, espasmolíticas, anti-hepatotóxicas, antiaterogênicas, carminativas,
337 coleréticas, de proteção contra a radiação ultravioleta e gama e de mitigação do estresse (Uritu
338 et al., 2018).
339



Figura 1: *Rosmarinus officinalis*. Fonte: Évora, 2015

340

341 Essa planta apresenta o ácido carnósico, o carnosol, o ácido rosmarínico e a
342 hesperidina como principais constituintes de sua fração polifenólica. Já em sua fração volátil

343 (óleo essencial), os compostos majoritários são monoterpenos e monoterpenos oxigenados
 344 como já indicado por vários autores (Bozin et al., 2007; Isman et al., 2008; Wang et al., 2008;
 345 Jamishidi et al., 2009; Jiang et al., 2011; Hcini et al., 2013; Sienkiewicz et al., 2013; Raskovic
 346 et al., 2014; Bouyahya et al., 2017; Elmi et al., 2017; Nieto et al., 2018; Ali et al., 2019). Na
 347 tabela abaixo estão listados os compostos identificados mais frequentemente até o momento
 348 como componentes dos óleos essenciais de alecrim, com ênfase nos compostos presentes em
 349 maior concentração.
 350

Tabela 1 – Compostos voláteis de amostras de alecrim

Compostos terpênicos	
<i>Monoterpenos</i>	<i>% no óleo essencial</i>
α -Pineno*	11 ^{Ref.4} – 39 ^{Ref.9}
Canfeno*	2,57 ^{Ref.9} – 53 ^{Ref.9}
β -Pineno*	0,133 ^{Ref.1} – 9,2 ^{Ref.4}
β -Mirceno ^{5/9}	0,7 ^{Ref.3} – 3,968 ^{Ref.6}
α -Felandreno ^{6/9}	0,1 ^{Ref.9} – 1,23 ^{Ref.7}
β -Felandreno ^{2/9}	0,9 ^{Ref.5} – 4,7 ^{Ref.9}
Limoneno ^{7/9}	0,110 ^{Ref.1} – 21,7 ^{Ref.5}
γ -Terpineno ^{6/9}	0,064 ^{Ref.6} – 1,4 ^{Ref.9}
Sabineno ^{4/9}	0,05 ^{Ref.8} – 2,0 ^{Ref.5}
p-Cimeno ^{5/9}	0,127 ^{Ref.1} – 2,8 ^{Ref.2}
α -Terpinoleno ^{2/9}	0,5 ^{Ref.9} – 1,487 ^{Ref.1}
<i>Monoterpenos oxigenados</i>	<i>% no óleo essencial</i>
1,8-Cineol*	2,1 ^{Ref.5} – 55,3 ^{Ref.9}
Linalool*	0,101 ^{Ref.1} – 5,70 ^{Ref.3}
Cânfora*	2,1 ^{Ref.9} – 26,8 ^{Ref.9}
Isoborneal ^{2/9}	0,2 ^{Ref.3} – 0,53 ^{Ref.8}
Borneal*	1,7 ^{Ref.9} – 15,46 ^{Ref.1}
α -Terpineol*	0,294 ^{Ref.6} – 11,0 ^{Ref.9}

<i>Monoterpenos oxigenados (continuação)</i>	<i>% no óleo essencial</i>
Terpinen-4-ol ^{3/9}	0,05 ^{Ref.2} – 1,8 ^{Ref.9}
γ -Terpineol ^{1/9}	0,40 ^{Ref.8}
Acetato de bornila ^{6/9}	0,1 ^{Ref.4} – 5,076 ^{Ref.6}
α -Tuieno ^{3/9}	0,13 ^{Ref.8} – 0,43 ^{Ref.7}
<i>Sesquiterpenos</i>	<i>% no óleo essencial</i>
Verbenona ^{4/9}	1,1 ^{Ref.9} – 8,21 ^{Ref.9}
β -Cariofileno ^{7/9}	0,15 ^{Ref.9} – 3,93 ^{Ref.8}
α -Muuroloeno ^{2/9}	0,3 ^{Ref.9} – 0,9 ^{Ref.5}
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>	<i>% no óleo essencial</i>
Óxido de cariofileno ^{6/9}	0,1 ^{Ref.4,5,9} – 0,643 ^{Ref.6}
Cariofilenol ^{1/9}	0,2 ^{Ref.5}
<i>Compostos não terpênicos</i>	
<i>Álcool</i>	<i>% no óleo essencial</i>
3-Octenol ^{1/9}	1,3 ^{Ref.5}
<i>Hidrocarboneto</i>	<i>% no óleo essencial</i>
Nonadecano ^{1/9}	0,3 ^{Ref.5}

1/9 – substância indicada como componente do óleo essencial de alecrim em 1 dos 9 artigos consultados; 2/9 – substância indicada como componente do óleo essencial de alecrim em 2 dos 9 artigos consultados; 3/9 – substância indicada como componente do óleo essencial de alecrim em 3 dos 9 artigos consultados; 4/9 – substância indicada como componente do óleo essencial de alecrim em 4 dos 9 artigos consultados; 5/9 – substância indicada como componente do óleo essencial de alecrim em 5 dos 9 artigos consultados; 6/9 – substância indicada como componente do óleo essencial de alecrim em 6 dos 9 artigos consultados; 7/9 – substância indicada como componente do óleo essencial de alecrim em 7 dos 9 artigos consultados; * - substância indicada como componente do óleo essencial de alecrim em todos os nove artigos consultados; Ref.1: Bouyahya et al., 2017; Ref.2: Elmi et al., 2017; Ref.3: Hcini et al., 2013; Ref.4: Jamishidi et al., 2009; Ref.5: Isman et al., 2008; Ref.6: Bozin et al., 2007; Ref.7: Wang et al., 2008; Ref.8: Raskovic et al., 2014; Ref.9: Ali et al., 2019.

351

352 Dentre os compostos encontrados mais frequentemente como componentes dos óleos
353 essenciais de alecrim destacam-se o α -pineno, canfeno, 1,8-cineol (eucaliptol), cânfora e
354 borneal em função de suas concentrações normalmente elevadas nesse tipo de matriz. Os
355 sesquiterpenos verbenona e β -cariofileno também merecem destaque em função de sua
356 frequência de ocorrência e/ou de suas concentrações nesses óleos essenciais (Tabela 1).

357 Alguns fatores ambientais e diferentes formas de cultivo podem justificar as diferenças
 358 qualitativas e quantitativas na composição dos óleos essenciais de alecrim apresentados na
 359 Tabela 1 (Borges & Amorim, 2020). No entanto, a avaliação da literatura científica dessa área
 360 mostra que alguns compostos frequentemente encontrados em concentrações elevadas nesses
 361 óleos podem funcionar como marcadores químicos dos mesmos. Esses compostos podem
 362 explicar algumas das propriedades fitoterápicas e aromáticas associadas a essa erva (Tabela
 363 2).

364 Devido ao seu aroma atrativo e potencial benéfico para a saúde humana, o alecrim é
 365 amplamente consumido pela população, principalmente na forma de infusões (produzidas a
 366 partir de suas folhas secas ou frescas) que são utilizadas na medicina tradicional pelo
 367 potencial anti-inflamatório, antimicrobiano, diurético e antioxidante (Ribeiro-Santos et al.,
 368 2015). Durante a preparação dessas infusões, uma parte desses óleos essenciais é extraída e,
 369 dessa forma, parte da atividade biológica dessas bebidas pode estar relacionada com alguns
 370 dos compostos voláteis majoritários presentes nesses óleos essenciais (Arranz et al., 2013). O
 371 1,8-cineol e o α -pineno, por exemplo, apresentam atividade antimicrobiana contra
 372 *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* e
 373 *Aspergillus niger* (Jiang et al., 2015). Compostos como o α -pineno, β -pineno, 1,8-cineol,
 374 borneal e canfeno já foram associados ao potencial antioxidante desses óleos essenciais
 375 (Wang et al., 2008). O limoneno, borneal e o β -pineno foram relacionados a possíveis efeitos
 376 anticarcinogênicos (Yanishlieva et al., 2006). É importante mencionar que compostos
 377 presentes em menores concentrações nesses óleos essenciais e infusões também podem
 378 influenciar a bioatividade dessa planta. Nesse caso, esses compostos poderiam exercer seus
 379 efeitos através, por exemplo, de ações sinérgicas (Hussain et al., 2010).

380

381 **Tabela 2** - Propriedades farmacológicas de compostos já identificados na fração volátil do
 382 alecrim

Compostos	Propriedades farmacológicas
α -Pineno	Bactericida, antitumorogênico ^{1,2,10} , antioxidante ^{1,2,10,11} , Hepatoprotetor ³ ; Anti- inflamatório ⁶
β -Pineno	Bactericida, antitumorogênico ^{1,2,10} , antioxidante ^{1,2,10,11}

Compostos (continuação)	Propriedades farmacológicas (continuação)
1,8-Cineol	Bactericida ^{1,2, 10, 13} , antitumorogênico, antifúngico ^{1,2,10} , antioxidante ^{1,2,10, 11} , hepatoprotetor, relaxante muscular, anti-inflamatório, hipotensivo ³ , antidepressivo ^{4,14} , Antiálgico ⁵ , antialérgico ⁹
Cânfora	Anti-inflamatório ⁷ , Antiálgico ⁴ , Anti-mutagênico ⁸
Borneal	Antioxidante ^{1,2,10, 11, 12} , analgésico ¹⁷ , anti-inflamatório ¹⁶ , fator de apoptose ¹⁸ , antitumorogênico ¹⁹ , ant-helmíntico ²⁰
Canfeno	Antioxidante ^{1,2,10,11,12}
Limoneno	Sedativo, antidepressivo, antitumorogênico ¹⁵

1: Wang et al., 2012; 2: Bozin et al., 2007; 3: Raskovic et al., 2014; 4: Faria et al., 2011; 5: Vilela et al., 2016, 6: Nam et al., 2014; 7: Silva-Filho et al., 2014; 8: Takayama et al., 2016; 9: Borges et al., 2019; 10: : Bouyahya, 2017; 11: Wang et al., 2008; 12: Elmi et al., 2017, 13: Hussain et al., 2010; 14: Machado et al., 2013; 15: De Almeida et al., 2014; 16: Zhong et al., 2014; 17: Jiang et al., 2015; 18: Meng et al., 2014; 19: Machado et al., 2014.

383

384 Como mencionado anteriormente, o aroma e outras características sensoriais dessa
385 erva (alecrim) podem ser influenciados pela presença de alguns dos compostos terpênicos
386 listados nas tabelas 1 e 2. O 1,8-cineol, por exemplo, é relacionado a um aroma refrescante; o
387 α -pineno ao aroma de pinho; a cânfora ao aroma de menta e o borneal a um gosto acre
388 (Svoboda, 1992).

389 As ervas são isentas da necessidade de registro na ANVISA e estão sujeitas a sofrerem
390 regulação como alimentos; essas condições podem facilitar as fraudes e adulterações (David
391 et al., 2015). As diferentes espécies de ervas, inclusive o alecrim, são normalmente
392 comercializadas secas e inteiras pelo produtor. Elas são adquiridas por firmas atacadistas ou
393 por laboratórios (p. ex., farmácias de manipulação). A partir destas espécies são produzidos
394 remédios ou complementos alimentares. Comercialmente, uma das apresentações mais
395 comuns desses produtos naturais é a forma de sachês, na qual a erva seca e moída é utilizada
396 para a preparação de infusões (Teixeira et al., 2022).

397 O controle de qualidade exercido pela maioria das empresas brasileiras que trabalham
398 com plantas medicinais considera apenas as características visuais das drogas que
399 comercializam. Os critérios que compõem o controle de qualidade são: intensidade da cor,
400 grau de fragmentação e porcentagem de material estranho. No caso das plantas aromáticas,

401 também o aroma é considerado. Esses critérios não costumam ser suficientes para garantir a
402 qualidade e a autenticidade dos produtos finais que são comercializados (De Souza, Lionzo, &
403 Petrovick, 2006; Teixeira et al., 2022). A avaliação da composição química de frações
404 específicas dessas ervas, tal como seu óleo essencial (fração volátil), pode ser um instrumento
405 interessante para garantir a identificação inequívoca das espécies e evitar fraudes.

406 Com tudo que foi exposto acima, fica fácil entender a necessidade de caracterização
407 das diferentes espécies de ervas brasileiras através de análises químicas em suas frações
408 volátil e não-volátil. Particularmente, a caracterização da fração volátil (óleo essencial) de
409 amostras comerciais de *Rosmarinus officinalis* pode permitir avaliar sua autenticidade,
410 detectando possíveis fraudes, viabilizar ou facilitar a criação de novas formulações
411 (medicamentos e alimentos sensorialmente mais atrativos) e, por último, pode fornecer dados
412 para um uso mais consciente dessa erva como um medicamento tradicional por parte dos
413 consumidores, uma vez que muitos desses compostos presentes em seus óleos essenciais
414 apresentam bioatividade e podem migrar para as infusões durante o processo de extração
415 (Jung et al., 2022).

416

417 2.2. RESÍDUOS DA AGROINDÚSTRIA DO CACAU

418 2.2.1 - O CACAU

419 O cacau (*Theobroma cacao*) é um fruto originário da América do Sul e América
420 Central. Esse fruto (Figura 2) apresenta coloração relacionada com o seu estágio de
421 amadurecimento, transitando do verde (juventude) ao amarelo (maturidade), enquanto outros
422 passam do roxo ao laranja, durante a maturação (Belitz & Grosch, 1999).

423 O fruto do cacau se divide em casca, polpa e semente (Figuras 2, 3 e 4). Cada árvore
424 de cacau produz em média de 0,5 a 2 kg de sementes (medida feita após fermentação e
425 secagem) anualmente (CBI, 2015). A semente ou amêndoa, depois de ser fermentada, seca,
426 torrada, descascada e fragmentada, dá origem aos *nibs* que representam a principal matéria-
427 prima utilizada pela indústria do chocolate (Beckett, 2009).

428 O cacau é um dos principais produtos utilizados pela indústria de alimentos, sendo a
429 matéria-prima da produção do chocolate. Durante o processamento do cacau são gerados três
430 tipos de subprodutos: a casca do fruto, a casca da semente e a mucilagem (parte
431 esbranquiçada que envolve a semente – Figura 3). Esta última pode ser utilizada para preparo

432 de geléias e sucos. Geralmente as cascas, tanto do fruto quanto da semente, são
433 subaproveitadas e consideradas resíduo industrial.



434

435

436

437

Figura 2: Cacau em corte longitudinal.
Fonte: acervo pessoal do autor.



Figura 3: Mucilagem esbranquiçada que envolve a semente.
Fonte: acervo pessoal do autor.

438



Figura 4: Semente do cacau inteira (esquerda) e em corte longitudinal (direita)
Fonte: acervo pessoal do autor.

439

440 Levando em consideração que menos de 8% da massa do fruto é usada pela indústria
441 cacaeira, a proporção de subprodutos do cacau é bastante expressiva. Em geral, 80% do
442 cacau é representado pela casca do fruto e 20% pela semente (amêndoa), que depois de
443 fermentada (para retirada da mucilagem) e seca, passa a representar 10% da massa do fruto
444 original: *nibs* (8%) e cascas (2%) (Bruna et al., 2009).

445 O Brasil merece destaque por ser um dos grandes produtores mundiais de cacau.
446 Segundo Hernandez et al. (2022), a produção brasileira de cacau vem crescendo ao longo dos
447 anos e, atualmente, o Brasil é o sétimo maior produtor de cacau do mundo. Esse crescimento é
448 atribuído à crescente produtividade do estado do Pará nos últimos anos, o que fez esse estado
449 superar o estado da Bahia, tornando-se o maior produtor de cacau do Brasil.

450

451 2.2.2 – A CASCA DA AMÊNDOA DO CACAU

452 Diversos resíduos agroindustriais, os chamados subprodutos, possuem potenciais
453 nutricional, funcional e sensorial que podem transformá-los em produtos passíveis de serem
454 incorporados em formulações alimentícias. Nesse grupo podemos incluir as cascas das
455 sementes do cacau (CSC), fontes de compostos antioxidantes (como os compostos fenólicos)
456 e ricas em fibras alimentares. Essas cascas (Figura 5) são conhecidas como farelo do cacau
457 (Figueira et al., 1993; Kalvatchev et al., 1998) e possuem cor e sabor semelhantes ao
458 chocolate em pó (Lessa et al., 2017).

459



Figura 5: Casca da semente obtida após torrefação.

Fonte: acervo pessoal do autor.

460

461 A casca (CSC) é o tegumento externo fino e fibroso da semente, que é removido após
462 o processo de torrefação (Okiyama et al, 2017). Ela representa de 10 - 17% da massa total do
463 grão. Considerando que 4,7 milhões de toneladas de cacau são processados em todo o mundo
464 a cada ano, sua produção anual é de aproximadamente 700.000 toneladas (Arlorio et al.,
465 2005).

466 A composição da casca da amêndoa é bastante variável e depende da origem do cacau
467 e do processamento ao qual foi submetido (Vásquez et al., 2019). De qualquer forma, a casca
468 tem um perfil nutricional interessante, com mais de 50% da sua massa seca composta por
469 fibras alimentares; conteúdo quase três vezes maior do que o valor encontrado nas amêndoas
470 (Okiyama et al 2017). A casca também possui baixo teor de gordura com características
471 físicas e químicas idênticas às características da manteiga de cacau, exceto pelo ácido
472 linoleico, que é maior na CSC (7,49% na gordura da CSC vs. 3,93% na manteiga de cacau)
473 (Jozinovic et al 2019). Além disso, é uma fonte de minerais dietéticos (Barbosa-Pereira et al.,
474 2019) e de compostos aromáticos que contribuem para suas notas de chocolate (Barbosa-475
Pereira et al, 2019; Rojo-Poveda et al., 2020). Durante o processamento do cacau, o conteúdo 476
do alcaloide teobromina migra do grão para a casca, causando um aumento no teor de 477
teobromina na casca de cacau de cerca de 25% (Fredholm, 2011). Finalmente, a CSC contém 478
vários polifenóis, incluindo catequinas, epicatequinas e procianidinas (Arlorio et al, 2005; 479
Rojo-Poveda et al., 2020).

480 Além do uso do cacau para a produção de chocolate, outros usos para a fruta e suas
481 sementes, como a produção de suco e de chá, são menos conhecidos. O farelo pode ser
482 utilizado de forma limitada, por exemplo, como combustível para caldeiras, na aromatização
483 de cervejas artesanais, em preparações de fertilizantes e em produções de ração animal
484 (Arlorio et al., 2005; Rojo-Poveda et al., 2020). Nesse último caso, o uso deve ser muito
485 cauteloso, pois o alcalóide teobromina presente na casca pode ser tóxico para algumas
486 espécies animais (Pires et al., 2005). Por possuir um aroma extremamente agradável, valores
487 elevados de fibras (13 a 19%), juntamente com componentes fenólicos, esse resíduo
488 agroindustrial tem potencial para ser usado na fabricação de produtos de confeitaria e de
489 panificação ou na preparação de produtos dietéticos e ricos em fibras de baixa caloria
490 (Beckett, 2009; Vitola & Ciprova, 2016). Balentic et al. (2018) concluíram, por exemplo,
491 que a casca da amêndoa pode ser utilizada como uma fortificação nutricional para a produção
492 de salgados de milho. Os estudos direcionados para aplicação da casca na nutrição humana
493 podem agregar valor a esse resíduo agroindustrial, tendo em vista que se trata de uma matéria-
494 prima barata e com valor nutricional. Uma das possibilidades é o aproveitamento das cascas
495 das amêndoas do cacau (Figura 6) para a confecção de infusões (chás) (Marcolini, 2011;
496 Vásquez et al., 2019). Entretanto, atualmente, praticamente não há informações na literatura

497 científica sobre a composição das frações volátil e não-volátil dessa bebida, sua capacidade
498 antioxidante e seu potencial toxicológico.
499



Figura 6: Casca da amêndoa do cacau comercializada.

Fonte: acervo pessoal do autor.

500

501 Todo alimento “novo” deve ser testado quanto ao seu potencial tóxico antes de ser
502 liberado para consumo. A toxicidade é o potencial efeito negativo que uma determinada
503 substância pode causar em um organismo. Para análise da toxicidade podem ser realizados
504 diversos testes toxicológicos, dentre eles o composto pode ser submetido ao método agudo-505
letal, que consiste de uma análise da mortalidade ou sobrevivência após curta exposição (24h 506
– 48h) do organismo bioindicador ao composto a ser testado (Meyer et al., 1982).

507 É comum avaliar o grau de toxicidade de uma substância pelo parâmetro conhecido
508 como dose letal mediana (DL_{50}). A DL_{50} é a dose necessária de uma dada substância para
509 matar 50 % de uma população em teste. Um dos testes mais utilizado nesse tipo de análise é o
510 da toxicidade em *Artemia salina*. Esse teste é considerado eficiente, seguro, rápido e
511 reprodutível. A mortalidade da *A. salina* é utilizada para identificar respostas biológicas em
512 diversas substâncias, nas quais as únicas variáveis envolvidas são a morte ou vida dos
513 indivíduos (Meyer et al., 1982).

514 Muitas bebidas (por exemplo: chás e café) não possuem valor nutricional relevante,
515 sendo consumidas basicamente devido aos efeitos fisiológicos benéficos que podem produzir
516 em nosso organismo, por exemplo, através do potencial antioxidante de seus compostos
517 fenólicos. Além disso, o prazer e a satisfação que seu aroma e sabor são capazes de
518 proporcionar são extremamente relevantes para que seu consumo seja difundido. Desses dois

519 atributos, o aroma é indubitavelmente o atributo mais complexo e está associado a um
520 conjunto de compostos voláteis presentes na matriz original ou produzidos durante seu
521 processamento (por exemplo, por torrefação) (De Maria, Moreira & Trugo, 1999).

522 Com tudo que foi mencionado anteriormente, fica fácil compreender a necessidade de
523 se estudar os potenciais toxicológico e antioxidante, assim como a composição das frações
524 volátil e não-volátil dessa “nova” infusão produzida a partir das cascas da amêndoa do cacau.
525 Esse tipo de conhecimento tem potencial para alavancar o uso dessa bebida, tornando a
526 indústria cacauera mais sustentável, agregando valor econômico a esse resíduo industrial e
527 permitindo um uso mais agradável, consciente e eficiente desse produto como um potencial
528 agente nutracêutico.

529

530 Refêrencias bibliográficas:

531 - Arlorio, M.; Coisson, J. D.; Travaglia, F.; Varsaldi, F.; Miglio, G.; Lombardi, G.; Martelli,
532 A. (2005). Antioxidant and biological activity of phenolic pigments from *Theobroma cacao*
533 hulls extracted with supercritical CO₂. *Food Research International*, 38(8), 1009–1014.

534

535 - Barbosa-Pereira, L.; Rojo-Poveda, O.; Ferrocino, I.; Giordano, M.; Zeppa, G. (2019).
536 Analytical dataset on volatile compounds of cocoa bean shells from different cultivars and
537 geographical origins. *Data Brief*, 25, 104268.

538

539 - Beckett, S. T. (2009). *Industrial Chocolate Manufacture and Use*. Wiley-Blackwell, London,
540 4th. ed.

541

542 - Belitz, H. D.; Grosch, W. (1999). *Food chemistry*. (2 ed.). Berlin: Springer Verlag, pp. 702-
543 711.

544

545 - Botsoglou, N.A.; Christaki, E.; Fletouris, D.J.; Florou-Paneri, P.; Spais, A.B. (2002). The
546 effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during
547 refrigerated storage. *Meat Science*, 62, 259–265.

548

549 - Braga, C.M. (2011). Histórico da utilização de plantas medicinais (Trabalho de conclusão de
550 curso). Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, GO, Brasil.

551

552 - Brasil Ministério da Saúde (2012). "Práticas integrativas e complementares: plantas
553 medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde".

554

555 - Bruna, C.; Rohn, S.; Kroh, L. W.; Huyskens-keil, S.; Eichholz, I. (2009). Bioactive
556 compounds and antioxidant activity of cocoa hulls (*Theobroma cacao* L.) from different
557 origins. *Journal of applied Botany and Food Quality*, 83(1), 9-13.

558

559 - kruft, J.; Zewuster, L. (2015). CBI product factsheet: cacao in Switzerland. CBI, Market
560 Intelligence, Ministry of Foreign Affairs, 1 – 17. Disponível em
561 [https://www.ceintelligence.com/files/documents/Cocoa%20Sector%20-](https://www.ceintelligence.com/files/documents/Cocoa%20Sector%20-%20Cacao%20in%20Switzerland.pdf)
562 [%20Cacao%20in%20Switzerland.pdf](https://www.ceintelligence.com/files/documents/Cocoa%20Sector%20-%20Cacao%20in%20Switzerland.pdf). Acessado em 10 de Agosto de 2022.

563

564 - Uritu, C. M.; Mihai, C. T.; Stanciu, G-D.; Dodi, G.; Alexa-Stratulat, T.; Luca, A.; Leon-565
Constantin, M-M.; Stefanescu, R.; Veronica, B.; Melnic, S.; Tamba, B. I. (2018). Medicinal
566 Plants of the Family Lamiaceae in Pain Therapy: A Review. *Pain Research and Management*.
567 Article ID 7801543, 44 pages. <https://doi.org/10.1155/2018/7801543>

568

569 - Cruz, J. M., Gonçalves, K. A. M. (2022). The use of medicinal herbal plants as
570 antidepressants in Brazil. *Brazilian Journal of Development*, 8 (1), 6940-6950.

571

572 - David , B.; Wolfender, J. L.; Dias, D. A. (2015). "The pharmaceutical industry and natural
573 products: historical status and new trends". *Phytochemistry Reviews*,14 (2), 299-315.

574

575 - De Maria, C. A. B.; Moreira, R. F. A.; Trugo, L. C. (1999). Componentes voláteis do café
576 torrado. Parte I. Compostos heterocíclicos. *Química Nova*, 22(2), 209 – 217.

577

578 - De Souza, T. P.; Lionzo, M. I. Z.; Petrovick, P. R. (2006). Avaliação da redução da carga
579 microbiana de droga vegetal através do processamento tecnológico: decocção e secagem por
580 aspersão. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16, 94-98.

581

- 582 - Évora, L. N. P. (2015). Actividades biológicas e citotoxicidade do óleo essencial de
583 *Rosmarinus officinalis* L. Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar. Universidade de
584 Coimbra. 94 p.
- 585
- 586 - Figueira, A.; Janick, J.; BeMiller, J.N. (1993). New products from *Theobroma cacao*: seed
587 pulp and pod gum. In: Janick, J., Simin, J.E. (eds.), *New Crops*, pp. 475–478. Wiley, New
588 York.
- 589
- 590 - Fredholm, B.B. Methylxanthines. In *Handbook of Experimental Pharmacology*; Fredholm,
591 B.B., Ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2011; Volume 200, ISBN 978 3 642 13442
592 5.
- 593
- 594 - Hernandez, G. M. C.; Efraim, P.; Silva, A. R. A.; Queiroz, G. C. (2022). Carbon footprint of
595 Brazilian cocoa produced in Pará state. *Brazilian Journal of Food Technology*, 25, e2020263.
- 596
- 597 - Jiang, Y.; Wu, N.; Fu, Y.-J.; Wang, W.; Luo, M.; Zhao, C.J.; Zu, Y.G.; Liu, X.L. (2011).
598 Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary.
599 *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 32, 63–68.
- 600
- 601 - Jozinović, A.; Balentić, J. P.; Ačkar, Đ.; Babić, J.; Pajin, B.; Miličević, B.; Guberac, S.;
602 Vrdoljak, A.; Šubarić, D. (2019). Cocoa husk application in the enrichment of extruded snack
603 products. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43, e13866.
- 604
- 605 - Jung, E. P.; Freitas, B. P.; kunigami, C. N.; Moreira, D. L.; Figueiredo, N. G.; Ribeiro, L.
606 O.; Moreira, R. F. A. (2022). *Bauhinia forficata* Link infusions: chemical and bioactivity of
607 volatile and non-volatile fractions. *Molecules*, 27, 5415.
608 <https://doi.org/10.3390/molecules27175415>
- 609
- 610 - Kalvatchev, Z.; Garzaro, D.; Cedezo, F.G. (1998). *Theobroma cacao* L.: un nuevo enfoque
611 para nutrición y salud. *Revista Agroalimentaria*, 6, 23–25.
- 612

- 613 - Lessa, O.A.; Reis, N.D.S.; Leite, S.G.F.; Gutarra, M.L.E.; Souza, A.O.; Gualberto, S.A.; de
614 Oliveira, J.R.; Aguiar-Oliveira, E.; Franco, M. (2017). Effect of the solid state fermentation of
615 cocoa shell on the secondary metabolites, antioxidant activity, and fatty acids. *Food Science
616 and Biotechnology*, 21 (1), 107-113.
- 617
- 618 - Marcolini, P. (2011). Tea made of cacao-bean peels, and method for producing same.
619 WO/2012/130278.
- 620
- 621 - Marques, T. S.; Moreira, R. F. A.; Ayres, E. M. M. (2022). Characterization of the essential
622 oils from leaves of different sweet potato cultivars grown in *Brazil*. *South African Journal of
623 Botany*, 144, 18 – 22.
- 624
- 625 - Meyer, B. N.; Ferrigni, N. R.; Putnam, J. E.; Jacobsen, L. B.; Nichols, D. E.; McLaughlin, J.
626 L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta
627 Medica*, 45(5), 31–34.
- 628
- 629 - Nieto, G.; Huvaere, K.; Skibsted, L.H. (2011). Antioxidant activity of rosemary and thyme
630 by-products and synergism with added antioxidant in a liposome system. *European Food
631 Research and Technology*, 233, 11–18.
- 632
- 633 - Nieto, G.; Ros, G.; Castillo, J. (2018). Antioxidant and Antimicrobial Properties of
634 Rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review. *Medicines*, 5, 98;
635 doi:10.3390/medicines5030098
- 636
- 637 - Okiyama, D.C.G.; Navarro, S.L.; Rodrigues, C.E.C. (2017). Cocoa shell and its compounds:
638 Applications in the food industry, *Trends in Food Science and Technology*, 63, 103-112.
- 639
- 640 - Pires, A. J. V.; Veira, V. F.; Silva, F. F.; Veloso, C. M.; Souza, A. L.; Oliveira, T. N.;
641 Santos, C. L.; Carvalho, G. G. P. (2005). Níveis de farelo de cacau (*Theobroma cacao*) na
642 alimentação de bovinos. *Revista Eletrônica de Veterinária REDVET*, 2, 2-3.
- 643

- 644 - Rodrigues, V. E. G.; De Carvalho, D. A. (2001). Etnobotanical survey of medicinal plants in
645 the dominion of meadows in the region of the Alto Rio Grande - Minas Gerais. *Revista*
646 *Ciência e Agrotecnologia*, 25, 102-123.
- 647
- 648 - Rojo-Poveda, O.; Barbosa-Pereira, L.; Zeppa, G.; Stévigny, C. (2020). Cocoa Bean Shell—
649 A By-Product with Nutritional Properties and Biofunctional Potential. *Nutrients* 2020, 12,
650 1123; doi:10.3390/nu12041123.
- 651
- 652 - Sienkiewicz, M.; Lysakowska, M.; Pastuszka, M.; Bienias, W.; Kowalczyk, E. (2013). The
653 potential of use Basil and Rosemary essential oils as effective antibacterial agents. *Molecules*,
654 18, 9334–9351.
- 655
- 656 - Souza, W. F. M., Mariano, X. M., Isnard, J. L., Souza, G. S., Gomes, A. L. S., Carvalho, R.
657 J. T., Rocha, C. B., Junior, C. L. S., Moreira, R. F. A., 2019. Evaluation of the volatile
658 composition, toxicological and antioxidant potentials of the essential oils and teas of
659 commercial Chilean boldo samples. *Food Res. Int.*, 124, 27-33.
- 660
- 661 - Teixeira, I. E. A-Z.; Gomes, A. L. S.; Júnior, L. F. R.; Rocha, C. B.; Moreira, R. F. A.
662 (2022). Avaliação do perfil químico e dos potenciais antioxidante e toxicológico dos óleos
663 essenciais de amostras de *Baccharis trimera* comercializadas em sachês. *Research, Society*
664 *and Development*, 11(10): e583111033270, DOI: [http://dx.doi.org/10.33448/rsd-](http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i10.33270)
665 [v11i10.33270](http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i10.33270)
- 666
- 667 - Vásquez, Z. S.; Neto, D. P. C.; Pereira, G. V. M., Vandenberghe, L. P. S., Oliveira, P. Z.,
668 Tiburcio, P. B., Rogez, H. L. G., Neto, A. G., Soccol, C. R. (2019). Biotechnological
669 approaches for cocoa waste management: A review. *Waste Management* 90: 72–83.
- 670
- 671 - Wang, W., Eu, N., Zu, YG., Fu, Y.J. (2008). Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis*
672 L. essential oil compared to its main components. *Food chemistry*, 108 (3), 1019-1022.
- 673
- 674 - Vitola, V.; Ciprova, I. (2016). The effect of cocoa beans heavy and trace elements on
675 safety and stability of confectionery products. *Rural Sustainability Research*, 35, 19–23.

676

677 3. OBJETIVOS

678 3.1. Objetivo geral

679 Estudar a composição química das frações voláteis, a capacidade antioxidante e o
680 potencial toxicológico de plantas utilizadas para a produção de infusões (erva *Rosmarinus*
681 *officinalis* e cascas das amêndoas de *Theobroma cacao*).

682 3.2. Objetivos específicos

- 683 ✓ Isolar os óleos essenciais (fração volátil) de amostras de alecrim (comercializadas na
684 cidade do Rio de Janeiro) e de amostras de cascas de amêndoas de cacau (provenientes
685 dos estados do Pará e da Bahia) por hidrodestilação em aparelho de Clevenger;
- 686 ✓ Caracterizar essas frações voláteis por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria
687 de massas (CG-EM) e por cromatografia gasosa com detector de ionização em chama
688 (CG-DIC);
- 689 ✓ Avaliar o potencial antioxidante dos óleos essenciais das amostras de alecrim e das
690 cascas das amêndoas do cacau;
- 691 ✓ Avaliar o teor total de compostos fenólicos, o teor total de flavonoides e a capacidade
692 antioxidante das infusões produzidas a partir dessas cascas de amêndoas de cacau;
- 693 ✓ Avaliar o potencial toxicológico das infusões dessas cascas de amêndoas de cacau.

694

695

696

697

698

699

700

701

702

703

704

705

706

707

708

709

710

711 CAPÍTULO 1

712

713 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DOS
714 ÓLEOS ESSENCIAIS DE ERVAS COMERCIALIZADAS SOB A DESIGNAÇÃO DE
715 ALECRIM

716

717 Evaluation of the chemical composition and antioxidant potential of essential oils from herbs
718 marketed under the name of rosemary

719

720

721

722 D. A. de Oliveira¹; G. Y. Gunji², B. C. da Silva², C. B. Rocha³, R. F. A. Moreira^{1,2*}

723

724 ¹Laboratório de Avaliação da Composição e Aroma de Produtos Alimentícios, Programa de
725 Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
726 (UNIRIO), 20211-030, Rio de Janeiro-RJ, Brasil

727 ²Departamento de Saúde Coletiva, Instituto Biomédico, Universidade Federal do Estado do
728 Rio de Janeiro (UNIRIO), 20211-030, Rio de Janeiro-RJ, Brasil

729 ³Laboratório de Estudos de Ervas Medicinais, Departamento de Ciências Fisiológicas,
730 Instituto Biomédico, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), 20211-
731 030, Rio de Janeiro-RJ, Brasil

732

733 *ricardo.moreira@unirio.br

734

735 Esse capítulo foi submetido para a revista **Scientia Plena** como um artigo original.

736

737

738

739

740

741 RESUMO

742

743 Comunidades tradicionais fazem uso de certas plantas para a cura de doenças diversas
744 desde a Antiguidade. A partir disso, terapias alternativas vêm sendo estudadas nos dias de
745 hoje em contraponto às terapias farmacológicas de base sintética convencionais. Nesse
746 contexto, uma das plantas mais estudadas é a *Rosmarinus officinalis*, comercializada
747 popularmente como alecrim. Ela pertence à família Lamiaceae, predomina em regiões
748 mediterrâneas, possui folhas pequenas, finas e lanceoladas. Seu óleo essencial tem potencial
749 bioativo, com destaque para as atividades anti-inflamatória, antimicrobiana e antioxidante.
750 Essas propriedades são frequentemente associadas à presença de compostos como o α -pineno,
751 canfeno, cânfora e o 1,8-cineol. O objetivo do presente estudo foi avaliar a capacidade
752 antioxidante e a composição química dos óleos essenciais de amostras de ervas
753 comercializadas na cidade do Rio de Janeiro sob a designação de alecrim. Foram avaliados
754 três lotes distintos de cada uma das cinco marcas de alecrim monitoradas. Os óleos essenciais
755 foram extraídos por hidrodestilação em aparelho de Clevenger e foram utilizadas técnicas
756 espectrofotométricas e cromatográficas para o desenvolvimento das análises. Foram
757 identificados 24 compostos nas 15 amostras estudadas. Os perfis químicos dessas amostras se
758 mostraram qualitativamente e quantitativamente muito semelhantes. Os compostos
759 majoritários encontrados foram o α -pineno, 1,8-cineol, cânfora, endo-borneal e o α -terpineol.
760 Não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre as marcas no que diz respeito ao
761 teor desses compostos. A análise da capacidade antioxidante foi realizada pelo método do
762 DPPH e os resultados foram expressos como valores de IC_{50} . Os óleos essenciais
763 apresentaram valores de IC_{50} semelhantes ($p > 0,05$) e relativamente baixos, revelando que
764 todas as amostras tinham boa capacidade antioxidante.

765 Palavras-chave: *Rosmarinus officinalis*, óleos essenciais, composição química, atividade
766 antioxidante, DPPH.

767

768

769

770

771

772

773 ABSTRACT

774 Traditional communities make use of certain plants to cure several diseases since
775 antiquity. From this, new alternative therapies are currently been studied in contrast to
776 conventional synthetic pharmacological therapies. In this context, one of the most studied
777 plants is *Rosmarinus officinallis*, popularly marketed as rosemary. It belongs to the
778 Laemiasceae family, predominates in Mediterranean regions, has small, thin and lanceolate
779 leaves. Its essential oil has a bioactive potential, highlighting the antiinflammatory,
780 antimicrobial and antioxidant activities. These properties are often associated with the
781 presence of compounds such as α -pinene, camphene, camphor and 1,8-cineol. The objective
782 of the present study was to evaluate the antioxidant capacity and chemical composition of the
783 essential oils of herbal samples marketed Rio de Janeiro city under the designation of
784 rosemary. Three distinct lots from each of the five monitored rosemary brands were
785 evaluated. The essential oils were extracted by hydrodistillation in Clevenger apparatus and
786 analyzed by spectrophotometric and chromatographic techniques. Twenty-four compounds
787 were identified in the 15 samples studied. The chemical profiles of these samples were
788 qualitatively and quantitatively very similar. The major compounds found were α - pinene,
789 1,8-cineol, camphor, endo-borneal, and α -terpineol. There was no statistically significant
790 difference ($p > 0.05$) between the brands with respect to the contents of these four compounds.
791 The antioxidant capacity analysis was carried out by the DPPH method and expressed as IC_{50}
792 value. Essential oils showed similar ($p > 0.05$) and relatively low IC_{50} values, revealing that
793 all samples had good antioxidant capacity.

794 Keyword: *Rosmarinus officinallis*, essential oils, chemical composition, antioxidante activity,
795 DPPH.

796

797

798

799

800

801

802

803

804

805 1. INTRODUÇÃO

806 A planta conhecida como alecrim (*Rosmarinus officinalis*) pertence à família
 807 Lamiaceae. Essa família possui 180 gêneros e 3.500 espécies que são encontradas
 808 predominantemente em regiões mediterrâneas, montanhas tropicais e Oriente Médio (Judd et
 809 al., 2002). É um arbusto lenhoso (1,8 m de altura), com folhas pequenas e finas, opostas e
 810 lanceoladas. Possui na parte inferior das folhas uma coloração verde acinzentada e na parte
 811 superior uma coloração verde brilhante (Morales, Flora Ibérica). Desenvolve-se em terrenos
 812 secos e calcários e é, entre as espécies da família, a mais explorada devido ao valor funcional
 813 de seu óleo essencial (Zaouali et al., 2010).

814 Há mais de uma centena de substâncias já identificadas na *Rosmarinus officinalis*,
 815 principalmente compostos voláteis e fenólicos. Em sua fração volátil (óleo essencial), os
 816 compostos majoritários são monoterpenos e monoterpenos oxigenados como já indicado por
 817 vários autores (Bouyahya et al., 2017; Elmi et al., 2017; Hcini et al., 2013; Jamishidi et al.,
 818 2009; Isman et al., 2008; Bozin et al., 2007; Wang et al., 2008; Raskovic et al., 2014; Ali et
 819 al., 2019). Na tabela abaixo estão listados os compostos identificados mais frequentemente até
 820 o momento como componentes dos óleos essenciais de alecrim, com ênfase nos compostos
 821 presentes em maior concentração.

822

Tabela 1 – Compostos voláteis já identificados em amostras de alecrim

Compostos terpênicos	
<i>Monoterpenos</i>	<i>% no óleo essencial</i>
α -Pineno*	11 ^{Ref.4} – 39 ^{Ref.9}
Canfeno*	2,57 ^{Ref.9} – 53 ^{Ref.9}
β -Pineno*	0,133 ^{Ref.1} – 9,2 ^{Ref.4}
β -Mirceno ^{5/9}	0,7 ^{Ref.3} – 3,968 ^{Ref.6}
α -Felandreno ^{6/9}	0,1 ^{Ref.9} – 1,23 ^{Ref.7}
β -Felandreno ^{2/9}	0,9 ^{Ref.5} – 4,7 ^{Ref.9}
Limoneno ^{7/9}	0,110 ^{Ref.1} – 21,7 ^{Ref.5}
γ -Terpineno ^{6/9}	0,064 ^{Ref.6} – 1,4 ^{Ref.9}

Sabineno ^{4/9}	0,05 ^{Ref.8} – 2,0 ^{Ref.5}
p-Cimeno ^{5/9}	0,127 ^{Ref.1} – 2,8 ^{Ref.2}
α -Terpinoleno ^{2/9}	0,5 ^{Ref.9} – 1,487 ^{Ref.1}
<i>Monoterpenos oxigenados</i>	<i>% no óleo essencial</i>
1,8-Cineol*	2,1 ^{Ref.5} – 55,3 ^{Ref.9}
Linalool*	0,101 ^{Ref.1} – 5,70 ^{Ref.3}
Cânfora*	2,1 ^{Ref.9} – 26,8 ^{Ref.9}
Isoborneal ^{2/9}	0,2 ^{Ref.3} – 0,53 ^{Ref.8}
Borneal*	1,7 ^{Ref.9} – 15,46 ^{Ref.1}
α -Terpineol*	0,294 ^{Ref.6} – 11,0 ^{Ref.9}
Terpinen-4-ol ^{3/9}	0,05 ^{Ref.2} – 1,8 ^{Ref.9}
γ -Terpineol ^{1/9}	0,40 ^{Ref.8}
Acetato de bornila ^{6/9}	0,1 ^{Ref.4} – 5,076 ^{Ref.6}
α -Tuieno ^{3/9}	0,13 ^{Ref.8} – 0,43 ^{Ref.7}
<i>Sesquiterpenos</i>	<i>% no óleo essencial</i>
Verbenona ^{4/9}	1,1 ^{Ref.9} – 8,21 ^{Ref.9}
β -Cariofileno ^{7/9}	0,15 ^{Ref.9} – 3,93 ^{Ref.8}
α -Muuroleno ^{2/9}	0,3 ^{Ref.9} – 0,9 ^{Ref.5}
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>	<i>% no óleo essencial</i>
Óxido de cariofileno ^{6/9}	0,1 ^{Ref.4,5,9} – 0,643 ^{Ref.6}
Cariofilenol ^{1/9}	0,2 ^{Ref.5}
<i>Compostos não terpênicos</i>	
<i>Álcool</i>	<i>% no óleo essencial</i>
3-Octenol ^{1/9}	1,3 ^{Ref.5}
<i>Hidrocarboneto</i>	<i>% no óleo essencial</i>
Nonadecano ^{1/9}	0,3 ^{Ref.5}

1/9 – substância indicada como componente do óleo essencial de alecrim em 1 dos 9 artigos consultados; 2/9 – substância indicada como componente do óleo essencial de alecrim em 2 dos 9 artigos consultados; 3/9 – substância indicada como componente do óleo essencial de alecrim em 3 dos 9 artigos consultados; 4/9 – substância indicada como componente do óleo essencial de alecrim em 4 dos 9 artigos consultados; 5/9 – substância indicada como componente do óleo

essencial de alecrim em 5 dos 9 artigos consultados; 6/9 – substância indicada como componente do óleo essencial de alecrim em 6 dos 9 artigos consultados; 7/9 – substância indicada como componente do óleo essencial de alecrim em 7 dos 9 artigos consultados; * - substância indicada como componente do óleo essencial de alecrim em todos os nove artigos consultados; Ref.1: Bouyahya et al., 2017; Ref.2: Elmi et al., 2017; Ref.3: Hcini et al., 2013; Ref.4: Jamishidi et al., 2009; Ref.5: Isman et al., 2008; Ref.6: Bozin et al., 2007; Ref.7: Wang et al., 2008; Ref.8: Raskovic et al., 2014; Ref.9: Ali et al., 2019.

823

824 Dentre os compostos encontrados mais frequentemente como componentes dos óleos
825 essenciais de alecrim destacam-se o α -pineno, canfeno, 1,8-cineol (eucaliptol), cânfora e
826 borneal em função de suas concentrações normalmente elevadas nesse tipo de matriz. Os
827 sesquiterpenos verbenona e β -cariofileno também merecem destaque em função de sua
828 frequência de ocorrência e/ou de suas concentrações nesses óleos essenciais. (Tabela 1).

829 Alguns fatores ambientais e diferentes formas de cultivo podem justificar as diferenças
830 qualitativas e quantitativas na composição dos óleos essenciais de alecrim apresentados na
831 Tabela 1 (Borges & Amorim, 2020). No entanto, a avaliação da literatura científica dessa área
832 mostra que alguns compostos frequentemente encontrados em concentrações elevadas nesses
833 óleos podem funcionar como marcadores químicos dos mesmos. Esses compostos podem
834 explicar algumas das propriedades fitoterápicas e aromáticas associadas a essa erva (Tabela
835 2).

836 Devido ao seu aroma atrativo e potencial benéfico para a saúde humana, o alecrim é
837 amplamente consumido pela população, principalmente na forma de infusões (produzidas a
838 partir de suas folhas secas ou frescas) que são utilizadas na medicina tradicional pelo
839 potencial anti-inflamatório, antimicrobiano, diurético e antioxidante (Ribeiro-Santos et al.,
840 2015). Durante a preparação dessas infusões, uma parte desses óleos essenciais é extraída e,
841 dessa forma, parte da atividade biológica dessas bebidas pode estar relacionada com alguns
842 dos compostos voláteis majoritários presentes nesses óleos essenciais (Arranz et al., 2013). O
843 1,8-cineol e o α -pineno, por exemplo, apresentam atividade antimicrobiana contra
844 *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* e
845 *Aspergillus niger* (Jiang et al., 2015). Compostos como o α -pineno, β -pineno, 1,8-cineol,
846 borneal e canfeno já foram associados ao potencial antioxidante desses óleos essenciais
847 (Wang et al., 2008). O limoneno, borneal e o β -pineno foram relacionados a possíveis efeitos
848 anticarcinogênicos (Yanishlieva et al., 2006). É importante mencionar que compostos
849 presentes em menores concentrações nesses óleos essenciais e infusões também podem

850 influenciar a bioatividade dessa planta. Nesse caso, esses compostos poderiam exercer seus
851 efeitos através, por exemplo, de ações sinérgicas (Hussain et al., 2010).

852

853 **Tabela 2** - Propriedades farmacológicas dos principais compostos terpênicos já identificados
854 na fração volátil do alecrim

Compostos	Propriedades farmacológicas
α -Pinoeno	Bactericida, antitumorogênico ^{1,2,10} , antioxidante ^{1,2,10,11} , Hepatoprotetor ³ ; Anti-inflamatório ⁶
β -Pinoeno	Bactericida, antitumorogênico ^{1,2,10} , antioxidante ^{1,2,10,11}
1,8-Cineol	Bactericida ^{1,2,10,13} , antitumorogênico, antifúngico ^{1,2,10} , antioxidante ^{1,2,10,11} , hepatoprotetor, relaxante muscular, anti- inflamatório, hipotensivo ³ , antidepressivo ^{4,14} , Antiálgico ⁵ , antialérgico ⁹
Cânfora	Anti-inflamatório ⁷ , Antiálgico ⁴ , Anti- mutagênico ⁸
Borneal	Antioxidante ^{1,2,10,11,12} , analgésico ¹⁷ , anti- inflamatório ¹⁶ , fator de apoptose ¹⁸ , antitumorogênico ¹⁹ , ant-helmíntico ²⁰
Canfeno	Antioxidante ^{1,2,10,11,12}
Limoneno	Sedativo, antidepressivo, antitumorogênico ¹⁵

1: Wang et al., 2012; 2: Bozin et al., 2007; 3: Raskovic et al., 2014; 4: Faria et al., 2011; 5: Vilela et al., 2016; 6: Nam el al., 2014; 7: Silva-Filho et al., 2014; 8: Takayama et al., 2016; 9: Borges et al., 2019; 10: : Bouyahya, 2017; 11: Wang et al., 2008; 12: Elmi et al., 2017, 13: Hussain et al., 2010; 14: Machado et al., 2013; 15: De Almeida et al., 2014; 16: Zhong et al., 2014; 17: Jiang et al., 2015; 18: Meng et al., 2014; 19: Machado et al., 2014.

855

856 Como mencionado anteriormente, o aroma e outras características sensoriais dessa
857 erva (alecrim) podem ser influenciados pela presença de alguns dos compostos terpênicos
858 listados nas tabelas 1 e 2. O 1,8-cineol, por exemplo, é relacionado a um aroma refrescante; o
859 α -pinoeno ao aroma de pinho; a cânfora ao aroma de menta e o borneal a um gosto acre
860 (Svoboda, 1992).

861 Com tudo que foi exposto acima, fica fácil entender a necessidade de caracterização
862 das diferentes espécies de ervas brasileiras através de análises químicas em suas frações
863 volátil e não-volátil. Particularmente, a caracterização da fração volátil (óleo essencial) de
864 amostras comerciais de *Rosmarinus officinalis* pode permitir avaliar sua autenticidade,
865 detectando possíveis fraudes, viabilizar ou facilitar a criação de novas formulações
866 (medicamentos e alimentos sensorialmente mais atrativos) e, por último, pode fornecer dados
867 para um uso mais consciente dessa erva como medicamento por parte dos consumidores, uma
868 vez que muitos desses compostos presentes em seus óleos essenciais apresentam bioatividade.
869 Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi caracterizar a composição química dos óleos
870 essenciais de alecrim comercializadas na cidade do Rio de Janeiro e determinar
871 sua capacidade antioxidante.

872

873 2. METODOLOGIA

874 2.1. MATÉRIA VEGETAL

875 Foram adquiridas 15 amostras de alecrim desidratado em embalagens de polietileno
876 vedadas, sem exposição à luz solar, de diferentes marcas comerciais, em supermercados e
877 lojas de produtos naturais na cidade do Rio de Janeiro. Foram cinco marcas com 3 lotes em
878 cada uma: M1L1, M1L2, M1L3; M2L1, M2L2, M2L3; M3L1, M3L2, M3L3; M4L1, M4L2,
879 M4L3; M5L1, M5L2, M5L3.

880

881 2.2. ISOLAMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL

882 A moagem foi realizada com o “moinho para cereais *Guzzo*”. Os óleos essenciais
883 foram extraídos por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger. Uma quantidade
884 correspondente a 50 g de amostra de alecrim em 1000 mL de água destilada sofreu
885 hidrodestilação por 1 hora e 30 minutos a uma temperatura de 100°C. Ao final da
886 hidrodestilação, a água foi toda eluída e o óleo essencial foi captado a partir da lavagem do
887 sistema com 10 mL de acetato de etila. Após esse procedimento, esse solvente foi eliminado
888 por arraste com nitrogênio industrial. Os óleos essenciais foram armazenados em pequenos
889 frascos a uma temperatura de -18°C para posterior análise cromatográfica.

890

891 2.3. ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL

892 2.3.1. Cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (CG/DIC)

893 As análises de CG/DIC foram feitas em um cromatógrafo GC-2010Plus da Shimadzu
894 (Japão). Para a separação dos compostos voláteis nos óleos essenciais foi utilizada uma
895 coluna capilar de sílica fundida (30m x 0,25mm d.i.) revestida de dimetil poli-siloxano
896 (100%), com espessura de filme de 0,25 μm (SPB-1, Supelco, EUA). A temperatura do forno
897 cromatográfico foi programada para permanecer inicialmente a 50°C durante três minutos.
898 Depois disso, a temperatura aumentou para 180°C, a uma taxa constante de 2°C/minuto. O
899 tempo total da corrida cromatográfica foi de 68 minutos. As temperaturas do injetor e do
900 detector foram mantidas em 250°C. Foi utilizado o gás hélio como carreador em um fluxo
901 constante de 1,0 mL minuto^{-1} . As injeções dos óleos essenciais não diluídos (1 μL) foram
902 realizadas em split de 1:50. Os índices de retenção dos compostos na coluna foram estimados
903 pelo método de Kovats modificado (Van Den Dool & Kratz, 1963), com o auxílio da mistura
904 de alcanos saturados ($\text{C}_7 - \text{C}_{26}$; 1.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de cada componente em hexano). As
905 concentrações dos compostos voláteis foram estimadas pela técnica de normalização de área.

906

907 2.3.2. Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM)

908 As análises de espectrometria de massas foram realizadas em um sistema de
909 cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas do tipo GC-2010Plus/GCMS-910
QP2010 da Shimadzu (Japão). As condições cromatográficas e a coluna foram as mesmas 911
descritas nas análises do CG/DIC. Realizou-se varreduras nos fragmentos na faixa de 35 a 400 912
 m/z , em ciclos de 3 décimos de segundo, a uma voltagem de ionização de 70eV. As 913
temperaturas da interface com o CG e da fonte de íons foram mantidas em 250°C. Como os 914
óleos essenciais foram injetados puros, não houve necessidade de estabelecer tempo de corte 915
para o solvente. A partir dos dados disponíveis nas bibliotecas espectrais NIST12.lib e 916
NIST62.lib, presentes no software gerenciador desse sistema de CG/EM, foi feita a 917
identificação dos espectros de massas dos compostos em análise. Essa identificação foi 918
complementada com a comparação dos índices de Kovats calculados para os compostos com 919
aqueles disponíveis na literatura.

920

921 2.3.3. Análise Atividade antioxidante (IC_{50} – DPPH)

922 Foi utilizada para a análise do potencial antioxidante dos óleos essenciais a metodologia
923 descrita por Govindarajan et al., (2003). As 15 amostras dos óleos essenciais de alecrim foram
924 diluídas em metanol nas seguintes concentrações: 5, 25, 50 e 75 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As análises foram

925 desenvolvidas em triplicata para cada concentração testada. Para a determinação da atividade
 926 antioxidante foram misturados 50 µL de cada solução metanólica com 450 µL da solução de
 927 trabalho de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil, Sigma, EUA), com absorbância inicial de
 928 $0,750 \pm 0,15$ (volume total de 0,5 mL). Foi mensurada a absorbância em espectrofotômetro
 929 digital (EDUTEC EEQ-9023, Brasil) no comprimento de onda de 515 nm após 60 minutos de
 930 reação no escuro. Foi calculado o IC50 através de uma curva de regressão linear. A solução
 931 DPPH foi feita a partir de uma solução estoque de DPPH ($0,4 \text{ mg mL}^{-1}$).

932

933 2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

934 Com auxílio do software Graph Pad Prism 6.0 foram realizadas as análises estatísticas.
 935 Os dados de concentração dos compostos, rendimento de extração e atividade antioxidante
 936 dos óleos essenciais foram submetidos à análise de variância do tipo one-way ANOVA, com
 937 posterior realização do pós-teste de Tukey para múltiplas comparações entre os grupos ($p <$
 938 $0,05$).

939

940 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

941 Os rendimentos do processo de extração dos óleos essenciais das amostras de alecrim
 942 são apresentados na Tabela 3. Esses rendimentos estão dentro das faixas normalmente
 943 indicadas em trabalhos anteriores. Por exemplo, Serafini et al. (2002) encontrou rendimentos
 944 de extração do óleo essencial de amostras de alecrim no intervalo de 0,5 a 1,2%, enquanto
 945 Zaouali et al. (2010) reportou valores de rendimento que variaram entre 1,17 e 2,7%. Não
 946 houve diferença estatística significativa entre as marcas ($p > 0,05$) em relação a esse
 947 parâmetro (vide Figura 1).

948

Tabela 3: Rendimento percentual médio do processo de extração dos óleos essenciais das amostras de alecrim.

Marca	Rendimento ($M \pm DP$) %
M1	$1,34 \pm 0,38$
M2	$1,09 \pm 0,12$
M3	$1,25 \pm 0,20$
M4	$0,85 \pm 0,13$
M5	$1,3 \pm 0,11$

M1 – amostras de alecrim da marca 1; M2 – amostras de alecrim da marca 2; M3 – amostras

de alecrim da marca 3; M4 – amostras de alecrim da marca 4; M5 – amostras de alecrim da marca 5; M – valor médio; DP – desvio padrão.

949

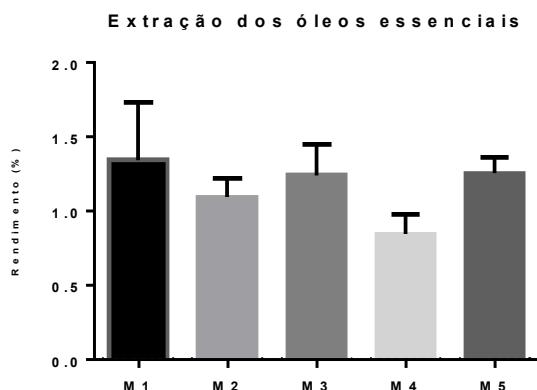


Figura 1: Gráfico do rendimento de extração dos óleos essenciais das amostras de alecrim. M1: amostras de alecrim da marca 1; M2: amostras de alecrim da marca 2; M3: amostras de alecrim da marca 3; M4: amostras de alecrim da marca 4; M5: amostras de alecrim da marca 5.

950

951 Os compostos voláteis identificados nas amostras comercializadas sob a designação de
 952 alecrim na cidade do Rio de Janeiro estão listados na Tabela 4. Dos vinte e quatro compostos
 953 identificados nos óleos essenciais das amostras de alecrim, vinte e dois são compostos
 954 terpênicos e dois fazem parte do grupo de não-terpênicos (1-octen-3-ol é um álcool e o éter de
 955 metil-eugenol é um derivado de fenilpropanoide). No grupo dos compostos terpênicos foram
 956 identificadas as seguintes classes: monoterpenos (8 representantes), monoterpenos oxigenados
 957 (9), sesquiterpenos (3) e sesquiterpenos oxigenados (2).

958

959 **Tabela 4** – Composição dos óleos essenciais das amostras de alecrim coletadas na cidade do Rio de
 960 Janeiro.

Compostos	IKC	IKL	Concentração % média no óleo essencial				
			M1	M2	M3	M4	M5
α -Pinoeno ^M	923	948	4,49 ± 0,14	4,29 ± 0,38	5,21 ± 0,19	3,12 ± 1,39	5,15 ± 0,17
Canfeno ^M	933	943	1,72 ± 0,10	1,97 ± 0,38	1,99 ± 0,14	1,24 ± 0,6	2,02 ± 0,04
β -Pinoeno ^M	959	943	1,14 ± 0,08	0,76 ± 0,15	0,97 ± 0,32	0,67 ± 0,18	1,28 ± 0,16
1-Octen-3-ol ^{Al}	967	969	0,21 ± 0,03	0,16 ± 0,14	0,17 ± 0,02	0,23 ± 0,01	0,1 ± 0,14
β -Mirceno ^M	978	958	0,89 ± 0,20	0,47 ± 0,81	0,89 ± 0,05	0,76 ± 0,28	0,98 ± 0,13
α -Felandreno ^M	989	969	0,12 ± 0,01	0,04 ± 0,06	0,10 ± 0,00	Nd	0,9 ± 0,00
α -Terpineno ^M	997	997 ^{Pub}	Nd	Nd	0,02 ± 0,04	Nd	Nd

1,8-Cineol ^{MO}	1020	1059	43,70 ± 4,73	41,20 ± 1,18	41,91 ± 2,69	38,88 ± 2,03	42,86 ± 0,60
γ-Terpineno ^M	1042	1042	0,33 ± 0,09	0,10 ± 0,08	0,25 ± 0,05	0,23 ± 0,07	0,18 ± 0,02
Mircenol ^{MO}	1051	1064I	NdI	0,01 ± 0,01	Nd	Nd	Nd
α-Terpinoleno ^M	1070	1052	0,07 ± 0,13	0,07 ± 0,06	0,15 ± 0,02	0,11 ± 0,10	0,12 ± 0,01
Linalol ^{MO}	1090	1082	1,69 ± 0,21	1,99 ± 0,19	1,37 ± 0,46	1,86 ± 0,45	1,66 ± 0,21
Cânfora ^{MO}	1116	1121	21,21 ± 2,55	22,72 ± 1,14	18,39 ± 2,78	22,27 ± 2,58	20,84 ± 1,73
Endo-borneal ^{MO}	1144	1138	5,54 ± 4,8	7,63 ± 0,72	8,46 ± 1,26	11,2 ± 1,97	7,00 ± 0,65
Terpinen-4-ol ^{MO}	1154	1137	1,42 ± 0,24	1,48 ± 0,18	1,3 ± 0,07	1,78 ± 0,17	1,43 ± 0,23
α-Terpineol ^{MO}	1169	1143	6,96 ± 1,35	7,3 ± 0,93	6,05 ± 1,04	8,22 ± 0,39	6,54 ± 0,82
Acetato de bornila ^{MO}	1258	1277	0,4 ± 0,69	0,5 ± 0,44	0,71 ± 0,21	1,04 ± 0,22	0,38 ± 0,00
Timol ^{MO}	1270	1262	Nd	Nd	0,24 ± 0,23	0,21 ± 0,04	Nd
Éter de metil-eugenol ^{FP}	1365	1361	Nd	Nd	Nd	0,07 ± 0,02	Nd
Cariofileno ^S	1399	1399 ^N	2,47 ± 0,53	1,75 ± 0,79	1,47 ± 1,28	3,21 ± 0,36	1,71 ± 0,24
α-Bergamoteno ^S	1429	1429 ^{Pub}	Nd	0,12 ± 0,21	0,19 ± 0,16	0,43 ± 0,07	Nd
δ-Cadineno ^S	1498	1509 ^{Pub}	Nd	0,06 ± 0,06	0,14 ± 0,12	0,14 ± 0,16	Nd
Viriflorol ^{SO}	1546	1530	0,09 ± 0,16	0,06 ± 0,01	0,37 ± 0,14	0,54 ± 0,13	0,32 ± 0,06
Widrol ^{SO}	1622	1610 ^{Phe}	Nd	0,33 ± 0,28	0,5 ± 0,19	0,56 ± 0,17	0,33 ± 0,09
TOTAL			92,77 ± 5,58	94,79 ± 3,66	90,91 ± 6,79	96,81 ± 0,29	92,99 ± 4,53

961 IKC - índices de Kovats calculados (Van den Dool & Kratz, 1963); IKL - índices de Kovats
 962 obtidos da literatura; ^N - NIST; ^{Pub} - PubChem; ^c - ChemSpider; ^{Phe} - Pherobase. Nd - Não
 963 detectado; M1 - amostras de alecrim da marca 1; M2 - amostras de alecrim da marca 2; M3 -
 964 amostras de alecrim da marca 3; M4 - amostras de alecrim da marca 4; M5 - amostras de
 965 alecrim da marca 5.

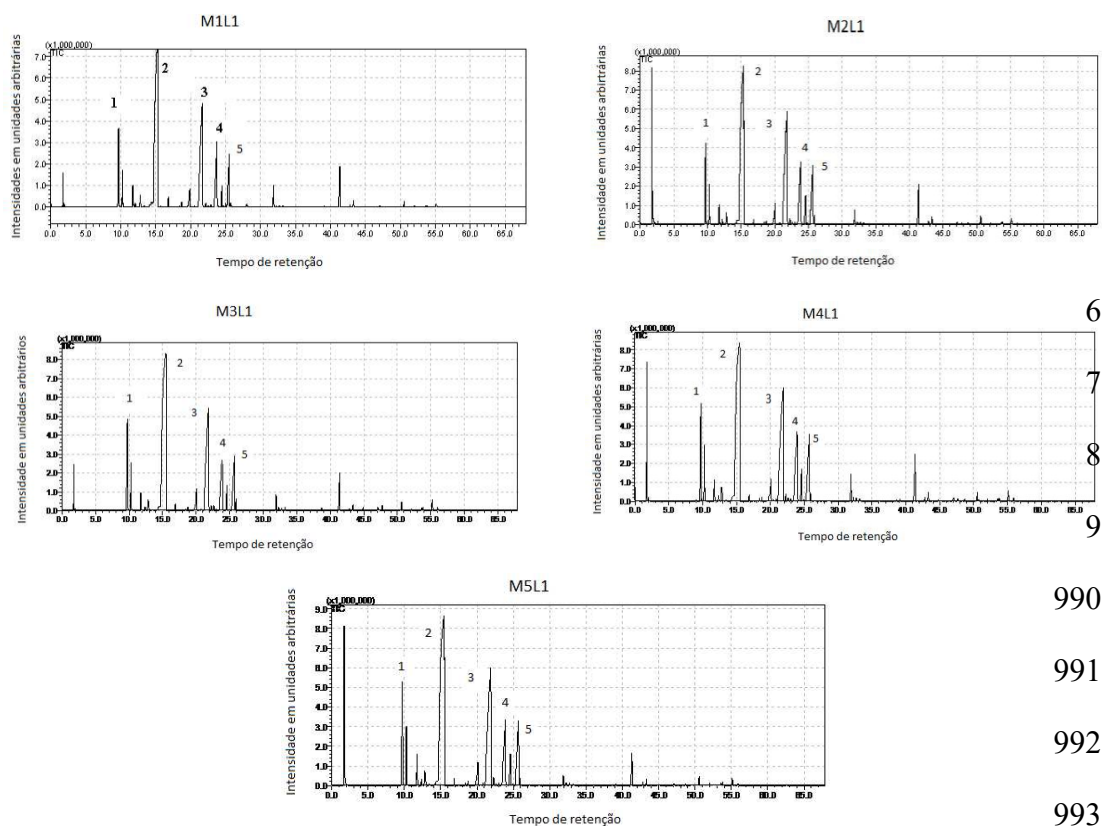
966

967 Os compostos α-pineno, canfeno, β-pineno, 1,8-cineol, linalol, cânfora, α-terpineol e
 968 terpinen-4-ol estavam presentes em todos os lotes das cinco marcas analisadas.
 969 Aparentemente, as amostras comerciais estudadas são autênticas, pois apresentam óleos
 970 essenciais com perfis químicos muito semelhantes aos indicados em outros estudos
 971 conduzidos anteriormente sobre o alecrim e disponíveis na literatura (vide Tabela 1). No
 972 aspecto quantitativo se destacaram os compostos 1,8-cineol, cânfora, endo-borneal, α-
 973 terpineol e α-pineno (Figura 2). Segundo Kabouche et al. (2005), o 1,8-cineol (eucaliptol) é o
 974 composto majoritário do óleo essencial de alecrim. O α-pineno, a cânfora e o α-terpineol
 975 também são considerados compostos abundantes nesse tipo de óleo essencial (Sienkiewicz et

976 al., 2013). Esses resultados disponíveis na literatura corroboram com os dados apresentados
 977 no presente estudo.

978 Os óleos essenciais das amostras provenientes das 5 marcas analisadas também
 979 apresentaram perfis químicos muito semelhantes entre si. Isso pode ser claramente percebido
 980 pela avaliação dos cromatogramas abaixo (Figura 2).

981



990
 991
 992
 993
 994
 995
 996
 997
 998
 999
 1000
 1001
 1002
 1003

Figura 2: Cromatogramas dos óleos essenciais das amostras de alecrim analisadas; 1- α -pineno; 2- 1,8-cineol; 3- cânfora; 4- endo-borneal; 5- α -terpineol; M1L1 – amostra do lote 1 da marca 1, M2L1 – amostra do lote 1 da marca 2; M3L1 – amostra do lote 1 da marca 3; M4L1 – amostra do lote 1 da marca 4; M5L1 – amostra do lote 1 da marca 5.

996

997 Outro fato que caracteriza a semelhança entre as amostras é que não houve diferença
 998 estatística significativa ($p > 0,05$) entre as marcas quando as concentrações dos compostos
 999 que apareceram em todos os lotes (α -pineno, canfeno, β -pineno, 1,8-cineol, linalol, cânfora,
 1000 terpinen-4-ol e α -terpineol) foram comparadas. Para fins ilustrativos, a Figura 3 mostra a
 1001 semelhança dos teores % médios dos dois principais compostos presentes nesses óleos
 1002 essenciais (1,8-cineol e cânfora) nas diferentes marcas avaliadas.

1003

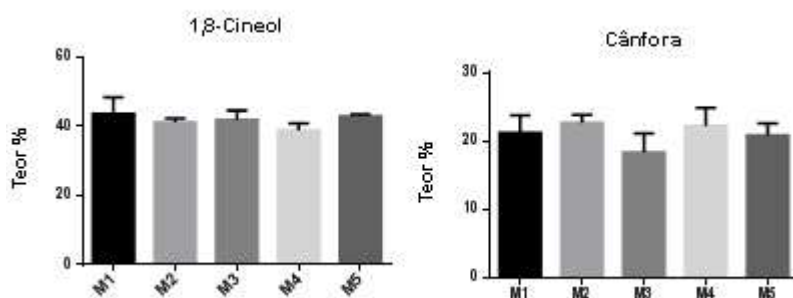


Figura 3: Teor % médio de 1,8-cineol e de cânfora em cada uma das marcas analisadas; M1: amostras de alecrim da marca 1; M2: amostras de alecrim da marca 2; M3: amostras de alecrim da marca 3; M4: amostras de alecrim da marca 4; M5: amostras de alecrim da marca 5.

1004

1005 Por outro lado, alguns poucos compostos, presentes em baixíssimas concentrações,
 1006 foram detectados em todos os lotes de apenas uma das marcas. Foi o caso do mircenol, que foi
 1007 encontrado somente nas amostras da marca 2, e do éter de metil-eugenol, achado apenas na
 1008 marca 4 (vide Tabela 4).

1009 O 1,8-cineol tem aroma de eucalipto, o terpinen-4-ol e o α -terpineol aromas cítricos, o
 1010 α -pineno e o β -pineno odores de pinho e erva (Jirovetz et al.; 2006; Leffingwell & Associates
 1011 Odor Thresholds). Os limites de detecção olfativa desses compostos são 12 ppb (1,8-cineol),
 1012 330 - 350 ppb (terpinen-4-ol e α -terpineol), 6 ppb (α -pineno), 140 ppb (β -pineno) e 79 ppb
 1013 (cânfora) (Leffingwell & Associates Odor Thresholds). Quanto menor o limite de detecção de
 1014 odor de um composto, maior será seu potencial para influenciar o aroma da matriz na qual
 1015 está contido. Por conta do seu limite de detecção de odor baixo e de sua elevada concentração
 1016 nos óleos essenciais, o 1-8-cineol (eucaliptol) parece ser o principal composto responsável
 1017 pelo aroma penetrante e refrescante das amostras de alecrim. Por motivos similares, o α -
 1018 pineno e a cânfora devem ter contribuição relevante para o aroma desses óleos essenciais de
 1019 alecrim.

1020 As atividades antioxidantes das amostras de *Rosmarinus officinallis* foram
 1021 determinadas pelo método do radical DPPH e expressas como valores de IC₅₀ (Tabela 5). Esse
 1022 parâmetro indica a concentração de um composto ou de uma mistura de compostos que é
 1023 capaz de neutralizar 50% dos radicais DPPH presentes em um meio reacional (Kadri et al.;
 1024 2011). Quanto menor o valor de IC₅₀ da amostra em análise, melhor será sua capacidade
 1025 antioxidante. Os óleos essenciais das amostras analisadas apresentaram valores de IC₅₀(DPPH)
 1026 semelhantes ($p > 0,05$) e relativamente baixos (vide Tabela 5), revelando que todas as
 1027 amostras tinham boa capacidade antioxidante. Estudos de Btissam et al. (2015) encontraram

1028 um valor médio de $IC_{50(DPPH)}$ para o óleo essencial de *Rosmarinus officinallis* de 42,08 mg
 1029 mL^{-1} . A maioria dos valores de IC_{50} encontrados no presente estudo aparenta ser superior a
 1030 esse valor indicado por Btissam e colaboradores em 2015, indicando um menor potencial
 1031 antioxidante para as amostras atuais.

1032

Tabela 5: Capacidade antioxidante (expressa como valores de IC_{50}) dos óleos essenciais.

Marca	$IC_{50(DPPH)}$ mg mL^{-1} (M \pm DP) %
M1	85,33 \pm 22,31
M2	49,52 \pm 12,38
M3	71,61 \pm 6,06
M4	72,10 \pm 8,32
M5	62,90 \pm 48,47

M1 – amostras de alecrim da marca 1; M2 – amostras de alecrim da marca 2; M3 – amostras de alecrim da marca 3; M4 – amostras de alecrim da marca 4; M5 – amostras de alecrim da marca 5; M – valor médio; DP – desvio padrão; $IC_{50(DPPH)}$ – concentração do óleo essencial capaz de neutralizar 50% dos radicais DPPH do meio reacional.

1033

1034 4. CONCLUSÕES

1035 O presente estudo estabeleceu o perfil químico dos óleos essenciais de cinco marcas
 1036 de alecrim comercializadas na cidade do Rio de Janeiro e mediu a capacidade antioxidante
 1037 das mesmas. Foram identificados vinte e quatro compostos diferentes. Os resultados obtidos
 1038 revelaram que todos os lotes analisados tinham a composição química muito semelhante, com
 1039 a presença do α -pineno, canfeno, β -pineno, 1,8-cineol, linalol, cânfora, α -terpineol e terpinen-
 1040 4-ol em todos eles. Também não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre as
 1041 amostras em relação aos seus potenciais antioxidantes. Os valores de $IC_{50(DPPH)}$ encontrados
 1042 foram considerados relativamente baixos, o que indica uma boa capacidade antioxidante para
 1043 os óleos essenciais de alecrim. Com base na comparação com dados da literatura, as amostras
 1044 avaliadas parecem realmente ser autênticas.

1045

1046 **Agradecimentos:**

1047

1048 CAPES, CNPq, FAPERJ e UNIRIO.

1049

1050

1051 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1052

1053 - ALI, A.; HUICHOW, Y. (2019). Na insight into the extraction and fractionation
1054 Technologies of the essential oils and biactive compounds. TAC Trends in Analytical
1055 Chemistry. 118, 338-351.

1056

1057 - ARRANZ, E.; MES, J., WICHERS. H. J.; JAIME, L. MENDIOLA, J. A.; REGLERO, G. &
1058 SANTOYO, S. (2013). Anti-inflammatory activity of the basolateral fraction of Caco-2-cells
1059 exposed ato a rosemary supercritical extract. Journal of Functional foods. 13, 384-390.

1060

1061 - BORGES, L. P.; AMORIM, V. A. (2020). Metabólitos secundários de plantas. Revista
1062 Agrotecnologia, 11(1), 54-67.

1063

1064 - BORGES, R. S.; ORTIZ, B. L. S.; PEREIRA, A. C. M.; KEITA, H.; CARVALHO J. C. T.
1065 (2019). *Rosmarinus officinallis* essential oil: A review of its phytochemistry, anti-1066
infammatory activity, and mechanisms of action involved. Journal of Ethnopharmacology,
1067 229, 29-45.

1068

1069 - BOUYAHYA, A.; ET-TOUYS, A.; BAKRI, Y.; TALBAUI, A.; FELLAH, H.; ABRINI, J.;
1070 DAKKA, N. (2017). Chemical composition of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis*
1071 essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. Microbial
1072 Pathogenesis, 111: 41-49.

1073

1074 - BOZIN, B.; MIMICA-DUKIC, N.; SAMOJLIK, I.; JOVIN, E. (2007). Antimicrobial and
1075 antioxidante properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis*
1076 L., Lamiaceae) essential oils. Journal Agricultural and Food Chemistry, 55 (19), 7879-7885.

1077

1078 - BTISSAM, R.; RAJAE, R.; AMAKRAN, A.; VANNIER, B.; NHIRI, M. (2015). *In vitro*
1079 study of antiglycation and radical scavenging activities of the essential oils of three plants
1080 from Morocco: *Origanum compactum*, *Rosmarinus officinallis* and *Pelargonium asperum*.
1081 Pharmacognosy Journal, 7(2), 124 – 135.

1082

1083 - DE ALMEIDA, A. A.; DE CARVALHO, R. B.; SILVA, O. A.; DE SOUSA, D. P.; DE
1084 FREITAS, R. M. (2014). Potential antioxidante and anxiolytic effects of (+)-limonene
1085 epoxide in mice after marble-burying test. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 118,
1086 69-78.

1087

1088 - ELMI, A.; VENTRELLA, D.; BARONE, F.; FILIPPINI, G.; BENVENUTI, S.; PISI, A.;
1089 SCOZZOLI, M.; BACCI, M. L. (2017). *Tymbra capitata* (L.) Cav. And *Rosmarinus*
1090 *officinalis* (L.) Essential Oils: In Vitro Effects and Toxicity on Swine Spermatozoa.
1091 *Molecules*. 22(12), 2162.

1092

1093 - FARIA, L.; LIMA, C.; PERAZZO, F.; CARVALHO, J. (2011). Anti-inflammatory and
1094 antinociceptive activities of the essential oil from *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae).
1095 *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 7, 7–8.

1096

1097 - GOVINDARAJAN, R.; RASTOGI, S.; VIJAYAKUMAR, M.; SHIRWAIKAR, A.;
1098 RAWAT, A. K. S.; MEHROTRA, S.; PUSHPANGADAN, P. (2003). Studies on the
1099 antioxidant activities of *Desmodium gangeticum*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*,
1100 26(10), 1424-1427.

1101

1102 - HCINI, K.; SOTOMAYOR, J. A.; JORDAN, M. J.; BOU, S. (2013). Chemical Composition
1103 of the Essential Oil of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) of Tunisian Origin. *Asian*
1104 *Journal of Chemistry*, 25(5), 2601 – 2603.

1105

1106 - HUSSAIN, A. I.; ANWAR, F.; CHATHA, S. A. S.; JABBAR, A.; MAHBOOB, S.;
1107 NIGAM, P. S. (2010). *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and
1108 antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(4), 1070 – 1078.

1109

1110 - ISMAN, M. B.; WILSON, J. A.; BRADBURY, R. (2008). Insecticidal Activities of
1111 Commercial Rosemary Oils (*Rosmarinus officinalis*.) Against Larvae of *Pseudaletia*
1112 *unipuncta*. and *Trichoplusia ni*. in Relation to Their Chemical Compositions. *Pharmaceutical*
1113 *Biology*, 46(1-2), 82-87.

- 1114
- 1115 - JAMISHIDI, R.; AFZALI, R.; AFZALI, D. (2009). Chemical Composition of
1116 Hydrodistillation Essential Oil of Rosemary in Different Origins in Iran and Comparison with
1117 Other Countries. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 5 (1),
1118 78-81.
- 1119
- 1120 - JIANG J.; SHEN, Y. Y.; LI, J.; LIN, Y. H.; LUO, C. X.; ZHU, D. Y. (2015). (+)-Borneol
1121 alleviates mechanical hyperalgesia in models of chronic inflammatory and neuropathic pain in
1122 mice. *European Journal of Pharmacology*, 757, 53-58.
- 1123
- 1124 - KABOUCHE, Z. (2005). Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils
1125 from Algeria. *International Journal Aromatherapy*, 3(15), 129-133.
- 1126
- 1127 - KADRI, A.; ZARAI, Z.; CHOBBA, I. B.; BÉKIR, A.; GHARSALLAH, N.; DAMAK, M.;
1128 GDOURA, R. (2011). Chemical constituents and antioxidant properties of *Rosmarinus*
1129 *officinalis* L. essential oil cultivated from the South-Western of Tunisia. *Journal of Medicinal*
1130 *Plants Research*, 5(29), 6502-6508.
- 1131
- 1132 - LEFFINGWELL & ASSOCIATES ODOR THRESHOLDS. Disponível em:
1133 <http://www.leffingwell.com/odorthre.htm>. Acessado em 2 julho 2022.
- 1134
- 1135 - MACHADO, M.; DINIS, A. M.; SANTOS-ROSA, M.; ALVES, V.; SALGUEIRO, L.;
1136 CAVALEIRO, C.; SOUSA, M. C. (2014). Activity of *Thymus capitellatus* volatile extract,
1137 1,8-cineole and borneol against *Leishmania* species. *Veterinary Parasitology*, 24, 39-49.
- 1138
- 1139 - MACHADO, D. G.; CUNHA, M. P.; NEIS, V. B.; BALEN, G. O.; COLLA, A.; BETTIO,
1140 L. E.; OLIVEIRA, A.; PAZINI, F. L.; DALMARCO, J. B.; SIMIONATTO, E. L.;
1141 PIZZOLATTI, M. G.; RODRIGUES, A. L. (2013). Antidepressant-like effects of fractions,
1142 essential oil, carnosol and betulonic acid isolated from *Rosmarinus officinallis* L. *Food*
1143 *Chemistry*, 136(2), 999-1005.
- 1144

- 1145 - MENG, L.; WANG, H-B.; DENG, Z. Q.; WANG, Y.; WU, J-B.; LAI, Z. Y. L. R-L.; SUN,
1146 X. X.; ZHU, L-Y.; CHEN, L. X.; WANG, L. W. (2014). Borneol activated volume-sensitive
1147 chloride channels in poorly differentiated nasopharyngeal carcinoma cells. Chinese
1148 Pharmacological Bulletin, 30 (12), 1671-1676.
1149
- 1150 - MORALES, R.. *Rosmarinus officinalis* L.. Descrição na flora Íberica.. p328.
1151
- 1152 - NAM, S.; CHUNF, C. K.; SEO, J. H.; RAH, S. Y.; KIM, H. M.; JEUNG, H. J. (2014). The
1153 therapeutic efficacy of α -pinene in an experimental mouse model of allergic rhinitis.
1154 International Immunopharmacology, 23, 273–282.
1155
- 1156 - RASKOVIC, A.; MILANOVIC, I.; PAVLOVIC, N.; CEBOVIC, T.; VUKMIROVIC, S.;
1157 MIKOV, M. (2014). Antioxidante activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential
1158 oil and its hepatoprotective potential. BMC Complementary and Alternative Medicine,
1159 14(225), <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-225>.
1160
- 1161 - RIBEIRO-SANTOS, R.; CARVALHO-COSTA, D.; CAVALEIRO-COSTA, H. S.;
1162 ALBUQUERQUE, T. G.; CASTILHO, M. C.; RAMOS, F.; NATHÁLIA, R. M.; SANCHES-
1163 SILVA, A. (2015). A novel insight on an ancient aromatic plant: The rosemary (*Rosmarinus*
1164 *officinalis* L.). Trends in Food Science & Technology, 45(2), 355 – 368.
1165
- 1166 - SERAFINI, L.A.; Santos, A. C. A.; Touguinha, L. A.; Agostinho, G.; Dalfovo, V. (2002).
1167 Extrações e aplicações de óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais. 4ª edição.
1168 Caixias do Sul: Educ. 54 p.
1169
- 1170 - SIENKIEWICZ, M.; LYSAKOWSKA, M.; PASTUSZKA, M.; BIENIAS, W.;
1171 KOWALCZYK, E. (2013). The potential of use Basil and Rosemary essential oils as effective
1172 antibacterial agents. Molecules, 18, 9334–9351.
1173
- 1174 - SILVA-FILHO, S. E.; SILVA-COMAR, F. M. S.; WIIRZLER, L. A. M.; do PINHO, R. J.;
1175 GRESPAN, R.; BERSANI-AMADO, C. A.; CUMAN, R. K. N. (2014). Effect of camphor on

- 1176 the behavior of leukocytes in vitro and in vivo in acute inflammatory response. Tropical
1177 Journal of Pharmaceutical Research, 13, 2031–2037.
- 1178
- 1179 - SVOBODA, K.P.; DEANS, S.G. (1992). A study of the variability of rosemary and sage and
1180 their volatile oils on the British market: their antioxidative properties. Flavour and Fragrance
1181 Journal, 7(2), 81-87.
- 1182
- 1183 - TAKAYAMA, C.; DE FARIAS, F. M.; DE ALMEIDA, A. R. A.; DUNDER, R. J.;
1184 MANZO, L. P.; SOCCA, E. A. R.; BARISTA, L. M.; SALVADOR, M. J.; SOUZA-BRITO,
1185 A. R. M.; LUIZ-FERREIRA, A. (2016). Chemical composition of *Rosmarinus officinalis*
1186 essential oil and antioxidant action against gastric damage induced by absolute ethanol in the
1187 rat. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 6, 677–681.
- 1188
- 1189 - VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. (1963). Generalization of the Retention Index System
1190 Including Linear Temperature Programmed Gas-Liquid Partition Chromatography. Journal
1191 Chromatography, 11, 463-471.
- 1192
- 1193 - VILELA, J.; MARTINS, D.; MONTEIRO-SILVA, F.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G.; DE
1194 ALMEIDA, J. M. M. M.; SARAIVA, C. (2016). Antimicrobial effect of essential oils of
1195 *Laurus nobilis* L. and *Rosmarinus officinallis* L. on shelf-life of minced “Maronesa” beef
1196 stored under different packaging conditions. Food Packaging and Shelf Life, 8, 71–80.
- 1197
- 1198 - WANG, W., EU, N., ZU, YG., FU, YJ. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L.
1199 essential oil compared to its main components. Food chemistry – Elsevier. Volume 108 (3).
1200 p1019-1022. 2008.
- 1201
- 1202 - WANG, W.; LI, N.; LUO, M.; ZU, Y.; EFFERTH, T. (2012). Antibacterial activity and
1203 anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main
1204 components. Molecules, 17(3), 2704-2713.
- 1205
- 1206 - YANISHLIEVA, N. V.; MARINOVA, E.; POKORNY, J. (2006). Natural antioxidants from
1207 herbs and spices. European Journal of Lipid Science and Technology, 108(9), 776 – 793.

1208

1209 - ZAOUALI, Y.; BOUZAINÉ, T.; BOUSSAID, M. (2010). Essential oils composition in two
1210 *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities.
1211 Food and Chemical Toxicology, 48, 3144-3152.

1212

1213 - ZHONG, W.; CUI, Y.; YU, Q.; XIE, X.; LIU, Y.; WEI, M.; CI, X.; PENG, L. (2014).
1214 Modulation of LPS-stimulated pulmonary inflammation by Borneol in murine acute lung
1215 injury model. Inflammation Scientific World Journal, 37(4), 1148-1157.

1216

1217 - JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. (2002). Botanique
1218 Systématique, une perspective phylogénétique. Edição De Boeck Université. 467 p.

1219

1220

1221

1222

1223

1224

1225

1226

1227

1228

1229

1230

1231

1232

1233

1234

1235

1236

1237

1238

1239

1240
1241
1242
1243
1244
1245
1246
1247
1248
1249
1250
1251
1252
1253
1254
1255
1256
1257
1258
1259
1260
1261
1262
1263
1264
1265
1266
1267
1268
1269
1270
1271

CHAPTER 2

EVALUATION OF THE ESSENTIAL OILS AND TEAS PRODUCED FROM THE BAHIA AND PARÁ COCOA ALMOND HUSKS

Daiene Alves de Oliveira^a, Cristiane Barbosa Rocha^b, Ricardo Felipe Alves Moreira^{a,c,*}

^a*Food and Nutrition Graduate Program, Federal University of the State of Rio de Janeiro, UNIRIO, Rio de Janeiro, Brazil*

^b*Biomedical Institute, Department of Physiological Sciences, UNIRIO, Rio de Janeiro, Brazil*

^c*Biomedical Institute, Department of Collective Health, UNIRIO, Rio de Janeiro, Brazil*

* Corresponding author at: UNIRIO: Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Food and Nutrition Graduate Program, Avenida Pasteur 296, 22290-240, Rio de Janeiro, R.J., Brazil.

E-mail address: ricardo.moreira@unirio.br

This chapter was submitted to **South African Journal of Botany** as an original paper.

1272

1273

1274 **ABSTRACT**

1275

1276 Brazil is one of the largest producers of cocoa in the world and, consequently, of the
1277 husks of cocoa almonds. This material is an industrial food waste from which it is possible to
1278 produce an aromatic tea. The aim of this work was to evaluate the chemical composition of
1279 the essential oils of the husks of cocoa almond samples from Bahia and Pará states. Total
1280 phenolic (Folin-Ciocalteu) and flavonoid ($AlCl_3$) contents, antioxidant capacity (DPPH assay)
1281 and toxicity (*Artemia salina* bioassay) of its infusions were also evaluated. Essential oils were
1282 isolated by hydrodistillation and analyzed by GC techniques. Only tetradecanoic acid, n-
1283 hexadecanoic acid, ethyl tetradecanoate and methyl oleate were detected in all samples.
1284 Pyrazines are probably produced during the roasting of the seeds. The infusions presented
1285 moderate antioxidant potentials that were highly correlated with their total phenolic and
1286 flavonoid contents, and were classified as non-toxic.

1287

1288 *Keywords:* cocoa almond husks; essential oils; teas; antioxidant activity; toxicological
1289 potential

1290

1291

1292

1293

1294

1295

1296

1297

1298

1299

1300

1301

1302

1303

1304

1305 **1. INTRODUCTION**

1306 Brazil is one of the largest producers of cocoa in the world and, in this context, the
1307 Brazilian states of Bahia (BA) and Pará (PA) stand out. The state of Bahia produced
1308 approximately 122.568 tons of cocoa in 2019, followed by the state of Pará, accounted for the
1309 production of 116.110 tons of cocoa in the same year (Aguido, 2019).

1310 Cocoa seeds represent about 20% of the fruit's mass and are considered the major
1311 marketed products (after fermentation and drying) for food manufacturing. This seed is a dry
1312 grain consisting of an almond and its husk (commonly known as forehead or cocoa bran)
1313 (Figueira et al., 1993; Kalvatchev et al., 1998). Owing to the high acidity of these husks, the
1314 seeds can only be used to produce “cocoa butter” after removal of the husks. Therefore, these
1315 husks are an important residue of the cocoa industry (Arlorio et al., 2005). Pieces of the
1316 almond are often found on the husks, making their composition quite variable. This variation
1317 in the composition of husks may also be associated with factors such as: cocoa origin, type of
1318 roasting, fruit ripening stage etc (Beckett, 2009). The cocoa bran (husks) can be used as boiler
1319 fuel, in the flavoring of craft beers, in fertilizer preparations and in animal feed production
1320 (Arlorio et al., 2005). In the latter case, husks should be used carefully, since they contain the
1321 alkaloid known as theobromine, which can be toxic to some animal species (Alexander et al.,
1322 2008). Few studies have been developed to offer a better destination to this material, which
1323 has some nutritional value, expressive fat content, and several bioactive compounds (Beckett,
1324 2009; Vitola and Ciprova, 2016; Balentic et al., 2018). Recently, a new proposal has
1325 emerged for the use of these husks: using them to prepare a very aromatic and tasty tea.
1326 However, there is virtually no information in the scientific literature on the toxicological
1327 potential, antioxidant capacity and chemical composition of the volatile and non-volatile
1328 fractions of this new beverage. This type of knowledge has the potential to encourage the use
1329 of this beverage, making the cocoa industry more sustainable, adding economic value to this
1330 industrial waste and allowing a more enjoyable, conscious and efficient use of this product as
1331 a potential nutraceutical agent.

1332 Thus, this study aims to characterize the essential oil (volatile fraction) of the cocoa
1333 almond husks from the Brazilian states of Bahia (BA) and Pará (PA). Total phenolic content
1334 (TPC), total flavonoid content (TFC), antioxidant capacity (AC) and toxicity of its infusions
1335 were also evaluated.

1336

1337 **2. MATERIAL AND METHODS**1338 **2.1. SAMPLES**

1339 Samples of cocoa almond husks from the states of BA and PA were evaluated. These
1340 samples were kindly supplied by Quetzal Chocolate de Origem (Bonsucesso, R.J., Brazil). For
1341 each origin, the wastes (cocoa almond husks), which had resulted from chocolate preparation
1342 process for three months, were collected, mixed and homogenized to produce enough material
1343 to allow for the development of all analyses.

1344

1345 **2.2. CHEMICALS**

1346 Ethyl acetate (purity grade = 99.5%) was purchased from Aldrich (Milwaukee, WI,
1347 USA). The C₇-C₂₆ alkane mixture used as a retention-index marker probe was obtained from
1348 Supelco (Bellefonte, PA, USA). All other reagents were of analytical grade.

1349

1350 **2.3. ESSENTIAL OIL (VOLATILE FRACTION) ANALYSIS**

1351 A methodology similar to the one employed by other researchers (Souza et al., 2019;
1352 Viana et al., 2020) was used to extract the essential oils from cocoa almond husks by
1353 hydrodistillation. This isolation process was carried out for 4 hours at a temperature of 100°C.
1354 The essential oils were removed from the Clevenger's apparatus by flushing the system with
1355 10 mL of ethyl acetate. The residual water was eliminated from this organic extract with the
1356 aid of anhydrous sodium sulfate. After filtration, the solvent was removed from the essential
1357 oil by evaporation over a gas nitrogen flow. Essential oils were stored at a temperature of -
1358 18°C until the beginning of the chromatographic analyses, which were carried out according
1359 to a previous approach (Souza et al., 2019), but with some modifications. The oven was
1360 programmed as follows: the temperature was kept at 50°C for one minute. Then, the
1361 temperature increased from 50°C to 110°C at a constant rate of 3°C minute⁻¹. This latter
1362 temperature was maintained for one minute. Subsequently, the temperature increased at a rate
1363 of 2°C minute⁻¹ until it reached 200°C (maintained for one more minute). Finally, the
1364 temperature increased to 230°C at a rate of 10°C minute⁻¹, and was kept at this level for thirty
1365 minutes. Injections of the essential oils were performed in a split ratio of 1:20. Quantification
1366 of the compounds was based on the normalization technique using the GC/FID apparatus. On
1367 the other hand, the identification process was carried out with the aid of GC/MS equipment,

1368 comparing the mass spectra of the compounds with data available in the NIST12.lib and
1369 NIST62.lib libraries. External standard compounds and modified Kovats indices (Van den
1370 Dool and Kratz, 1963) were also used to allow for the identification of the essential oil
1371 constituents. As a matter of prevention, a solvent (residual ethyl acetate) delay of two minutes
1372 was used during the GC/MS analysis.

1373

1374 **2.4. EVALUATION OF THE TEAS PREPARED FROM THE COCOA ALMOND** 1375 **HUSKS**

1376 **2.4.1. PREPARATION OF THE TEAS**

1377 One gram of the cocoa almond husks was infused in 50 mL of boiling distilled water
1378 for 5 minutes with manual shaking. This extract was then cooled, filtered, and adjusted to 100
1379 mL.

1380

1381 **2.4.2. TOTAL PHENOLIC AND FLAVONOID CONTENT ASSAYS**

1382 Total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of the teas were
1383 evaluated by the spectrophotometric methods of Folin-Ciocalteu and AlCl_3 , respectively
1384 (Souza et al., 2019). TPC was calculated using a calibration curve of gallic acid ($y = 44.198x$;
1385 $R^2 = 0.9947$), and the results were expressed as mg of gallic acid equivalents (GAE) L^{-1} . TFC
1386 was calculated using a calibration curve of rutin ($y = 0.0054x - 0.0991$, $R^2 = 0.9834$), and the
1387 results were expressed in mg of rutin equivalents (RE) L^{-1} .

1388

1389 **2.4.3. DPPH ASSAY**

1390 Antioxidant activity was evaluated by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
1391 assay (Souza et al., 2019; Govindarajan et al., 2003). $\text{IC}_{50(\text{DPPH})}$ was calculated using the
1392 antioxidant curve produced after testing the teas at the following concentrations: 0.10 mg mL^{-1}
1393 1 , 0.30 mg mL^{-1} , 0.60 mg mL^{-1} , and 1.00 mg mL^{-1} . Rutin and gallic acid were tested as
1394 positive controls.

1395

1396 **2.4.4. ARTEMIA SALINA BIOASSAY**

1397 The acute toxicological evaluation of the teas was carried out by the *Artemia salina*
 1398 bioassay (Souza et al., 2019; Brito et al., 2020). Aliquots of the teas were directly added to the
 1399 sea water to produce final solutions of 100, 250, 500, 1,000, 1,500, and 2,000 ppm. Triplicate
 1400 experiments were conducted with each concentration. Mortality curves were plotted to
 1401 establish the LD₅₀ of the teas.

1402

1403 **2.5. STATISTICAL ANALYSIS**

1404 Statistical analyses were carried out with the aid of the Graph Pad Prism 6.0 software.
 1405 The parameters were submitted to the normality test of D'Agostino & Pearson. For those that
 1406 passed the normality test, significant statistical differences between the groups were evaluated
 1407 by using the parametric t test. For those parameters that did not pass the normality test, the
 1408 non-parametric Mann-Whitney test was performed to detect differences between the groups.
 1409 In all of these analyses, the probability levels of $p < 0.05$ were considered to be statistically
 1410 significant. Correlations between antioxidant capacity and TPC, and TFC were determined by
 1411 using Pearson's Correlation Coefficient Test.

1412

1413 **3. RESULTS AND DISCUSSION**

1414 **3.1. ESSENTIAL OILS FROM BA AND PA COCOA ALMOND HUSKS**

1415 The hydrodistillation process yielded small amounts of the essential oils obtained from
 1416 the cocoa almond husks of both origins (see Table 1). There was no significant statistical
 1417 difference ($p > 0.05$) between the mean extraction yield values of the samples originating
 1418 from BA and those originating from PA. The low yields of the extraction processes of these
 1419 essential oils should be considered as a limiting factor for the development of studies on the
 1420 composition and phytotherapeutic potential of this kind of fraction (essential oil) from this
 1421 natural product (cocoa almond husk). This may explain the lack of scientific studies published
 1422 so far about the volatile fraction of this residue from the cocoa industry.

1423

Table 1. Mean yields of the extraction process of the essential oils from the cocoa almond husks from BA and PA

Samples	Mean yield (g of essential oil / 100 g of sample)
BA	0.14 ± 0.10
PA	0.07 ± 0.05

BA: Bahia; PA: Pará. Average values were obtained from triplicate analysis of samples of each origin.

1424 The volatile compounds found in the essential oils of BA and PA cocoa almond husks
 1425 are shown in Table 2. To our knowledge, this is the first time the volatile fraction composition
 1426 of this kind of matrix has been evaluated. The diversity of compounds of different chemical
 1427 classes was high in the samples from both origins (see Table 2). On the other hand, some
 1428 chemical classes were exclusively found in BA samples (halogenated compounds, sulfur
 1429 compounds, ethers and pyrazoles), while others only belonged to PA samples (epoxides,
 1430 oxygenated monoterpenes and derivatives, oxygenated sesquiterpenes, and oxygenated
 1431 dipertenes). Indeed, among the 75 identified compounds, 31 were found exclusively in group
 1432 1 (corresponding to the samples from BA), while 34 compounds were found only in group 2
 1433 (corresponding to the samples from PA). Clearly, there is a large difference in the essential oil
 1434 composition of these two groups (BA and PA) (see Table 2). These variations in the
 1435 composition of these essential oils are not unexpected and can be associated with several
 1436 factors such as the genetic group in which the samples are classified, the time of year in which
 1437 the harvest was performed, the time of collection (owing to the circadian cycle of the plants),
 1438 the incidence of solar radiation, water availability etc (Lopes et al., 1997).
 1439

Table 2 – Chemical composition of the essential oils isolated from BA and PA cocoa almond husks

Compounds	LRI1	LRI2	Avg ± SD (BA)	Avg ± SD (PA)
Non-terpenic compounds				
Fatty acids				
Isobutyric acid	755	793	nd	1.07 ± 1.51
3-Methyl-butanoic acid	836	834	nd	0.98 ± 1.39
2-Methyl-butanoic acid	848	811	nd	1.38 ± 1.75
Nonanoic acid	1259	1272	0.11 ± 0.08	nd
Dodecanoic acid	1566	1570	2.14 ± 0.16	0.50 ± 0.70
Tridecanoic acid	1623	1660	nd	0.71 ± 0.90
Tetradecanoic acid	1758	1769	1.61 ± 0.12	1.78 ± 0.78
Pentadecanoic acid	1848	1869	0.20 ± 0.05	0.18 ± 0.25
cis-9-Hexadecenoic acid	1947	1976	1.13 ± 0.04	nd
n-Hexadecanoic acid	1977	1968	24.27 ± 8.00	35.91 ± 2.0
Heptadecanoic acid	2050	2067	nd	0.86 ± 0.95
17-octadecynoic acid	2143	2165	14.33 ± 4.41	nd
Octadecanoic acid	2169	2167	1.11 ± 0.18	0.84 ± 1.18
Oleic acid	2130	2175	nd	3.35 ± 4.73
Linoleic acid	2137	2183	nd	2,89 ± 4,08
Alcohols				

2-Heptanol	882	879	0.33 ± 0.13	nd
2-Ethyl-1-hexanol	1003	995	1.67 ± 0.53	nd
3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol	1080	1082	0.21 ± 0.06	nd
2-Nonanol	1082	1078	0.10 ± 0.04	nd
3,7,11-Trimethyl-1,6,10-dodecatrien-3-ol	1539	1564	nd	0.10 ± 0.03
1-Octadecanol	2050	2050	nd	0.93 ± 1.31
(Z,Z)-9,12-Octadecadien-1-ol	2069	2069	nd	2.46 ± 3.32
(Z,Z,Z)-9,12,15-Octadecatrien-1-ol	2072	2077	nd	0.34 ± 0.07
Aldehydes				
Benzaldehyde	922	982	0.46 ± 0.12	nd
Benzene acetaldehyde	1002	1002	nd	2.35 ± 1.46
Nonanal	1077	1104	0.11 ± 0.03	nd
5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	1486	1499	0.10 ± 0.03	0.50 ± 0.71
Ketones				
6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone	1778	1754	nd	0.68 ± 0.91
2-Heptadecanone	1874	1847	0.21 ± 0.01	0.04 ± 0.06
Oxacyclohexadecan-2-one	2149	2144	5.98 ± 3.54	nd
2-Hydroxy-cyclopentadecanone	2135	2158	nd	1.75 ± 2.47
Furan compounds				
1-(2-Furanyl)-ethanone	875	878	nd	0.07 ± 0.08
Tetrahydro-2,2-dimethyl-5-(1-methyl-1-propenyl)furan	1084	1068	0.18 ± 0.05	nd
Halogenated compound				
(Iodomethyl)benzene	1205	1208	0.12 ± 0.03	nd
Sulfur compound				
sec-Butyl-pentyl-disulfide	1353	1353	0.14 ± 0.08	nd
Epoxide				
cis-9,10-Epoxy-octadecan-1-ol	2054	2015	nd	0.57 ± 0.80
Esters				
1-methylethyl 2-methylpropanoate	755	756	nd	2.20 ± 2.91
2-methyl butanoate	848	811	nd	1.35 ± 1.70
2-phenylethyl acetate	1217	1259	0.68 ± 0.13	nd
Butyl benzoate	1359	1359	0.44 ± 0	nd
3-methylbut-2-enoic acid, 3,5-dimethylphenyl ester	1586	1570	nd	0.59 ± 0.83
Ethyl dodecanoate	1572	1580	0.32 ± 0.04	nd
Ethyl tetradecanoate	1778	1779	0.24 ± 0.01	0.75 ± 0.81
Methyl palmitate	1856	1878	nd	0.60 ± 0.69
Ethyl pentadecanoate	1882	1878	nd	0.10 ± 0.04
Ethyl palmitate	1921	1978	nd	5.53 ± 2.28
Isopropyl palmitate	2010	2013	27.67 ± 8.49	nd
Methyl oleate	2078	2085	0.11 ± 0.01	0.68 ± 0.66
Ethyl linoleate	2137	2141	nd	4.06 ± 1.74
Ethyl oleate	2147	2149	nd	4.43 ± 1.31
Ethyl octadecanoate	2178	2177	0.35 ± 0.01	0.20 ± 0.28
Ether				
8-Methoxy-10-methyl-7-azabicyclo[4.2.2]deca-2,4,7,9-tetraene	1331	1323	0.27 ± 0.05	nd

Hydrocarbons				
2-Propenylidene-cyclobutene	744	735	nd	0.57 ± 0.81
n-Propylbenzene	995	992	nd	2.42 ± 1.29
Pentadecane	1493	1512	0.13 ± 0.01	nd
Heneicosane	2096	2109	0.25 ± 0.01	nd
Tricosane	2294	2307	0.40 ± 0.02	nd
7-Butylbicyclo[4.2.1]nona-2,4,7-triene	1331	1316	nd	0.13 ± 0.11
1,5,5-Trimethyl-6-[(1E)-3-methyl-1,3-butadienyl]-1-cyclohexene	1368	1360	0.22 ± 0.05	nd
1,2,3,6,7,8,8a,8b-octahydro-4,5-dimethylbiphenylene	1423	1443	0.20 ± 0.04	nd
1,2,3,4-tetrahydro-2-(1,1-dimethylethyl)naphthalene	1447	1441	1.75 ± 0.37	nd
Pyrazines				
2,6-Dimethylpyrazine	887	894	nd	0.10 ± 0.11
2-Ethyl-5-methylpyrazine	970	994	0.4 ± 0.10	nd
2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine	1048	1107	nd	0.66 ± 0.93
3-isopropyl-2,5-dimethylpyrazine	1131	1142	0.29 ± 0.11	nd
3-Butyl-2,5-dimethylpyrazine	1284	1306	0.24 ± 0.30	nd
2-(2-Methylpropyl)-3,5,6-trimethylpyrazine	1363	1355	0.09 ± 0.02	nd
Pyrazoles				
1,4-Dimethylpyrazole	799	804	0.14 ± 0.06	nd
1-vinyl-3,5-dimethylpyrazole	972	983	0.09 ± 0.02	nd
1-allyl-3,5-dimethylpyrazole	1049	1083	0.20 ± 0.25	nd
Terpenic compounds				
Oxygenated monoterpenes and derivatives				
Myrcenol	1051	1064	nd	0.42 ± 0.59
Neryl acetone	1420	1420	nd	0.16 ± 0.10
Oxygenated sesquiterpene				
<i>Ar</i> -Tumerone	1586	1611	nd	0.54 ± 0.76
Farnesyl acetate	1835	1834	nd	0.72 ± 0.64
Oxygenated diterpene				
Phytol	2096	2104	nd	0.71 ± 1.00
Total			88.86	87.99

LRI1 – modified Kovats index calculated using C₇-C₂₆ alkanes (Van Den Dool and Kratz, 1963); LRI2 – data available in the NIST libraries of the GC/MS software; Avg – average value; SD – standard deviation; The average values that were shown in this Table were obtained from triplicate analysis of the samples of each origin; nd – not detected, BA – Bahia; PA – Pará.

1440

1441 Only ten compounds were simultaneously found in BA and PA essential oils. In this

1442 context, tetradecanoic acid, n-hexadecanoic acid, ethyl tetradecanoate, and methyl oleate were

1443 detected in all samples analyzed (three samples of each origin). There are no significant

1444 statistical differences between BA and PA essential oils for the concentrations of these four

1445 above mentioned compounds ($p > 0.05$). Dodecanoic acid, pentadecanoic acid, octadecanoic
1446 acid, 5-methyl-2-phenyl-2-hexenal, 2-heptadecanone, and ethyl octadecanoate were also
1447 found in the husks of both origin, but not in all the samples analyzed. The major compounds
1448 of the BA essential oils were isopropyl palmitate, which is used in the cosmetic industry in the
1449 production of creams and moisturizers (Batistuzzo et al., 2011); n-hexadecanoic acid, also
1450 known as palmitic acid, and 17-octadecynoic acid. Together, these three compounds account
1451 for 66.27% of the total content of these BA essential oils. With respect to PA samples, n-
1452 hexadecanoic acid, ethyl palmitate and ethyl oleate were classified as the major compounds;
1453 together, they account for 45.87% of the total content of their essential oils.

1454 The pyrazines found in the essential oils of both groups (BA and PA) are indicative
1455 that these samples were subjected to heat treatment, probably during the roasting of the seeds
1456 (De Maria et al., 1999). The content of alkyl pyrazines is proportional to the degree of
1457 roasting. This content increases to a certain limit as the roasting temperature increases. When
1458 this roasting is prolonged, degradation of these pyrazines begins to occur. Pyrazines can be
1459 generated directly by the Maillard reaction, Strecker degradation or by hydroxy-amino acid
1460 pyrolysis. Some pyrazines markedly contribute to the sensory characteristics of the foods in
1461 which they are present. 2,6-Dimethylpyrazine, for instance, has a characteristic ether odor, 2-
1462 ethyl-5-methylpyrazine has a grass odor, and 2-ethyl-3,5-dimethyl-pyrazine often plays an
1463 important role in roasted coffee and coffee beverage aromas (De Maria et al., 1999).

1464

1465 **3.2. TEAS PRODUCED FROM BA AND PA COCOA ALMOND HUSKS**

1466 The mean TPC of BA teas was (33.40 ± 2.19) mg of gallic acid equivalents (GAE) g^{-1}
1467 of sample, while the mean TPC value of PA teas was (26.70 ± 12.83) mg GAE g^{-1} (see Table
1468 3). There were no statistical differences ($p > 0.05$) between BA and PA for this parameter. To
1469 our knowledge, there was no information to date about the TPC of infusions produced from
1470 cocoa almond husks. However, when comparing these cocoa almond husk teas with infusions
1471 usually consumed by the Brazilian population, such as yerba mate and green tea, it can be
1472 seen that the cocoa almond husk teas have low levels of phenolic compounds. The mean TPC
1473 value of yerba mate infusions was calculated as 58.37 mg GAE g^{-1} (Moraes-de-Souza et al.,
1474 2011). In the analysis of green tea, the TPC values ranged from 30.13 to 63.99 mg GAE g^{-1}
1475 (Firmino and Miranda, 2017). On the other hand, the mean TPC value of chamomile teas was

1476 estimated as 12.90 mg GAE g⁻¹ [17], a value approximately 2.3 times lower than the one
1477 found for the cocoa almond husk infusions analyzed in the present study.

1478

Table 3 – Phenol and flavonoid contents, antioxidant capacity and toxicological potential of teas produced from BA and PA cocoa almond husks

Analyses	BA (Avg ± SD)	PA (Avg ± SD)
TPC (mg GAE g ⁻¹)	33.40 ± 2.19	26.70 ± 12.83
TFC (mg RE g ⁻¹)	25.41 ± 2.17	22.34 ± 15.39
Antioxidant capacity (IC ₅₀ (DPPH)) (µg mL ⁻¹)	838.72 ± 339.13	1,235.35 ± 635.96
ASB (LD ₅₀) (ppm)	6,739	1,497

BA - Bahia; PA - Pará; TPC – total phenolic content; GAE – gallic acid equivalent; TFC – total flavonoid content; RE – rutin equivalent; IC₅₀ – the concentration of an antioxidant which reduces the free radical *DPPH*• by about 50%; ASB – *Artemia salina* bioassay; LD₅₀ – lethal dose capable of killing 50% of the tested population; Avg – average value; SD – standard deviation. The average values that were shown in this Table were obtained from triplicate analysis of the samples of each origin.

1479

1480 The TFC of the tested cocoa almond husk infusions can also be seen in Table 3. With
1481 respect to this parameter, the samples from BA do not differ statistically ($p > 0.05$) from the
1482 samples from PA. TFC of green teas ranged from 9.41 to 28.62 mg of rutin equivalents (RE)
1483 g⁻¹ of sample (Firmino and Miranda, 2017). The TFC values found for the cocoa almond husk
1484 teas analyzed in the present study are within this range found for green teas.

1485 The potential of cocoa almond husk infusions to scavenge the free radical of DPPH
1486 was expressed as the concentration of these infusions required to neutralize 50% of the DPPH
1487 radical (IC₅₀ value expressed in µg mL⁻¹) (see Table 3). An extract with high potential to
1488 neutralize free radicals (high antioxidant potential) should have a low IC₅₀(DPPH) value. Based
1489 on the IC₅₀ values determined by the DPPH assay, the cocoa almond husk infusions from both
1490 origins (BA and PA) have similar antioxidant potentials, as there was no significant statistical
1491 difference ($p > 0.05$) between these groups in this regard.

1492 As there are no studies about the antioxidant potential of cocoa almond husk infusions
1493 using the DPPH radical assay, the data collected in the present study were compared to those
1494 available in the literature for other teas (e.g.: yerba mate, fennel and chamomile teas). The
1495 yerba mate infusions showed a mean IC₅₀ value estimated as 250 µg mL⁻¹ (Moraes-de-Souza
1496 et al, 2011). In another study, a mean IC₅₀ value for the teas of this kind of herb was estimated
1497 as being (12.0 ± 0.2) µg mL⁻¹ (Heck and Mejia, 2007). Both results indicate that yerba mate
1498 tea has a greater antioxidant capacity than the cocoa almond husk infusions. On the other
1499 hand, the fennel and chamomile teas were considered to be weaker antioxidants than these

1500 husk infusions, with mean IC_{50} values estimated as $2,750 \mu\text{g mL}^{-1}$ and $2,100 \mu\text{g mL}^{-1}$,
 1501 respectively (Moraes-de-Souza et al., 2011).

1502 The mean $IC_{50(DPPH)}$ of the cocoa almond husk infusions was estimated as $1,037.04 \mu\text{g}$
 1503 mL^{-1} . This IC_{50} value is 11.2 times higher than the one found for rutin ($IC_{50} = 93 \mu\text{g mL}^{-1}$) and
 1504 122 times higher than the one calculated for gallic acid ($IC_{50} = 8.5 \mu\text{g mL}^{-1}$), both of which
 1505 were used as positive controls. Thus, these husk infusions must also be considered to be
 1506 weaker than rutin and gallic acid with respect to their antioxidant powers.

1507 The results indicated a strong correlation between TPC, TFC, and the antioxidant
 1508 capacity of husk infusions from BA and PA (see Table 4). The correlation coefficients (r)
 1509 shown in this Table were negative, and their absolute values can be considered to be high,
 1510 indicating that the husk infusions with higher amounts of phenolic or flavonoid compounds
 1511 present lower IC_{50} values and, consequently, better antioxidant capacities. This finding
 1512 suggests, for instance, that phenolic and flavonoid compounds are relevant for the antioxidant
 1513 activity of these infusions.

1514

Table 4 – Pearson's correlation analysis

Samples	$IC_{50(DPPH)}$ x TPC	$IC_{50(DPPH)}$ x TFC
PA	$r = -0.888$	$r = -0.918$
BA	$r = -0.920$	$r = -0.926$

PA - Pará; BA - Bahia; TPC – total phenolic content; TFC – total flavonoid content; $IC_{50(DPPH)}$
 – the concentration of an antioxidant which reduces the free radical $DPPH\cdot$ about 50%; r =
 Pearson's correlation coefficient.

1515

1516 According to the brine-shrimp lethality assay, the infusions produced from the cocoa
 1517 almond husks of BA presented a mean LD_{50} value of 6,739.28 ppm, while the PA infusions
 1518 showed a mean LD_{50} value of 1,496.55 ppm (see Table 3). In the *Artemia salina* bioassay,
 1519 LD_{50} values upper than 1,000 ppm must be related to non-toxic extracts (Meyer et al., 1982).
 1520 Therefore, these teas from BA and PA were considered to be non-toxic beverages.

1521

1522 4. CONCLUSIONS

1523 The profiles of the essential oils (volatile fractions) of the cocoa almond husks of BA
 1524 and PA were partially elucidated. There was great diversity of compounds of different
 1525 chemical classes in the samples from both origins, with fatty acids and its esters being the
 1526 major compounds. The infusions produced from these husks presented a moderate antioxidant
 1527 potential and they are non-toxic. This kind of infusion can be considered as an alternative

1528 source of natural antioxidants. The marketing of these husks to produce an aromatic, tasty,
1529 and bioactive home tea could allow the reduction of the environmental contamination exerted
1530 by the cocoa industry.

1531

1532 **DECLARATION OF COMPETING INTEREST**

1533 The authors declare no conflict of interest.

1534

1535 **ACKNOWLEDGMENTS**

1536 The authors acknowledge the financial support of UNIRIO (Edital INOVA-2018),
1537 FAPERJ, CNPq, and CAPES. We also thank Quetzal Chocolate de Origem (Bonsucesso, R.J.,
1538 Brazil) for providing the samples of cocoa almond husks from Bahia and Pará.

1539

1540 **5. REFERENCES**

1541 1. Aguido, F., 2019. Brasil quer retomar protagonismo na produção mundial de cacau e
1542 chocolate. imprensa@agricultura.gov.br, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
1543 (Brasil). [http://www.agricultura.gov.br/noticias/brasil-quer-retomar-protagonismo-no-cenario-](http://www.agricultura.gov.br/noticias/brasil-quer-retomar-protagonismo-no-cenario-global-de-cacau-e-chocolate)
1544 [global-de-cacau-e-chocolate](http://www.agricultura.gov.br/noticias/brasil-quer-retomar-protagonismo-no-cenario-global-de-cacau-e-chocolate). Accessed 18 July 2022.

1545 2. Figueira, A., Janick, J., BeMiller, J.N., 1993. New products from Theobroma cacao: seed
1546 pulp and pod gum. In: Janick, J., Simin, J.E. (eds.), *New Crops*, pp. 475–478. Wiley, New
1547 York.

1548 3. Kalvatchev, Z., Garzaro, D., Cedezo, F.G., 1998. Theobroma cacao L.: un nuevo enfoque
1549 para nutricion y salud. *Agroalim.* 6, 23–25

1550 4. Arlorio, M., Coisson, J. D., Travaglia, F., Varsaldi, F., Miglio, G., Lombardi, G., Martelli,
1551 A., 2005. Antioxidant and biological activity of phenolic pigments from Theobroma cacao
1552 hulls extracted with supercritical CO₂. *Food Res. Int.* 38(8), 1009–1014.

1553 5. Beckett, S. T., 2009. *Industrial Chocolate Manufacture and Use*. Wiley-Blackwell, London,
1554 4th. ed.

1555 6. Alexander, J., Benford, D., Cockburn, A., Cravedi, J.-P., Dogliotti, E., Di Domenico, A.,
1556 Fernández-Cruz, M. L., Fürst, P., Fink-Gremmels, J., Galli, C. L., Grandjean, P., Gzyl, J.,
1557 Heinemeyer, G., Johansson, N., Mutti, A., Schlatter, J., van Leeuwen, R., Van Peteghem, C.,
1558 Verger, P., 2008. Theobromine as undesirable substances in animal feed. *Scientific Opinion of*

- 1559 the Panel on Contaminants in the Food Chain. (Question N° EFSA-Q-2005-223). The EFSA
1560 J. 725, 1-66.
- 1561 7. Vitola, V., Ciprovcica, I, 2016. The effect of cocoa beans heavy and trace elements on safety
1562 and stability of confectionery products. Rural Sustain. Res. 35, 19–23.
- 1563 8. Balentic, J. P., Babic, J., Jozinovic, A., Ackar, D., Milicevic, B., Muhamedbegovic, B.,
1564 Subaric, D., 2018. Production of third-generation snacks. Croat. J. Food Sci. Technol. 10(1),
1565 98-105.
- 1566 9. Souza, W. F. M., Mariano, X. M., Isnard, J. L., Souza, G. S., Gomes, A. L. S., Carvalho, R.
1567 J. T., Rocha, C. B., Junior, C. L. S., Moreira, R. F. A., 2019. Evaluation of the volatile
1568 composition, toxicological and antioxidant potentials of the essential oils and teas of
1569 commercial Chilean boldo samples. Food Res. Int., 124, 27-33.
- 1570 10. Viana, T. S., Dias, R. F., Vianna, A. C. S., Moreira, R. F; A, Aguiar, V. M., 2020.
1571 Evaluation of Chilean Boldo Essential Oil as a Natural Insecticide Against *Chrysomya*
1572 *megacephala* (Diptera: Calliphoridae), *J. Med. Entomol.* <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa051>
- 1573 11. Van Den Dool, H., Kratz, P. D., 1963. A generalization of the retention index system
1574 including linear temperature programmed gas—Liquid partition chromatography. *J.*
1575 *Chromatogr. A* 11, 463–471.
- 1576 12. Govindarajan, R., Rastogi, S., Vijaykumar, M., 2003. Studies on antioxidant activities of
1577 *Desmodium gangeticum*. *Biol. Pharm. Bull.* 26(10), 1424–1427.
- 1578 13. Brito, T. B. N., Pereira, A. P. A., Pastore, G. M., Moreira, R. F. A., Ferreira, M. S. L., Fai,
1579 A. E. C., 2020. Chemical composition and physicochemical characterization for cabbage and
1580 pineapple by-products flour valorization. *LWT - Food Sci. Technol.*
1581 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109028>
- 1582 14. Lopes, N. P., Kato, M. J., Andrade, E. H. A., Maia, J. G. S., Yoshida, M., 1997. Circadian
1583 and seasonal variation in the essential oil from *Virola surinamensis* leaves. *Phytochem.* 46(4),
1584 689-693.
- 1585 15. Batistuzzo, J. A, Itaya, M., Eto, Y., 2011. Formulário Médico-Farmacêutico.
1586 Pharmabooks Editora, 4ª Edição, São Paulo, SP.
- 1587 16. De Maria, C. A. B., Moreira, R. F. A., Trugo, L. C., 1999. Componentes voláteis do café
1588 torrado. Parte I: compostos heterocíclicos. *Quím. Nova*, 22(2), 209-217.

- 1589 17. Moraes-de-Souza, R. A., Oldoni, T. L. C., Cabral, I. S. R., Alencar, S. M., 2011.
1590 Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de chás comercializados no Brasil. Bol.
1591 Centro Pesqui. Process. Aliment. 29(2), 229-236.
- 1592 18. Firmino, L. A., Miranda, M. P. S., 2017. Polifenóis totais e flavonoides em amostras de
1593 chá verde (*Camellia sinensis* L.) de diferentes marcas comercializadas na cidade de Salvador-
1594 BA. Rev. Bras. Plantas Med. 17(3), 436-443.
- 1595 19. Heck, C. I., Mejia, E. G., 2007. Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive
1596 review on chemistry, health Implications, and technological considerations. J. Food Sci.
1597 72(9), 138-51.
- 1598 20. Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnan, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., Aughlin, J.,
1599 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. Planta
1600 Medica, 45(5), 31–34.

1601

1602 CONSIDERAÇÕES FINAIS

1603 O presente estudo estabeleceu o perfil químico dos óleos essenciais de quinze
1604 amostras de alecrim comercializadas na cidade do Rio de Janeiro (provenientes de cinco
1605 diferentes marcas) e determinou a capacidade antioxidante de todos eles. Foram identificados
1606 vinte e quatro compostos diferentes nesses óleos essenciais. Os resultados obtidos revelaram
1607 que todos os lotes analisados tinham a composição química muito semelhante, com a presença
1608 do α -pineno, canfeno, β -pineno, 1,8-cineol, linalol, cânfora, α -terpineol e terpinen-4-ol em
1609 todos eles. Também não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre as amostras
1610 em relação aos seus potenciais antioxidantes. Os valores de $IC_{50(DPPH)}$ relativamente baixos
1611 indicam boa capacidade antioxidante para os óleos essenciais de alecrim testados. As
1612 amostras avaliadas parecem realmente ser amostras autênticas de alecrim.

1613 Os perfis químicos dos óleos essenciais isolados das amostras de cascas de amêndoas
1614 de cacau da Bahia e do Pará foram parcialmente elucidados. Percebeu-se uma grande
1615 diversidade de compostos de diferentes classes químicas nos óleos essenciais das amostras de
1616 ambas as origens, com os ácidos graxos e seus ésteres sendo considerados os compostos
1617 majoritários. As infusões dessas cascas apresentaram potencial antioxidante moderado e
1618 foram classificadas como atóxicas de acordo com o bioensaio com *Artemia salina*. A
1619 comercialização dessas cascas de amêndoas de cacau para a preparação de uma infusão

1620 caseira aromática, saborosa e bioativa pode ser uma alternativa interessante para agregar valor
1621 a esse resíduo da agroindústria do cacau.

1622

1623 INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES:

1624 Os baixíssimos rendimentos obtidos no isolamento dos óleos essenciais das amostras
1625 das cascas de amêndoas de cacau praticamente inviabilizaram o desenvolvimento de um
1626 número maior de análises químicas nessas matrizes. Entretanto, com muita dificuldade,
1627 conseguimos determinar os valores de IC₅₀ desses óleos essenciais sem repetição, o que
1628 inviabiliza o estabelecimento de desvios padrões e o desenvolvimento de análises de variância
1629 para fins de comparação, por exemplo, com os valores obtidos para as infusões. De qualquer
1630 forma, como uma informação preliminar indicamos que o valor de IC_{50(DPPH)} da mistura dos
1631 óleos essenciais das amostras das cascas provenientes da Bahia foi de 93,56 mg mL⁻¹,
1632 enquanto que o IC_{50(DPPH)} da mistura dos óleos essenciais das amostras das cascas
1633 provenientes do Pará foi de 82,23 mg mL⁻¹. Apesar da impossibilidade de tratamento
1634 estatístico, esses valores de IC_{50(DPPH)} são numericamente bem superiores aos apresentados
1635 pelas infusões (vide tabela 3 do capítulo 2), de tal forma que as infusões parecem ter maior
1636 potencial antioxidante do que esses óleos essenciais.

1637

1638 PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS

- 1639 • Avaliar o potencial toxicológico dos óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis*
1640 estudados.
- 1641 • Avaliar o perfil fitoquímico da fração não-volátil das infusões dessas amostras de
1642 *Rosmarinus officinalis* e determinar o potencial antioxidante das mesmas, de
1643 preferência pela aplicação de diferente métodos (DPPH, ABTS, FRAP).
- 1644 • Obter amostras de *Rosmarinus officinalis in natura* e caracterizadas botanicamente
1645 para estabelecimento de um padrão químico de identidade para essa espécie, que possa
1646 ser usado como referência para a avaliação das amostras comerciais.
- 1647 • Avaliar o potencial toxicológico e ampliar a avaliação da capacidade antioxidante dos
1648 óleos essenciais das cascas das amêndoas de cacau estudadas.
- 1649 • Avaliar amostras de cascas de amêndoas de cacau disponíveis no comércio nacional e
1650 internacional.

1651